

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KYARA YURIKO HUACCHA CABRERA

**Digestão anaeróbia das águas residuárias da produção de café  
solúvel**

---

Pirassununga

2022

**KYARA YURIKO HUACCHA CABRERA**

**Digestão anaeróbia das águas residuárias da produção de café  
solúvel**

**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 do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientadora: Prof. Dra. Giovana Tommaso

---

Pirassununga

2022

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

H874d Huaccha Cabrera, Kyara Yuriko  
Digestão anaeróbia das águas residuárias da  
produção de café solúvel / Kyara Yuriko Huaccha  
Cabrera ; orientadora Giovana Tommaso. --  
Pirassununga, 2022.  
92 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação  
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de  
Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade  
de São Paulo.

1. Processo anaeróbio. 2. Fenóis. 3. Produção de  
metano. 4. Água residuária de café solúvel. 5.  
Ácidos voláteis. I. Tommaso, Giovana, orient. II.  
Título.

KYARA YURIKO HUACCHA CABRERA

**Digestão anaeróbia das águas residuárias da produção de café solúvel**

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 do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

**Data de aprovação:** 24/11/2022

Banca examinadora:

**Profa. Dra. Giovana Tommaso** – Presidente da Banca examinadora

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/USP – Orientadora

**Prof. Dr. Rogers Ribeiro**

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/USP

**Prof. Dr. Gunther Brucha**

Universidade Federal de Alfenas

## DEDICATÓRIA

*A Deus, sem ele nada seria possível; e a meus queridos pais, Fidel (in memorium) e Nelly, os grandes amores na minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por dar-me saúde e fortaleza durante a execução deste trabalho. Por ser sempre a luz que ilumina minha vida e por seu infinito amor e misericórdia.

A meus queridos pais, Fidel (*in memorium*) e Nelly, por ensinar-me que todas as metas propostas se conseguem sempre trabalhando e que todo esforço e sacrifício sempre tem uma recompensa no final do caminho. O amor que sinto por eles é incondicional.

A minha família, por que ainda longe de mim, eles sempre estiveram presente em cada etapa do mestrado. Obrigada por sempre me motivar a seguir em frente. É muito bom saber que posso contar com vocês em todo momento.

A minha querida orientadora, Profa. Dra. Giovana Tommaso, por aceitar-me em seu grupo de pesquisa e confiar em mim, por ter me guiado ao longo desta caminhada, por sua paciência e compreensão. Meu respeito, admiração e carinho para ela.

Ao Prof. Dr. Ives Cláudio da Silva Bueno por permitir-me utilizar o cromatógrafo do Laboratório de Fermentabilidade Ruminal para as análises de quantificação de metano durante os ensaios de digestão anaeróbia.

Ao Prof. Dr. Rogers Ribeiro, quem ajudou-me com as orientações na estimativa dos parâmetros cinéticos dos resultados e esclarecendo dúvidas que foram surgindo ao longo da realização desta pesquisa.

Aos responsáveis de outros laboratórios: Eloisa, Marcelo, Nilson, Ana, Marina e Fábio por seu apoio na realização dos experimentos, ademais do carisma e simpatia. Meus sinceros agradecimentos.

A meus colegas do laboratório de Biotecnologia Ambiental: Marco, Fabricio, Gilda, Gabriel B., Danilo, Lisiane, Carol e Cássio que me ajudaram quando mais precisava e porque fizeram meus dias de trabalho mais alegre.

Aos amigos que eu fiz durante o curso de mestrado: Victor, Gilda, Diana, Marco e Bryan que tornaram minha estada em Pirassununga mais fácil e agradável.

A meus amigos do Perú, que me demostraram que quando a amizade é verdadeira, a distância não separa, pois amigos que se amam são amigos para sempre. Obrigada por tudo pessoal.

Ao Programa Nacional de Becas e Crédito Educativo (PRONABEC) do Ministério de Educação do Perú pela concessão da bolsa de estudo do Mestrado no exterior.

À CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro na pesquisa.

À Universidade de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia de Alimentos (FZEA) e ao Laboratório de Biotecnologia Ambiental, pela oportunidade de realizar meu mestrado.

Finalmente, mais uma vez, agradeço a todas as pessoas queridas que de alguma forma torceram, ajudaram e colaboraram para que tudo desse o mais certo possível.

*“O Senhor é minha força e o meu escudo; nele confiou o meu coração, e fui socorrido; assim o meu coração salta de prazer, e com o meu canto o louvarei”.*

***Salmos 28:7***



## RESUMO

HUACCHA, K. **Digestão anaeróbia das águas residuárias da produção de café solúvel**. 2022. 92 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

Nas últimas décadas tem sido notório o crescimento da produção e consumo de café solúvel no mundo, levando à geração de grandes quantidades de resíduos. Dentre os resíduos gerados a partir das etapas de produção de café solúvel, as águas residuárias destacam pela grande quantidade gerada (45 m<sup>3</sup> por tonelada de café) e pelas características do resíduo, que contém em sua composição um alto teor de matéria orgânica e um grande número de compostos orgânicos, dentre carboidratos, minerais, fenóis, polifenóis, que potencializam sua valorização sustentável. O trabalho objetivou avaliar a cinética de degradação anaeróbia da água residuária de café solúvel (ARCS) para concentrações crescentes de cargas de matéria orgânica aplicadas de 2500 mg DQO L<sup>-1</sup> a 9500 mg DQO L<sup>-1</sup>. O efluente foi obtido da empresa Cocam Cia – Catanduva, SP, e submetido a degradação em frascos reatores de 1000 mL operados em bateladas sequencias em triplicata repetições inoculadas com lodo anaeróbio, incubados à temperatura mesofílica (37°C) por um período de 15 dias. O lodo foi exposto a concentrações iniciais crescentes de matéria orgânica perfazendo um total de dez ciclos de estudo, quatro ciclos correspondem aos ciclos de pré-exposição, onde foi observada uma superprodução de metano e os seis ciclos restantes foram destinados a determinação dos parâmetros cinéticos de degradação anaeróbia. As características avaliadas foram: produção de metano, consumo de matéria orgânica expressada em demanda química de oxigênio (mg DQO L<sup>-1</sup>) e degradação de compostos fenólicos (mg GAE L<sup>-1</sup>) medidas cada 48 horas. Os dados das amostragens temporais da fase gasosa e da fase líquida foram ajustados aos modelos matemáticos de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem com residual respectivamente os quais tiveram bom ajuste e descreveram adequadamente a cinética para produção metanogênica e consumo de substrato apresentando, geralmente, R<sup>2</sup> superior a 99%. Quando maiores cargas orgânicas foram aplicadas aos frascos reatores de 7500 mg L<sup>-1</sup> e 9500 mg L<sup>-1</sup>, foram observadas as maiores taxas de produção de metano de 1073,62 ± 19,97 NmL CH<sub>4</sub> e 1184,28 ± 43,17 NmL CH<sub>4</sub> com remoções máximas de DQO de 66,43 ± 0,59% e 66,83 ± 0,34% respectivamente, evidenciando assim o potencial da ARCS para a bioconversão em energia. Ademais, não se observou um acúmulo de AGVs ao término dos seis ciclos experimentais indicativo de que a operação ocorreu de maneira estável e eficiente e que o processo de digestão anaeróbia tem grande potencial de aplicação no tratamento de águas residuárias de composição complexa e de baixa degradabilidade.

**Palavras – chaves:** processo anaeróbio, fenóis, produção de metano, água residuária de café solúvel, ácidos voláteis.

## ABSTRACT

HUACCHA, K. **Anaerobic digestion of wastewater from soluble coffee production.** 2022. 92 p. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

In recent decades, has been notorious the growth in the production and consumption of soluble coffee in the world, leading to the generation of large amounts of waste. Among the residues generated from the stages of soluble coffee production, wastewater stands out for the large amount generated (45 m<sup>3</sup> per ton of coffee) and for the characteristics of the residue, which contains in its composition a high content of organic matter and a large number of organic compounds, including carbohydrates, minerals, phenols and polyphenols, that enhance its sustainable valorization. The objective of this study was to evaluate the anaerobic degradation kinetics of soluble coffee wastewater (SCWW) for increasing concentrations of organic matter loads applied from 2500 mg COD L<sup>-1</sup> to 9500 mg COD L<sup>-1</sup>. The effluent was obtained from Cocam Cia – Catanduva, SP, and subjected to degradation in 1000 mL reactor flasks operated in sequential batches in triplicate repetitions inoculated with anaerobic sludge, incubated at mesophilic temperature (37 °C) for a period of 15 days. The sludge was exposed to increasing initial concentrations of organic matter for a total of ten study cycles, four cycles correspond to the pre-exposure cycles, where was observed an overproduction of methane and the remaining six cycles were destined to determine the kinetic parameters of anaerobic degradation. The characteristics evaluated were: methane production, consumption of organic matter expressed as chemical oxygen demand (mg COD L<sup>-1</sup>) and degradation of phenolic compounds (mg GAE L<sup>-1</sup>) measured every 48 hours. The data of the the temporal samplings of the gas phase and the liquid phase were adjusted to the mathematical models of modified Gompertz and first order kinetics with residual respectively which had good fit and adequately described the kinetics for methanogenic production and substrate consumption presenting generally R<sup>2</sup> greater than 99%. When higher organic loads were applied to reactor flasks of 7500 mg L<sup>-1</sup> and 9500 mg L<sup>-1</sup>, were observed highest methane production rates of 1073,62 ± 19,97 NmL CH<sub>4</sub> and 1184,28 ± 43,17 NmL CH<sub>4</sub> with maximum COD removals of 66,43 ± 0,59% and 66,83 ± 0,34% respectively, thus showing the potential of SCWW for bioconversion into energy. Furthermore, no accumulation of VFA was observed at the end of the six experimental cycles, indicating that the operation occurred in a stable and efficient manner and that the anaerobic digestion process has great potential for application in the treatment of wastewater of complex composition and low degradability.

**Keywords:** anaerobic process, phenols, methane production, soluble coffee wastewater, volatile acids.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama geral do processamento de café.....	19
Figura 2: Diagrama do processamento de café solúvel.....	21
Figura 3: Etapas do processo de digestão anaeróbia.....	24
Figura 4: Vias de degradação do fenol: via caproato e via 4-hidroxibenzoato.....	28
Figura 5: Resumo do desenho experimental.....	34
Figura 6: Etapas do trabalho experimental.....	35
Figura 7: % DQO dos compostos orgânicos presentes na água residuária de café solúvel.....	46
Figura 8: Produção acumulada de CH <sub>4</sub> medida experimentalmente (NL) (•) (▪), ajuste da equação exponencial aos dados experimentais de produção de CH <sub>4</sub> (—) e produção acumulada de CH <sub>4</sub> teórica (NL) (....) calculada para os ciclos de pré-exposição operados em bateladas sequenciais.....	51
Figura 9: Ciclos de bateladas durante o Ensaio 1 (E1) do estudo da degradação de compostos fenólicos presente na água residuária de café solúvel.....	53
Figura 10: Produção metanogênica e consumo de substrato ajustados ao modelo de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem com residual para os reatores do Ensaio 1.....	56
Figura 11: Ácidos orgânicos de cadeia curta no início e final de cada ciclo durante o Ensaio 1 (E1) .....	58
Figura 12: Análise de microscopia óptica do lodo anaeróbio após o processo de digestão anaeróbia no Ensaio 1 (E1) .....	61
Figura 13: Ciclos de bateladas durante o Ensaio 2 (E2) do estudo da degradação de compostos fenólicos presente na água residuária de café solúvel .....	64
Figura 14: Produção metanogênica e consumo de substrato ajustados ao modelo de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem com residual para os reatores do Ensaio 2.....	68
Figura 15: Ácidos orgânicos de cadeia curta no início e final de cada ciclo durante o Ensaio 2 (E2) .....	70
Figura 16: Ácidos orgânicos de cadeia curta ao longo do tempo para o ciclo 6 (9500 mg L <sup>-1</sup> ) durante o Ensaio 2 (E2) .....	71
Figura 17: Análise de microscopia óptica do lodo anaeróbio após o processo de digestão anaeróbia no Ensaio 2 (E2) .....	74

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização do efluente da produção de café solúvel.....	22
Tabela 2: Configuração dos ensaios para os ciclos de pré-exposição.....	37
Tabela 3: Configuração dos ciclos de digestão anaeróbia para os ensaios 1 e 2.....	38
Tabela 4: Parâmetros físico – químicos, frequência e metodologias utilizadas para monitorar a qualidade das águas residuárias de café durante a degradação anaeróbia.....	40
Tabela 5: Características físico – químicas da água residuária de café solúvel.....	41
Tabela 6: Caracterização do lodo advindo da Avícola Dacar.....	46
Tabela 7: Configuração do ensaio de pré-exposição.....	49
Tabela 8: Concentração de substrato expressada em termos de DQO e compostos fenólicos totais no início e final dos ciclos para o Ensaio 1 (E1) .....	52
Tabela 9: Valores para os parâmetros de ajuste de Gompertz modificado e constante cinética de primeira ordem com residual para o Ensaio 1 (E1) .....	54
Tabela 10: Concentração de substrato expressada em termos de DQO e compostos fenólicos totais no início e final dos ciclos para o Ensaio 2 (E2) .....	60
Tabela 11: Eficiência de remoção de compostos fenólicos no processamento anaeróbio das águas residuais do despolpamento de café em diferentes tipos de reatores.....	62
Tabela 12: Valores para os parâmetros de ajuste de Gompertz modificado e constante cinética de primeira ordem com residual para o Ensaio 2.....	65
Tabela 13: Série de sólidos para o início (Ciclo 1) e final (Ciclo 6) no Ensaio 1.....	66
Tabela 14: Série de sólidos para o início (Ciclo 1) e final (Ciclo 6) no Ensaio 2.....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AGV – Ácidos graxos voláteis
- ARCS – Água residuária de café solúvel
- AME – Atividade metanogênica específica
- CE – Condutividade eléctrica
- CED – Culturas energéticas dedicadas
- COT – Carbono Orgânico Total
- DA – Digestão anaeróbia
- DBO – Demanda biológica de oxigênio
- DQO – Demanda química de oxigênio
- k – velocidade máxima de produção metanogênica
- $k_h$  – constante de hidrólise
- P – Metano produzido e acumulado em um determinado tempo
- $P_{CH_4máx}$  – Produção máxima de metano acumulado
- pH – Potencial hidrogeniônico
- ST – Sólidos totais
- STV – Sólidos totais voláteis
- STF – Sólidos totais fixos
- SST – Sólidos suspensos totais
- SSV – Sólidos suspensos voláteis
- SSF – Sólidos suspensos fixos
- t – tempo
- T – Temperatura requerida
- TCO – Taxa de carregamento orgânico
- $\theta_h$  – Tempo de detenção hidráulica
- $\theta_c$  – Tempo de retenção celular
- UASB – Reator anaeróbio de fluxo ascendente
- $\lambda$  – período de tempo até o início da produção de metano

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1. BENEFICIAMENTO DO CAFÉ.....	18
2.2. CAFÉ SOLÚVEL OU INSTANTÂNEO.....	19
2.2.1. Produção.....	19
2.2.2. Efluente líquido obtido da produção.....	21
2.3. DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	23
2.3.1. Fatores que afetam o processo de DA.....	25
2.3.2. Presença de inibidores ou compostos tóxicos na DA.....	27
2.3.3. Digestão anaeróbia do efluente líquido da produção de café solúvel.....	30
3. HIPÓTESES.....	32
3.1. HIPOTESE PRINCIPAL.....	32
3.2. HIPOTÉSES SECUNDÁRIAS.....	32
4. OBJETIVOS.....	32
4.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	32
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
5.1. Desenho experimental.....	32
5.2. Efluente e inóculo.....	35
5.3. Caracterização do inóculo.....	35
5.4. Caracterização da ARCS.....	36
5.5. Estudo da Digestão anaeróbia.....	36
5.5.1. Ensaio voltado à pré-exposição do inóculo à ARCS.....	36
5.5.2. Ensaio voltado à estimativa de parâmetros cinéticos da degradação anaeróbia da ARCS.....	37
5.5.3. Análise microscópica.....	38
5.5.4. Estimativa de parâmetros cinéticos.....	38
5.5.5. Remoção biológica de DQO.....	39
5.5.6. Demanda química de oxigênio recuperada como metano.....	39
5.6. Análises físico – químicas.....	40
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
6.1. Caracterização da água residuária de café solúvel.....	40
6.2. Caracterização do inóculo.....	46

<b>6.3.</b>	<b>Digestão Anaeróbia das águas residuárias de café solúvel .....</b>	<b>47</b>
<b>6.3.1.</b>	<b>Pré-exposição do inóculo à água residuária de café solúvel.....</b>	<b>48</b>
<b>6.3.2.</b>	<b>Estudo cinético da degradação anaeróbia da água residuária de café solúvel</b>	
	51	
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>74</b>
<b>8.</b>	<b>SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS .....</b>	<b>75</b>
<b>9.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A disposição dos resíduos gerados pela agroindústria diretamente no meio ambiente representa uma das causas principais de poluição ambiental e também significa uma perda de recursos, que poderia ser recuperados através da produção de diferentes metabólitos com valor comercial. (PANDEY et al., 2000; AJILA et al., 2011). A cafeicultura, assim como as atividades industriais ao longo da cadeia de produção do café, dá origem a uma quantidade elevada de resíduos e subprodutos (WOICIECHOWSKI et al., 2000), uma vez que trata-se de uma das bebidas mais consumidas no mundo e é a segunda maior mercadoria comercializada depois do petróleo. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (2015), o Brasil é considerado o maior produtor e exportador de café no mundo, sendo também o segundo maior consumidor deste produto após os Estados Unidos.

Os resíduos sólidos do beneficiamento do café (celulose e casca) representam aproximadamente 45% da fruta (MURTHY et al., 2012), sendo que entre 5000 e 15000 L de águas residuárias são gerados por cada tonelada de café processado (WOLDESENBET et al., 2014). Considerando a produção de café no Brasil para 2017, foram beneficiadas aproximadamente 3,6 milhões de toneladas de café (CONAB, 2018), que geraram entre 27 e 432 milhões de toneladas de resíduos sólidos (celulose e casca) e entre  $1,8 \times 10^{10}$  e  $5,4 \times 10^{10}$  L de águas residuárias.

Nos últimos anos, o crescimento do mercado de café instantâneo, influenciado pelo desejo do consumidor moderno por um produto de conveniência, tem sido impressionante pelo fato de café solúvel ter preparo fácil e cômodo, sem o uso de nenhum equipamento e sem ter que descartar o pó úmido. Consequentemente, a produção de café solúvel dá origem a elevados volumes de águas residuárias com alto potencial de poluição. Em geral, as águas residuárias contêm elevados valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), sólidos suspensos totais (SST) e turbidez. O pH pode estar em uma ampla faixa, dependendo de suas fontes. Além disso, a concentração e a composição do efluente proveniente da planta de manufatura dependem do tipo de produto a ser processado, do programa de produção, dos métodos operacionais, do desenho da planta de processamento, e da gestão da água no processo (LAWRENCE et al., 2004).

De acordo com Angelidaki et al. (2007), o alto conteúdo de matéria orgânica nas águas residuárias sinaliza seu potencial de uso como fonte de energia renovável através de processos anaeróbios. A digestão anaeróbia consiste essencialmente em reações metabólicas sucessivas que degradam a matéria orgânica através da hidrólise, acetogênese/acidogênese e finalmente estágios de metanogênese. Essas etapas promovem a biodegradação de matéria orgânica produzindo



diferentes moléculas e precursores da bioenergia. Nesse contexto, o tratamento biológico das águas residuárias do café para obter energia e produtos biotecnológicos pode reduzir o impacto ambiental negativo e aumentar os ganhos econômicos na agroindústria.

Segundo Sgroi et al. (2015), o uso do biogás como fonte de energia continua crescendo nos últimos anos, devido principalmente ao fato de que pode ser usado para produzir energia elétrica e térmica, o que reduz o consumo de combustíveis fósseis através da exploração de energias renováveis. Esta prática aumenta a sustentabilidade de sistemas agrícolas e, ao mesmo tempo, realizando o tratamento de dejetos agroindustriais e animais (HOLM et al., 2009). Desta forma, há um esforço global visando a modificação de processos de produção para que os resíduos possam ser reciclados e considerados como matéria prima para outros processos de aproveitamento energético.

Nesse sentido, esta pesquisa teve como objetivo principal caracterizar as águas residuárias advindas da produção de café solúvel e estudar a digestão anaeróbia dos efluentes com objetivo de produzir metano e intermediários de interesse. Dessa maneira, pretende-se demonstrar o potencial da digestão anaeróbia para a degradação de matéria orgânica do efluente, bem como para recuperação de energia limpa (biogás). O biogás pode e deve ser utilizado como fonte de energia alternativa complementar no próprio processo produtivo estudado, uma vez que é grande necessidade da busca pela redução dos gastos energéticos e da utilização de novos combustíveis substitutos ou complementares no processamento do café (PRADO, 2006).

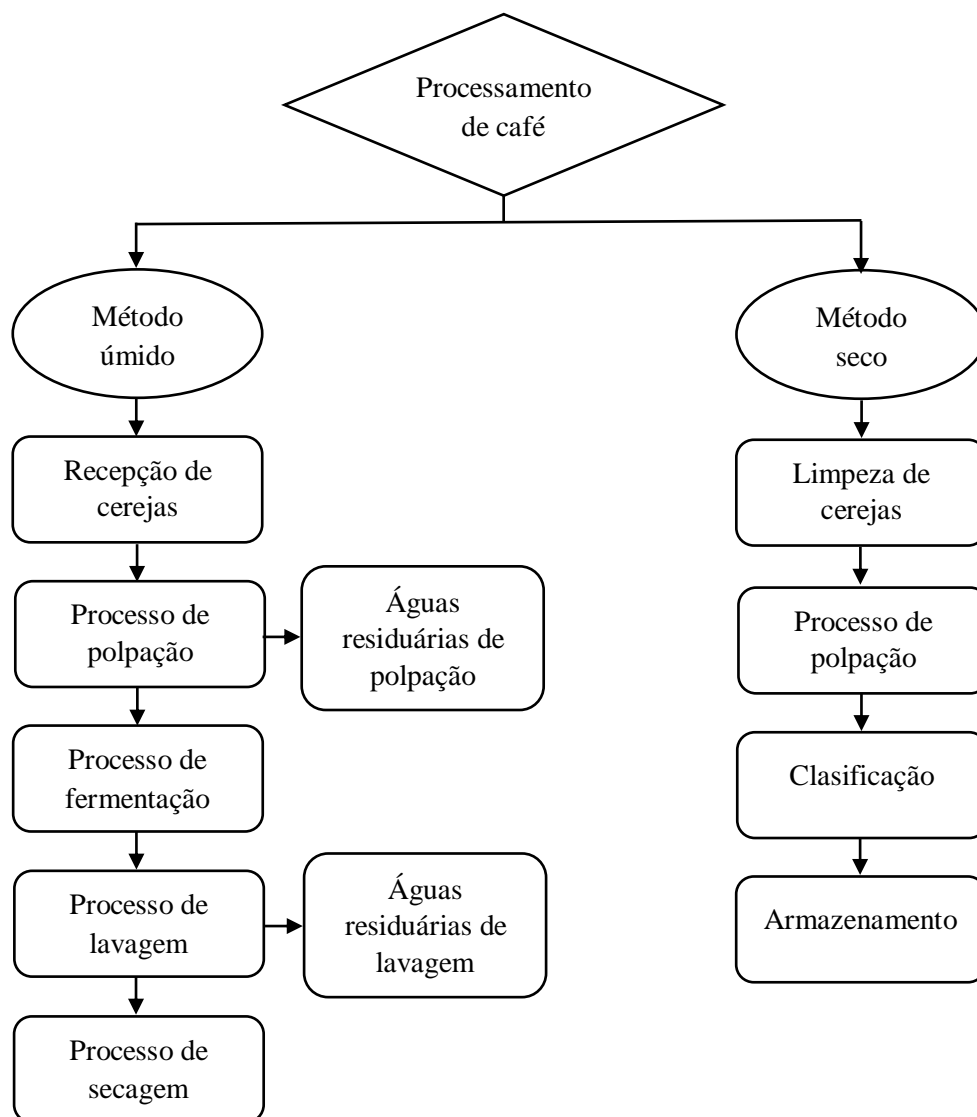
## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. BENEFICIAMENTO DO CAFÉ

De acordo com Mussatto et al. (2011), o café é uma das bebidas mais consumidas no mundo e é a segunda mercadoria mais comercializada depois do petróleo. Estatísticas de diferentes fontes mostram uma evolução na produção de café em todo o mundo e a participação de países da América Latina (57,33%), Ásia (31,26%) e África (11,41%) em uma produção mundial de café estimada em 152 milhões de sacas de 60 kg (COFFEE PRODUCTION WORLDWIDE, 2018). Os países responsáveis por mais de 80% da produção mundial são: Brasil (35,07%), Vietnã (19,29%), Colômbia (8,56%), Indonésia (6,03%), Etiópia (4,43%), Honduras (3,56%) e Índia (3,49%). Atualmente, o Brasil é o principal produtor mundial de café, com 50,92 milhões de sacas produzidas em 2022 (CONAB, 2022) e com exportações de 35,577.553 mil sacas de café verde, 47.747 mil sacas de café torrado e moído; 3,724.956 mil sacas de café solúvel durante o 2022 (CECAFE, 2022).

Os grãos de café são produzidos a partir da planta *Coffea L.*, da qual existem mais de 70 espécies. No entanto, apenas duas dessas espécies são negociadas internacionalmente; Arábica (*Coffea Arábica*), considerada a mais nobre de todas as plantas de café, responsável por 75% da produção mundial, e Robusta (*Coffea Canephora*), considerada mais resistente a pragas totalizando 25% da produção no mundo (BELITZ et al. 2009; ETIENNE, 2005). O café arábica é uma bebida dita mais macia, com aroma e sabor pronunciados enquanto o café robusta é caracterizado por ser uma bebida neutra, com amargor pronunciado, maior teor de cafeína e sólidos solúveis, sendo utilizado principalmente na fabricação de cafés solúveis (FERRÃO et al., 2007; MERLO, 2012). As demais espécies são importantes em programas de melhoramento genético, como fontes de variabilidade genética para produtividade, resistência a pragas e doenças, teor de cafeína, sólidos solúveis, tolerância a estresse abióticos, arquitetura da planta e qualidade da bebida (FAZOULI et al., 2007; FERRÃO et al., 2007).

O café é processado por dois métodos que são: o método úmido e o método seco (Figura 1). No método de processamento por via seca, o café é processado na sua forma intacta, produzindo frutos secos, como café em coco ou café natural (PIMENTA, 2003). No entanto, o café processado por via úmida é considerado de qualidade superior, tem melhor aroma/sabor e obtém preços mais altos comparado ao café processado pelo método seco. Essas diferenças inegáveis são amplamente atribuídas ao fato de que o processamento por via úmida requer uma classificação adequada dos frutos (SELMAR et al., 2001).

**Figura 1:** Diagrama geral do processamento de café.

Fonte: Cruz et al. (2017b)

## 2.2. CAFÉ SOLÚVEL OU INSTANTÂNEO

### 2.2.1. Produção

O café solúvel é fabricado a partir dos grãos de café verde por meio de uma série de processos, incluindo torrefação, moagem, extração, concentração, secagem e embalagem. No mercado, existem três formas de café instantâneo: o liofilizado, o pulverizado e o extrato líquido de café (ENG WEE EAN, 2008).

O processo de fabricação de café solúvel é apresentado na Figura 2 e de acordo com Esteves (2006), começa com a colheita de café com o mínimo de grãos verdes, não ultrapassando 5%. Dá-se, após a colheita, a secagem dos grãos. Estes são dispostos em terreiros onde secam ao sol, sendo revolvidos periodicamente para que todos sequem por igual. Posteriormente, o

processo de torrefação é o responsável pelo desenvolvimento do aroma e sabor característicos do café. Após a torra cada grão é quebrado em aproximadamente três partes para facilitar a extração. A moagem ou quebra, é necessária para que os sólidos solúveis e as substâncias voláteis responsáveis pelo aroma e sabor sejam disponibilizados para a extração. O extrato de café é o resultado da percolação da água nos grãos torrados e quebrados. Neste processo a água chega a aproximadamente 150°C e os sólidos solúveis dos grãos são extraídos. O extrato produzido é concentrado até atingir aproximadamente 43% de sólidos solúveis. A concentração pode ser por evaporação ou por congelamento. O concentrado pode ser comercializado líquido ou pode ser seco e comercializado em pó. A secagem do extrato pode ser feita de duas maneiras: por pulverização (spray dried) ou por congelamento (freeze dried). O processo de secagem por congelamento (liofilização) consiste no congelamento do extrato, moagem e sublimação da água passando o produto por uma câmara de vácuo.

Na secagem por pulverização, o café é pulverizado em uma câmara com fluxo de ar quente. As gotículas são secas transformando-se em pó que é separado do ar por ciclones. Saindo do secador por pulverização o produto pode ser diretamente embalado ou passar por uma fase de aglomeração. Nesta fase, vapor de água é colocado em contato com o pó, aglomerando as partículas e diminuindo a densidade aparente.

