

ALINE FERNANDES

**AVALIAÇÃO TÉCNICO E ECONÔMICA DO USO DIRETO DE BIORREMEDIADOR
E AMIDO COMERCIAL NOS DEJETOS DE BOVINOS LEITEIROS SUBMETIDOS
À DIGESTÃO ANAERÓBIA**

Botucatu

2020

ALINE FERNANDES

**AVALIAÇÃO TÉCNICO E ECONÔMICA DO USO DIRETO DE BIORREMEDIADOR
E AMIDO COMERCIAL NOS DEJETOS DE BOVINOS LEITEIROS SUBMETIDOS
À DIGESTÃO ANAERÓBIA**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Energia na Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Jorge de Lucas Júnior

Botucatu

2020

F363a	Fernandes, Aline Avaliação técnico e econômica do uso direto de biorremediador e amido comercial nos dejetos de bovinos leiteiros submetidos à digestão anaeróbia / Aline Fernandes. -- Botucatu, 2020 92 p. : tabs., fotos Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu Orientador: Jorge de Lucas Júnior 1. Energia de fontes alternativas. 2. Biorreatores. 3. Enzimas. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "AVALIAÇÃO TÉCNICO E ECONÔMICA DO USO DIRETO DE BIORREMEDIADOR E AMIDO COMERCIAL NOS DEJETOS DE BOVINOS LEITEIROS SUBMETIDOS À DIGESTÃO ANAERÓBIA"

AUTORA: ALINE FERNANDES

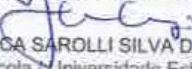
ORIENTADOR: JORGE DE LUCAS JUNIOR

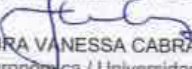
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (ENERGIA NA AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JORGE DE LUCAS JÚNIOR
Engenharia Rural / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP


Prof.ª Dr.ª VALÉRIA CRISTINA RODRIGUES SARNIGHAUSEN
Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. MARCO ANTONIO MARTIN BIAGGIONI
Engenharia Rural e Socioeconomia / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof.ª Dr.ª MONICA SAROLLI SILVA DE MENDONÇA COSTA
Engenharia Agrícola / Universidade Estadual do Oeste do Paraná


Prof.ª Dr.ª LAURA VANESSA CABRAL DA COSTA
Engenharia Agrônômica / Universidade de Araraquara

Botucatu, 03 de agosto de 2020

*À minha mãe por ser meu maior exemplo
de vida e por sempre estar disposta a fazer
tudo para eu alcançar meus objetivos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua infinita misericórdia. Por todas as bênçãos a mim concedidas! Por sempre estar presente na minha vida, fortalecendo e iluminando meu caminho.

Ao professor Dr. Jorge de Lucas Júnior pela confiança e parceria na minha caminhada na pós-graduação. Pelas oportunidades, contribuições e ensinamentos para meu desenvolvimento pessoal e como pesquisadora.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de estudo concedida.

A empresa pela confiança e gentileza em ceder o produto comercial utilizado nessa pesquisa.

A FCA, ao Programa Energia na Agricultura, aos Professores da Pós-graduação por possibilitarem a realização desse trabalho e pelos ensinamentos. Aos funcionários da Seção de Pós-graduação por toda atenção e ajuda.

Aos professores doutores Valéria C. Rodrigues Sarnighausen e Marco Antônio Martin Biaggioni membros da banca examinadora da minha qualificação pela disponibilidade e contribuições, assim como a eles e aos demais professores membros da banca examinadora da minha defesa de tese.

A FCAV pelo suporte, aos professores e funcionários, em especial, aos funcionários do Departamento de Engenharia Rural, Davi, Marquinhos, João, Sílvia, Ailton, Luiz Claudio, Tiãozinho e Maranhão por todo apoio, ajuda e companhia durante a condução do experimento.

Aos amigos de equipe: Alex, Luana e João que participaram da minha rotina no laboratório e se fizeram muito especiais pela ajuda, troca de experiências e momentos de descontração. A Stela pelo auxílio na realização da análise de viabilidade econômica.

Aos amigos, os quais foram essenciais nesta jornada: Paula, Ayla, Izabela, Isabella, Professor Amaral, Márcia, Nathalia e Mariana por todo carinho e palavras de incentivo transmitidas a mim.