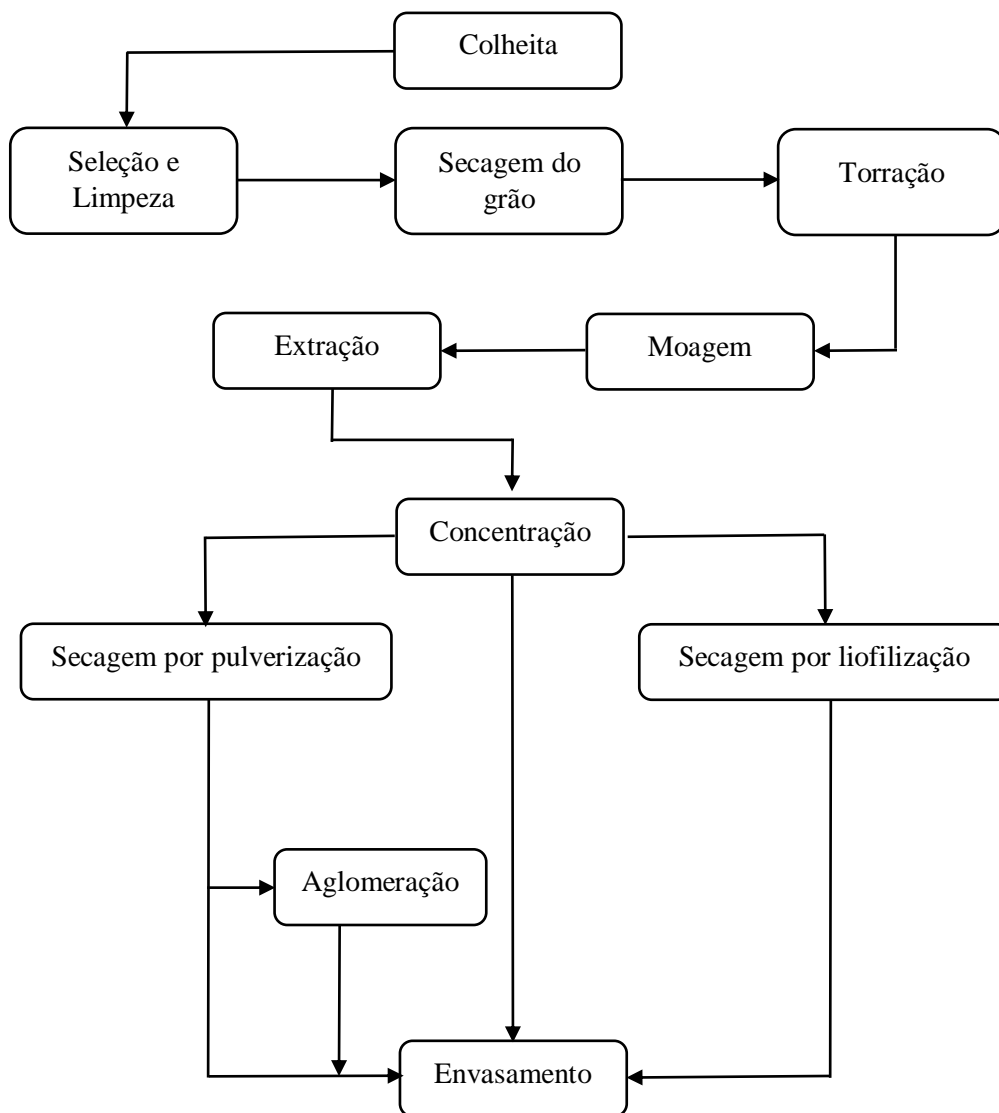
Segundo a International Coffee Organization (2017), a indústria de café solúvel gera cerca de 2,8 milhões de toneladas dos produtos de café instantâneo, que correspondem a 15% do mercado global de produtos de café. Esta indústria é responsável por um consumo hídrico de cerca de 39000 m<sup>3</sup>/ton de café em pó instantâneo. Embora a maior parte desse volume seja utilizado para a produção agrícola, o café solúvel tem maior consumo hídrico do que os produtos de café normalmente fermentados, torrados e moídos (CHAPAGAIN E HOEKSTRA, 2003).

Uma parte significativa da água consumida por esta indústria é usada para extrair componentes do café solúvel do pó, mas também é removida termicamente por evaporação e liofilização para produzir o café em pó (CLARKE E MACRAE, 1987). Além do alto consumo de água, grandes volumes de águas residuárias são gerados a partir desse processo. O efluente líquido da produção de café solúvel contém elevadas concentrações de matéria orgânica, sólidos suspensos totais e turbidez. O efluente possui coloração, marrom escura característica, valor de pH situado em uma ampla faixa, dependendo de seus estágios de produção.

Durante o processamento industrial de grãos de café para a produção de café solúvel, apenas 20% do peso desse grão é convertido em café, enquanto o restante são subprodutos indesejáveis (pele, pericarpio, polpa, mucilagem e borra). Mussatto et al. (2011) relataram que a geração de resíduos sólidos a partir da preparação de café instantâneo era de cerca de 6 milhões de toneladas por ano em todo o mundo, enquanto trabalhos mais recentes estimaram que os

subprodutos do café seriam aproximadamente 15 milhões de toneladas por ano (ORREGO et al., 2018).

**Figura 2:** Diagrama do processamento de café solúvel.



Fonte: Adaptado de Neves (2006)

### 2.2.2. Efluente líquido obtido da produção

Durante a produção de café solúvel são gerados aproximadamente entre 40 e 45 L de águas residuárias por quilogramas de café (OLLER et al., 2011). Este efluente contém pigmentos castanhos escuros e alta demanda química de oxigênio (DQO) causando danos ecológicos e estéticos significativos para corpos de água receptores (PANCHANGAM E JANAKIRAMAN, 2015; TOMIZAWA et al., 2016). O efluente proveniente da produção de café solúvel contém diferentes compostos (por exemplo: cafeína, lipídios, ácidos clorogênicos, melanoidinas) e

macromoléculas (como ligninas, taninos, ácido húmico, polissacarídeos e proteínas) (FARAH, 2012; MUSSATTO et al., 2011; RODRIGUES e BRAGAGNOLO, 2013).

De acordo com Lawrence et. al (2004), a composição da água residuária final dependerá do tipo de processos de extração e secagem desenvolvidos, bem como das técnicas utilizadas para efetuar a remoção dos sólidos. Portanto, em termos de demanda química de oxigênio (DQO), a qualidade das águas residuárias pode variar de cerca de 4000 mg L<sup>-1</sup> a valores tão altos quanto 60000 mg L<sup>-1</sup>. Além do mais, a relação entre a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e a DQO (DBO/DQO) foi encontrada muito baixa na faixa de 0,20 – 0,35, o que sugere que há presença de materiais de natureza recalcitrante nas águas residuárias de café solúvel tornando a degradação biológica do efluente difícil. Os valores dos parâmetros físicos – químicos são descritos na Tabela 1. Em função da concentração relativamente alta de matéria carbonácea solúvel presente nesse efluente, a digestão anaeróbia parece ser o processo biológico indicado para seu tratamento. No entanto, existem poucos relatos que descrevem tal tratamento.

**Tabela 1:** Caracterização do efluente da produção de café solúvel.

(Continua)

Parâmetros	Valor	Referências
Cor (Pt – Co)	3168	Ibarra – Tarquez et al. (2017)
SDT (mg. L <sup>-1</sup> )	1200	Saxena, D. (2016)
SST (mg. L <sup>-1</sup> )	18756	Saxena, D. (2016)
ST (mg. L <sup>-1</sup> )	19956	Saxena, D. (2016)
Turbidez (NTU)	20,4	Wisniewski et al. (2018)
pH	4,71	Dobrosz – Gómez (2020)
	4,6	Ibarra – Tarquez et al. (2017)
DBO (mg. L <sup>-1</sup> )	726	Dobrosz – Gómez (2020)
	1267	Ibarra – Tarquez et al. (2017)
	1946	Saxena, D. (2016)
	670	Lim (1999)
DQO (mg. L <sup>-1</sup> )	3610	Dobrosz – Gómez (2020)
	3465	Ibarra – Tarquez et al. (2017)
	7785	Saxena, D. (2016)
	3350	Lim (1999)
DBO:DQO	0,20	Dobrosz – Gómez (2020)
	0,35	Ibarra – Tarquez et al. (2017)
	0,25	Saxena, D. (2016)
COT (mg. L <sup>-1</sup> )	1301	Ibarra – Tarquez et al. (2017)

(Conclusão)

Parâmetros	Valor	Referências
CE ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	4900	Wisniewski et al. (2018)
NT ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	28	Saxena, D. (2016)
K ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	42	Saxena, D. (2016)
P ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	3,9	Saxena, D. (2016)
AGV ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	27	Saxena, D. (2016)

Fonte: a autora

### 2.3. DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é um processo biológico em que o carbono orgânico é convertido por meio de reações de oxirredução ao seu estado mais oxidado ( $\text{CO}_2$ ) e sua forma mais reduzida ( $\text{CH}_4$ ). O metano produzido é uma fonte de energia que pode ser utilizada como biocombustível, fonte de eletricidade, ou calor, ou pode ser injetado diretamente na rede de gás natural (JIMENEZ et al., 2015).

O processo de digestão anaeróbia (DA) pode ser descrito nas seguintes etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Figura 3) (AHRING et al., 2003; ANGELIDAKI et al., 2011). Na primeira etapa, as substâncias orgânicas complexas que não podem ser utilizadas diretamente pelas bactérias são descompostas em monômeros solúveis por ação de enzimas hidrolíticas extracelulares produzidas pelos microrganismos fermentativos acidogênicos. A acidogênese é uma fermentação. Nesta etapa, as bactérias acidogênicas convertem monômeros solúveis em ácidos graxos voláteis (AGV), como o ácido acético, ácido propiônico e butírico, acompanhados pela geração de material celular.

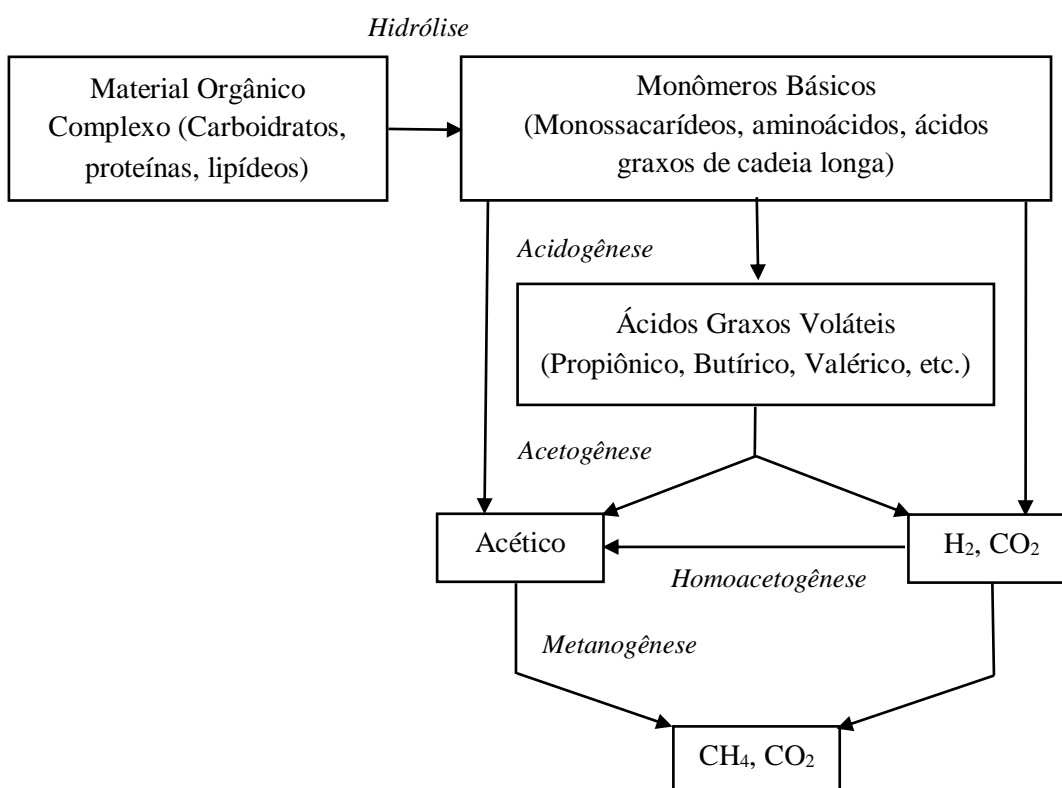
Existem duas vias de produção de AGV. Na primeira via, os resíduos orgânicos simples como monossacarídeos e aminoácidos, são absorvidos pelos microrganismos acidogênicos para produzir ácidos de cadeia curta. Na segunda via, uma pequena parte dos microrganismos acetogênicos, as bactérias homoacetogênicas, utiliza dióxido de carbono e hidrogênio como substratos e os transforma em ácido acético. A maior parte da acetogênese se dá através da conversão dos AGVs em ácido acético. Todas essas reações podem gerar  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$ .

Finalmente, os produtos de acidificação (ácido acético, ácido fórmico,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$ ) são transformados em metano por arqueias metanogênicas estritamente anaeróbias. As arqueias metanogênicas são as principais espécies para a produção de metano, e a manutenção de sua atividade é pré-requisito para o sucesso do sistema. O pH ideal para as arqueias metanogênicas

está entre 6,5 – 7,5 (LI et al., 2019). Um ambiente anaeróbio é uma das condições básicas para o crescimento de arqueias metanogênicas, sendo o potencial de oxirredução, um importante parâmetro (XIN et al., 2018).

Segundo METCALF e EDDY (2003), o biogás produzido pela DA é composto, na sua maior parte, de metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), contendo, ainda, traços de vapor de água ( $\text{H}_2\text{O}$  vapor), gás sulfídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ), nitrogênio ( $\text{N}_2$ ), oxigênio ( $\text{O}_2$ ), hidrogênio ( $\text{H}_2$ ), monóxido de carbono ( $\text{CO}$ ), amônia ( $\text{NH}_3$ ), mercaptanas e outros gases. A composição global do biogás produzido, bem como a sua concentração de metano, varia de acordo com uma série de fatores, tais como: a composição química do efluente, a temperatura, o pH, a acidez e a alcalinidade do meio e, ainda, os nutrientes a serem usados pelas populações microbianas. Outros fatores que interferem na produção de biogás são: o tipo de reator, a atividade metanogênica da biomassa, o tempo de retenção celular, a presença de substâncias inibidoras e ou limitantes do próprio processo, como o excesso de ácidos graxos voláteis e produtos alcalinos, a presença de substâncias tóxicas aos microrganismos e as variações nos parâmetros quantitativos operacionais do reator, tais como: vazão, taxa de carregamento orgânico (TCO) e tempo de detenção hidráulica (TDH) (CHERNICHARO, 2007a).

**Figura 3:** Etapas do processo de digestão anaeróbia.



Fonte: Ersahin et al. (2011)



### 2.3.1. Fatores que afetam o processo de DA

De acordo com Mao et al. (2015), os principais fatores que afetam a DA são: a temperatura, o pH, a relação C/N, a taxa de carregamento orgânico (TCO) e tempo de detenção hidráulica (TDH).

Em relação à temperatura, de acordo com BOWEN et al. (2014), a DA termofílica (55 – 70°C) tem uma vantagem relacionada à velocidade sobre a digestão mesofílica (37°C) como resultado de suas reações mais rápidas e maior capacidade de carga, conseqüentemente, exibindo maior produtividade em comparação com a DA mesofílica. No entanto, pode ocorrer acidificação durante a DA termofílica, em função do processo ser mais sensível às mudanças ambientais do que o processo mesofílico, inibindo a produção de biogás. Outras desvantagens são efluentes de baixa qualidade, aumento da toxicidade e suscetibilidade às condições ambientais.

O pH operacional afeta diretamente o progresso anaeróbio e os seus produtos. A faixa de pH ideal para DA é de 6,8 – 7,4. Em pH 6,0 a população bacteriana dominante é *Clostridium butyricum*, enquanto em pH 8, a espécie *Propionibacterium* prevalece durante a acidogênese anaeróbica com uma cultura quimiostática (HORIUCHI et al., 1999). A composição de AGV também é significativamente afetada pelo pH. Fang e Liu (2002), mostraram que o aumento do pH de 4 para 7 resultou na diminuição do butírico, mas no aumento do acético, enquanto para pH 6,5 e 7, acético e butírico tornaram – se quase igualmente abundantes. Deve ser enfatizado que tanto os microrganismos metanogênicos como os microrganismos acidogênicos têm níveis de pH ideais. A metanogênese é mais eficiente em pH 6,5 – 8,2, e o pH ideal é 7,0 (LEE et al., 2009). O pH ótimo da acidogênese é de 5,5 e 6,5 (KIM et al., 2003).

A relação C/N representa a relação entre a quantidade de carbono e nitrogênio nos materiais orgânicos. Segundo Yen e Chiu (2007) para uma digestão anaeróbia adequada a relação C/N não deve ser alta nem baixa. No caso de uma alta relação C/N, os microrganismos metanogênicos consomem nitrogênio rapidamente, o que resulta em menor rendimento de gás. Por outro lado, uma relação C/N mais baixa causa acúmulo de amônia e valores de pH superiores a 8,5, o que é tóxico para os metanogênicos. De acordo com Weiland (2006), a razão C/N na faixa de 20 – 30 é a melhor para um processo com alto rendimento de gás. Parkin e Owen (1986) e Pan et al. (2008) também encontraram razões C/N ideais em DA entre 20 e 30 com uma razão ideal de 25.

A TCO representa a quantidade de sólidos voláteis alimentados em um digestor anaeróbio por dia com alimentação contínua (MAO et al., 2015). Com o aumento de TCO, o rendimento do biogás aumenta até certo ponto, mas o equilíbrio e a produtividade do processo de digestão

também podem ser perturbados. Adicionar um grande volume de alimentação diariamente pode resultar em mudanças no ambiente do digestor e inibir a atividade bacteriana durante os estágios iniciais da fermentação. Esta inibição bacteriana ocorre devido a uma TCO extremamente alta levando a uma maior atividade bacteriana de hidrólise/acidogênese do que a atividade metanogênica, portanto, aumenta a produção de AGV, o que eventualmente leva a uma acidificação irreversível. O pH do digestor pode diminuir a tal ponto que até o processo de hidrólise é inibido. Nessa situação, microrganismos metanogênicos já não são capazes de converter AGV em metano.

O TDH é o tempo necessário para a degradação completa da matéria orgânica ou pode ser definido também como o tempo médio que a matéria orgânica permanece em um digestor. O valor do TDH está associado à taxa de crescimento microbiano, temperatura, TCO e composição do substrato, e é inversamente proporcional à velocidade de degradação; quanto menor a velocidade de degradação, maior deve ser o TDH (WELLINGER A., 1999).

De acordo com Anderson et al. (2003), outro fator importante na digestão anaeróbia, é a concentração de hidrogênio que afeta o valor do pH em reatores anaeróbios. Um aumento no nível de  $H_2$  leva a uma diminuição do pH no digestor. O pH baixo pode inibir as bactérias metanogênicas e isso, por sua vez, pode resultar em uma acidificação adicional do digestor à medida que os ácidos voláteis se acumulam (ARCHER e KIRSOP, 1990). O hidrogênio também pode afetar o potencial de conversão do substrato de muitas das principais bactérias anaeróbias. Um acúmulo de hidrogênio pode inibir o crescimento de organismos produtores de hidrogênio e alterar o fluxo de elétrons, resultando na formação de produtos mais reduzidos, como lactato, ácido butírico ou etanol em vez de ácido acético.

A pressão parcial de hidrogênio (1ppm (v/v)  $H_2$  produz  $10^{-6}$  atm. de pressão em pH 7) tem um papel vital na formação de metano e substrato. Em outras palavras, a conversão de AGV em metano depende da pressão parcial de  $H_2$ . Por exemplo, se as reações para etanol, ácidos butírico, propiônico são substratos metanogênicos termodinamicamente favoráveis, a pressão parcial de  $H_2$  deve ser mantida abaixo de  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  atm., respectivamente. Por outro lado, para que o  $H_2$  seja convertido em metano, é necessária uma concentração de  $H_2$  superior a  $10^{-6}$  atm. (SPEECE, 1996).

### 2.3.2. Presença de inibidores ou compostos tóxicos na DA

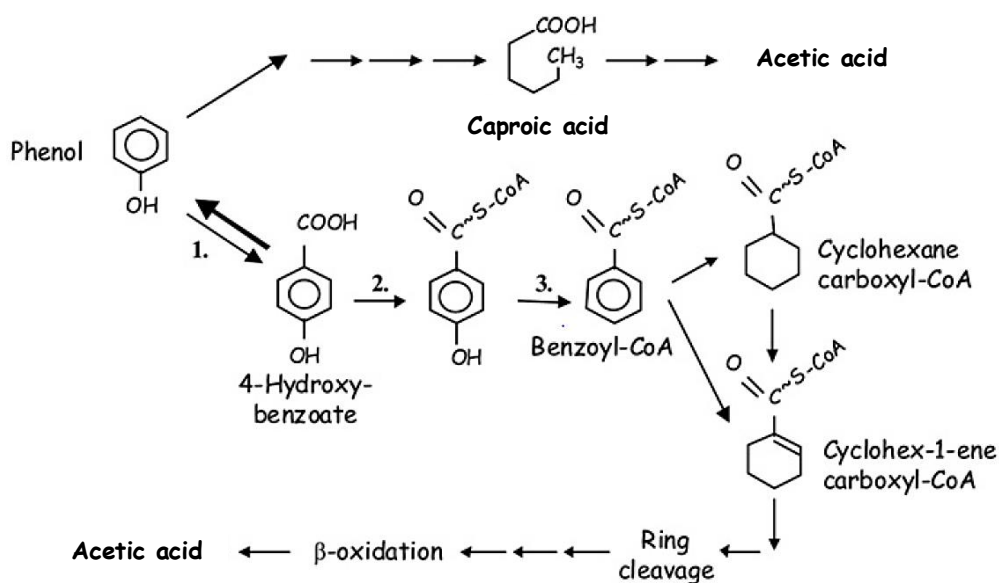
O processo de inibição é usualmente caracterizado por um decréscimo na velocidade de produção de metano e por acúmulo de ácidos orgânicos (CHEN et al., 2008). O processo de inibição depende da concentração dos inibidores presentes, da composição do substrato e da adaptação dos microrganismos aos elementos inibidores (DEUBLEIN AND STEINHAUSER, 2008). A digestão anaeróbia é sensível a inibidores ou tóxicos orgânicos específicos como compostos fenólicos, aromáticos nitrogenados, cíclicos (CHEN et al., 2008; TOMASSO et al., 2015), ácidos graxos de cadeia longa (CODIGNOLE LUZ et al., 2018; DINSDALE et al., 1996a) e compostos inorgânicos como amônia, sulfeto e metais pesados que podem causar transtornos ou falhas no processo biológico.

Segundo Amarowics (2007), os compostos fenólicos podem precipitar proteínas, inibir enzimas digestivas e diminuir a utilização de vitaminas e minerais, ademais de ser tóxicos para os microrganismos em altas concentrações (ARRIEL et al., 2016).

Campos, Prado e Pereira (2010) caracterizaram as águas residuárias do processamento do café e encontraram a presença de compostos fenólicos com um teor médio de 954,2 mg L<sup>-1</sup>. Segundo os autores, estes compostos são considerados tóxicos, atuando como inibidores das atividades biológicas de microrganismos e de organismos vegetais e animais, e em excesso, podem interferir no tratamento biológico destes efluentes, inibindo as bactérias e outros microrganismos presentes.

Arriel (2014) observou que o ácido cafeico é o principal composto fenólico nas águas residuárias de café, seguido da catequina e galocatequina. Os processos biológicos para degradar compostos fenólicos incluem o tratamento aeróbio e o anaeróbio. O tratamento aeróbio é o método mais usado para a degradação destes compostos, embora as tecnologias de tratamento anaeróbio ganharam ampla aceitação nas últimas décadas, devido a que economizam energia para a aeração, produzem quantidades substancialmente menores de lodo e convertem poluentes orgânicos em metano (CHEN et al., 2016). De acordo com Levén et al. (2012), existem duas rotas de degradação dos compostos fenólicos em condições anaeróbias de tratamento biológico (Figura 4), a rota que possui 4 – hidroxibenzoato como intermediário, levando à benzoil – CoA e a rota em que o ácido capróico é o intermediário, resultando em ácido acético ao final da via. A degradação anaeróbia de compostos fenólicos pode ocorrer em temperaturas mesofílicas (37°C) e termofílicas (55°C). Segundo Levén; Nyberg e Schnurer (2012), a maioria dos consórcios responsáveis pela degradação do fenol em condições anaeróbias são microrganismos mesofílicos.

**Figura 4:** Vias de degradação do fenol: via capróico e via 4-hidroxibenzoato.



Fonte: Adaptado de Elshahed et al., 2001; Fang et al., 2006; Li et al., 2000.

Na Figura 4: Enzimas envolvidas na degradação do fenol: 1. Fenol carboxilase/4-hidroxibenzoato descarboxilase, 2. 4-hidroxibenzoato-CoA ligase, 3. 4-hidroxibenzoato-CoA redutase.

A fração de lipídeos é caracterizada por óleos, gorduras e ácidos graxos livres, e juntamente com as proteínas e carboidratos compõem os principais compostos orgânicos de águas residuárias das indústrias de alimentos (RAUNKJAER et al., 1994; HENZE, M. 1992). Os lipídeos encontram-se na forma de triacilgliceróis e uma pequena parte como ácidos graxos de cadeia longa (AGCL). A composição de triacilgliceróis e AGCL é bastante similar, constituindo, aproximadamente, 80% de ácido palmítico, esteárico, oleico e linoleico, sendo o ácido oleico o mais abundante (QUÉMÉNUER et al., 1994). Durante a digestão anaeróbia, os AGCL são metabolizados pelas bactérias acidogênicas, as quais excretam substâncias simples, como ácidos graxos voláteis de cadeia curta, álcoois, ácido láctico, compostos minerais, além de novas células (ABREU, 2007; BOHRZ, 2010).

Os ácidos graxos voláteis (AGV) são os intermediários mais importantes do processo anaeróbio, já que sua conversão gera os principais precursores de metano. Porém, seu acúmulo no reator devido a perturbações causadas pela temperatura, pH, taxa de carregamento orgânico, compostos tóxicos, entre outros, pode dar como resultados concentrações inibidoras para as arqueias metanogênicas. Estes ácidos podem penetrar nas membranas celulares da população metanogênica e desnaturar as proteínas celulares (DEUBLEIN AND STEINHAUSER, 2008). Uma vez assimilados, os AGV induzem uma diminuição do pH a nível intracelular e, conseqüentemente ocorre um decréscimo na velocidade metabólica (CCE, 2000), prejudicando a transferência de substratos e produtos (CIRNE et al., 2007). O ácido acético encontra-se presente

em maior quantidade do que outros AGV, os ácidos propiônico e butírico têm um efeito mais inibidor nas bactérias metanogênicas do que o ácido acético (WEILAND, 2010). Valores superiores a 1,5 da razão ácido propiônico / ácido acético podem ser indicadores de problemas no processo (CCE, 2000).

Na DA, os sulfatos são reduzidos a sulfetos pela ação de bactérias sulfato – redutoras (CHEN et al., 2008). Existem dois estágios de inibição resultantes da redução dos sulfatos: i) a primeira está relacionada com a competição gerada pelas bactérias sulfato – redutoras, relativamente à utilização de substratos orgânicos e inorgânicos que também são utilizados por outras bactérias que participam na DA, ii) a segunda forma resulta da toxicidade do sulfeto sobre vários grupos de bactérias. Os sulfatos podem inibir a formação de metano, uma vez que as bactérias sulfato – redutoras são dominantes, têm poucas necessidades energéticas e não necessitam de uma relação simbiótica. De um modo geral, concentrações em sulfatos inferiores a 300 – 600 mg. L<sup>-1</sup> não provocam problemas, embora esta situação dependa das condições de pH e temperatura do meio (DEUBLEIN AND STEINHAUSER, 2008).

O nitrogênio total compreende nitrogênio orgânico, amônia (NH<sub>3</sub>), amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). A fração orgânica consiste em uma mistura complexa de compostos, incluindo aminoácidos, peptídeos e proteínas. O nitrogênio amoniacal é resultante da digestão de águas residuárias ricas em compostos proteicos. Nessa degradação são formados principalmente amônia livre (NH<sub>3</sub>) e amônio ionizado (NH<sub>4</sub>), sendo a amônia livre o componente mais tóxico para arqueias metanogênicas pela sua capacidade de penetrar na membrana celular causando deficiência de potássio (GERARDI, 2006; KAYHANIAN, 1999). A presença de cada forma de nitrogênio amoniacal no meio é dependente de três parâmetros: da concentração de amônia total, pH e temperatura. Para Liu and Sung (2002), concentrações de amônia abaixo de 200 mg. L<sup>-1</sup> são benéficas para o processo anaeróbio, enquanto Hejnfelt and Angelidaki (2009) ressaltaram que a inibição dos microrganismos metanogênicos ocorre na presença de amônia em níveis superiores a 7000 mg. L<sup>-1</sup>, situação que tende também a propiciar o acúmulo de AGVs, em digestores mesofílicos com tratamento de resíduo alimentar (ZHANG et al., 2010).

Os metais pesados podem estar frequentemente presentes em concentrações significativas em águas residuárias industriais e esgotos. Os metais pesados incluem cromo, ferro, cobalto, cobre, zinco, chumbo, cádmio, mercúrio e níquel (ALTAS, 2009). No entanto, muitos metais são necessários para a ativação ou funcionamento de enzimas e coenzimas na digestão anaeróbia embora quantidades excessivas podem levar à inibição ou toxicidade do processo. De acordo com Li e Fang (2007), os metais pesados são inibidores para bactérias acetogênicas e acidogênicas (YU E FANG, 2001; ZAYED E WINTER, 2000)

### 2.3.3. Digestão anaeróbia do efluente líquido da produção de café solúvel

São poucos os estudos sobre processos voltados à recuperação energética do efluente líquido de café solúvel por meio de tratamentos de digestão anaeróbia. Os encontrados serão comentados a seguir.

Fernandez e Forster (1993a) fizeram um estudo comparativo do funcionamento de dois filtros anaeróbios mesofílico e termofílico, operados a 37°C e 55°C tratando uma água residuária sintética baseada em café solúvel. Cada um dos reatores foi iniciado do mesmo jeito. Os filtros foram operados com vazão de alimentação de 1,6 L. d<sup>-1</sup> e um tempo de retenção hidráulica de 1 dia. A DQO inicial no reator foi de 2 000 mg. L<sup>-1</sup>, logo aumentou no dia 6 para 4 000 mg. L<sup>-1</sup>, esta carga orgânica foi mantida até o dia 110, quando foi aumentada novamente para 6 000 mg. L<sup>-1</sup>. Os resultados mostraram que o filtro mesofílico apresentou um melhor desempenho em termos de remoção de DQO (%), produção de gás (L. dia<sup>-1</sup>) e rendimento de metano (%) do que o filtro termofílico quando a carga foi aumentada de 4 000 para 6 000 mg DQO. L<sup>-1</sup>. As medições das concentrações de AGV no efluente do filtro mesofílico mostram que tanto o acético quanto o propiônico estavam presentes em baixas concentrações, enquanto o filtro termofílico exibiu um grau apreciável de instabilidade, sugerindo que a água residuária sintética de café solúvel continha algum componente (ou combinação de componentes) que tinha um efeito inibitório sobre os processos anaeróbios na faixa de temperatura termofílica. A inibição do sistema foi atribuída a presença de material fenólico.

Dinsdale et. al (1996b) realizaram um estudo sobre a digestão anaeróbia do efluente líquido real da produção de café solúvel em reatores UASB. O efluente de café obtido da fábrica Nestle (Hayes, Londres, Reino Unido) apresentou até quatro vezes valores mais altos de carga orgânica do que as águas residuárias do café usadas por Hajipakkos (1992), apresentando valores de DQO na faixa de 7400 a 18000 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> em comparação com 4000 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>. Isso pode levar a níveis muito mais elevados de compostos inibidores presentes neste efluente específico. A digestão anaeróbia da água residuária do café instantâneo foi conduzida por mais de 100 dias em reatores UASB mesofílico (35 °C) e termofílico (55 °C). Ambos reatores UASB mesofílico e termofílico alcançaram digestão estável com taxas de carregamento orgânico (TCO) de até 10 000 mg DQO. L<sup>-1</sup>. d<sup>-1</sup>. (TDH=24h). Taxas de carregamento orgânico mais elevadas para o reator mesofílico resultaram em falhas do reator devido ao aumento das concentrações de ácidos graxos voláteis totais (AGVT). O UASB termofílico alcançou operação estável em uma TCO de 11 400 mg DQO. L<sup>-1</sup>. d<sup>-1</sup> (TDH=21h), mas uma TCO de 13 300 mg DQO. L<sup>-1</sup>. d<sup>-1</sup> (TDH=18h) resultou em aumento nos AGV de 80 para 600 mg. L<sup>-1</sup>. O rendimento de metano foi de 2,9x10<sup>-4</sup> L. mg DQO<sup>-1</sup> para o reator mesofílico e 2,7x10<sup>-4</sup> L. mg DQO<sup>-1</sup> para o reator termofílico, ambos abaixo do valor teórico de 3,5x10<sup>-4</sup> L. mg DQO<sup>-1</sup>. Os pesquisadores concluíram que tanto a digestão

mesofílica quanto a termofílica podem ser usadas com sucesso no tratamento de efluentes de produção de café instantâneo em reatores UASB.

Novita (2016) realizou um estudo para determinar o potencial de biodegradabilidade da água residuária sintética de café solúvel. Os inóculos usados foram: lodo granular da indústria de cerveja advindo de um reator anaeróbio UASB e lodo floculento de uma planta de recuperação de água advindo de um reator CSTR. O teste de biodegradabilidade (BMP) foi realizado em 3 etapas, a quantidade de inóculos para o primeiro lote foi de cerca de 40% volume (20:20) composto por lodo granular e floculento com concentrações de águas residuárias de café sintético de 10 000 mg. L<sup>-1</sup>, 20 000 mg. L<sup>-1</sup> e 30 000 mg. L<sup>-1</sup> sem ajuste de pH. O segundo lote composto somente por lodo granular em torno de 30 % volume com concentrações de café sintético de 10 000 mg. L<sup>-1</sup>, 15 000 mg. L<sup>-1</sup>, 20 000 mg. L<sup>-1</sup> e 30 000 mg. L<sup>-1</sup> com ajuste de pH (6,5 a 7,0) e finalmente para o terceiro lote usou-se lodo floculento (30%) em ácido nicotínico (1000 mg. L<sup>-1</sup>, 5000 mg. L<sup>-1</sup>, 10 000 mg. L<sup>-1</sup>) e fenol (1000 mg. L<sup>-1</sup>, 5000 mg. L<sup>-1</sup>, 10 000 mg. L<sup>-1</sup>) com ajuste de pH (6,5 a 7,0). Os resultados mostraram que o primeiro lote foi moderadamente degradável a 10 000 mg. L<sup>-1</sup> com tendência a diminuir a produção metanogênica com o aumento da concentração de DQO. Mesmo sem ajuste de pH, os microrganismos puderam – se adaptar em condições ácidas, exceto em alto valor de DQO de 30 000 mg. L<sup>-1</sup>. O teste de biodegradabilidade no segundo lote com lodo granular não foi capaz de degradar altas concentrações de águas residuárias sintéticas (30 000 mg. L<sup>-1</sup>). As porcentagens de CH<sub>4</sub> atingiram o ponto máximo no segundo dia e tenderam – se a estabilizar por até 40 dias. O processo anaeróbio para o terceiro lote funcionou de maneira ótima na concentração de fenol de 1000 mg. L<sup>-1</sup>. A estabilidade do processo foi alcançada após 28 dias quando o 61% do fenol estava degradado. No entanto, a decomposição anaeróbia por lodo granular não foi alcançada em altas concentrações de fenol (5000 mg. L<sup>-1</sup>, 10 000 mg. L<sup>-1</sup>), porque os componentes aromáticos do fenol são difíceis de degradar apenas com lodo granular. Por tanto a produção de biogás na digestão anaeróbia foi proporcional à taxa de utilização de substrato, além disso a combinação de lodo floculento e lodo granular com ampla diversidade de microrganismos foi o melhor para converter matéria orgânica em biogás.

De todo o exposto, observa – se, portanto, a necessidade de estudar mais profundamente os compostos fenólicos do efluente do café solúvel e seu papel na inibição do consórcio. Com isso será possível identificar qual etapa do processo é mais afetada, acidogênica, acetogênica ou metanogênica, tornando possível a otimização do processo anaeróbio para a geração de ácidos ou metano.

### **3. HIPÓTESES**

#### **3.1. HIPOTESE PRINCIPAL**

O processo biológico de digestão anaeróbia é adequado para a conversão da matéria orgânica presente na ARCS.

#### **3.2. HIPOTESES SECUNDÁRIAS**

- O processo de digestão anaeróbia pode ser utilizado para recuperar energia a partir do efluente da produção de café solúvel.
- O processo de degradação anaeróbia, em condições de inibição da metanogênese, pode produzir intermediários de interesse e elevado valor agregado.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. OBJETIVO PRINCIPAL**

Avaliar a produção de biogás (metano) e a redução de matéria orgânica por meio do processo de digestão anaeróbia das águas residuárias da produção de café solúvel, utilizando frascos reatores operados em bateladas sequenciais.

#### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o efeito do aumento da carga orgânica volumétrica no desempenho dos frascos reatores operados em bateladas sequenciais, para a produção de metano e tratamento da ARCS.
- Estimar os parâmetros cinéticos de degradação anaeróbia da ARCS.
- Determinar metabólitos importantes do processo de digestão anaeróbia na ARCS.

### **5. MATERIAL E MÉTODOS**

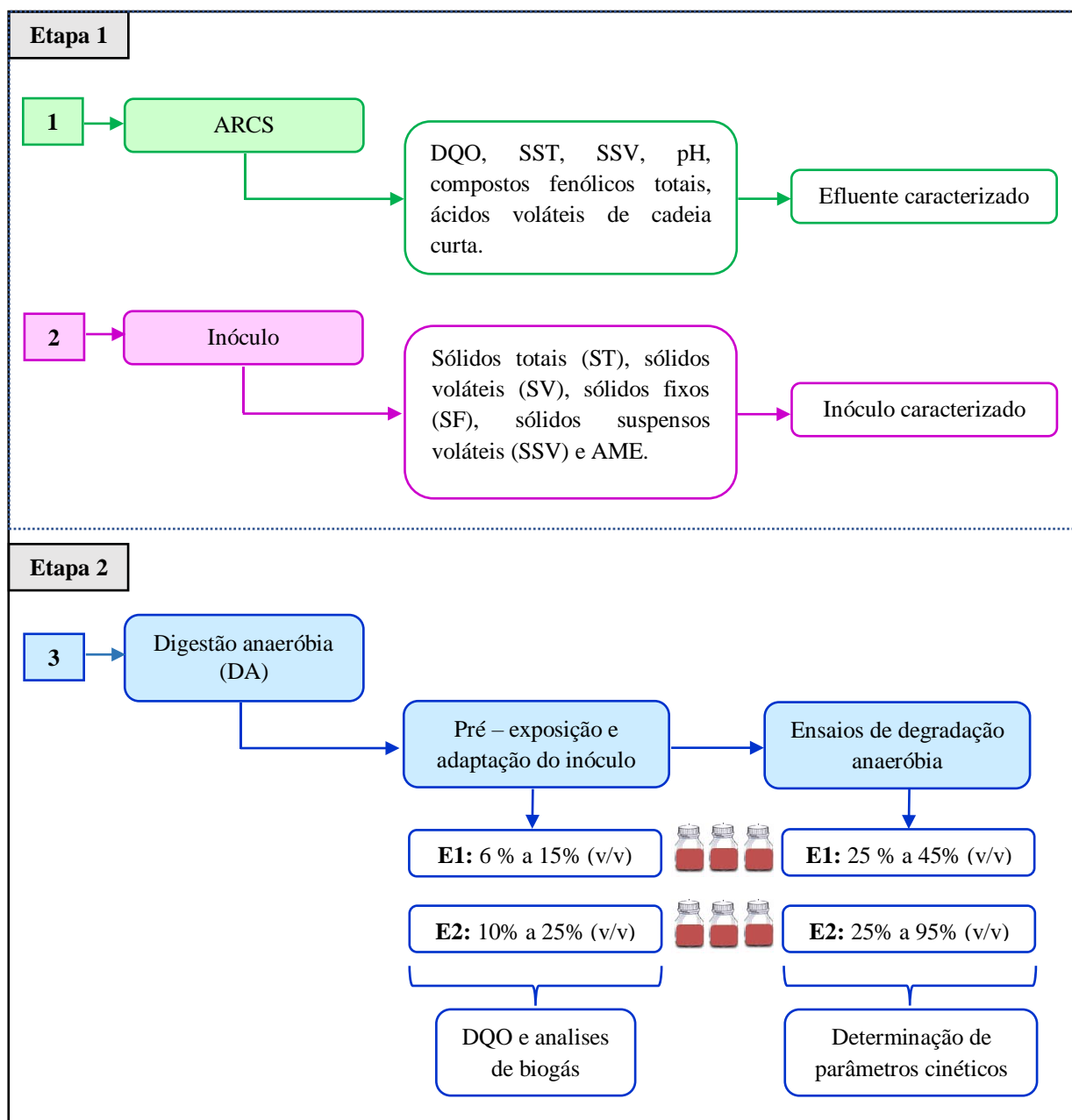
#### **5.1. Desenho experimental**

O trabalho experimental do estudo foi realizado conforme a Figura 5. O aparato experimental foi instalado e monitorado nas dependências no Laboratório de Biotecnologia Ambiental do Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (LBA/ZEA/FZEA/USP). A primeira etapa do estudo consistiu inicialmente na caracterização das águas residuárias obtidas da produção de café solúvel, e do lodo anaeróbio granular. Na segunda etapa, foram montados dois ensaios em paralelo em triplicata. Em tais ensaios, os frascos reatores foram operados em bateladas sequenciais expostos a concentrações iniciais crescentes de matéria orgânica, perfazendo um total de dez ciclos, os quatro primeiros ciclos foram denominados ciclos de pré-exposição, pois nesta etapa teve como objetivo a adaptação do consórcio microbiano à ARCS, ademais se observou



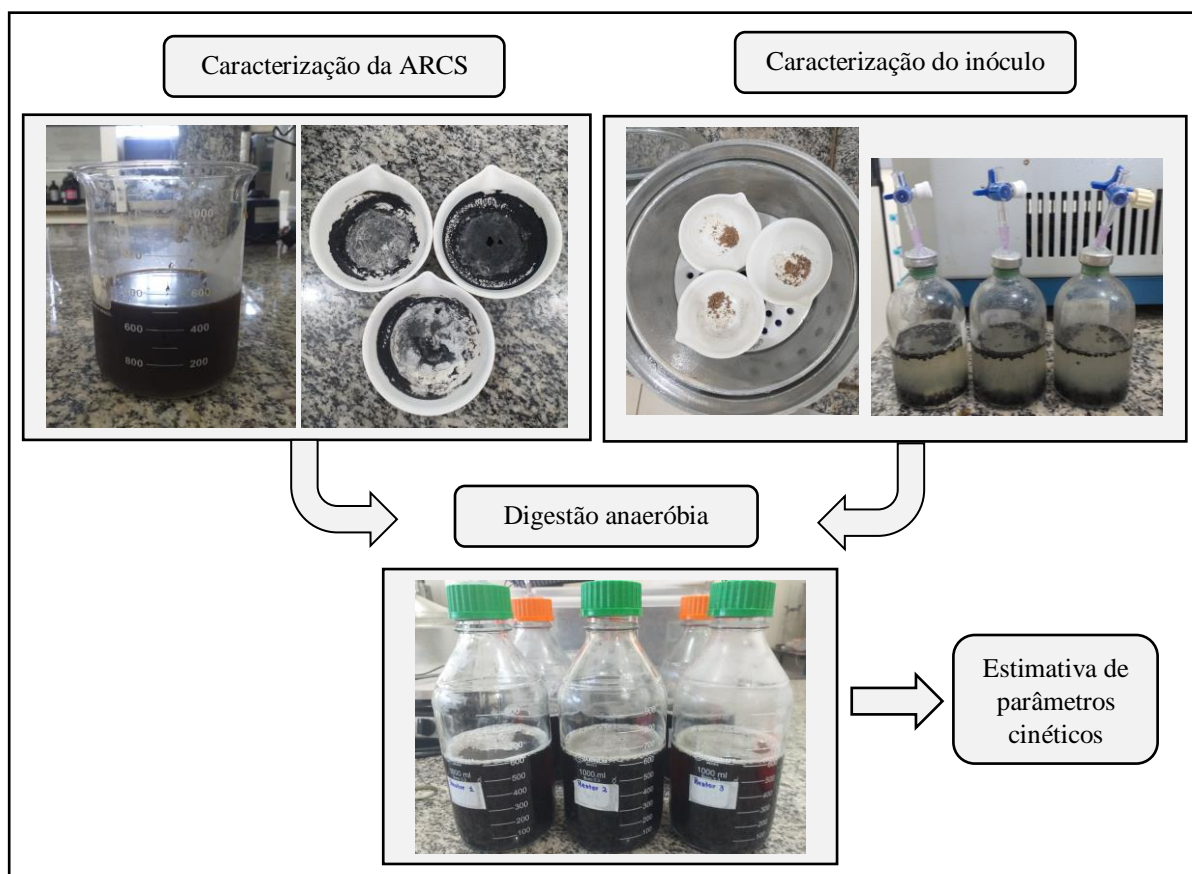
uma superprodução de metano (Figura 6). Por esta razão, os seis ciclos restantes foram destinados à estimativa dos parâmetros cinéticos de degradação anaeróbia. Foram montados dois ensaios em paralelo, ensaio 1 (E1) e ensaio 2 (E2), alimentados com concentrações crescentes de matéria orgânica. E1 foi montado com intuito de estudo do processo em condições não inibitórias, enquanto E2 foi montado com objetivo de acompanhar o processo em condições de inibição. A alimentação foi planejada assim para que se preservasse E1 de um possível efeito inibitório testado em E2. Durante os seis ciclos, foram coletadas amostras líquidas e gasosas com a finalidade de avaliar o processo de digestão anaeróbia e determinar os parâmetros cinéticos do processo de acordo com a metodologia desenvolvida por Simões (2020). Os modelos matemáticos de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem foram ajustados aos dados experimentais e descreveram adequadamente a cinética de produção metanogênica e consumo de substrato respectivamente, apresentando geralmente, um  $R^2$  superior a 99%. Os parâmetros medidos ao longo dos ciclos experimentais foram: matéria orgânica ( $\text{mg DQO L}^{-1}$ ), fenóis ( $\text{mg GAE L}^{-1}$ ) e produção de metano.

**Figura 5:** Resumo do desenho experimental.



Fonte: a autora

**Figura 6:** Etapas do trabalho experimental.



Fonte: a autora

## 5.2. Efluente e inóculo

O efluente líquido da produção de café solúvel foi gentilmente cedido pela empresa Cocam Cia – Catanduva, SP. Para a condução dos experimentos foi utilizado lodo anaeróbio advindo de um reator do tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) utilizado para o tratamento de efluente de matadouro de aves (Avícola Dacar – Tiete, SP).

## 5.3. Caracterização do inóculo

O inóculo foi caracterizado por meio de análise de Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Voláteis (STV), Sólidos Totais Fixos (STF), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), de acordo com a metodologia apresentada no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012) e Atividade Metanogênica Específica (AME) conforme metodologia apresentada por Angelidaki et al. (2009).

## 5.4. Caracterização da ARCS

Após a coleta da água residuária de café solúvel, preservou-se o efluente no freezer a fim de minimizar a atividade microbiana, manter as características físico-químicas do efluente e reduzir o risco de degradação da matéria orgânica durante o armazenamento/transporte. O tempo entre a coleta e o preparo das amostras para as análises físico-químicas não foi superior a 12 h. As amostras foram descongeladas a temperatura de 4°C e logo filtradas, com o objetivo de separar os sólidos grosseiros, que estiveram presente no efluente. ARCS foi caracterizada com os seguintes parâmetros: Sólidos Totais (ST) - mg. L<sup>-1</sup>, Sólidos Totais Voláteis (STV) - mg. L<sup>-1</sup>, Sólidos Suspensos Totais (SST) – mg. L<sup>-1</sup>, Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) – mg. L<sup>-1</sup>, pH, cor aparente, condutividade elétrica (μS.cm<sup>-1</sup>), fósforo total - mg L<sup>-1</sup>, nitrogênio total kjeldahl – mg. L<sup>-1</sup> e matéria orgânica expressa em DQO – mg. L<sup>-1</sup>, de acordo com a metodologia estabelecida pela *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), concentração de ácidos voláteis de cadeia curta – mg. L<sup>-1</sup> (ADORNO; HIRASAWA; VARESCHE, 2014), compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico – EAG (BRAVO et al., 2013) e açúcares totais (DUBOIS et al., 1956; BLUNDI & GADELHA, 2001).

As análises para determinação de macro e micronutrientes foram realizadas no Laboratório de Saneamento do Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos (SHS/EESC/USP) de acordo com o procedimento estabelecido pela 23<sup>a</sup> Edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

## 5.5. Estudo da Digestão anaeróbia

### 5.5.1. Ensaio voltados à pré-exposição do inóculo à ARCS

Para o início dos ensaios de digestão anaeróbia, o lodo granular utilizado neste estudo foi lavado com solução de micro e macro nutrientes, ambas soluções foram preparadas segundo Angelidaki et al. (2009). Após preparação do lodo, os sólidos voláteis totais foram acertados em torno de 8 g STV.L<sup>-1</sup> de acordo com a metodologia proposta por Simões (2020), para logo ser inoculado nos frascos reatores de 1000 mL operados em bateladas sequenciais incubados a temperatura de 37 °C. Do volume total do frasco, 600 mL foram utilizados como volume útil para reação. Ao final de cada ciclo de pré-exposição, o inóculo foi lavado com solução de macro e micronutrientes pois era utilizado como inóculo do ciclo seguinte. Todos os ciclos de estudo da digestão anaeróbia foram montados em triplicata para cada um dos ensaios, de modo que os dois experimentos foram conduzidos ao mesmo tempo. Cada ciclo de estudo teve uma duração de 15 dias aproximadamente. A Tabela 2 apresenta os ciclos de pré-exposição conduzidos durante a fase desse estudo. Para alimentação dos frascos reatores se usaram duas estratégias de concentração de matéria orgânica diferente, a alimentação para E1 foi iniciada com 600 mg L<sup>-1</sup>

enquanto para E2 foi de 1000 mg L<sup>-1</sup>, a alimentação foi assim feita para avaliar os resultados obtidos numa primeira exposição do inóculo à ARCS. Posteriormente, as concentrações de matéria orgânica foram acrescentadas de acordo com os resultados obtidos.

**Tabela 2:** Configuração dos ciclos para pré-exposição.

Ciclos	Ensaio 1 (E1)	Ensaio 2 (E2)
	Reatores 1-3 Efluente administrado (%v/v)	Reatores 4-6 Efluente administrado (%v/v)
PE-C1	6,00	10,00
PE-C2	15,00	15,00
PE-C3	15,00	15,00
PE-C4	15,00	25,00

Fonte: a autora

Os parâmetros analisados durante os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia para os ciclos de pré-exposição foram: a demanda química de oxigênio (DQO), compostos fenólicos totais e análises de biogás por cromatografia gasosa.

### 5.5.2. Ensaios voltados à estimativa de parâmetros cinéticos da degradação anaeróbia da ARCS

Os parâmetros cinéticos da digestão anaeróbia das águas residuárias de café solúvel foram estimados por meio de ensaios voltados à determinação da produção de biogás, de acordo com as recomendações descritas por Angelidaki et al. (2009). Os ensaios foram realizados em triplicata e montados em frascos de 1000 mL com um volume útil de 600 mL operados em bateladas sequenciais e incubadas a temperatura de 37°C. A concentração de lodo nos frascos reatores foi de 8 g.L<sup>-1</sup>, advindos dos ciclos anteriores de pré-exposição e a suplementação de nutrientes se deu através da diluição do efluente da produção de café solúvel em meio basal constituindo de acordo com Angelidaki et al. (2009). Os experimentos foram conduzidos em ciclos de digestão com matéria orgânica crescente, variando na faixa de concentração inicial de 2500 mg L<sup>-1</sup> a 4500 mg L<sup>-1</sup> para E1, e de 2500 mg L<sup>-1</sup> a 9500 mg L<sup>-1</sup> para E2, perfazendo 6 ciclos experimentais mostrados na Tabela 3. Ao final de cada ciclo, o inóculo foi novamente lavado com solução de macro e micronutrientes para a retirada de material recalcitrante. Os ciclos foram encerrados após 15 dias, quando a produção de biogás se manteve constante por três dias consecutivos. Assim, os reatores foram monitorados em relação a produção de biogás e degradação de matéria orgânica e no final do ciclo, foram realizadas amostragens para a determinação de matéria orgânica e produção de metabólitos de interesse (ácidos voláteis). De posse dos perfis de concentração de substratos e

produto, os parâmetros cinéticos de degradação de matéria orgânica expressam em DQO, fenóis totais e produção de metano foram estimados.

**Tabela 3:** Configuração dos ciclos de digestão anaeróbia para os ensaios 1 e 2.

Ciclos	Ensaio 1 (E1)	Ensaio 2 (E2)
	Reatores 1-3	Reatores 4-6
	Efluente administrado	Efluente administrado
	(% v/v)	(% v/v)
1	25,00	25,00
2	25,00	45,00
3	45,00	45,00
4	45,00	55,00
5	25,00	75,00
6	25,00	95,00

Fonte: a autora

### 5.5.3. Análise microscopia

Para avaliação microscópica de alíquota do inóculo anaeróbio granular dos frascos reatores foi utilizado microscópio óptico de contraste de fase *Olympus BX60* e câmera habilitada com captura de imagens *Evolution QE e software Image-Pro Plus 4,5*. As alíquotas do lodo anaeróbio foram sobrepostas em ágar na concentração 2% em lâminas, a fim de que imagens nítidas pudessem ser obtidas.

### 5.5.4. Estimativa de parâmetros cinéticos

Os valores da produção metanogênica (BPM) acumulados ao longo do tempo de duração dos ensaios foram ajustados segundo o modelo de Gompertz modificado por Zwietering et al. (1990), apresentado na Equação 1. A partir de tal ajuste, foi possível estimar a máxima produção metanogênica esperada ( $P_{CH_4}$ ) em mL e a velocidade máxima de produção metanogênica ( $k$ ) em mL. dia<sup>-1</sup>, assim como o período de tempo até o início da produção de metano ( $\lambda$ ) em dias. Sendo  $e$  o número de Euler. O método de Levenberg – Marquardt (Microsoft Origin 9.0) foi utilizado para tal ajuste.

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

Para a degradação do substrato foi utilizado o modelo de cinética de primeira ordem com concentração residual para o cálculo da constante de primeira ordem ( $k_1$ ) em dia<sup>-1</sup> de acordo com a metodologia adaptada de Pinho et al. (2004) apresentada na Equação 2. Os ajustes foram realizados utilizando o método de Levenberg – Marquardt (Microsoft Origin 9.0).

$$S = S_R + (S_0 - S_R)e^{(-k_1 t)} \quad (2)$$

Em que S é a demanda química de oxigênio no tempo (t) em mg DQO L<sup>-1</sup>; S<sub>R</sub> é a DQO residual medida no final da batelada (em mg DQO L<sup>-1</sup>); S<sub>0</sub> é a DQO inicial (em mg DQO L<sup>-1</sup>); k<sub>1</sub> é a constante cinética de primeira ordem (em d<sup>-1</sup>).

### 5.5.5. Remoção biológica de DQO

Para calcular a remoção biológica de DQO usou-se a diferença entre a DQO de entrada (afluente) e a DQO saída (efluente), tendo então a porcentagem de remoção de DQO indicada pela Equação 3 (CHERNICHARO, 2007).

$$\% DQO_{remov} = \frac{DQO_{afllu} - DQO_{efllu}}{DQO_{afllu}} \times 100 \quad (3)$$

Sendo:

%DQO<sub>remov</sub> = Porcentagem de DQO removida

DQO<sub>afllu</sub> = Concentração de DQO afluente

DQO<sub>efllu</sub> = Concentração de DQO efluente

### 5.5.6. Demanda química de oxigênio recuperada como metano

O índice de metano recuperado em DQO (I<sub>CH<sub>4</sub></sub>) ou índice de conversão do substrato a metano foi calculado entre a produção máxima de metano acumulado medido ao final de cada ciclo, em equivalente DQO (P<sub>CH<sub>4</sub></sub> eqCOD) e o decaimento total de matéria orgânica (ΔDQO), também em termos de DQO, conforme descrito na Equação 4.

$$I_{CH_4} = \frac{P_{CH_4} \text{ eqDQO}}{\Delta DQO} \quad (4)$$

Os valores de ICH<sub>4</sub> próximos à unidade (ICH<sub>4</sub>=1) indicam que a conversão do substrato em metano foi próxima do valor teórico. Valores inferiores para este parâmetro indicam que parte da energia obtida com a degradação de substrato foi aplicada no crescimento celular, adaptação do inóculo e síntese enzimática.

## 5.6. Análises físico – químicas

Os parâmetros que foram analisados durante os ensaios de biodegradabilidade das águas residuárias da produção de café solúvel são descritos na Tabela 4.

**Tabela 4:** Parâmetros físico – químicos, frequência e metodologias utilizadas para monitorar a qualidade das águas residuárias de café durante a degradação anaeróbia.

Parâmetros físico – químicos	Frequência	Referências
Demanda química de oxigênio (DQO) –mg L <sup>-1</sup>	4 vezes por semana	APHA (2012)
Compostos fenólicos totais – EAG	4 vezes por semana	BRAVO et al., 2013
Análise de biogás por cromatografia gasosa	Diariamente	APHA (2012)
pH (Potenciômetro)	4 vezes por mês	APHA (2012)
Ácidos graxos voláteis	4 vezes por mês	ADORNO; HIRASAWA; VARESCHE, 2014
Carboidratos	4 vezes por mês	DUBOIS et al., 1956; BLUNDI & GADELHA, 2001
Sólidos Totais Voláteis (STV)	2 vezes por mês	APHA (2012)

Fonte: a autora.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1. Caracterização da água residuária de café solúvel

O efluente oriundo da empresa Cocam Cia (Catanduva – SP) foi caracterizado conforme as análises citadas no item 5.4 e os resultados estão expressos na Tabela 5, junto com os resultados de outros estudos de caracterização da água residuária de café solúvel descritos na literatura.



**Tabela 5:** Características físico – químicas da água residuária de café solúvel.

Parâmetro Físico – químico	Presente estudo	Autores		
		Alexiou et al. (1994)	Saxena (2016)	Manh (2017)
pH	7,33	4,5	6,5	4,9 – 5,3
CE ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ )	527 – 535	-	-	-
DQO ( $\text{mgO}_2. \text{L}^{-1}$ )	10503	10000	7 785	2820 – 5638
Fenóis totais ( $\text{mg. L}^{-1}$ )	1022,589	-	-	-
Carboidratos ( $\text{mg. L}^{-1}$ )	1438,717	-	-	-
Alcalinidade Total ( $\text{mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$ )	2349,814	-	8060	-
Alcalinidade $\text{HCO}_3$ ( $\text{mg HCO}_3.\text{L}^{-1}$ )	616,518	-	-	-
Acidez Volátil ( $\text{mgCH}_3\text{COOH}.\text{L}^{-1}$ )	2712,528	-	-	-
Nitrogênio total kjeldahl ( $\text{mg L}^{-1}$ )	307,766	58	-	45 – 127
Nitrogênio, amônia ( $\text{mg L}^{-1}$ )	49,321	3	28	13,6 – 25,7
Fósforo total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	24,665	28	-	-
Fósforo solúvel ( $\text{mg L}^{-1}$ )	3,285	-	3,9	-
Sólidos totais ( $\text{mg L}^{-1}$ )	10042,333	-	19956	-
Sólidos totais fixos ( $\text{mg L}^{-1}$ )	4304,333	-	-	-
Sólidos totais voláteis ( $\text{mg L}^{-1}$ )	5738,000	-	-	-
Sólidos suspensos totais ( $\text{mg L}^{-1}$ )	268,00	150	18756	420 – 618
Sólidos suspensos fixos ( $\text{mg L}^{-1}$ )	21,33	7,5	-	-
Sólidos suspensos voláteis ( $\text{mg L}^{-1}$ )	246,67	142,5	-	-
Cálcio ( $\text{mg L}^{-1}$ )	354	-	-	-
Cobalto ( $\text{mg L}^{-1}$ )	< 0,007	-	-	-
Cobre ( $\text{mg L}^{-1}$ )	< 0,003	-	-	-
Ferro dissolvido ( $\text{mg L}^{-1}$ )	3,543	-	-	-
Magnésio ( $\text{mg L}^{-1}$ )	87,70	-	-	-
Manganês ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0,526	-	-	-
Molibdênio ( $\text{mg L}^{-1}$ )	< 0,001	-	-	-
Níquel ( $\text{mg L}^{-1}$ )	< 0,008	-	-	-
Potássio ( $\text{mg L}^{-1}$ )	710	-	42	-
Selênio ( $\text{mg L}^{-1}$ )	< 0,001	-	-	-
Zinco ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0,489	-	-	-

Fonte: a autora.

Os resultados encontrados neste estudo para ARCS demonstram um pH próximo da neutralidade de 7,33; longe de ser um inibidor da digestão anaeróbia (TERRY et al., 2005). De acordo com Saxena (2016), para otimizar o processo anaeróbio das águas residuárias de café solúvel, os valores de pH devem ser corrigidos para a faixa entre 6,5 e 7,5; uma vez que os valores geralmente presentes são por volta de pH 4, que é altamente ácido. Lee et al. (2017) referenciaram que uma faixa de pH de 7 – 8 favorece a produção de metano na digestão anaeróbia.

A alcalinidade total obtida foi de 2349,81 mgCaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>, este valor fica próximo do intervalo de 2500 e 5000 mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup> proposto por Grady e Lim (1980) para a maioria das águas residuárias, descrevendo que é suficiente para obter um adequado poder tampão no sistema anaeróbio, isto é, sua condição de resistir a mudanças do pH devido a sua capacidade de neutralizar os ácidos. Águas residuárias com baixa alcalinidade correm risco de sofrer queda repentina no pH do reator, devido a processos como nitrificação ou acidificação.

A condutividade elétrica da água residuária de café solúvel obtida neste estudo variou entre 527 – 535 µS.cm<sup>-1</sup>, este valor é aproximadamente 9 vezes inferior aos valores referenciados por Taner et al. (2019) e Wisniewski et al. (2018) que foram de 3800 e 4900 µS.cm<sup>-1</sup>, respectivamente para efluentes obtidos da produção de café solúvel. De acordo com Lo Monaco et al. (2004) a condutividade elétrica em uma solução é proporcional à concentração iônica presente no meio, já que indica a capacidade de um meio ionizado em conduzir corrente elétrica.

A DQO obtida foi de 10503 mg L<sup>-1</sup>, valor próximo aos relatados por Alexiou et al. (1994) e Saxena (2016) (ver Tabela 5) que usaram águas residuárias de café solúvel para tratamentos biológicos em reatores UASB. Além do mais, o valor encontra-se na faixa relatada por Dinsdale et. al (1996b) com um valor de 7400 a 14000 mg L<sup>-1</sup>, e Fernandez e Forster (1993), com concentrações de 4000 mg L<sup>-1</sup> a 60000 mg L<sup>-1</sup>. Os valores dependem principalmente da composição dos efluentes industriais e das particularidades de cada indústria para os processos de extração e secagem, assim como as técnicas utilizadas para efetuar a remoção dos sólidos.

A água residuária de café solúvel apresentou alta concentração de compostos fenólicos que foi de 1022,59 mg L<sup>-1</sup>, este valor encontra-se na faixa de fenóis observada por Cruz – Salomón (2017b) de 10 – 2904,7 mg L<sup>-1</sup> para águas residuárias obtidas do processamento úmido de café. Enquanto, Arriel et al. (2016) e Prado et al. (2010) relataram concentrações de 233,56 mg L<sup>-1</sup> e 45 – 278 mg L<sup>-1</sup> respectivamente para fenóis totais nesse mesmo efluente, tendo sido o principal composto fenólico encontrado o ácido cafeico, seguido pela catequina e galocatequina. Veeresh et al. (2005) citaram que o conteúdo de compostos fenólicos em águas residuárias agroindustriais pode variar de 10 000 a 17 000 mg L<sup>-1</sup>, sendo normalmente mais alto que o limite padrão de 0,5 mg L<sup>-1</sup>, estabelecido no Brasil para o seu lançamento no meio aquático (CONAMA, 2011). Segundo Fia et al. (2007 e 2013) o fenol pode ser degradado por via anaeróbia, entretanto,

é tóxico aos microrganismos, principalmente aos não aclimatados, mesmo em concentrações baixas, como as de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ .

O valor obtido para carboidratos dissolvidos na ARCS caracterizada nesta pesquisa foi de  $1438,72 \text{ mg L}^{-1}$ , valor 68% superior ao reportado por Novita (2016) que foi de  $459 \text{ mg L}^{-1}$  para uma água residuária sintética de café instantâneo com uma DQO de  $10000 \text{ mg L}^{-1}$  similar ao valor obtido neste trabalho. De acordo com Oosterveld et al. (2003), os principais carboidratos derivados do café torrado encontrados no café instantâneo são: manose (51%), galactose (21%), glicose (16%), ácido urônico (4%) e ramnose (1%). Esses carboidratos estão presentes apenas como polissacarídeos solubilizados, porque os carboidratos de baixo peso do grão de café (oligossacarídeos) são degradados em altas temperaturas de torra, deixando polissacarídeos de cadeia longa no café torrado.

Com relação aos nutrientes, foi observado valores de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) de  $307,77 \text{ mg L}^{-1}$  e nitrogênio amoniacal de  $49,32 \text{ mg L}^{-1}$ , valores superiores aos valores reportados por Manh (2017) para águas residuárias de café solúvel que foram de  $45 - 127 \text{ mg L}^{-1}$  e  $13,6 - 25,7 \text{ mg L}^{-1}$  para nitrogênio total e amoniacal respectivamente. Estudos têm relatado que para a metanogênese ocorrer é necessária a metade da concentração máxima inibitória, no qual o nitrogênio amoniacal varia de  $4000$  a  $12\ 800 \text{ mg NH}_4\text{-N L}^{-1}$  (GALLERT e WINTER 1997; SUNG e LIU, 2003). Por tanto, o efluente caracterizado neste estudo, não apresentou concentrações inibitórias de nitrogênio total e amoniacal.

Para resultados de fósforo solúvel e fósforo total foram obtidos valores de  $3,28 \text{ mg L}^{-1}$  e  $24,66 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. O valor de fósforo total encontrou-se na faixa referenciada por Cruz – Salomon et al. (2017b) em pesquisas com água residuária de café de  $4,4 - 70 \text{ mg L}^{-1}$ . Segundo Schutgens (2010), o fósforo é considerado um elemento importante que contribui para o crescimento dos microrganismos, pois é frequentemente denotado como nutriente ou bioestimulante.

A água residuária de café solúvel apresentou elevados valores de ST, STF e STV, que condiz com a presença de elevadas quantidades de matéria orgânica presente no efluente como taninos, cafeína, polifenóis, entre outros (QIAO et al., 2013). Dos resultados apresentados na Tabela 4, nota-se elevados valores de STV e uma relação STV:ST de 57%, que sugere uma boa tendência à produção de biogás.

Referente aos macros e micronutrientes presentes na água residuária de café solúvel, a literatura demonstra que para todos os processos biológicos existe um requerimento de nutrientes e elementos traços (metais e vitaminas), tais como: nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, sódio, cálcio e ferro. O cálcio está relacionado com o crescimento celular (ALSHIYAB et al., 2008) e conseqüentemente, tem influenciado na produção de  $\text{CH}_4$  (LO et al., 2012b). O íon

magnésio constitui paredes e membranas celulares e é utilizado como ativador e cofator de muitas enzimas (SINHA; PANDEY, 2011; ALSHIYAB et al., 2008). Desse modo, uma concentração mínima de Mg é necessária em processos anaeróbios para produção de CH<sub>4</sub>.

Além disso, alguns metais como: cromo, cobalto, cobre, manganês, molibdênio, níquel, selênio e zinco, conhecidos como elementos traços, são considerados como micronutrientes, sendo a maioria utilizados como parte da ativação das enzimas. No entanto, altas concentrações de elementos traços podem tornar-se tóxicas para o meio (ANGELIDAKI; SANDER, 2004; DEMIREL; SCHERER, 2011; FERMOSO et al., 2009).

O valor para o Ca foi de 354 mg L<sup>-1</sup> e esteve dentro da faixa considerada adequada para o processo anaeróbio de 100<Ca<1035 mg L<sup>-1</sup> (CHEN et al., 2008; LO et al., 2012b). Os valores para concentrações de cobre consideradas ideais estão na faixa de 0,03<Cu<2,4 mg L<sup>-1</sup>, sendo consideradas inibitórias 12,5<Cu<350 mg L<sup>-1</sup> (LIN; SHEI, 2008; MA et al., 2009). O valor obtido neste estudo está abaixo da faixa considerada ótima.

De acordo com Worm et al. (2009), o valor ideal para concentração de Fe é inferior a 0,3 mg L<sup>-1</sup>. O efluente analisado apresentou um valor expressivamente acima da faixa ideal de 3,543 mg L<sup>-1</sup>. Valores de Mg ideais estão em concentrações inferiores a 720 mg L<sup>-1</sup> (LO et al., 2012b). O valor obtido foi de 87,70 mg L<sup>-1</sup> ficando abaixo do valor estabelecido, sendo assim, considerado ideal. Valores ideais para Mo são inferiores a 0,05 mg L<sup>-1</sup> (LO et al., 2012b) e para Se são inferiores a 0,04 mg L<sup>-1</sup> (WORM et al., 2009). Os valores para o efluente caracterizado nesta pesquisa ficaram abaixo do limite de detecção de 0,001 mg L<sup>-1</sup>.

Valores ideais para Ni estão entre 0,03 mg L<sup>-1</sup> e 27 mg L<sup>-1</sup> e faixas inibitórias entre 35 mg L<sup>-1</sup> e 1600 mg L<sup>-1</sup> (ALTAS, 2009; FERMOSO et al., 2009; MA et al., 2009). O valor obtido nesta pesquisa foi muito mais baixo do que o valor considerado ótimo. Para o K, valores ideais estão relatados em concentrações inferiores a 400 mg L<sup>-1</sup> e valores inibitórios estão estabelecidos entre 400 mg L<sup>-1</sup> e 28 934 mg L<sup>-1</sup> (CHEN et al., 2008; LO et al., 2012b). O valor observado na caracterização do efluente (710 mg L<sup>-1</sup>) é considerado, portanto, inibitório.

Os valores ideais para Zn ficam na faixa ideal entre 0,03 mg L<sup>-1</sup> e 2 mg L<sup>-1</sup> e são considerados inibitórios na faixa entre 7,5 mg L<sup>-1</sup> e 1500 mg L<sup>-1</sup> (CHEN et al., 2008; LO et al., 2012a; LO et al., 2012b; WORM et al., 2009). O valor do presente estudo ficou na faixa ideal com 0,489 mg L<sup>-1</sup>.

Em resumo, verificou-se que os micronutrientes: cálcio, magnésio e zinco estão dentro dos limites considerados ótimos para o processo anaeróbio. Enquanto deficiências de cobre, molibdênio, selênio e níquel foram observadas na ARCS, assim como concentrações inibitórias de ferro e potássio.

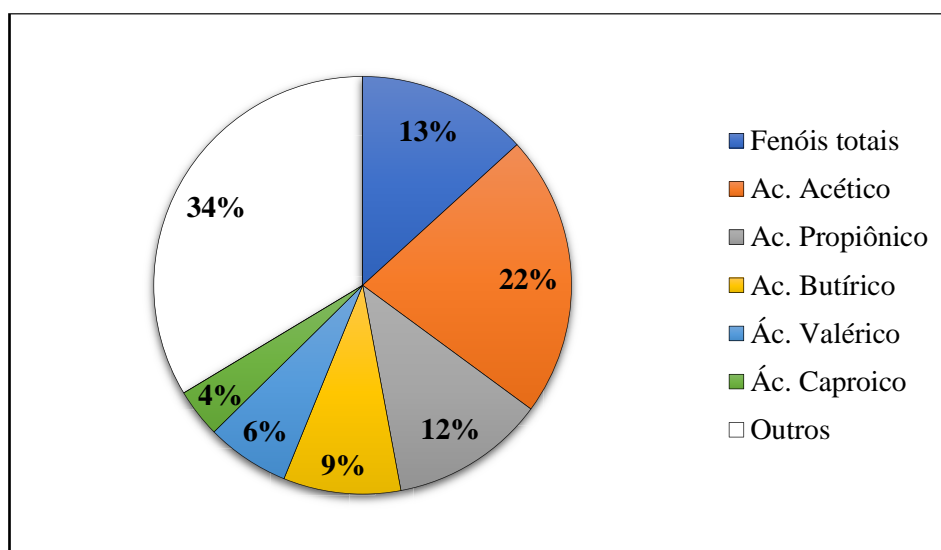
A concentração total de AGV na água residuária de café solúvel foi considerada como a soma das concentrações de ácidos acético, propiônico, butírico, valérico e capróico com um valor total de 4028,345 mg L<sup>-1</sup>. O ácido acético foi encontrado em maior proporção (53%), seguido pelo ácido propiônico (21%), ácido butírico (13%), ácido valérico (8%) e ácido capróico (5%) com concentrações de 2144,91 mg L<sup>-1</sup>, 832,55 mg L<sup>-1</sup>, 524,37 mg L<sup>-1</sup>, 332,43 mg L<sup>-1</sup> e 194,08 mg L<sup>-1</sup> respectivamente. De acordo com o Centro para a Conservação de Energia (2000), valores superiores a 1,5 da razão ácido propiônico / ácido acético no substrato podem ser indicadores de problemas no processo de digestão anaeróbia, sendo a razão obtida neste estudo de 0,39.

As quantidades obtidas nesta pesquisa foram superiores aos referenciadas por Dinsdale et al. (1997), que realizaram um estudo sobre a digestão anaeróbia mesofílica e termofílica da água residuária de café instantâneo em reatores UASB, reportando valores médios na alimentação dos reatores de 329 mg L<sup>-1</sup>, compostos por 301 mg L<sup>-1</sup> ácido acético, 18 mg L<sup>-1</sup> propiônico, 3 mg L<sup>-1</sup> butírico, 8 mg L<sup>-1</sup> valérico.

De acordo com Alexiou et al. (1994) e Kim et al. (2012) o ácido acético é facilmente convertido em metano e outros produtos finais na fase metanogênica. Enquanto, o ácido propiônico não é substrato direto dos microrganismos metanogênicos. Os microrganismos sintróficos acetogênicos convertem compostos orgânicos intermediários como ácido propiônico e butírico, em acético, hidrogênio e dióxido de carbono, para logo ser convertido em gás metano (AQUINO & CHERNICHARO, 2005).

Os ácidos graxos voláteis de cadeia curta não são tóxicos, eles são produzidos e usados como fontes de carbono em reatores anaeróbios. Porém, um aumento do conteúdo de AGV pode ser causado pelo aumento da atividade das bactérias acidogênicas juntamente com a inibição das metanogênicas. Como resultado, altos níveis de AGV se acumulam, levando à inibição da metanogênese e estresse microbiano por rápida acidificação e quedas agudas de pH (WANG et al., 1999; XU et al., 2014) causando a deterioração do processo em reatores anaeróbios. Outro fator importante é a pressão parcial de hidrogênio denotada, muitas vezes por elevadas concentrações de ácidos propiônico e butírico. Nesse sentido, Yeole et al. (1996) verificaram que o rendimento de metano diminuiu quando o pH era de 7 e a concentração de ácido propiônico era de 5000 mg L<sup>-1</sup>. Demirel e Yenigün (2002) concluíram que o ácido propiônico inibe o crescimento de bactérias metanogênicas quando a concentração estava acima de 951 mg L<sup>-1</sup> em um reator de filtro de fluxo ascendente (UFAF). De acordo com Yuan e Zhu (2016), a concentração de tolerância do ácido acético para lodos fica abaixo de 6 000 mg L<sup>-1</sup>, enquanto a concentração de tolerância do ácido propiônico é inferior a 4 000 mg L<sup>-1</sup>.

A Figura 7 apresenta as concentrações dos compostos orgânicos expressados em porcentagem de DQO presentes na água residuária de café solúvel caracterizada nesta pesquisa.

**Figura 7:** % DQO dos compostos orgânicos presentes na água residuária de café solúvel.

Fonte: a autora.

## 6.2. Caracterização do inóculo

Na Tabela 6 estão descritos os valores médios e o desvio padrão dos parâmetros físico-químicos do lodo anaeróbico granular obtido na Avícola Dacar. A escolha desse inóculo foi justificada principalmente por sua utilização em diversas pesquisas no Laboratório de Biotecnologia Ambiental na Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP), devido à grande diversidade microbiana apresentada (DELFORNO et al., 2017).

**Tabela 6:** Caracterização do lodo advindo da Avícola Dacar.

Parâmetros físico-químicos	Valores
pH	7,83 ± 0,09
DQO da fase líquida (mg L <sup>-1</sup> )	174 ± 2,81
Sólidos Totais - ST (g L <sup>-1</sup> )	64,63 ± 0,76
Sólidos Voláteis (g L <sup>-1</sup> )	56,66 ± 0,95
Sólidos Fixos (g L <sup>-1</sup> )	7,97 ± 0,33
AME (gDQO-CH <sub>4</sub> .gSTV <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	0.2478 ± 0.0417

Fonte: a autora.

O pH apresentou valor próximo a neutralidade de 7,83 ± 0,09, o qual fica na faixa encontrada para outras medições de lodo anaeróbico que são entre 6 a 9, sendo propício para as atividades biológicas e consequentemente favorecendo o processo de digestão anaeróbia

(METCALF; EDDY, 2003), mostrando, dessa forma, que os reatores estudados apresentaram uma faixa de pH ótimo para que o processo anaeróbio ocorresse de maneira adequada e estável.

A DQO medida na fase líquida que envolvia os grânulos do lodo anaeróbio foi de  $174 \pm 2,81 \text{ mg L}^{-1}$ , pode-se observar que o baixo valor obtido, é indicativo de que na fase líquida não houve contribuição significativa de matéria orgânica advinda do reator de origem aos grânulos do lodo.

A matéria orgânica presente no lodo foi expressa em termos de teor de sólidos secos em porcentagem, os quais foram de 64,63% ST, 56,66 % SV e 7,97% SF. A relação %SV/ST, foi de 0,88; valor que ficou dentro dos valores típicos para lodos granulares que estão na faixa de 0,45 e 0,90 (HULSHOFF, 1989).

Finalmente a qualidade do inóculo foi verificada realizando o teste de AME usando como substrato glicose com a finalidade de avaliar a atividade de todo o consórcio microbiano presente no lodo anaeróbio, incluindo os microrganismos fermentativos (acidogênicos) (AQUINO et al., 2007). Sendo assim, usou-se uma concentração de lodo de  $5,8 \text{ gSTV.L}^{-1}$  e  $3,59 \text{ gDQO.L}^{-1}$  de glicose, levando em consideração que, segundo Chernicharo (2007a) e Aquino et al. (2007), os testes devem ser realizados com concentrações entre 2,0 e  $5,0 \text{ gSTV.L}^{-1}$  e que a concentração ideal de substrato está entre 2,0 e  $4,0 \text{ gDQO.L}^{-1}$ . O lodo Dacar alcançou a estabilidade às 120 h de incubação, obtendo uma produção média de metano de  $0,2478 \pm 0,0417 \text{ gCH}_4\text{-DQO.gSTV}^{-1}\text{.dia}^{-1}$ . De acordo com Angelidaki et al. (2009), os lodos anaeróbios granulares devem apresentar uma atividade específica mínima de  $0,3 \text{ gCH}_4\text{-DQO.gSSV}^{-1}\text{.dia}^{-1}$ , o valor obtido neste estudo ficou um pouco abaixo do valor reportado pelos autores devido a que para o cálculo da AME usou-se o valor de sólidos totais voláteis do lodo anaeróbio granular.

### **6.3. Digestão Anaeróbia das águas residuárias de café solúvel**

Nos seguintes subitens são apresentados e discutidos os dados experimentais de decaimento de substrato e produção metanogênica medidos ao longo do tempo de cada ensaio, assim como os valores dos parâmetros cinéticos resultantes de ajustes dos pontos experimentais aos modelos matemáticos de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem.

O estudo da digestão anaeróbia foi dividido em duas etapas, sendo elas, pré-exposição do inóculo ao substrato e estimativa dos parâmetros cinéticos da degradação anaeróbia das águas residuárias de café solúvel. O período de pré-exposição do inóculo ao efluente de café refere-se ao ciclo no qual foram observadas maiores superproduções de metano. Nesta fase de estudo, o balanço de massa (em demanda química de oxigênio) entre consumo do material orgânico carbonáceo e DQO recuperada em metano acumulado não convergiram, indicando a

disponibilização de material orgânico além do contido no substrato administrado no início dos ciclos.

Durante as etapas de pré-exposição, seis frascos reatores (R1, R2, R3, R4, R5, R6) foram operados em bateladas sequenciais, divididos em dois ensaios experimentais, sendo eles, ensaio 1 (E1, referente a R1, R2, R3), e ensaio 2 (E2, referente a R4, R5, R6). Em todos os ensaios e condições testadas, o tempo de ciclo utilizado foi de 15 dias. Inicialmente, os frascos reatores foram expostos a diferentes concentrações de DQO inicial dos ciclos, uma vez que não havia experiência com a degradação da água residuária de estudo. Subsequentemente, as concentrações foram decididas em função dos resultados obtidos durante os ciclos de pré-exposição.

Os ciclos voltados ao estudo cinético referem-se aqueles em que a superprodução de metano não foi mais observada ou ocorreu em pequena quantidade. Assim, o estudo da cinética de degradação anaeróbia foi feito administrando-se sequencialmente concentrações crescentes de substrato a fim de promover a aclimatação da biomassa ao novo ambiente com mínimo estresse. As discussões serão apresentadas de acordo aos resultados obtidos nos ensaios 1 e 2.

### **6.3.1. Pré-exposição do inóculo à água residuária de café solúvel**

Para o início do estudo da digestão anaeróbia, os frascos reatores operados em bateladas sequenciais foram estudados por quatro ciclos na etapa denominada pré-exposição do inóculo à água residuária de café solúvel. O consumo de substrato e quantificação de metano foram acompanhados para todos os ciclos de pré-exposição ao longo do tempo dos ensaios. A Tabela 7 apresenta as respectivas concentrações iniciais de substrato, remoção de DQO e produção de metano para cada um dos ciclos referentes à fase de pré-exposição durante os ensaios 1 e 2.

Para E1, se obteve uma média de remoção de substrato de 53%, o que resulta em produção teórica estimada a partir do consumo de substrato de  $4,93 \pm 0,23$  mmol de  $\text{CH}_4$ , enquanto a produção acumulada medida ao final de E1, foi de  $22,71 \pm 0,32$  mmol de  $\text{CH}_4$ , ou seja 360% superior em comparação com o valor teórico calculado. Para E2 a remoção de matéria orgânica foi de 57%, resultando em produção teórica de metano calculada a partir da DQO degradada em  $6,82 \pm 0,081$  mmol de  $\text{CH}_4$ , enquanto a produção acumulada de metano medida ao final do ensaio foi de  $28,06 \pm 0,49$  mmol, sendo 310% superior em comparação com o valor teórico.



**Tabela 7:** Configuração do ensaio de pré-exposição.

Ciclos	Ensaio 1 (E1)				Ensaio 2 (E2)			
	Reatores 1-3 Efluente administrado	Conc. De substrato inicial	Remoção de DQO (%)	Produção de metano (mmol)	Reatores 4-6 Efluente administrado	Conc. De substrato inicial	Remoção de DQO (%)	Produção de metano (mmol)
	(%v/v)	(mg. L <sup>-1</sup> )	(%)	mmol	(%v/v)	(mg. L <sup>-1</sup> )	(%)	mmol
PE-C1	6,00	873	53,00	22,71	10,00	1136	57,00	28,06
PE-C2	15,00	1531	46,00	18,33	15,00	1579	45,00	20,37
PE-C3	15,00	1634	41,00	16,95	15,00	1686	42,00	15,22
PE-C4	15,00	1676	45,00	20,90	25,00	2421	53,00	24,42

Fonte: a autora

No ciclo PE-C2, os reatores apresentaram remoção de DQO em E1 de 46%. A produção teórica calculada a partir do consumo de substrato foi de  $7,46 \pm 0,16$  mmol de CH<sub>4</sub>. A produção acumulada medida ao final do ciclo foi de  $18,33 \pm 0,85$  mmol de CH<sub>4</sub>, tendo sido 146% superior ao esperado. Os reatores de E2 apresentaram média de remoção de 45% do material orgânico. A produção de metano estimada a partir do consumo de substrato resultou em valor de  $7,51 \pm 0,23$  mmol de CH<sub>4</sub>, sendo o experimental acumulado ao final do ensaio de  $20,37 \pm 0,77$  mmol de CH<sub>4</sub>, valor aproximadamente 170% superior do que o valor estimado.

Durante PE-C3, foi verificada novamente uma superprodução de metano para os dois ensaios montados, E1 teve uma remoção de matéria orgânica expressa em termos de DQO de 41%, com produção teórica de metano estimada de  $7,13 \pm 0,96$  mmol. A produção acumulada de metano medida ao final do ensaio foi de  $16,95 \pm 0,24$  mmol de CH<sub>4</sub>, apresentando um valor de 138% superior ao valor teórico. Os reatores de E2, apresentaram remoção de DQO de 42%, o que permitiu a estimativa de produção teórica de metano de  $7,42 \pm 0,22$  mmol. A produção experimental medida de  $15,22 \pm 0,51$  mmol de CH<sub>4</sub>, valor 105% superior ao valor teórico.

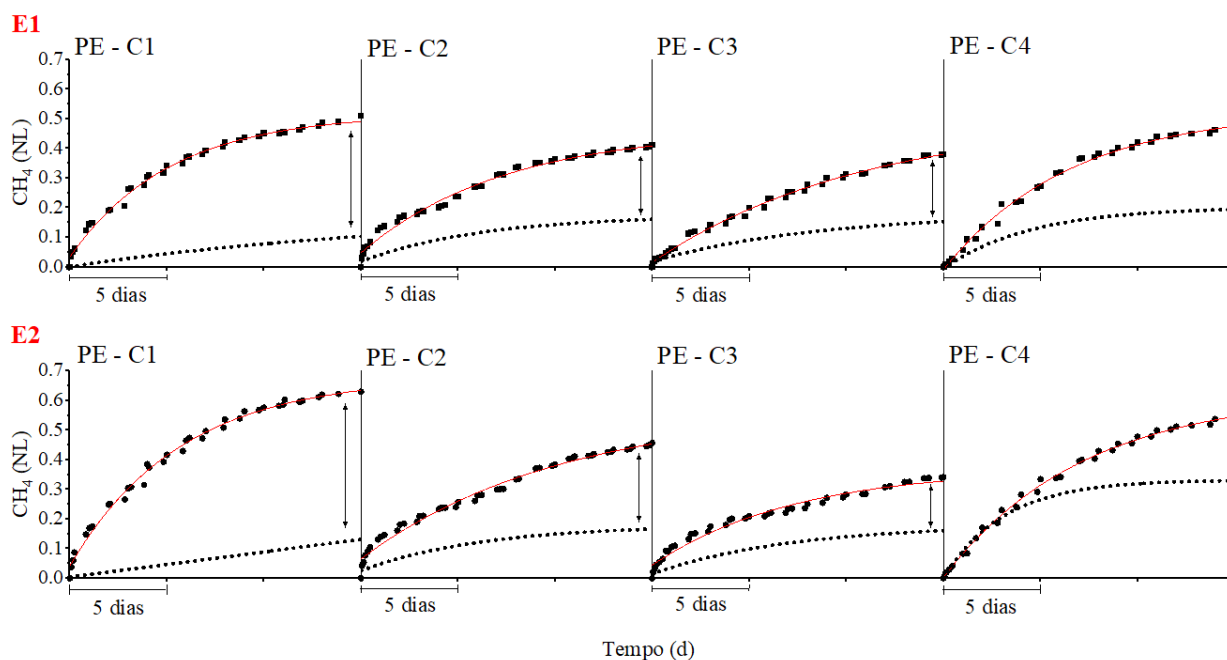
Finalmente, no ciclo PE-C4 os reatores apresentaram remoção de 45 % para E1, uma produção teórica calculada a partir do consumo de substrato de  $7,95 \pm 0,32$  mmol de CH<sub>4</sub>, e uma produção acumulada de metano medida ao final do ensaio de  $20,90 \pm 0,17$  mmol. Para os reatores do E2, obteve-se uma remoção de matéria orgânica de 53%, com uma estimativa da produção de metano de  $14,69 \pm 0,42$  mmol, uma produção acumulada medida de  $24,42 \pm 0,94$  mmol de CH<sub>4</sub>. Analisando os resultados, os dois ensaios apresentaram uma superprodução de metano de 163 % e 66% respectivamente.

Dessa forma, observou-se que E2 na fase denominada pré-exposição, alimentados com uma concentração de matéria orgânica de 1000 mg L<sup>-1</sup> a 2500 mg L<sup>-1</sup>, apresentou uma maior eficiência na remoção de demanda química de oxigênio de 42 a 57% em comparação com os

reatores de E1 que foram alimentados com uma concentração de matéria orgânica de  $600 \text{ mg L}^{-1}$  a  $1500 \text{ mg L}^{-1}$  apresentando uma eficiência na remoção de 41 a 53%. Os resultados obtidos nesta primeira etapa de estudo da digestão anaeróbia foram favoráveis, pois se esperava que os reatores de E2 apresentassem uma menor eficiência na remoção de substrato devido a que foram submetidos a cargas mais altas de ARCS. Esta diferença pode ser ter sido devida à estratégia de fornecer mais substrato aos frascos reatores de E2 deu como resultado maior produção de metano, devido à presença de ácidos orgânicos de fácil conversão.

A Figura 8 apresenta a produção de metano teórica estimada a partir da DQO degradada e os dados experimentais da produção acumulada de metano ao longo do tempo dos Ensaio 1 e 2 ajustados pela equação exponencial ( $R^2 > 0,99$ ). Durante os quatro ciclos de pré-exposição foi observada uma superprodução de metano para os dos ensaios montados em paralelo, que todavia foi decrescente com o aumento progressivo de carga orgânica fornecida aos frascos reatores.

**Figura 8:** Produção acumulada de  $\text{CH}_4$  medida experimentalmente (NL) ( $\bullet$ ) ( $\blacksquare$ ), ajuste da equação exponencial aos dados experimentais de produção de  $\text{CH}_4$  (—) e produção acumulada de  $\text{CH}_4$  teórica (NL) (....) calculada para os ciclos de pré-exposição operados em bateladas sequenciais.



Fonte: a autora

### 6.3.2. Estudo cinético da degradação anaeróbia da água residuária de café solúvel

Neste item são apresentados os dados referentes aos estudos cinéticos nos quais se percebeu pequena ou nenhuma produção excedente de metano. A discussão e apresentação dos resultados obtidos foram organizadas conforme agrupando os resultados de cada ensaio, a fim de avaliar independentemente o que aconteceu em cada experimento. E1, referente a concentrações de substrato de 2500 mg L<sup>-1</sup> a 4500 mg L<sup>-1</sup> e E2, referente a concentrações de 2500 mg L<sup>-1</sup> a 9500 mg L<sup>-1</sup>. A alimentação foi assim feita para que sempre se preservasse o Ensaio 1 (E1) de um possível efeito inibitório testado em E2. O Ensaio 2 (E2) foi usado para o estudo cinético da degradação anaeróbia da água residuária de café solúvel. O tempo de monitoramento para cada batelada foi de 15 dias.

#### ENSAIO 1

Na Tabela 8 são apresentadas as concentrações iniciais da água residuária de café solúvel para cada um dos ciclos referentes a E1. A alimentação nesse conjunto de frascos foi realizada a fim de avaliar a influência de variação de concentração inicial de matéria orgânica com retorno ao valor anterior. Foi possível também avaliar o comportamento do consórcio ao longo do tempo de exposição aos compostos da água residuária de café solúvel, que totalizou 60 dias.

**Tabela 8:** Concentração de substrato expressada em termos de DQO e compostos fenólicos totais no início e final dos ciclos para o Ensaio 1 (E1).

Ciclos	Reatores 1-3	Conc. De	Conc. De	Remoção	Conc. de	Conc. de	Remoção
	Efluente administrado	substrato inicial	substrato final	de DQO	fenóis inicial	fenóis final	de fenóis
	(% v/v)	(mg. L <sup>-1</sup> )	(mg. L <sup>-1</sup> )	%	(mg. L <sup>-1</sup> )	(mg. L <sup>-1</sup> )	%
1	25,00	2306±249	1077±84	53,30	186±0,31	115±1,27	38,26
2	25,00	2608±92	1190±99	54,37	219±8,32	145±4,91	33,90
3	45,00	4867±273	1971±77	59,51	485±17,3	360±9,22	25,78
4	45,00	4714±217	1969±72	58,22	419±7,33	302±5,28	27,99
5	25,00	2783±89	989±55	64,45	225±3,26	166±2,85	25,97
6	25,00	2318±25	1015±33	56,20	208±17,6	162±3,23	22,28

Fonte: a autora

Observou-se que os Ciclos 3 e 4 alimentados com uma concentração de efluente de 45% (v/v), apresentaram maiores remoções de material orgânico carbonáceo, em comparação com os primeiros ciclos (C1 e C2) que foram inoculados com uma concentração de 25% (v/v), alcançando uma taxa de remoção média de 59% enquanto os dois primeiros ciclos alcançaram uma taxa de remoção média de 54%. Durante os Ciclos 5 e 6, a remoção média de matéria orgânica oscilou para 60%, podendo-se dizer que a eficiência na remoção de matéria orgânica foi crescente até C4

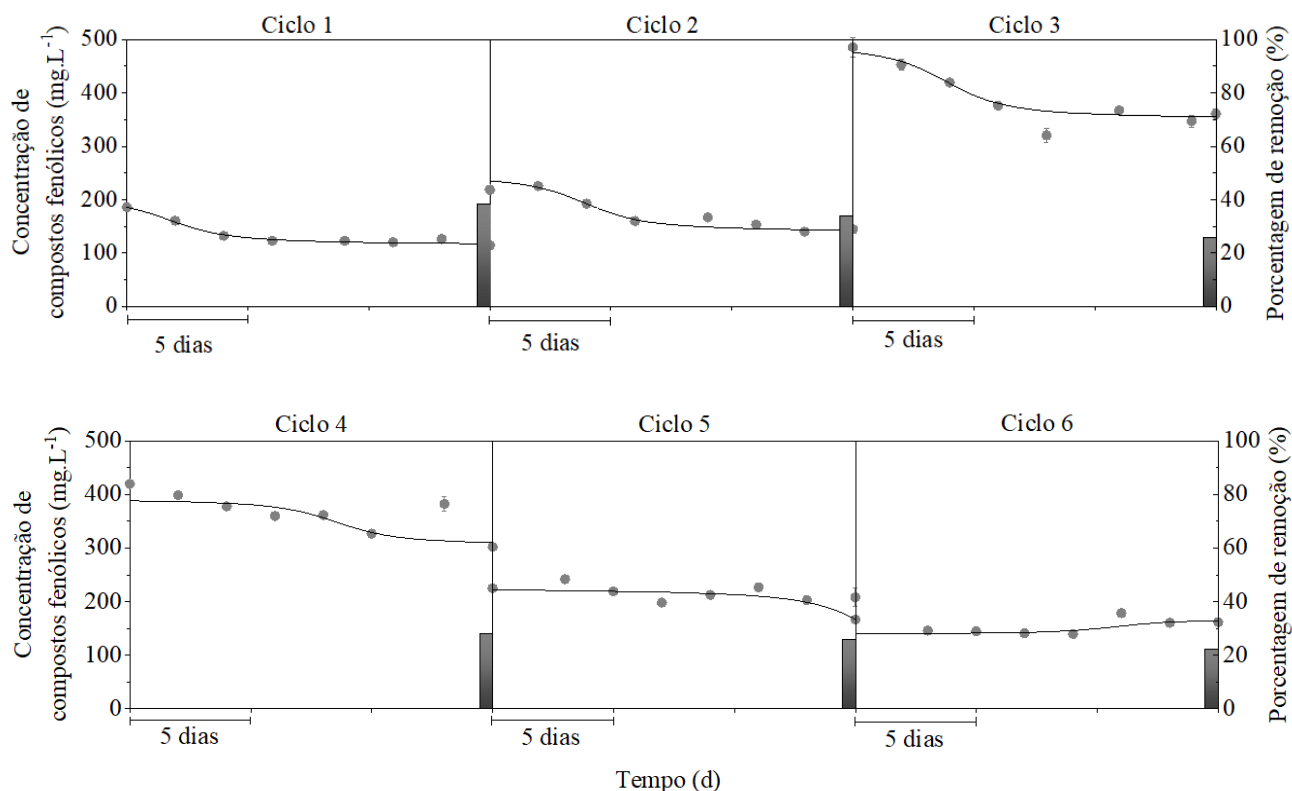
para logo manter-se constante até o final do ensaio, o que é um indicativo do que o lodo anaeróbio se adaptou muito bem às condições do substrato exposto.

Por outro lado, a remoção de compostos aromáticos fenólicos mostrou comportamento diferente. A eficiência média na remoção de polifenóis alcançou um valor de 36% em C1 e C2. Enquanto que para C3 e C4, o valor médio na remoção de polifenóis caiu para 27%, motivo pelo qual se decidiu voltar as concentrações de alimentação iniciais nos frascos reatores, a fim de avaliar se era possível recuperar a eficiência na remoção de tales compostos. Durante os dois últimos ciclos (C5 e C6) porém, não foi possível recuperar a eficiência na remoção dos compostos aromáticos, pois o valor médio caiu novamente para 24%. Na Figura 9 estão apresentados os dados de concentração dos compostos fenólicos e a eficiência de remoção desses compostos para os ciclos do Ensaio 1.

Prado e Campos (2008) fizeram um estudo experimental para avaliar o tratamento anaeróbio da água residuária de café obtida do processamento por via úmida. Os pesquisadores obtiveram uma eficiência máxima de remoção de compostos fenólicos igual a 70% para concentrações de 380 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, usando um reator UASB operado com TDH entre 8 e 70 horas. Bruno e Oliveira (2008) verificaram eficiências médias de 90% em remoção de fenóis totais, em sistemas de tratamento de água residuária de café composto por um reator UASB de dois estágios, em escala de bancada, com uma concentração média de 97 mg L<sup>-1</sup> e TDH de 223 h.

Dessa forma, pode-se observar que valores acima de 70% na remoção de compostos fenólicos foram obtidas em reatores UASBs, demonstrando ser este tipo de reator (com regime semelhante à mistura completa) uma excelente opção no tratamento de águas residuárias de café.

**Figura 9:** Ciclos de bateladas durante o Ensaio 1 (E1) do estudo da degradação de compostos fenólicos presente na água residuária de café solúvel.



Na Figura: (•) pontos experimentais ajustados ao modelo matemático de Langevin (—). As barras estão associadas à eficiência de remoção dos compostos fenólicos.

Fonte: a autora

Segundo Bolaños et al. (2001), o fenol pode ser degradado por via anaeróbia, entretanto, é tóxico aos microrganismos, principalmente aos não aclimatados, mesmo em concentrações relativamente baixas. Entretanto, alguns compostos tóxicos e recalcitrantes podem ser completamente mineralizados ou ter sua toxicidade diminuída em sistemas de tratamento biológico, quando estes são corretamente projetados e operados evitando-se a formação de poluentes secundários (BAE et al., 1995).

Novita (2016), fez um estudo para avaliar a biodegradabilidade anaeróbia de uma água residuária sintética feita de uma solução de fenol para simular a água residuária de café solúvel, com concentrações de 1000 mg.L<sup>-1</sup>, 5000 mg.L<sup>-1</sup> e 10 000 mg.L<sup>-1</sup>. O tipo de inóculo que usou-se foi lodo granular (30%), a temperatura e o pH foram mantidos em condições ótimas de 37 °C e pH neutro de 6,5 a 7,0. O fenol é um composto orgânico contido no café solúvel e aumenta principalmente após a torrefação. A pesquisadora reportou que o processo anaeróbio funcionou de forma ótima na concentração de fenol de 1000 mg L<sup>-1</sup>. A estabilidade do processo foi alcançada no dia 28, após o processo de aclimação ser excedido, 61% de fenol foi degradado. A

decomposição anaeróbia não foi alcançada em altas concentrações de fenol (5000 mg L<sup>-1</sup> e 10 000 mg L<sup>-1</sup>). Segundo a autora, a adaptabilidade e a elevada diversidade microbiana em inóculos anaeróbios podem superar a acidez e a complexidade orgânica em águas residuárias de café.

Na Tabela 9 são apresentados os parâmetros cinéticos para a produção de metano e decaimento de substrato para os ciclos de E1. Assim como, o ajuste de cada modelo matemático e os índices de substrato convertido em metano (ICH<sub>4</sub>). Os valores próximos da unidade do índice de conversão do substrato em metano indicaram possível aumento no rendimento da conversão do substrato em metano para o primeiro e último ciclo desse ensaio de estudo cinético.

**Tabela 9:** Valores para os parâmetros de ajuste de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem com residual para o Ensaio 1 (E1).

Ciclos	Produção de metano			Decaimento de substrato		ICH <sub>4</sub>	
	P <sub>máx</sub> (mmol)	R <sub>máx</sub> (mmol. d <sup>-1</sup> )	λ (dias)	R <sup>2</sup>	k <sub>1</sub> (d <sup>-1</sup> )		
C1	14,68±0,28	2,08±0,11	0,12±0,17	0,987	0,62±0,21	0,906	1,21
C2	13,62±0,48	1,22±0,07	0,38±0,28	0,979	0,26±0,06	0,948	0,92
C3	20,63±0,40	2,18±0,08	0,77±0,17	0,991	0,24±0,05	0,955	0,63
C4	31,76±1,47	3,07±0,14	0,32±0,19	0,988	0,30±0,05	0,977	0,97
C5	10,89±0,09	2,05±0,08	0,01±0,11	0,991	0,32±0,09	0,924	0,60
C6	16,92±0,39	1,87±0,09	0,64±0,20	0,986	0,75±0,15	0,986	1,31

Fonte: a autora.

Na Tabela 9: Produção máxima de metano acumulada (P<sub>máx</sub>), velocidade máxima de produção metanogênica (R<sub>máx</sub>), período de tempo até o início da produção de metano (λ), constante de primeira ordem (k<sub>1</sub>), ajuste do modelo matemático (R<sup>2</sup>) e índice de conversão do substrato em metano (ICH<sub>4</sub>) para os ciclos estudados no Ensaio 1 (Ciclos 1-6).

A constante cinética do consumo de substrato obtida por meio do ajuste da equação de primeira ordem com residual para os ciclos de E1 apresentou valores médios para os dois primeiros ciclos de 0,44±0,26 d<sup>-1</sup> enquanto para os dois últimos ciclos foi de 0,54±0,30 d<sup>-1</sup>, apresentando um aumento percentual de 23%. Para os ciclos 4 e 5 alimentados com concentrações de carga orgânica maiores (45% v/v), o valor médio foi de 0,27±0,05 d<sup>-1</sup>, avaliando os resultados obtidos pode-se dizer que a constante de primeira ordem apresentou um decaimento nos ciclos submetidos a uma carga orgânica maior, isso pode estar relacionado à presença de compostos tóxicos e recalcitrantes presentes na ARCS, o que também é refletido na queda de eficiência de remoção dos compostos fenólicos.

O ajuste de Gompertz modificado para a produção metanogênica retornou valores médios de produção máxima de metano acumulada ( $P_{\text{máx}}$ ) para os ciclos 1 e 2 de  $14,71 \pm 1,54$  mmol, enquanto C3 e C4 alimentados com uma concentração de efluente adicionado ao volume reacional dos frascos reatores de 45% (v/v) apresentaram um valor médio de  $28,68 \pm 11,39$  mmol, aumento praticamente proporcional ao aumento da carga orgânica fornecida. Para os dois últimos ciclos do ensaio experimental, a produção acumulada de metano média foi de  $13,90 \pm 4,26$  mmol, bem semelhante ao verificado em C1 e C2. Os valores médios para os períodos de tempo até o início da produção de metano ( $\lambda$ ) não apresentaram mudanças significativas ao longo dos ciclos experimentais.

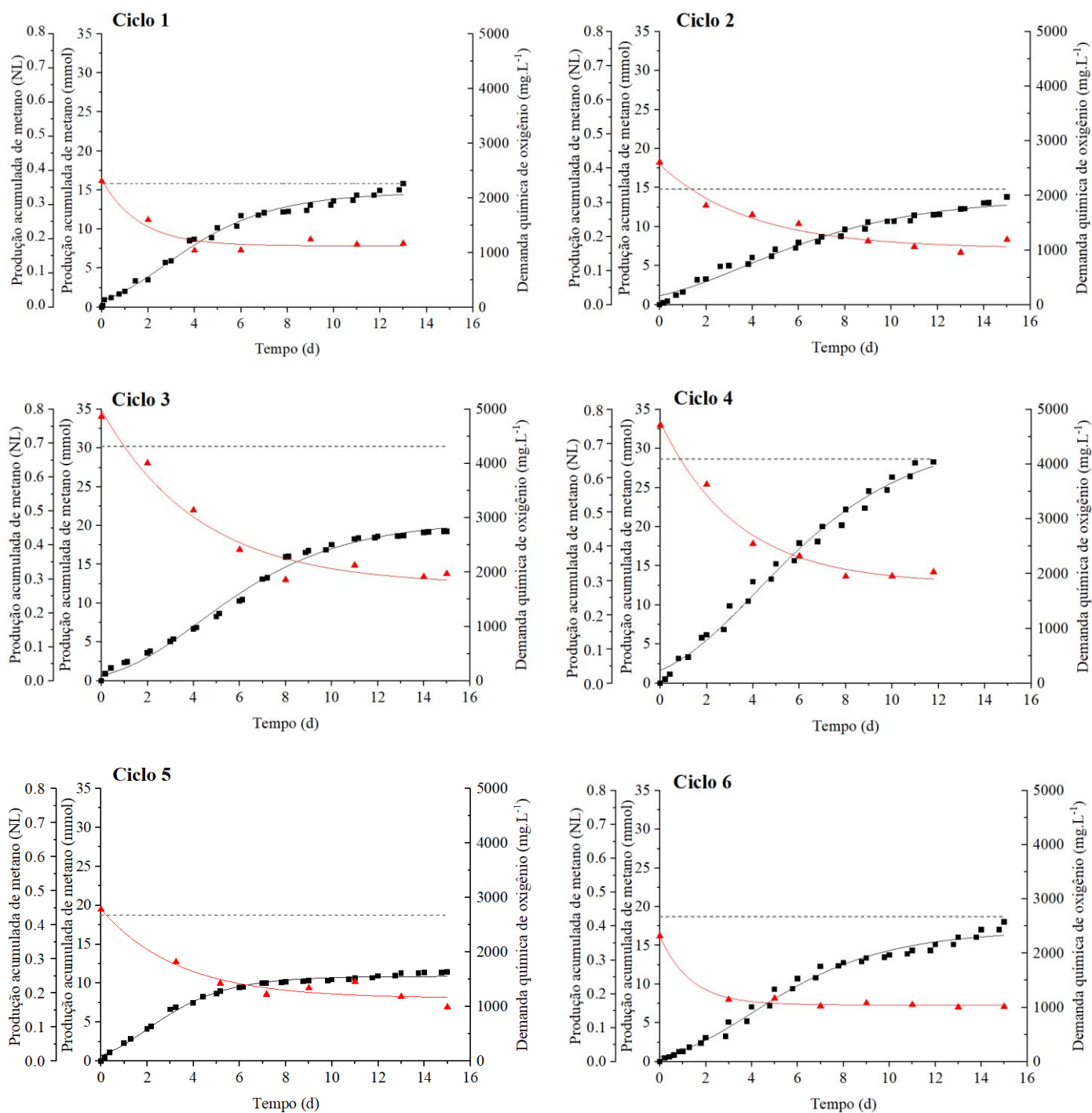
Foi observado que os valores do índice de conversão do substrato em metano ( $I_{\text{CH}_4}$ ) ao longo dos ciclos experimentais foi caindo gradualmente, o qual foi indicativo de que a produção máxima de metano atingida pelo experimento não se aproximou do valor teórico durante os ciclos 1 a 5, a exceção do último ciclo que apresentou um valor de 1,31. O valor elevado para C6 pode ser indicativo de que a alta produção de metano medida experimentalmente provavelmente foi produto da morte microbiana, o qual foi usada como material orgânico nos frascos reatores.

Quanto aos valores das velocidades máximas de produção de metano, o valor médio de  $R_{\text{máx}}$  para C1 e C2 foi de  $1,56 \pm 0,48$  mmol  $\text{d}^{-1}$ , enquanto para C3 e C4 a velocidade máxima de produção metanogênica média foi superior aos ciclos anteriores com um valor de  $2,54 \pm 0,51$  mmol  $\text{d}^{-1}$ . Para os dois últimos ciclos, o valor médio de  $R_{\text{máx}}$  foi de  $1,96 \pm 0,13$  mmol  $\text{d}^{-1}$ , observando de essa forma que a velocidade máxima de produção metanogênica ao longo dos ciclos de Ensaio 1 se manteve constante para os ciclos alimentados com 25% (v/v) do volume reacional do frasco reator.

Os valores dos parâmetros analisados ao longo do ensaio 1, indicaram que o aumento da concentração de água residuária de café solúvel administrada nos reatores, apesar da complexidade da degradação dos seus constituintes, não inibiu severamente a atividade de assimilação dos compostos, pois o lodo anaeróbio se mostrou capaz de alcançar produção de metano máxima superior frente a exposições à concentração de 45% (v/v).

Na Figura 10 são apresentados os ajustes de Gompertz modificado para os dados experimentais de produção acumulada de metano assim como a cinética de primeira ordem com residual ajustado aos dados experimentais de decaimento de substrato nos frascos reatores de C1 a C6 durante o ensaio 1.

**Figura 10:** Produção metanogênica e consumo de substrato ajustados ao modelo de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem com residual para os reatores do Ensaio 1.



Fonte: a autora

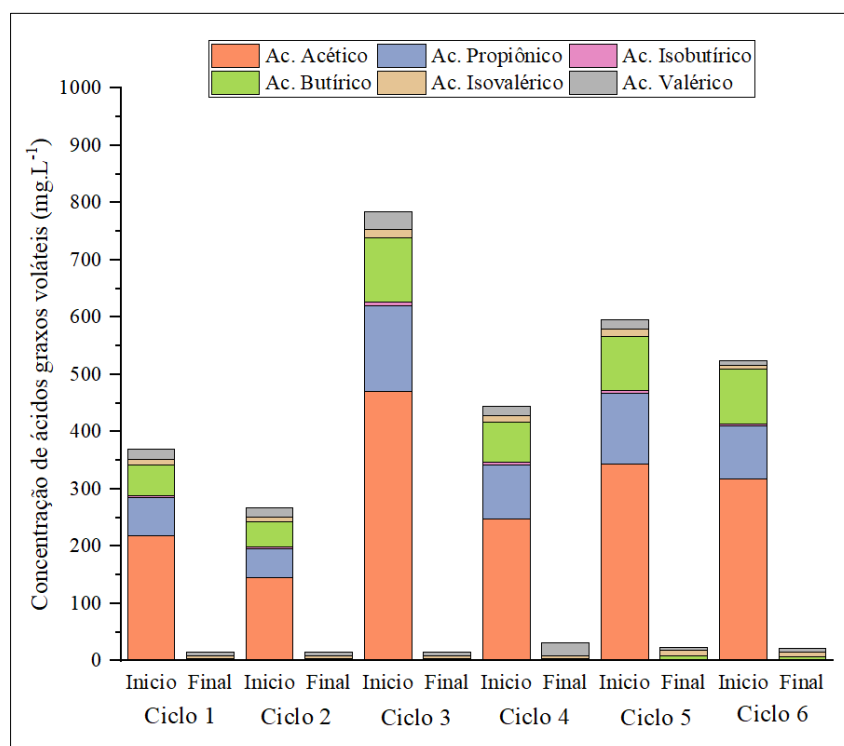


Na Figura 10: (---) Produção teórica de metano acumulada (mmol ou NL); (-▲-) Demanda química de oxigênio (mg L<sup>-1</sup>); (-■-) Produção acumulada de metano (mmol ou NL); (—) modelo de Gompertz modificado; (—) modelo de primeira ordem com residual ajustado para os ciclos do Ensaio 1.

### Consumo dos ácidos graxos voláteis

Para identificação e controle de possíveis acúmulos de ácidos orgânicos de cadeia curta foram realizadas análises iniciais e finais de cada ciclo durante o Ensaio 1. A Figura 11 apresenta os valores médios da concentração dos ácidos orgânicos de cadeia curta na etapa inicial e final dos seis ciclos experimentais.

**Figura 11:** Ácidos orgânicos de cadeia curta no início e final de cada ciclo durante o Ensaio 1 (E1).



Nota: Os valores foram tratados com as médias das suas respectivas triplicatas de cada tratamento.

Fonte: a autora

Durante o Ensaio 1, foi observado que para todos os ciclos, o ácido acético foi consumido na totalidade, pois não foi detectado ao final de cada ciclo experimental, indicativo de que houve consumo dessa fonte de carbono pelos microrganismos metanogênicos presentes no meio durante o processo de digestão anaeróbia. Além disso, os níveis dos ácidos propiônico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico, foram detectados em quantidades muito baixas ao término de

todos os ciclos, com concentrações entre 1,52 mg L<sup>-1</sup> a 23,14 mg L<sup>-1</sup>, isso confirmou o bom trabalho das bactérias acidogênicas que transformam DQO solúvel em AGV e das bactérias acetogênicas, que transformam os ácidos propiônico, butírico e valérico em ácido acético. De acordo com Goulate (2011), quando uma população de arqueias metanogênicas se encontra presente em quantidade suficiente, e as condições ambientais no interior do sistema de tratamento são favoráveis, estas utilizam os ácidos orgânicos intermediários tão rapidamente quanto estes são formados. Como resultado, os ácidos não se acumulam além da capacidade neutralizadora da alcalinidade naturalmente presente no meio, o pH permanece numa faixa favorável às arqueias metanogênicas e o sistema anaeróbio é considerado em equilíbrio.

### **Sólidos voláteis totais**

O primeiro ciclo do estudo da digestão anaeróbia, foi iniciado com uma concentração de sólidos voláteis de aproximadamente 8 gSTV.L<sup>-1</sup> do lodo granular anaeróbio previamente caracterizado, como foi descrito no item 6.2. Ao término de E1, a análise gravimétrica para sólidos foi novamente feita, os resultados estão apresentados na Tabela 10. Mediante a análise gravimétrica não se conseguiu verificar crescimento celular.

**Tabela 10:** Série de sólidos para o início (Ciclo 1) e final (Ciclo 6) durante E1.

Reatores	Sólidos Totais Voláteis (g STV. L <sup>-1</sup> )		
	Esperado	Inicial	Final
1	8	8,04 ± 0,13	6,20 ± 0,22
2	8	8,03 ± 0,21	6,28 ± 0,24
3	8	8,03 ± 0,13	6,60 ± 0,23

Fonte: a autora

Levando-se em consideração o tempo de operação dos reatores desde os ciclos de pré-exposição até o ciclo 6 (150 dias), observa-se que a redução média da concentração de sólidos totais voláteis nos frascos reatores foi de 21%. Essa redução pode ter ocorrido, pois o inóculo era lavado com solução de macro e micronutrientes para a retirada de material recalcitrante, ou também por morte microbiana, evidenciada por valores de ICH<sub>4</sub> superiores à 1 em C1 e C6.

Os valores médios determinados de STV para o lodo anaeróbio granular ao final do ensaio 1 foi de 54,24 gSTV.L<sup>-1</sup>, valor semelhante aos obtidos durante a caracterização do lodo e apresentados no item 6.2, pode-se analisar que a quantidade de sólidos voláteis (STV) no ensaio 1 permaneceu inalterada após o processo de digestão anaeróbia.

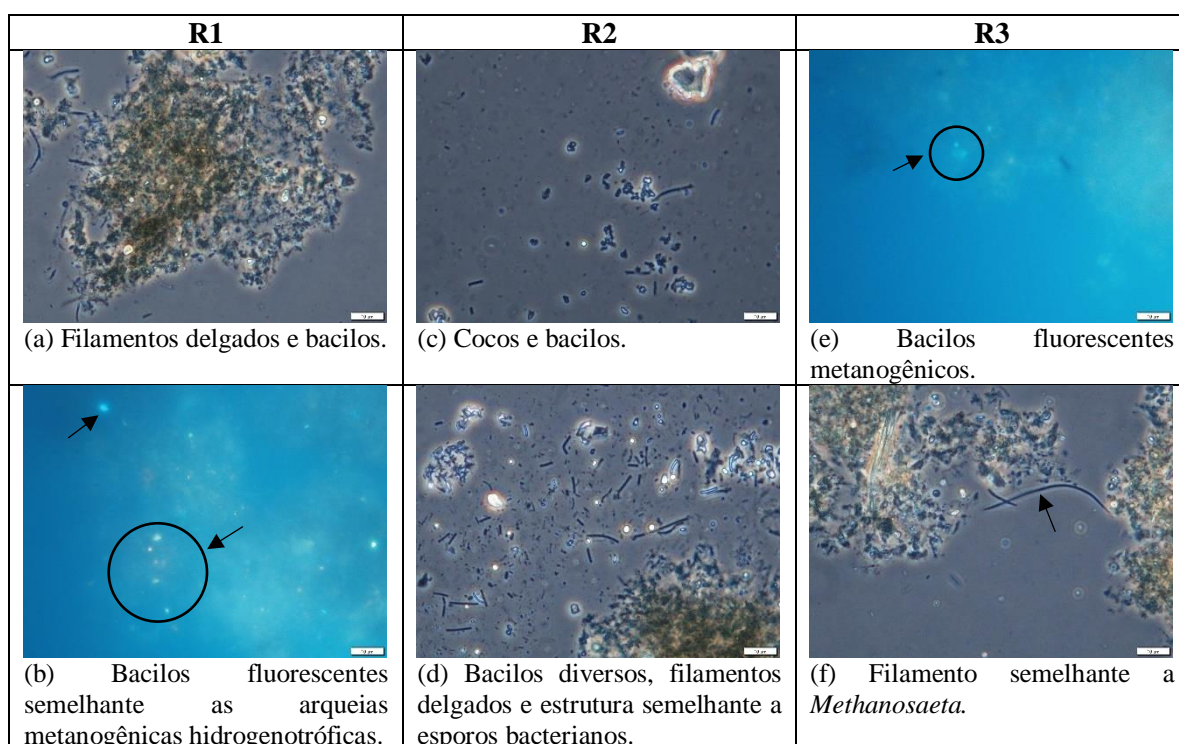
De acordo com De La Rubia et al. (2005), o teor de sólidos voláteis é usado como um indicador da quantidade de matéria orgânica contida em um lodo. Assim, a destruição de STV

alcançada no processo de estabilização de lodo pode ser usada para medir a sua eficiência na estabilização. Após a digestão, os sólidos presentes no lodo são constituídos por 45% de matéria orgânica e 55% de substâncias minerais (TSUTIYA et al., 2001).

### Análise de microscopia óptica

Ao término do Ensaio 1 foram retiradas amostras do inóculo contida nos frascos reatores para caracterização por meio de análises de microscopia óptica de contraste de fase, com a finalidade de distinguirem-se as principais morfologias celulares presentes no inóculo após o processo de digestão anaeróbia. A Figura 12 referem-se aos resultados obtidos pelas análises de microscopias óptica de contraste de fase e fluorescência.

**Figura 12:** Análise de microscopia óptica do lodo anaeróbio após o processo de digestão anaeróbia no Ensaio 1 (E1).



Fonte: a autora.

As análises microbiológicas realizadas no final do Ensaio 1 permitiram que a presença dos grupos microbianos no lodo anaeróbio granular fosse avaliado. A ocorrência de múltiplas morfologias bacterianas (vibriões, cocos, bacilos, células semelhantes a arqueias metanogênicas) é condizente com o equilíbrio entre os microrganismos dentro do consórcio responsável pela digestão anaeróbia.

ENSAIO 2

Durante o Ensaio 2, os frascos reatores foram alimentados com concentrações crescentes de substrato de 25 a 95% (v/v) de efluente, a fim de verificar a inibição da etapa de metanogênese na digestão anaeróbia. Na Tabela 11 são apresentados os valores de concentração inicial de substrato e fenóis para cada um dos ciclos referentes a E2.

**Tabela 11:** Concentração de substrato expressada em termos de DQO e compostos fenólicos totais no início e final dos ciclos para o Ensaio 2 (E2).

Ciclos	Reatores 4-6	Conc. De	Conc. De	Remoção	Conc. de	Conc. de	Remoção
	Efluente administrado	substrato inicial	substrato final	de DQO	fenóis inicial	fenóis final	de fenóis
	(% v/v)	(mg. L <sup>-1</sup> )	(mg. L <sup>-1</sup> )	%	(mg. L <sup>-1</sup> )	(mg. L <sup>-1</sup> )	%
1	25,00	2391±184	970±121	59,42	191±0,31	123±1,49	35,61
2	45,00	4578±77	1641±49	64,16	388±61,1	275±4,58	29,20
3	45,00	4978±273	2024±53	59,34	468±5,82	360±3,37	23,02
4	55,00	5625±117	2485±67	55,83	609±31,9	423±6,75	30,65
5	75,00	7098±53	2383±112	66,43	722±25,6	413±7,28	42,79
6	95,00	9419±876	3125±97	66,83	810±20,3	407±7,08	49,75

Fonte: a autora

De acordo com os resultados expostos para E2, observou-se que conforme os frascos eram alimentados com concentrações crescentes de ARCS de 25% a 95% (v/v), as eficiências na remoção de matéria orgânica oscilaram em valores de 56% a 67%, ressaltando-se que os dois últimos ciclos alcançaram máximas remoções de matéria orgânica superiores aos ciclos estudados anteriormente.

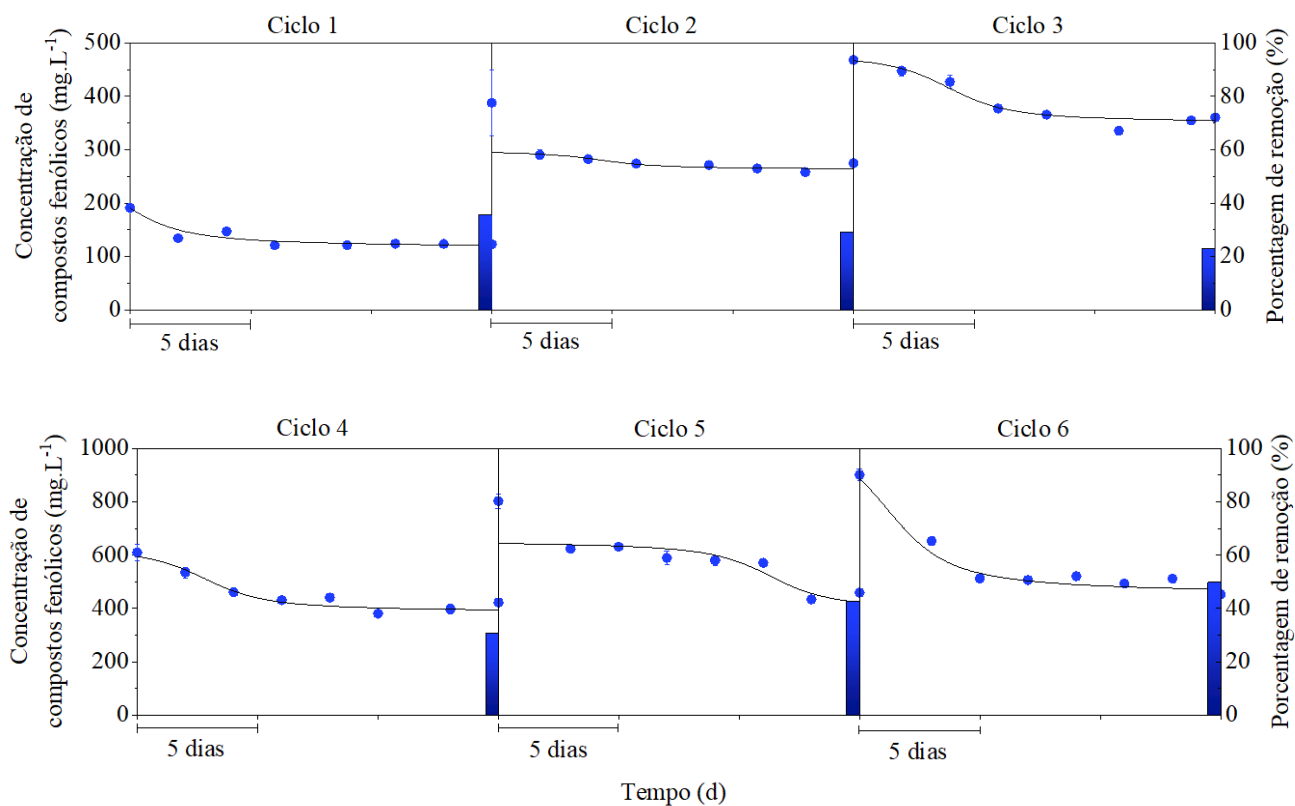
Referente aos resultados dos compostos fenólicos, para os ciclos 1 a 4, a remoção de tais compostos foi reduzida em 13 pontos percentuais com um aumento na concentração aplicada de 191 mg L<sup>-1</sup> para 609 mg L<sup>-1</sup> de compostos fenólicos totais. Entretanto, nos ciclos 5 e 6, com um acréscimo na concentração de compostos fenólicos de 722 mg L<sup>-1</sup> a 810 mg L<sup>-1</sup> e a adaptação dos microrganismos à água residuária de café solúvel durante 14 semanas, houve um aumento na eficiência de remoção de compostos fenólicos, tendo sido alcançados valores de 43% e 50%, nos ciclos C5 e C6. De acordo com Veeresh et al. (2005), o tempo de aclimação do consórcio microbiano às águas residuárias com concentrações altas de compostos fenólicos é longo, pois pode durar de 6 semanas até 10 meses em reatores UASBs.

Na **Figura 13** estão apresentados os dados de concentração dos compostos fenólicos e as eficiências de remoções desses compostos para os ciclos de E2. Tal e como é apresentado, os ensaios feitos em ciclos de bateladas sequenciais mostraram que o aumento da concentração de matéria orgânica e polifenóis constituintes da ARCS não inibiu severamente os microrganismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica. Tal fato sugere que os compostos fenólicos

puderam ser utilizados como substrato por microrganismos degradadores de fenol, que utilizariam os fenóis como fonte de carbono devido à redução da disponibilidade de outros substratos, e à predominância de compostos com degradação mais difícil (BOTELLO, 2018).

Fia et al. (2010), fizeram um estudo para analisar a operação de três reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB), contendo biomassa imobilizada na remoção de compostos fenólicos presentes na água residuária do processamento dos frutos do cafeeiro. Os suportes utilizados na imobilização da biomassa foram: escória de alto-forno, espuma de poliuretano e brita, o que resultou nos reatores R1, R2 e R3, respectivamente. Os reatores foram alimentados com concentrações crescentes de compostos fenólicos (13; 19,7 e 42,7 mg L<sup>-1</sup>), o tempo de detenção hidráulica (TDH) foi mantido em 1,3 dias, o que resultou em três fases de operação com duração de 40, 41 e 38 dias, respectivamente. Durante a fase I, os reatores foram alimentados com concentração média de compostos fenólicos de 13 mg L<sup>-1</sup>. A maior eficiência foi apresentada por R1 com 68%, enquanto R2 e R3 apresentaram remoções de 52% e 36% respectivamente. A segunda fase, foi alimentada com uma concentração de 19,7 mg L<sup>-1</sup>, onde foi observada uma pequena redução na eficiência média na remoção dos compostos fenólicos em R1 (67%) e R2 (44%), enquanto R3 permaneceu praticamente constante. Na fase III, a concentração de compostos fenólicos (42,7 mg L<sup>-1</sup>), coincidiu com o decréscimo na eficiência de R1 com 62%; entretanto, R2 e R3 mostraram um aumento na eficiência de remoção deste composto orgânico com valores de 46% e 44% respectivamente. No reator R3, apesar de terem sido observadas as menores eficiências de remoção de compostos fenólicos, verificaram-se incrementos na eficiência de remoção com o aumento na concentração de fenóis aplicada, o que pode ser um indicativo de maior adaptação dos microrganismos às condições de toxicidade proporcionada por esta substância. Resultados similares foram obtidos durante E2, ao acrescentar a concentração de compostos fenólicos nas bateladas sequencias de 191 mg L<sup>-1</sup> até 810 mg L<sup>-1</sup>, sendo as concentrações de compostos fenólicos usadas neste estudo 191% superiores referente aos dados analisados por Fia et al. (2010), porém maiores eficiências foram obtidas nos últimos ciclos de digestão anaeróbia.

**Figura 13:** Ciclos de bateladas durante o Ensaio 2 (E2) do estudo da degradação de compostos fenólicos presente na água residuária de café solúvel.



Na Figura: (•) pontos experimentais ajustados ao modelo matemático de Langevin (—). As barras estão associadas à eficiência de remoção dos compostos fenólicos.

Fonte: a autora

A degradação de fenol a metano e gás carbônico em ambiente anaeróbico, ocorre por meio de uma série de reações em cadeia que incluem a desaromatização, acetogênese e metanogênese (FANG et al., 2006). A degradação anaeróbia de compostos fenólicos é um processo complexo e requer um consórcio de vários microrganismos. A conversão de fenol para benzoato é o primeiro passo para a degradação anaeróbia desse constituinte. O benzoato é, então, desaromatizado para formar ácido carboxílico ciclohexano e, em seguida, a estrutura do anel é rompida, formando o heptanoato. O heptanoato é, então, fragmentado para formar ácido acético (precursor do metano). Segundo Fang et al. (2004), a conversão do fenol a benzoato é o fator limitante no processo de degradação do fenol.

Na Tabela 12 são apresentados valores de eficiências de remoção de compostos fenólicos para diferentes tipos de reatores no processo de digestão anaeróbia para águas residuárias obtidas do despulpamento de café.

**Tabela 12:** Eficiência de remoção de compostos fenólicos no processamento anaeróbio das águas residuais do despulpamento de café em diferentes tipos de reatores.

Tipo de reator	HRT (h)	OLR ( $\frac{kgDQO}{(m^3 d)^{-1}}$ )	Concentração inicial de fenol (mg.L <sup>-1</sup> )	Eficiência de remoção (%)	Referências
UASB	8,04 – 66,67	0,14 – 20,29	30 – 388	70	Prado et al. (2010) Ersahin et al. (2011)
UASB	40	0,9	630	96	Fang et al. (2006)
UASB (dois estágios)	96 – 148	3 – 5,8	80 – 97	72 – 90	Oliveira e Bruno (2013) Van Lier et al. (2008)
FBAF	25,4 – 37,9	0,81 – 4,41	13 – 43	36 – 68	Fia et al. (2010b)
FBDF	10,2 – 10,4	1,91 – 4,89	12 -18	30 – 41	Fia et al. (2010a)

Fonte: Adaptado de Addis et al. (2020)

Na Tabela 11: *UASB* up-flow anaerobic sludge blanket, *FBAF* fluidized bed ascending flow, *FBDF* fluidized bed descending flow.

Na literatura se encontram maiores eficiências de remoção de matéria orgânica e compostos fenólicos de águas residuárias de café tratadas por processos anaeróbios quando comparadas com as eficiências encontradas nesta pesquisa; no entanto, vários são os processos empregados o que dificulta, a comparação dos dados como: a condução experimental, temperatura, pH, carga orgânica e hidráulica, TDH e concentração de afluente. Vale ressaltar também, que as características intrínsecas das águas residuárias podem favorecer ou dificultar o tratamento. Águas fenólicas de origem agroindustrial apresentam moléculas diferentes daquelas de origem industrial, o que influencia na degradação desses compostos.

Na Tabela 13 são apresentados os parâmetros cinéticos da produção metanogênica e consumo de substrato para os ciclos experimentais do Ensaio 2. São também apresentados à biodegradabilidade anaeróbia e o ajuste dos modelos matemáticos usados.

**Tabela 13:** Valores para os parâmetros do ajuste de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem com residual para o Ensaio 2.

Ciclos	Produção de metano			Decaimento de substrato		ICH <sub>4</sub>	
	P <sub>máx</sub> (mmol)	R <sub>máx</sub> (mmol. d <sup>-1</sup> )	λ (dias)	R <sup>2</sup>	k <sub>1</sub> (d <sup>-1</sup> )		
C1	14,43±0,34	1,68±0,11	0,67±0,25	0,974	0,64±0,11	0,973	1,05
C2	18,76±0,24	2,37±0,08	0,72±0,13	0,994	0,59±0,09	0,977	0,54
C3	22,59±0,32	2,33±0,06	1,64±0,11	0,997	0,28±0,04	0,979	0,66
C4	48,38±1,19	4,24±0,15	0,50±0,17	0,992	0,38±0,08	0,955	1,34
C5	52,13±2,02	4,00±0,17	0,20±0,23	0,986	0,27±0,05	0,959	0,96
C6	54,09±0,85	6,49±0,23	1,27±0,14	0,994	0,55±0,03	0,997	0,79

Fonte: a autora.

Na Tabela 13: Produção máxima de metano acumulada (P<sub>máx</sub>), velocidade máxima de produção metanogênica (R<sub>máx</sub>), período de tempo até o início da produção de metano (λ), constante de primeira ordem com residual (k<sub>1</sub>), ajuste do modelo matemático (R<sup>2</sup>) e índice de conversão do substrato em metano (ICH<sub>4</sub>) para as condições estudada no Ensaio 2 (Ciclo 1-6).

Os valores de k<sub>1</sub> para o decaimento de substrato foram diminuindo ao longo dos ciclos 1 a 5, com valores de 0,64±0,11 dia<sup>-1</sup> para C1 e 0,27±0,05 dia<sup>-1</sup> para os frascos reatores de C5, enquanto o último ciclo experimental acrescentou seu valor em aproximadamente 104 pontos percentuais em comparação com o ciclo anterior, apresentando um resultado de 0,55±0,03 dia<sup>-1</sup>, ainda quando a maior carga orgânica foi aplicada.

Observou-se que a produção máxima de metano acumulada (P<sub>máx</sub>) ao longo dos ciclos experimentais do ensaio 2 foi aumentando consistentemente com valores de 14,43±0,34 mmol para C1 a 54,09±0,85 mmol para C6. Foi possível também verificar que as segundas exposições do inóculo ao substrato às concentrações de 25% (v/v) e 45% (v/v) para os ensaios 1 e 2, apresentaram produções metanogênicas superiores em relação às primeiras exposições. Junto da produção máxima de metano acumulado, os períodos de tempo até o início da produção de metano (λ) foram acrescentando durante os três primeiros ciclos do ensaio (C1 a C3) para logo descer nos ciclos 4 e 5 com um valor médio de 0,35±0,22 dias.

O índice de conversão do substrato em metano (ICH<sub>4</sub>) foi diminuindo ao longo das bateladas, apresentando valores de 1,05 para C1 a 0,79 para C6, com exceção do ciclo 4 que

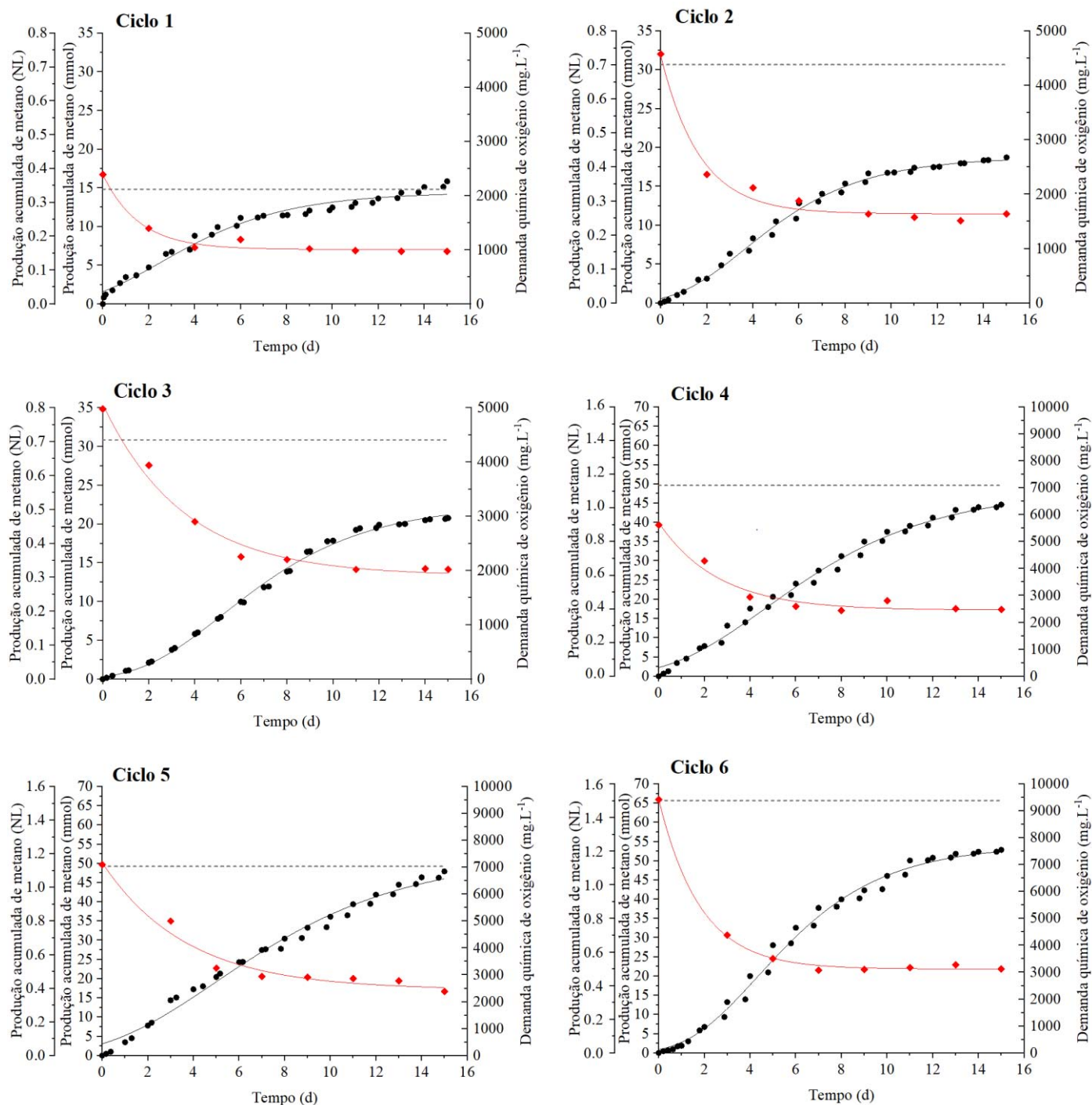


apresentou um valor de 1,34; isso possivelmente pode ter acontecido devido à morte microbiana do lodo anaeróbio o qual aconteceu quando incrementou-se a carga orgânica a 5500 mg L<sup>-1</sup>.

Os valores para a velocidade máxima de produção metanogênica ( $R_{máx}$ ) foi aumentando progressivamente ao longo da execução dos ciclos experimentais com valores de  $1,68 \pm 0,11$  mmol.d<sup>-1</sup> até  $6,49 \pm 0,23$  mol.d<sup>-1</sup>, demonstrando que os frascos reatores do Ensaio 2 não apresentaram inibição a altas concentrações de matéria orgânica.

Na Figura 14 estão apresentados os ajustes de Gompertz modificado para os dados experimentais de produção acumulada de metano assim como o ajuste da cinética de primeira ordem com residual para os reatores do Ensaio 2.

**Figura 14:** Produção metanogênica e consumo de substrato ajustados ao modelo de Gompertz modificado e cinética de primeira ordem com residual para os reatores do Ensaio 2.



Fonte: a autora

Na Figura 14: (----) Produção teórica de metano acumulada (mmol ou NL); (-♦-) Demanda química de oxigênio (mg L<sup>-1</sup>); (-●-) Produção acumulada de metano (mmol ou NL); (—) modelo de Gompertz modificado; (—) modelo cinética de primeira ordem com residual ajustado para os ciclos 1 a 6 do Ensaio 2.

Avaliando os dois ensaios montados, E1 e E2, pode-se concluir que a operação dos reatores em bateladas sequencias associada ao aumento progressivo da razão de inclusão de efluente em 20% (v/v) ao longo dos ciclos resultou em comportamento similar entre E1 e E2 durante os três primeiros ciclos do estudo cinético, em razão de inclusão de efluente de 25% (v/v) a 45% (v/v). Ao longo de tais ciclos, os parâmetros cinéticos resultantes dos ajustes adotados resultaram em valores e variações similares para os dois ensaios. Durante os ciclos 4 a 6, os ensaios E1 e E2 mostraram comportamentos diferentes, E1 esteve relacionado à redução nos valores da produção máxima de metano acumulado e na velocidade máxima de produção metanogênica e um aumento nos valores da constante de primeira ordem. Enquanto E2 esteve relacionado a um ligeiro aumento nos valores dos parâmetros de produção máxima de metano acumulado e acréscimo nos valores de velocidade máxima de produção metanogênica e na constante de primeira ordem, embora acrescentou-se a carga orgânica nos reatores a níveis altos até concentrações de ARCS de 95% (v/v).

Durante os ciclos 4 a 6, no Ensaio 1, o aumento progressivo do material orgânico inicial foi interrompido em C4, para logo descer a carga orgânica a 25% (v/v) de efluente, assim os parâmetros analisados pouco variaram no decorrer da operação dos ciclos 5 e 6. Enquanto em E2, durante os ciclos 4 a 6, o aumento progressivo do material orgânico inicial continuou ao longo dos ciclos da operação dos reatores, demonstrando que não provocou um efeito inibitório nas atividades de biodegradabilidade anaeróbia da água residuária de café solúvel e da produção metanogênica. O ensaio 1 elucidou também que a exposição continuada do inóculo à razão de inclusão de 25% (v/v) resultou no aumento dos valores de velocidade de produção metanogênica e de constante de primeira ordem, assim como o tempo inicial para a produção de metano. Este ensaio demonstrou que após de diminuir a carga orgânica nos dois últimos ciclos continuados de exposição do inóculo à concentração inicial aproximadamente de 2500 mg L<sup>-1</sup> de material orgânico em termos de DQO resultou em aumento na eficiência de remoção de material orgânico, mas não foi possível mais observar uma recuperação na remoção de compostos fenólicos.

Ademais, observou-se que durante os ciclos 1 a 3, a média da constante de primeira ordem se manteve em aproximadamente 0,37 dia<sup>-1</sup> e durante os ciclos 4 a 6, alcançou um valor médio de 0,46 dia<sup>-1</sup>. A resposta, pode ser relacionada à presença de compostos tóxicos e recalcitrantes na água residuária de café solúvel. Tal ocorrência explicou o aumento no valor da constante de primeira ordem. Durante o Ensaio 2, o mesmo parâmetro apresentou um valor médio de 0,40 dia<sup>-1</sup> para os ciclos 4 a 6, sendo o valor de 0,55 dia<sup>-1</sup> associado à maior concentração de material orgânico a ser degradada.

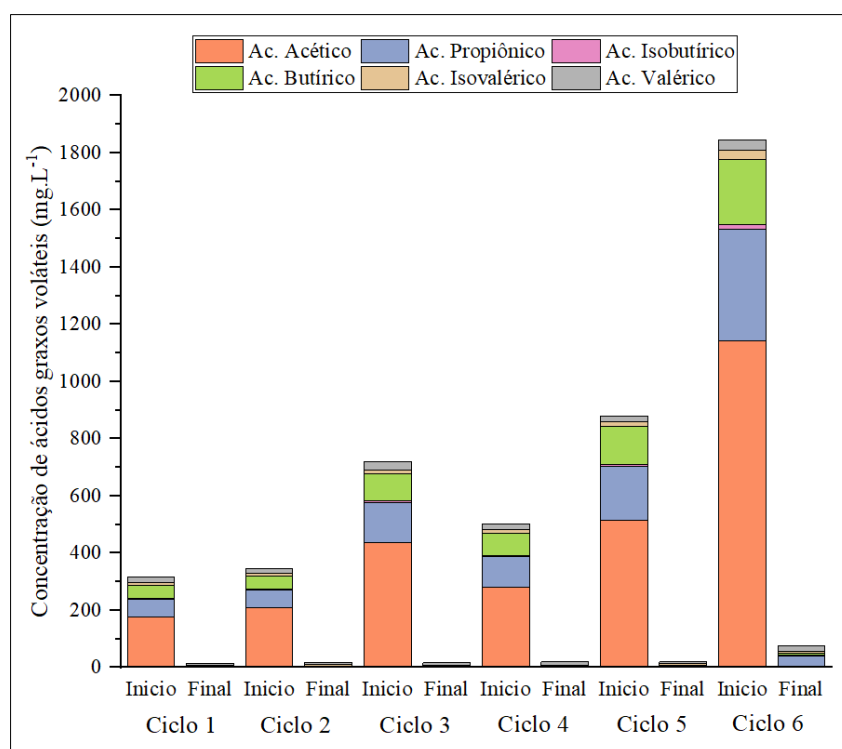
Foi observado também que quando o decaimento de substrato foi mais rápido, o rendimento de metano foi maior, provavelmente porque a hidrólise mais rápida induziu uma

degradação dos compostos intermediários para a população metanogênica. Azhar e Stuckey (1994) estudaram a influência da estrutura química dos resíduos de café instantâneo no catabolismo anaeróbico e descobriram que a estrutura química individual dos compostos influencia e determina grandemente a taxa de hidrólise e os mecanismos de degradação metanogênica.

### Decaimento dos ácidos graxos voláteis

Durante E2, foi medido também os valores para as concentrações dos ácidos orgânicos de cadeia curta no início e final para cada ciclo experimental. A Figura 15 apresenta os valores médios da concentração dos ácidos orgânicos de cadeia curta na etapa inicial e final dos 6 ciclos para o Ensaio 2.

**Figura 15:** Ácidos orgânicos de cadeia curta no início e final de cada ciclo durante o Ensaio 2 (E2).

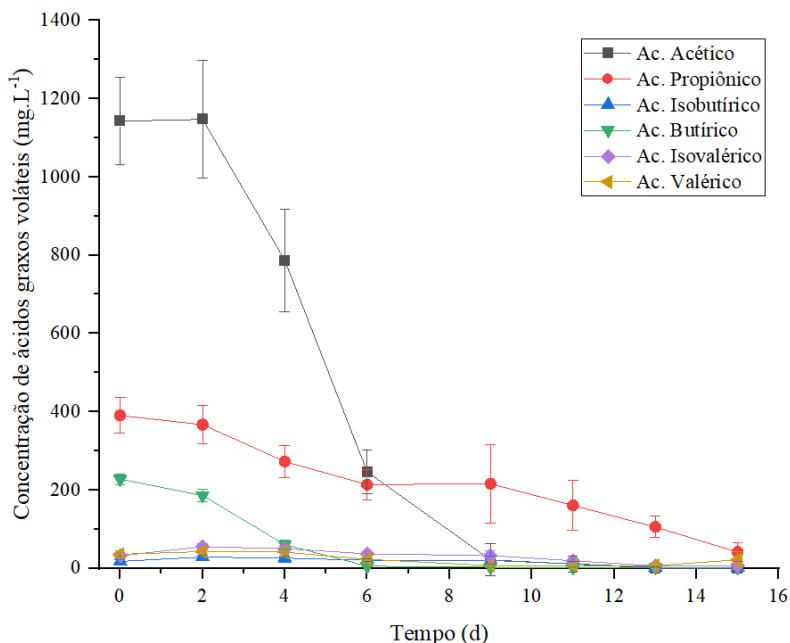


Nota: Os valores foram tratados com as médias das suas respectivas triplicatas de cada tratamento.

Fonte: a autora

A identificação dos AGV individuais formados e consumidos durante o processo de digestão anaeróbia é muito importante, pois fornece informações valiosas sobre as vias metabólicas envolvidas no processo. Na Figura 16 são apresentados os perfis das concentrações dos ácidos intermediários na digestão anaeróbia para o ciclo 6 ao longo do período de monitoramento durante o Ensaio 2.

**Figura 16:** Ácidos orgânicos de cadeia curta ao longo do tempo para o ciclo 6 (9500 mg L<sup>-1</sup>) durante o Ensaio 2 (E2).



Nota: Os valores foram tratados com as médias das suas respectivas triplicatas.

Fonte: a autora

Durante o ciclo 6 com uma carga orgânica expresso em DQO de 9500 mg L<sup>-1</sup>, as concentrações dos ácidos intermediários começaram a diminuir gradualmente após o dia 2. De acordo com Senturk et al. (2010), a determinação dos ácidos graxos voláteis no tratamento anaeróbio é muito importante, pois fornece informações sobre as rotas metabólicas do processo. O ácido acético, propiônico, butírico e isobutírico são todos formados diretamente a partir da oxidação anaeróbia de carboidratos, proteínas e até gorduras (HORIUCHI et al., 2002). O acético é considerado o principal precursor do metano e, portanto, a conversão do acético e butírico foram maiores com resultados de remoções ao final do experimento de 100% e 99% respectivamente. A oxidação do ácido propiônico é termodinamicamente desfavorável, pois a biodegradação desse ácido é realizada por reações enzimáticas bastantes extraordinárias (OZTURK, 1991; WANG et al., 1999). Porém, neste estudo, um 89% de ácido propiônico foi consumido ao final do ciclo 6, as razões para isso foram baixa concentração inicial do ácido (390 mg L<sup>-1</sup>), duração do tempo de ensaio suficiente e rápida degradação do propiônico na ausência do ácido acético. Os AGV com peso molecular mais altos, como o ácido valérico e isovalérico, são produzidos por desaminação redutiva de um único aminoácido ou por reações de oxidação-redução entre aminoácidos pares (ELEFSINIOTIS and OLDHAM, 1994; MCINERNEY, 1988; LATA et al., 2002). Neste estudo, o valérico e isovalérico foram consumidos em um 40% e 83% respectivamente, a formação do isovalérico não foi observado, devido ao baixo teor de proteínas das águas residuárias de café

solúvel. Tem sido relatado que a produção dos ácidos butírico, isobutírico, valérico e isovalérico, durante a digestão de substratos não proteicos é mínima. Nenhum desses AGV é normalmente produzido sob condições de baixa pressão parcial de  $H_2$  encontrada em sistemas de digestão acidogênica. A degradação anaeróbia de esses ácidos por oxidação produz ácido acético, acetona ( $CH_3COCH_3$ ) e álcool isopropílico ( $CH_3CH(OH)CH_3$ ). Como resultado da degradação, os ácidos isovalérico, acético e propiônico são formados como produtos finais (WANG et al, 1999). Os ácidos graxos com mais de 4 carbonos não podem ser convertidos em metano diretamente, portanto, eles são convertidos em metano seguido pela conversão em ácido acético via oxidação.

A concentração total de AGV na água residuária de café solúvel no início e final do ciclo 6 foi considerada como a soma das concentrações de ácidos acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico. A concentração média de ácidos graxos voláteis totais na entrada e saída nos reatores do ciclo 6, foram de  $1844,87 \text{ mg L}^{-1}$  e  $71,40 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente, com uma eficiência de remoção de AGV totais de 96% após o término do ensaio de digestão anaeróbia (15 dias).

Para que um sistema anaeróbio opere de maneira satisfatória é necessário que haja um equilíbrio entre as populações bacterianas, de modo que a taxa de remoção de ácidos pelas metanogênicas acompanhe a taxa de produção de ácidos pelas acidogênicas. Este equilíbrio foi alcançado de maneira satisfatória nos reatores do ciclo 6 durante o ensaio 2, o qual foi exposto a uma alta carga orgânica, observando que a operação ocorreu de maneira estável e eficiente e que o processo de digestão anaeróbia tem grande potencial de aplicação no tratamento de águas residuárias de composição complexa e de baixa degradabilidade.

### **Sólidos voláteis totais**

Os reatores montados para E2, como foi descrito anteriormente, foram operados em bateladas sequenciais conduzidos de modo que o inóculo fosse exposto às concentrações crescentes de matéria orgânica de  $2500 \text{ mg L}^{-1}$  até  $9500 \text{ mg L}^{-1}$ . Ao finalizar os seis ciclos experimentais, foi novamente feita a análise gravimétrica para sólidos para os três reatores, os resultados estão apresentados na Tabela 14.

**Tabela 14:** Série de sólidos para o início (Ciclo 1) e final (Ciclo 6) para E2.

Reatores	Sólidos Totais Voláteis ( $\text{g STV. L}^{-1}$ )		
	Esperado	Inicial	Final
4	8	$8,03 \pm 0,18$	$7,53 \pm 0,14$
5	8	$8,03 \pm 0,26$	$7,31 \pm 0,12$
6	8	$8,04 \pm 0,13$	$7,26 \pm 0,18$

Fonte: a autora

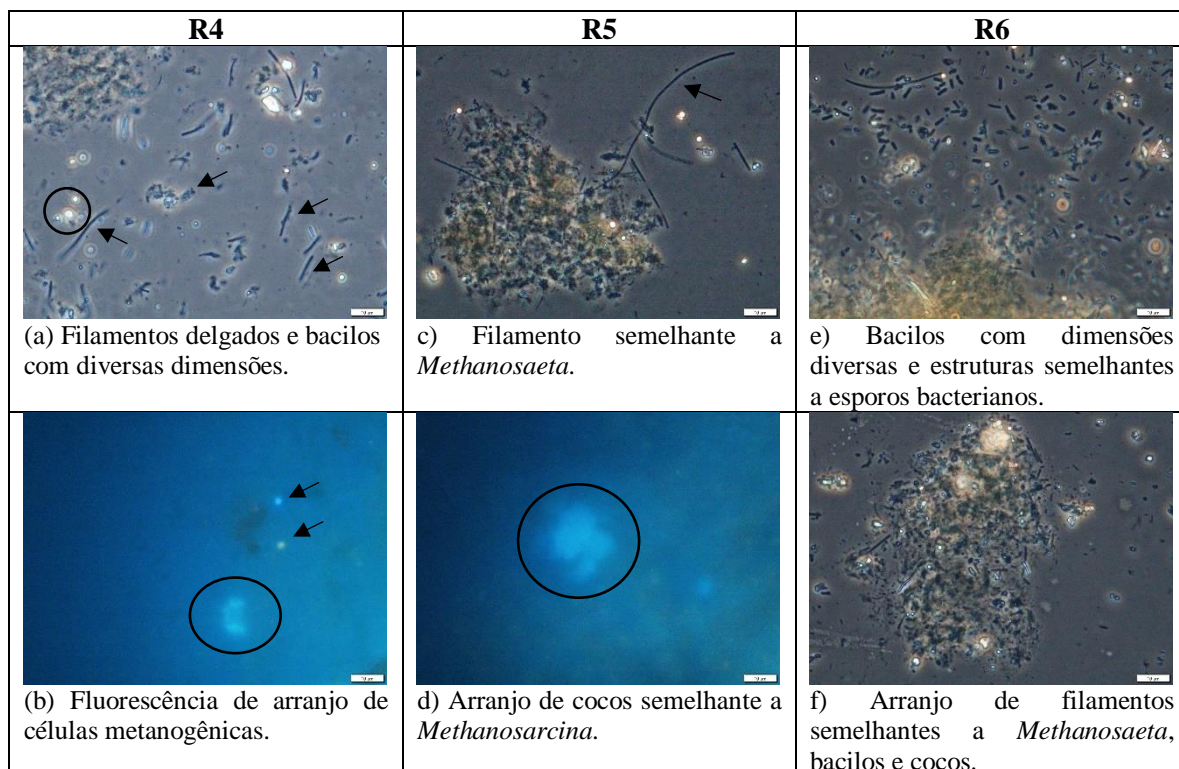
Observa-se que a redução média da concentração de sólidos totais voláteis nos frascos reatores foi de 8%, devido à perda do lodo que se teve ao final de cada ciclo, pois o inóculo era lavado com solução de macro e micronutrientes para a retirada de material recalcitrante.

Os valores médios determinados de STV para o lodo anaeróbio granular ao final do E2 foi de 61,96 gSTV.L<sup>-1</sup>, ligeiramente superiores aos valores obtidos durante a caracterização do lodo e apresentados no item 6.2. O ligeiro incremento observado, pode ser sido ocasionado devido a parte da matéria orgânica presente na água residuária de café solúvel foi aderida aos grânulos do lodo anaeróbio ou além de pequena morte microbiana, pode ter havido geração de microrganismos ao longo do tempo.

### Análise de microscopia óptica

Ao término de E2 também foram retiradas amostras do inóculo para caracterização por meio de análises de microscopia óptica de contraste de fase. A Figura 17 referem-se aos resultados obtidos pelas análises de microscopias óptica de contraste de fase e fluorescência.

**Figura 17:** Análise de microscopia óptica do lodo anaeróbio após o processo de digestão anaeróbia no Ensaio 2 (E2).



Fonte: a autora.

Os microrganismos com morfologia de bacilos não fluorescentes tiveram sua presença marcante ao final de ambos ensaios, sendo mais predominante no Ensaio 2 quando comparado no Ensaio 1. Tal morfologia pode ser associada ao gênero *Clostridium* uma vez que as bactérias do gênero *Clostridium* são capazes de hidrolisar a biomassa lignocelulósica pelo complexo multienzimático celulosoma. Este complexo macromolecular está composto por proteínas que medeiam a degradação da celulose (SOARES et al., 2018). Portanto, os microrganismos do gênero *Clostridium* estão presentes em ambientes anaeróbios celulósicos, digerem eficientemente a celulose por meio do celulosoma, além de converterem celulose em inúmeros metabólitos via fermentação, podendo ser utilizados em processos de conversão microbiana direta (DESVAUX, 2005).

Villa-Montoya et al. (2019) observou maior abundância relativa de *Clostridium* em pH acima de 7,0 e temperatura mesofílica (30 °C) em resíduos de processamento de café. Resultados semelhantes foram observados por Rabelo et al. (2018), visto que *Clostridium* foi o gênero mais abundante em reatores anaeróbios aplicados à fermentação mesofílica do bagaço de cana de açúcar. Segundo os autores, a dominância de *Clostridium* sugere que essas bactérias possuem papel importante na bioconversão eficiente do substrato em biorreatores anaeróbios. A bioconversão pode ser explicada pela alta atividade celulolítica de muitas espécies do gênero e também pela capacidade de realizar várias vias fermentativas. Essas bactérias fermentam açúcares obtidos da celulose e das hemiceluloses a ácidos como ácido acético, butírico, ácido fórmico e lático; e solventes como acetona, etanol e butanol (KOPKE et al., 2011; LIOU et al., 2005; RAGANATI et al., 2014).

Ao final de ambos ensaios também foram verificados microrganismos relacionados à metanogênese tanto para conversão via acetoclástica como *Methanosaeta* e *Methanosarcina*, responsáveis por cerca de 60 a 70% de toda a produção de metano, a partir do grupo metil do ácido acético; quando para via hidrogenotrófica como bacilos fluorescentes. As arqueias pertencentes ao gênero de *Methanosaeta* formam filamentos longos e finos, o que auxilia na formação da trama microbiana de grânulos em reatores anaeróbios (VAN HAANDEL et al., 2014), ademais caracteriza-se por utilizar exclusivamente o ácido acético, tendo, por este, mais afinidade que as methanosarcinas. O grânulo microbiano se assemelha a um consórcio filamentoso através do qual fluidos e gases podem fluir lentamente. Essa estratégia ajuda as células microbianas a se protegerem nos ambientes estressantes e do ponto de vista técnico; grânulos estáveis podem aumentar a eficiência dos digestores anaeróbios. Enquanto, os organismos pertencentes ao gênero *Methanosarcina* se desenvolvem na forma de cocos, que se agrupam formando “pacotes”. São considerados os mais versáteis entre os metanogênicos, já que possuem espécies capazes de utilizar também o hidrogênio e as metilaminas (SOUBES, 1994).



Enquanto, a presença das arqueias hidrogenotróficas é fundamental para ocorrência das reações termodinamicamente favoráveis com liberação de energia ( $-31\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), uma vez que esses microrganismos mantêm a pressão parcial de hidrogênio em níveis extremamente baixos, favorecendo o deslocamento do sentido da reação para a produção de  $\text{H}_2$  e  $\text{CO}_2$  (FUESS, 2016), proporcionando bom funcionamento do sistema.

Portanto, foi observado que o lodo possui uma grande diversidade microbiana, com a presença de arqueias capazes de produzir metano por todas as vias fisiológicas. Desta forma, a conversão dos compostos intermediários não está restrita a uma única via; pois não ocorreu acúmulo de AGV totais, visto que os mesmos eram prontamente convertidos a metano e, deste modo, houve aumento do pH, como será descrito no item 6.3.6.2. É importante ressaltar que as diversas reações somente ocorrem concomitantemente e em situação de equilíbrio (GUIMARÃES e NOUR, 2001).

## 7. CONCLUSÕES

As seguintes conclusões principais foram extraídas do presente estudo:

- A água residuária de café solúvel oriunda da empresa Cocam Cia (Catanduva – SP) apresentou uma concentração média de 11000 mg L<sup>-1</sup> em termos de demanda química de oxigênio.
- O efluente advindo da produção de café solúvel mostrou-se degradável anaerobiamente em reatores operados em bateladas sequenciais, respondendo de forma estável diante do aumento da carga orgânica de 2500 mg L<sup>-1</sup> a 9500 mg L<sup>-1</sup>, permitindo o aumento na produção de metano, com remoções estáveis de matéria orgânica expressada em termos de DQO, fenóis e ácidos graxos voláteis.
- Observou-se que, durante os quatro ciclos de pré-exposição do lodo anaeróbio à água residuária de café solúvel em bateladas sequencias, a relação entre a DQO recuperada em metano acumulado ao final do ciclo e o decaimento do material orgânico medido em DQO foi maior da unidade, sendo: de 2,38 a 4,61 para os reatores do ensaio 1, e de 1,81 a 4,12 para os reatores do ensaio 2, sendo indicativo de morte microbiana durante a adaptação do inóculo ao efluente ministrado.
- O lodo anaeróbio adaptou-se à água residuária de café solúvel durante os ciclos 4 a 6 do presente estudo, após aproximadamente 105 dias de experimento, tendo sido verificada produção crescente de metano e também elevados teores de metano no biogás, com valores de: 43% a 64% para os reatores do ensaio 1, e de 70% a 76% para os reatores do ensaio 2, no mesmo momento em que houve as maiores remoções de demanda química de oxigênio, demonstrando que os parâmetros estão relacionados.
- As maiores remoções de compostos fenólicos totais foram observadas durante a segunda fase do estudo experimental com valores de: 22% a 28% para o ensaio 1 e 31% a 50% para o ensaio 2; indicando a viabilidade da aplicação do sistema anaeróbio empregado no tratamento das águas residuárias do processamento de café solúvel. A remoção dos compostos fenólicos fez que a concentração de metano nos ciclos 4 a 6 aumentasse, embora esses compostos sejam tóxicos ao metabolismo das arqueias metanogênicas.

## 8. SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

De maneira a promover um melhor desempenho dos biodigestores assim como novas pesquisas para tratamento biológico da água residuária de café solúvel, a seguir se descreve algumas sugestões para futuras pesquisas.

- Implementar um sistema de agitação mecânica nos frascos reatores a fim de melhorar a superfície de contato entre os microrganismos e a matéria orgânica, pois um aumento da superfície de contato acelera a velocidade de reação, caso contrário haverá zonas mortas, devido à sedimentação do lodo, ocasionando perda de parte da capacidade útil do digestor.
- Estudar o processo de digestão anaeróbia da água residuária de café solúvel por via termofílica, pois a velocidade de digestão é maior nessa temperatura; além disso, a operação na faixa termofílica resulta em lodos mais facilmente desidratáveis e em maior remoção de compostos recalcitrantes.
- Avaliar a eficiência do sistema anaeróbio – aeróbio em reatores de batelada para estudo do processo de digestão da água residuária de café, devido a que esse sistema produz maior volume de metano, com remoções estáveis de matéria orgânica, macronutrientes, fenóis e elementos orgânicos.
- Testar outros inóculos ou a mistura de um ou mais inóculos no mesmo sistema; para ter uma melhor diversidade biológica que ajude na manutenção do pH, umidade e favoreça a produção de biogás durante todo o experimento.
- Analisar a quantidade de sólidos voláteis totais ao longo do tempo de duração do ensaio, devido a que esse análise permite conhecer a quantidade de matéria orgânica removida do substrato durante o processo de digestão anaeróbia.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDIS, Y.; LETA, S.; ALEMU, T. Management options for coffee processing wastewater. A review. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 22, p. 454 – 469.

ADORNO, M.; HIRASAWA, J.; VARESCHE, M. Development and Validation of two methods to quantify volatile acids (C2 – C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid – Liquid Extraction (LLE). **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 5, p. 406, 2014.

ALEXIOU I.; ANDERSON, G.; EVISON, L. Design of pre-acidification reactors for the anaerobic treatment of industrial wastewater. **Water Science & Technology**, v. 29, n. 9, p. 199 – 204, 1994.

ALSHIYAB, H.; KALIL, M.; HAMID, A.; WAN YUSOFF, W. Effect of salts addition on hydrogen production by *C. acetobutylicum*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.11, p. 2193 – 2200, 2008.

ALTAS, L. Inhibitory effect of heavy metals on methane – producing anaerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 1551 – 1556, 2009.

AMAROWICZ, R. Tannins: the new natural antioxidants? **Journal Lipid Science Technology**, v. 109, n. 6, p. 549 – 551, 2007.

ANDERSON, K.; SALLIS, P.; UYANIK, S. Anaerobic treatment processes. **Handbook of Water and Wastewater Microbiology**, p. 391 – 426, 2003.

ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of micropollutants. **Re-views in Environmental Science and Biotechnonology**, v. 3, n. 2, p. 117 – 129, 2004.

ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; CAMPOS, L.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; GUWY, A.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J. Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAI). Task Group Meeting 9th to 10th October 2006 in Prague. Institute of Environment & Resources, **Technical University of Denmark**, Bygningstorvet., 2007.

ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J.L.; GUWY, A.J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J.B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water Science and Technology**, v. 59, n.5, p. 927 – 934, 2009.

APHA, A Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. **Inc., Washington, DC**, 2012.

AQUINO, F. & CHERNICHARO, C. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.10, n. 12, p. 152 – 161, 2005.

AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A.; FORESTI, E., SANTOS, M.; MONTEGGIA, L. Metodologias para determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, n.2, p. 192 – 201, 2007.

ARCHER, D. and KIRSOP, B. The microbiology and control of anaerobic digestion. In: A. Wheatley (ed.) *Anaerobic Digestion: A Waste Treatment Technology*. **Elsevier Applied Science**, p. 43 – 91, 1990.

ARRIEL, J. Oxidação enzimática de compostos fenólicos em água residuária do processamento do café. Tese de desertação de Mestrado, **Universidade Federal de Lavras**, 2014.

ARRIEL, J.; BATISTA, P.; CRISTINA, M.; DOS SANTOS, C.; DUARTE, A. Enzymatic oxidation of phenolic compounds in coffee processing wastewater. **Water Science Technology**, v. 73, n.1, p. 39 – 50, 2016.

AZHAR, N.; STUCKEY, D. The influence of chemical structure on anaerobic catabolism of refractory compound: a case study of instant coffee wastes. **Water Science and Technology**, v.30, n.12, p. 223 – 232, 1994.

BAE, B.; AUTENRIETH, R.; BONNER, J. Kinetics of multiple phenolic compounds degradation with a mixed culture in a continuous-flow reactor. **Water Environment Research**, v.67, p. 215 – 223, 1995.

BELITZ, H.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Coffee, tea, cocoa. In H.-D. Belitz, W. Grosch, & P. Schieberle (Eds.), **Food Chemistry 4th ed.**, p. 938 – 951, Leipzig: Springer, 2009.

BELLO, R.; CASTILLO, M. Start-up of an anaerobic hybrid UASB filter reactor treating wastewater from a coffee processing plant. **Journal Anaerobe Environmental Microbiology**, v. 4, p. 219 – 225, 1998.

BEYENE, A.; YEMANE, D.; ADDIS, T.; ASSAYIE, A.; TRIEST, L. Experimental evaluation of anaerobic digestion for coffee wastewater treatment and its biomethane recovery potential. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 1881 – 1886.

BEYENE, A.; KASSAHUM, Y.; ADDIS, T.; ASSEFA, F.; AMSALU, A.; LEGESSE, W.; KLOOS, H.; TRIEST, L. The impact of traditional coffee processing on river water quality in Ethiopia and the urgency of adopting sound environmental practices. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n.11, p. 7053 – 7063, 2012.

BLINOVÁ, L.; BARTOSOVÁ, A.; SOLDÁN, M. Utilization of waste from coffee production. **Fac Mate Science Technology Trnava**, v. 25, n. 40, p. 91 – 101, 2017.

BLUNDI, C.; GADELHA, R. Método para Determinação de Matéria Orgânica Específica em Águas Residuárias. In: Chernicharo, C.A.L. (coord.). Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos. Belo Horizonte: PROSAB, p. 9 – 17, 2001.

BOLAÑOS, M.; VARESCHE, M.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Phenol degradation in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor under mesophilic conditions. **Water Science and Technology**, v.44, n.4, p. 167-174, 2001.

BOTELLO, W. High-rate anaerobic reactors treating coffee processing wastewater at different OLR and post-treatments: effects on methane production, effluent quality and microbial populations. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2018.

BRAHAM, J.E.; BRESSANI, R. Coffee Pulp: Composition, Technology, and Utilization; IDRC: Ottawa, ON, Canadá, 1978.

BRAVO, J. et al. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. **Food Research International**, Stability of phytochemicals during processing, v. 50, n. 2, p. 610 – 616, 2013.

BRUNO, M.; OLIVEIRA, R. Tratamento anaeróbio de águas residuárias do beneficiamento de café por via úmida em reatores UASB em dois estágios. **Revista Engenharia Agrícola**, v. 28, n.2, p. 364 – 377, 2008.

CAMPOS, C.; CARMO, A.; LUIZ, F. Impacto ambiental causado pela poluição hídrica proveniente do processamento úmido do café. **Revista Cafeicultura**, Patrocínio, v. 1, n. 4, 2002.

CAMPOS, C.; PRADO, M.; PEREIRA, E. Anaerobic digestion of wastewater from coffee and chemical analysis of biogas produced using gas chromatography: quantification of methane, and potential energy gas exchanger. **Bioscience Journal**, v.29, n.3, p. 570-581, 2008.

CAMPOS, C.; PRADO, M.; PEREIRA, E. Caracterização físico – química, bioquímica e energética da água residuária do café processado por via úmida. **Bioscience Journal**, v. 26, n.4, p. 514 – 524, 2010.

CCE. Centro para a conservação de energia. **Guia Técnica de Biogás**. In: Energia, D.G.D (ed)., Algés, 14 – 24; 42 – 44; 51 – 61.

CECAFE. Conselho dos Exportadores de Café do Brasil. Relatório mensal dezembro 2022. Exportações Brasileiras: [www.cecafe.com.br](http://www.cecafe.com.br)

CHAPAGAIN, A.; HOEKSTRA, A. The water needed to have the Dutch drink coffee. **UNESCO-LHE Institute for Water Education Resource**, n. 14, p. 8 – 14, 2003.

CHEN, Y.; CHENG, J.; CREAMER, K. Inhibition of anaerobic digestion process: A review: **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4044 – 4064, 2008.

CHEN, Y.; HE, J.; WANG, Y.; KOTSOPOULOS, T.; KAPARAJU, P.; ZENG, R. Development of an anaerobic co – metabolic model for degradation of phenol, m – cresol and easily degradable substrate. **Biochemical Engineering Journal**, v. 106, p. 19 – 25, 2016.

CHERNICHARO, C.A.L. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 5. Reatores anaeróbios. Belo Horizonte, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – **Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)**, 2007a.

CHERNICHARO, C. A. L. Reatores anaeróbios. 2 ed. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)**, Belo Horizonte, MG, 379 p., 2007b.

CIRNE, D.; PALOUMENT, X.; BJORNSSON, I.; ALVEZ, M. MATTIASSON, B. Anaerobic digestion of lipid – rich waste – effects of lipids concentration. **Renewable Energy**, v. 32, n. 6, p. 965 – 975, 2007.

CLARKE, R.; MACRAE, R. Coffee. **Elsevier Applied Sciences**, n. 2, 1987.

CODIGNOLE LUZ, F.; CORDINER, S.; MANNI, A.; MULONE, V.; ROCCO, V. Biomass fast pyrolysis in screw reactors: Prediction of spent coffee grounds bio – oil production through a monodimensional model. **Energy Conversion and Management**, v. 168, p. 98 – 106, 2018.

COFFEE PRODUCTION WORLDWIDE FROM 2003/04 TO 2017/18 (In Million 60 Kilogram Bags). Available online: <https://www.statista.com/statistics/263311/worldwide-production-of-coffee/> (accessed on 1 October 2018).

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento de safra brasileira: café, Safra 1, p. 1 – 59, 2017.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Safra de café, 2022.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA), Resolução N°430, p. 1 – 9, 2011. Disponível: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>

CRUZ, R. Coffe by – products: Sustainable Agro – Industrial Recovery and Impact on Vegetables Quality: dissertation thesis. **Universidade de Porto**, 2014.

CRUZ-SALOMON, A.; RÍOS, E.; POLA, F.; MEZA, R.; LAGUNAS, S.; RUIZ, V. Anaerobic treatment of agro-industrial wastewaters for COD removal in expanded granular sludge bed bioreactor. **Biofuel Research Journal**, v. 4, n. 4, p.715 – 720, 2017a.

CRUZ-SALOMON, A.; RÍOS, E.; POLA, F.; MEZA, R.; LAGUNAS, S.; RUIZ, V. Evaluation of Hydraulic Retention Time on Treatment of Coffee Processing Wastewater (CPWW) in EGSB Bioreactor. **Sustainability Journal**, v. 10, n. 1, p. 1 - 11, 2017b.

DAS, A.; VENKATACHALAPATHY, N. Profitable Exploitation of Coffee Pulp – a Review. **International Journal of Applied and Natural Sciences**, v. 5, n. 1, p. 75 – 82, 2016.

DEMIREL, B.; YENIGUN, O. The effects of change in volatile fatty acid (VFA) composition on methanogenic upflow filter reactor (UFAF) performance. **Environmental Technology**, v. 23, p. 1179 – 1187, 2002.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 992 – 998, 2011.

DELFORNO, T.; LACERDA, G.; NORONHA, M.; SAKAMOTO, I.; VARESCHE, M.; OLIVEIRA, V. Microbial diversity of a full-scale UASB reactor applied to poultry slaughterhouse wastewater treatment: integration of 16S rRNA gene amplicon and shotgun metagenomic sequencing. **MicrobiologyOpen**, v.1, n. 443, p. 1 – 12, 2017.

DE LA RUBIA, M.; PEREZ, M.; ROMERO, L.; SALES, D. Effect of solids retention time (SRT) on pilot scale anaerobic thermophilic sludge digestion. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 79 -86, 2005.

DESVAUX, M. Clostridium cellulolyticum: Model organism of mesophilic cellulolytic clostridia. **FEMS Microbiology Reviews**, v.29, n.4, p. 741 – 764, 2005.

DEUBLEIN, D. and STEINHAUSER, A. Biogas from waste and Renewable Resources – An Introduction, Wiley – VCH, Germany, p. 47 – 137, 2008.

DEVI, R.; SINGH, V.; KUMAR, A. COD and BOD reduction from coffee processing wastewater using Avacado peel carbón. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1853–1860, 2008.

DINSDALE, R.; HAWKES, F.; HAWKES, D. The mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of coffee waste containing coffee grounds. **Water Research**, v. 30, n. 2, p. 371 – 377, 1996a.



DINSDALE, R.; HAWKES, F.; HAWKES, D. Comparison of mesophilic and thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactors treating instant coffee production wastewater. **Water Resources**, v. 31, n. 1, p. 163 – 169, 1996b.

DINSDALE, R.; HAWKES, F.; HAWKES, D. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion with thermophilic pre – acidification of instant coffee production wastewater. **Water Research Journal**, v. 31, n. 8, p. 1931 – 1938, 1997.

DOBROSZ – GOMÉZ, I. e GÓMEZ – GARCÍA, M. Integration of environmental and economic performance of electro – coagulation – anodic oxidation sequential process for the treatment of soluble coffee industrial effluent. **Science of the Total Environment**, N° of pages, 14, 2020.

DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, v.28, n.3, p. 350 – 356, 1956.

EJETA, T.; HADDIS, A. Assessment of the effect of effluent discharge from coffee refineries on the quality of river water in Southwestern Ethiopia. **Journal Environmental Science and Technology**, v.10, n. 8, p. 230 – 241, 2016.

ELEFSINIOTIS, P.; OLDHAM, W. Anaerobic acidogenesis of primary sludge: the role of solids retention time. **Biotechnology Bioenergy**, v. 44, p. 7 – 13, 1994.

ELSHAHED, M.; BHUPATHIRAJU, V.; WOFFORD, N.; NANNY, M.; MCLNERNEY, M. Metabolism of benzoate, cyclohex-1-ene carboxylate, and cyclohexane carboxylate by “*Syntrophus aciditrophicus*” strain SB in syntrophic association with H<sub>2</sub>-using microorganisms. **Appl. Environmental Microbiology**, v. 67, p. 1728 – 1738, 2001.

ENG WEE EAN. Pretreatment of instant coffee wastewater by coagulations and flocculations. Masters thesis. **University Technology Malaysia. Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering**, 2008.

ERSAHIN, M.; OZGUN, H.; DERELI, R.; OZTURK, I. Anaerobic treatment of industrial effluents: an overview of applications. **Wastewater treatment and reutilization**. Istanbul Technical University, p. 1 – 28, 2011.

ESTEVEZ, B. Influência do processo de secagem por pulverização mecânica (Spray Dryer) no tamanho de partícula e densidade aparente do café solúvel. Dissertação (Mestrado) – **Escola Politécnica da Universidade de São Paulo**, São Paulo. 2006.

ETIENNE, H. Somatic embryogenesis protocol: coffee (*Coffea arabica* L. and *C. canephora* P.). In S. M. Jain & P. K. Gupta (Eds.), **Protocol for somatic embryogenesis in woody plant**, v.77, p.167–168, 2005.

FANG, H. and LIU, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresource Technology**, v. 82, p. 87 – 93, 2002.

FANG, H.; LIU, Y.; KE, S.; ZHANG, T. Anaerobic degradation of phenol in wastewater at ambient temperature. **Water Science Technology**, v.49, p. 95 – 102, 2004.

FANG, H.; LIANG, D.; ZHANG, T.; LIU, Y. Anaerobic treatment of phenol in wastewater under thermophilic condition. **Water Research**, v. 40, p. 427 – 434, 2006.

FARAH, A., 2012. Coffee constituents. In: Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention. Wiley - Blackwell, Oxford, p. 21 - 58, 2012. <http://dx.doi.org/10.1002/9781119949893.ch2>.

FAZOULI, L.; BRAGHINI, M.; MISTRO, J.; SILVAROLLA, M. Café robusta: uma nova opção para a cafeicultura paulista. *O Agrônômico*. Campinas: IAC, n. 59, p. 71 – 74, 2007

FERMOSO, F.; BARTACEK, J.; JANSEN, S.; LENS, P. Metal supplementation to UASB bioreactors: from cell-metal interactions to full-scale application. **Science of Total Environmental**, v.407, n.12, p. 3652 – 3667, 2009.

FERNANDEZ, N.; FORSTER, C. A comparative examination of the start – up of a mesophilic and thermophilic anaerobic filter treating a synthetic coffee waste. **La Revista Técnica de Ingeniería, Universidad del Zulia, Venezuela**, v. 17, n. 2, p. 59 – 66, 1993a.

FERNANDEZ, N.; FORSTER, C. A study of the operation of mesophilic and thermophilic anaerobic filters treating a synthetic coffee waste. **Bioresource Technology**, v. 45, p. 223 – 227, 1993b.

FERRÃO, R. Café Conilon. Vitória: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (**INCAPER**), p. 702, 2007.

FIA, R.; MATOS, A.; LUIZ, A.; PEREIRA, P. Coeficientes de degradação da matéria orgânica de água residuária da lavagem e descascamento dos frutos do cafeeiro em condições anóxica e aeróbica. **Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, p. 45 – 54, 2007.

FIA, F.; BORGES, A.; MATOS, A.; DUARTE, I.; FIA, R.; DE CAMPOS, L. Development of biofilm in anaerobic reactors treating wastewater from coffee grain processing. **Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n.2, p. 210 – 217, 2010a.

FIA, R.; MATOS, A.; BORGES, A.; MOREIRA, D.; FIA, R.; VALDEIR, E. Remoção de compostos fenólicos em reatores anaeróbios de leito fixo com diferentes materiais de suporte. **Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.10, p. 1079 – 1086, 2010b.

FIA, R.; MATOS, A.; FIA, F. Biological systems combined for the treatment of coffee processing wastewater: II – removal of nutrients and phenolic compounds. **Science Technology**, v. 35, p. 451 – 456, 2013.

FUESS, L. Biodigestão anaeróbia termofílica de vinhaça em sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico para potencialização da recuperação de bioenergia em biorrefinarias de cana de açúcar de primeira geração. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, **Universidade de São Paulo**, São Carlos, p. 346, 2017.

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, p. 405 – 410, 1997.

GERARDI, M. Methane – forming bacteria. Wastewater bacteria. John Wiley and Sons, Inc: p. 161 – 163, 2006.

GUIMARÃES J. e NOUR, E. A evolução da atmosfera terrestre. Cadernos Temáticos de Química Nova, n.1, p. 41 – 49, 2001.

GRADY, C.; LIM, H. **Biological Waste Treatment**. New York: Marcel Dekker, 1980.

HAIJPAKKOS, C. The application of a full – scale UASB plant for the treatment of coffee waste. **Water Science and Technology**, v. 25, n. 1, p. 17 – 22, 1992.

HEJNFELT, A.; ANGELIDAKI, I. Anaerobic digestion of slaughterhouse by – products. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, p. 1046 – 1054, 2009.

HENSE, M. Characterization of wastewater for modelling of activated sludge processes. **Water Science and Technology**, v. 25, n. 1, p. 1 - 15, 1992.

HORIUCHI, J.; SHIMIZU, T.; KANNO, T.; KOBAYASHI, M. Dynamic behaviour in response to pH shift during anaerobic acidogenesis with a chemostat culture. **Biotechnology Technology**, v. 13, p. 155 – 157, 1999.

HOLM – NIELSEN, J.; AL SEADI, T.; OLESKOWICS, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization, **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5478 - 5484, 2009.

HULSHOFF POL, LOOK. The phenomenon of granulation of anaerobic sludge. Landbouwniversiteit te Wageningen 1989.

IBARRA – TARQUEZ, H.; GILPAVAS, E.; BLATCHLEY, E.; GÓMEZ – GARCÍA, M.; DOBROSZ -GÓMEZ, I. Integrated electrocoagulation – electrooxidation process for the treatment of soluble coffee effluent: Optimization of COD degradation and operation time analysis. **Journal of Environmental Management**, v. 200, p. 530 – 538, 2017.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION, “ICO Annual Review 2017/18”, 2017.

JIMENEZ, J.; LATRILLE, E.; HARMAND, J.; ROBLES, A.; FERRER, J.; GAIDA, D.; WOLF, C.; MAIRET, F. Instrumentation and control of anaerobic digestion processes: a review and some research challenges. **Reviews in Environmental Science Biotechnology**, v. 14, p. 615 – 648, 2015.

KIM, W.; SHIN, S.; CHO, K.; LEE, C.; HWANG, S. Performance of methanogenic reactors in temperature phased two – stage anaerobic digestion of swine wastewater. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 114, p. 635 – 639, 2012.

KIM, J.; PARK, C.; KIM, T.; LEE, M.; KIM, S.; KIM, S – W, et al. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **Journal Bioscience and Bioengineering**, v. 95, p. 271 – 275, 2003.

KOPKE, M.; MIHALCEA, C.; LIEW, F.; TIZARD, J.; ALI, M.; CONOLLY, J.; SINAWI, B. 2,3 – butanediol production by acetogenic bacteria, an alternative route to chemical synthesis, using industrial waste gas. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 15, p. 5467 – 5475, 2011.

KONGJAN, P.; ANGELIDAKI, I. Hydrogen and methane production from desugared molasses using a two-stage thermophilic anaerobic process. **Engineering in Life Sciences**, v. 13, n.2, p.118-125, 2013.

KULANDAIVELU, V.; BHAT, R. Changes in the physico-chemical and biological quality attributes of soil following amendment with untreated coffee processing wastewater. **European Journal of Soil. Biology**, v. 50, p. 39 – 43, 2012.

LANTING, J.; JORDAN, J.; SCHONE, M.; KULL, A.; CAREY, W. KITNEY, B. Thermophilic anaerobic digestion of coffee wastewater. **Purdue Industrial Waste Conference Proceeding**, n. 43, p. 513 – 527, Michigan, 1989.

LATA, K.; RAJESHWARI, K.; PANT, D.; KISHORE, V. Volatile fatty acid production during anaerobic mesophilic digestion of tea and vegetable market wastes. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.18, p. 589 – 592, 2002.

LAWRENCE, K.; HUNG, Y.; HOWARD, H.; YAPIJAKIS, C. Handbook of Industrial and Hazardous Wastes Treatment, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Marcel Dekker Inc., 2004.

LEE, D.; BEHERA, S.; KIM, J.; PARK, H. Methane production potential of leachate generated from Korean food waste recycling facilities: a lab – scale study. **Waste Management**, v. 29, p. 876 – 882, 2009.

- LEE, D.; JEGATHEESAN, V.; NGO, H.; HALLENBECK, P. PANDEY, A. Current developments in biotechnology and bioengineering. **Biological treatment of industrial effluents**, 2017.
- LEVÉN, L.; NYBERG, K.; SCHNURER, A. Conversion of phenols during anaerobic digestion of organic solid waste – A review of important microorganisms and impact of temperature. **Journal of Environmental Management**, v. 95, p. 99 – 103, 2012.
- LI, T.; JUTEAU, P.; BEAUDET, R.; LEPINE, F.; VILLEMUR, R.; BISAILLON, J. Purification and characterization of a 4-hydroxybenzoate decarboxylase from an anaerobic co-culture. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 856 – 859, 2000.
- LI, Y.; CHEN, Y.; WU, J. Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. **Applied Energy**, v. 240, p. 120 – 127, 2019.
- LIM, P.W. Keberkesanan Koagen dan Alum Dalam Rawatan Air Sisa Pemprosesan Kopi. Universiti Teknologi Malaysia, Skudai: B. Sc. Thesis. 1999.
- LIN, C.; SHEI, S. Heavy metal effects on fermentative hydrogen production using natural mixed microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.33, p. 587 – 593, 2008.
- LIU, J.; BALKWILL, D.; DRAKE, G.; TANNER, R. Clostridium carboxidivorans sp. Nov., a solvent producing clostridium isolated from an agricultural settling lagoon, and reclassification of the acetogen Clostridium scatologenes strain SL1 as Clostridium drakei sp. Nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.55, p. 2085 – 2091, 2005.
- LIU, T.; SUNG, S. Ammonia inhibition on thermophilic acetoclastic methanogens. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 113 – 120, 2002.
- LIU, Z.; LI, Q.; ZHANG, C.; WANG, L.; HAN, B.; LI, B.; ZHANG, Y.; CHEN, H.; XING, X.H. Effects of operating parameters on hydrogen production from raw wet steam-exploded cornstalk and two-stage fermentation potential for biohythane production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 90, p. 234 – 238, 2014.
- LO MONACO, P.; MATOS, A.; SILVA, N.; LIMA, C.; MOREIRA, R. Estimativa da concentração de potássio a partir da condutividade elétrica em águas residuárias da lavagem e despolpa dos frutos do cafeeiro. In: Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem, Porto Alegre, RS: 2004.
- LO, H.; CHIANG, C.; TSAO, H.; PAI, T.; LIU, M.; KURNIAWAN, T.; CHAO, K.; LIOU, C.; LIN, K.; CHANG, C.; WANG, S.; BANKS, C.; LIN, C.; LIU, W.; CHEN, P.; CHEN, C.; CJIU, H.; WU, H.; CHAO, T. Effects of spiked metals on the MSW anaerobic digestion. **Waste Management and Research**, v.30, n. 1, p. 32 – 48, 2012a.

LO, H.; CHIU, H.; LO, S.; LO, F. Effects of different SRT on anaerobic digestion of MSW dosed with various MSWI ashes. **Bioresource Technology**, v. 125, p. 233 – 238, 2012b.

MA, J.; MUNGONI, L.; VERSTRAETE, W.; CARBALLA, M. Maximum removal rate of propionic acid as a sole carbon source in UASB reactors and the importance of the macro-and micro-nutrients stimulation. **Bioresource Technology**, v.100, n.14, p. 3477 – 3482, 2009.

MALINA, J.; POHLAND, F. Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes. Lancaster: Technomic. Water Quality Management Library, v.7, 1992.

MANH, H. Optimization of electrocoagulation of instant coffee production wastewater using the response surface methodology. **Polish Journal of Chemical Technology**, v. 19, n. 2, p. 67 – 71, 2017.

MAO, C.; YONGZHONG, F.; XIAOJIAO, W.; GUANGXIN, R. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.45, p. 540 – 555, 2015.

MATOS, A. e LO MONACO, P. Caracterização dos resíduos sólidos e líquidos no processamento dos frutos do cafeeiro. **Viçosa: UFV**, p. 68, 2003 (Boletim Técnico, 7).

McINERNEY, M. Anaerobic hydrolysis and fermentation of fats and proteins, in: A.J.B. Zehnder (Ed). *Biology of anaerobic microorganisms*, Jhon Wiley, New York, p. 374 – 415, 1988.

MERLO, P. *Colinon capixaba: 100 anos de desafios, crescimento e evolução*. Vitória, ES: Bumerangue Produção de Comunicação. 100 p. 2012.

METCALF and EDDY. *Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse*. 4.ed. rev. New York: McGraw-Hill, p. 1819, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Available at: (<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cafe/saiba-mais>) (accessed on March 3.03.15), 2015.

MUSSATTO, S.I.; MACHADO, E.M.S.; MARTINS, S.; TEIXEIRA, J. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 661 - 672, 2011.

MURTHY, P.S.; MADHAVA NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry by products and value addition – a review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 66, p. 45 – 58, 2012.

NEVES, L.; Oliveira R.; Alves M. Anaerobic co-digestion of coffee waste and sewage sludge. **Waste Management Journal**, v. 26, n. 2, p. 176 – 181, 2006.

NOVITA, E. Biodegradability simulation of coffee wastewater using instant coffee. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 9, p. 217 – 229, 2016.

OLIVEIRA, R.; BRUNO, N. Start-up of horizontal anaerobic reactors with sludge blanket and fixed bed for wastewater treatment from coffee processing by wet method. **Engenharia Agrícola**, v.33, n.2, 353 – 366, 2013.

OLLER, I.; MALATO y J.; SÁNCHEZ PEREZ. Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination – A Review. **Science Total Environmental**, v 409, p. 4161 – 4166, 2011.

ORREGO, D.; ZAPATA – ZAPATA, A.D.; KIM, D Bioresource Technology Reports Ethanol production from coffee mucilage fermentation by *S. cerevisiae* immobilized in calcium-alginate beads. **Bioresource Technology Reports**, v.3, p, 200 – 204, 2018.

OOSTERVELD, A; HARMSSEN, J.; VORAGEN, A.; SCHOLS, H. Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v.52, n.1, p. 285 – 296, 2003.

OZTURK, M. Conversion of acetate, propionate and butyrate to methane under thermophilic conditions in batch reactor. **Water Resources**, n. 25, p. 1509 – 1513, 1991.

PADMAPRIYA, R.; THARIAN, J.; THIRUNALASUNDARI, T. Treatment of coffee effluent by *Moringa oleifera* seed. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**, v. 4, n. 1, p. 288 – 295, 2015.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.; NIGAM, P.; BRAND, D.; MOHAN, R.; ROUSSOS, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 153-162, 2000.

PANG, Y.; LIU, Y.; LI, X.; WANG, K.; YUAN, H. Improving biodegradability and biogas production of corn stover through sodium hydroxide solid state pretreatment. **Energy & Fuels**, v. 22, n. 4, p. 2761 – 2766, 2008.

PARKIN, G.; OWEN W. Fundamentals of anaerobic – digestion of waste – water sludges. **Journal of Environmental Engineering – ASCE**, v. 112, n. 5, p. 867 – 920, 1986.

PÉREZ, T.; GEISLER, G.; HERNANDEZ, F. Chemical oxygen demand reduction in coffee wastewater through chemical flocculation and advanced oxidation processes. **Journal Environmental Science**, v. 19, n. 3, p. 300 – 305, 2007.

PIMENTA, C. **Qualidade do café**. Lavras: UFLA, p. 304, 2003.

PINHO, S.; RATUSZNEI, S.; RODRIGUES, J.; FORESTI, E. ZAIAT, M. Influence of the agitation on the treatment of partially soluble wastewater in anaerobic sequencing batch biofilm reactor. **Water Research**, v. 38, n. 19, p. 4117 – 4124, 2004.

PRADO, M. Produção de biogás no tratamento dos efluentes líquidos de *Coffea arabica L.* em reator UASB para o potencial aproveitamento na secagem do café. Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrícola, **Universidade Federal de Lavras**, Lavras, p. 206, 2006.

PRADO, M.; CAMPOS, C. Produção de biogás no tratamento dos efluentes líquidos do processamento de *Coffea arabica L.* em reator anaeróbico UASB para o potencial aproveitamento na secagem do café. **Ciências e Agrotecnologia**, v. 32, n.3, p. 938 – 947, 2008.

PRADO, M.; CAMPOS, C.; SILVA, J. A study on the variation of methane concentration in biogas produced from coffee wastewater. **Ciência Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 475 – 484, 2010.

PUEBLA, C.; PEREZ, C.; HERNANDEZ, J. POSTHARVEST: BIOLOGY AND TECHNOLOGY Performance of a UASB reactor treating coffee wet wastewater Digestion anaerobia , aguas residuales de cafe , reactor UASB. **Rev. Ciencias Tecnicas Agropecuarias**, v. 23, p. 50 - 56, 2014.

QUÉMÉNUER, M.; MARTY, Y. Fatty acids and sterols in domestic wastewater. **Water Research**, v. 28, p. 1217 – 1226, 1994.

QIAO, W.; TAKAYANAGI, K.; SHOFIE, M.; NIU, Q.; YU, H.; LI, Y. Thermophilic anaerobic digestion of coffee grounds with and without waste activated sludge as co-substrate using a submerged AnMBR: System amendments and membrane performance. **Bioresource Technology**, v. 150, p. 249 – 258, 2013.

RABELO, C.; SOARES, L.; SAKAMOTO, I.; VARESCHE, M. Bioconversion of cellulose into hydrogen, biogas and organic acids using microbial consortium from pulp and paper mill wastewater treatment plant. **Química Nova**, v. 41, p. 169 – 175, 2018.

RAGANATI, F.; PROCENTESE, A.; OLIVIERI, G.; RUSSO, M.; SALATINO, P. MFA of clostridium acetobutylicum pathway: The role of glucose and xylose on the acid formation/uptake. **Chemical Engineering Transactions**, v. 38, p. 337 – 342, 2014.

RAUNKJAER, K.; HVITVED – JACOBSEN, T.; NIELSEN, P. Measurement of pools of protein, carbohydrate and lipid in domestic wastewater. **Water Research**, v. 28, n. 2, p. 251 – 262, 1994.

RODRIGUES, N.P.; BRAGAGNOLO, N. Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC-DAD-MSn. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 32, p. 105 - 115, 2013.



RODRIGUEZ, S.; PÉREZ, R.; FERNÁNDEZ, M. Estudio de la biodegradabilidad anaerobia de las aguas residuales del beneficio húmedo del café. **Revista Interciencia**, v. 25, p. 386 – 390, 2000.

ROSSMAN, M.; TEIXEIRA DE MATOS, A.; CARNEIRO, E.; FONSECA E SILVA, F.; CARRARO, A. Performance of constructed wetlands in the treatment of aerated coffee processing wastewater: Removal of nutrients and phenolic compounds. **Ecological Engineering - Journal**, v. 49, p. 264 – 269, 2012.

SAXENA, D. A case study on effluent treatment plant of an instant coffee production unit. **Water Today**, p. 84 – 89, 2016.

SCHUTGENS, G. A study on monitoring and implementation of biogas at finca el Socorro, Matagalpa, Nicaragua. **Delft University of Technology**, 2010.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S. New aspects of coffee processing: The relation between seed germination and coffee quality. **Botanical Institute**, Technical University Braunschweig, Germany, 2001.

SELVAMURUGAN, M.; DORAISAMY, P.; MAHESWARI, M.; NANDAKUMAR, N. High rate anaerobic treatment of coffee processing wastewater using upflow anaerobic hybrid reactor. **Journal Environmental Health Science Engineering**, v.7, n. 2, p. 129 – 136, 2010.

SENTURK, E.; INCE, M.; ENGIN, O. Treatment efficiency and VFA composition of a thermophilic anaerobic contact reactor treating food industry wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, p. 843 – 848, 2010.

SGROI, F.; DI TRAPANI, A.; FODER, M.; TESTA, R.; TUDISCA, S. Economic performance of biogas plants using giant reed silage biomass feedstock. **Ecological Engineering - Journal**, v. 81, p. 481 - 487, 2015.

SINHA, P.; PANDEY, A. An evaluative report and challenges for fermentative biogas production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 7460 – 7478, 2011.

SIMÕES, M. Digestão anaeróbia de efluente de liquefação hidrotérmica de borra de café. Dissertação de Mestrado, **Universidade de São Paulo**, p. 65, 2020.

SOARES, L.; BORGES, C.; KIMIKO, I.; PALADINO, T.; SILVA, E. AMÂNCIO, M. Metagenomic analysis and optimization of hydrogen production from sugarcane bagasse. **Biomass and Bioenergy**, v. 117, p. 78 – 85, 2018.

SOUBES, M. Microbiología de la digestión anaerobia. In: Anais III Taller y Seminario Latinoamericano: tratamiento anaeróbico de aguas residuales. Montevideo, Uruguay, p. 15 -28, 1994.

SPEECE, R. **Anaerobic biotechnology**: for industrial wastewater. Ed. Archea Press, Nashville, Tennessee, USA. 1996.

SUNG, S.; LIU, T. Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. **Chemosphere**, v.53, n.1, p. 43 – 52, 2003.

TANER, O.; GENGEÇ, E.; KOBYA, M. TOC and COD removal from instant coffee and coffee products production wastewater by chemical coagulation assisted electrooxidation. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p. 28 – 35, 2019.

TERRY, A.; RODRIGUEZ, S.; BERMÚDEZ, R.; FERNÁNDEZ, M.; AGUILERA, I.; BUZÓN, J. Evaluación de un inóculo para el arranque de reactores UASB empleados en el tratamiento de residual líquido de café. *Revista Cubana de Química*, v. 17, n. 1, p. 206 – 211, 2005.

TOMMASO, G.; CHEN, W.; LI, P.; SCHIDEMAN, L.; ZHANG, Y. Chemical characterization and anaerobic biodegradability of hydrothermal liquefaction aqueous products from mixed – culture wastewater algae. **Bioresource Technology**, v. 178, p. 139 – 146, 2015.

TSUTIYA, M. et al. *Biosólidos na agricultura*. São Paulo: SABESP, p. 468, ISBN 8590082350, 2001.

VAN HAANDEL, A.; DE VRIEZE, J.; VERSTRAETE, W.; DOS SANTOS, V. Methanosaeta dominate acetoclastic methanogenesis during high-rate methane production in anaerobic reactors treating distillery wastewater. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 89, p. 1751 – 1759, 2014.

VAN LIER, J.; MAHMOUND, N.; ZEEMAN G. Anaerobic wastewater treatment. In: Henze M., van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D (es) *Biological wastewater treatment: principles, modeling and design*. IWA Publishing, London, UK, p. 401 – 442, 2008.

VEERESH, G.; KUMAR, P.; MEHROTRA, I. Treatment of phenol and cresols in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) process: A review. **Water Research**, v. 39, p. 157 – 170, 2005.

VILLA MONTOYA, A.; CRISTINA DA SILVA, M.; DELFORNO, T.; CENTURION, V.; SAKAMOTO, I.; MAIA DE OLIVEIRA, V. Hydrogen, alcohols and volatile fatty acids from the co-digestion of coffee waste (coffee pulp, husk, and processing wastewater) by applying autochthonous microorganisms. **International Journal Hydrogen Energy**, v.44, p. 21434 – 21450, 2019.

VON ENDEN, J.C. Best Practices at Wet Processing Pay Financial Benefits to Farmers and Processors. Available online: [http://venden.de/pdfs/Wet\\_Processing\\_V2.pdf](http://venden.de/pdfs/Wet_Processing_V2.pdf) (accessed on 9 February 2017).

WANG, Q.; KUNINOBU, M.; OGAWA, H.; KATO, Y. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy Journal**, v. 16, p. 407 – 416, 1999.

WEILAND, P. State of the art of solid – state digestion – recent developments. In: Rohstoffe FN, editor. Solid – state digestion – state of the art and further R&D requirements, 24. Gulzower Fachgesprache, p. 22 – 38, 2006.

WEILAND, P. Biogas production: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 849 – 860, 2010.

WELLINGER, A. Process design of agricultural digesters. Nova Energie GmbH Elggerstrasse, Report, 1999.

WISNIEWSKI, C.; STEWART, C.; SAVELSKI, M. Dynamic vibratory membrane processing for use in water recovery from soluble coffee product manufacturing wastewater. **Technologies and Environmental Policy**, v. 20, p. 1791 – 1803, 2018.

WOLDESENBET, A.G.; WOLDEYES, B.; CHANDRAVANSI, B.S. Characteristics of wet coffee processing waste and its environmental impact in Ethiopia. **International Journal of Engineering Science**, v. 2, n, 4, p. 1 – 5, 2014.

WORM, P.; FERMOSE, F.; LENS, P.; PLUGCE, C. Decreased activity of a propionate degrading community in a UASB reactor fed with synthetic medium without molybdenum, tungsten and selenium. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, n.2, p. 139 – 145, 2009.

XING, X.; HE, J.; QIU, W. Volatile fatty acid augmentation and microbial community responses in anaerobic co – fermentation process of waste – activated sludge mixed with corn stalk and livestock manure. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 4846 – 57, 2018.

XU, Z.; ZHAO, M.; MIAO, H.; HUANG, Z.; GAO, S.; RUAN, W. In situ volatile fatty acids influence biogas generation from kitchen wastes by anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 163, p. 186 – 192, 2014.

YEN, H.; CHIU C. The influences of aerobic – dark and anaerobic – light cultivation on CoQ (10) production by *Rhodobacter sphaeroides* in the submerged fermenter. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 5, p. 600 – 604, 2007.

YEOLE, T.; GOKHALE, S.; HAJARNIS, S.; RANADE, D. Effect of brackish water on biogas production from cattle dung and methanogens. **Bioresource Technology**, v. 58, p. 323 – 325, 1996.

YU, H.; TAY, J.; FANG, H. The roles of calcium in sludge granulation during UASB reactor start – up. **Water Resources**, v. 35, n. 4, p. 1052 – 1060, 2001.

ZAYED, G.; WINTER J. Inhibition of methane production from whey by heavy metals – protective effect of sulfide. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 53, p. 726 – 731, 2000.

ZHAO, H.; VIRARAGHAVAN, T. Analysis of the performance of an anaerobic digestion system at the Regina wastewater treatment plant. **Bioresource Technology**, v. 95, p. 301 – 307, 2004

ZWIETERING, M.; JONGENBURGER, F.; ROUMBOUTS, M.; VAN'T RIET, K. Modelling of the bacterial growth curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 1875 – 1881, 1990.