As funcionárias do “orfã”, pelo carinho e, em particular, as crianças que tive o privilégio de conhecer e que de maneira muito especial me motivaram durante todos esses anos de pesquisa.

Aos meus pais e minhas irmãs pelas palavras e atos de amor, por me ensinarem os verdadeiros valores da vida que foram imprescindíveis para que eu concluísse essa etapa.

Aos meus familiares e amigos de longa data que entenderam minha ausência, por todo carinho, torcida e orações para que tudo desse certo.

RESUMO

A digestão anaeróbia (DA) é uma técnica notória na destinação dos dejetos do setor da bovinocultura, no entanto, buscaram-se métodos de aprimoramento para esse processo. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação direta de biorremediador e amido comercial na DA de dejetos de bovinos leiteiros (DBL) diluídos em água e peneirados (2mm). Foram conduzidos dois ensaios em temperatura ambiente. Inicialmente, o ensaio em biodigestores batelada foi conduzido para se encontrar quais das doses de 0,5; 1,0 e 10 mL do biorremediador seriam as mais adequadas. Para tanto, utilizaram-se biodigestores de 2,0L com quatro tratamentos e quatro repetições. As doses 0,5 e 1,0 mL do biorremediador mostraram-se ser as mais eficientes por terem apresentado os maiores potenciais de produção de biogás e remoções de sólidos ($p < 0,05$). Em seguida, com as doses determinadas, foi desenvolvido um segundo ensaio em biodigestores semicontínuos tubulares de 60L com tempo de retenção hidráulica de 30 dias. Para tanto, aplicaram-se as doses 1,0 e 0,5 mL do biorremediador e, também, a aplicação direta do amido comercial (0,025 kg), com a finalidade de entender o efeito do biorremediador em substratos de maior biodegradabilidade. Para melhor condução o ensaio foi dividido em dois períodos, determinados, testando-se a aplicação direta, das doses 1,0 mL e 0,5 mL, respectivamente. Foram avaliados quatro tratamentos com quatro repetições distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2 representados pelos fatores amido (com e sem aplicação) e biorremediador (com e sem aplicação). Com base nos resultados obtidos dos tratamentos com a aplicação isolada do biorremediador, pertencentes aos dois períodos, foram definidos cenários em escala real com objetivo de avaliar a viabilidade econômica da aplicação do biorremediador. No 1º período, a aplicação do amido e do biorremediador apresentaram as maiores médias dos potenciais de produção de biogás e reduções de sólidos ($p < 0,05$) quando comparados ao tratamento sem suas aplicações, entretanto, para a produção de metano a aplicação do biorremediador apresentou melhor resultado ($p < 0,05$). No 2º período a aplicação do amido apresentou as maiores médias de potenciais de produção biogás e reduções de sólidos ($p < 0,05$) quando comparado aos tratamentos sem aplicação e com aplicação do biorremediador, entretanto para produção de metano a aplicação de amido apresentou a menor média ($p < 0,05$). Nos dois períodos avaliados o uso conjunto dos fatores não potencializou o efeito do biorremediador e não se observaram grandes variações nas concentrações de nutrientes no biofertilizante. Dos cenários avaliados, somente o tratamento sem a aplicação do biorremediador demonstrou ser financeiramente atrativo. Ainda, a Análise de Componentes Principais traz o agrupamento dos tratamentos com a aplicação dos aditivos e o isolamento do tratamento sem a aplicação deles. Finalmente, conclui-se que a DA de dejetos bovinos pode ser melhor com a aplicação direta de aditivos sendo a dose de 1,0 mL do biorremediador eficiente em relação a viabilidade técnico, porém não em relação a viabilidade econômica.

Palavras-chave: Biorreatores. Energia de fontes alternativas. Enzimas.

ABSTRACT

Anaerobic digestion (AD) is a notorious technique for the disposal of manure from the cattle industry, however, improvement methods are sought for this process. Thus, the objective was to evaluate the effect of the direct application of bioremediator and commercial starch on the AD of dairy cattle manure (CM) diluted in water and sieved (2mm). Two tests were conducted at room temperature. Initially, the batch biodigestors test was conducted to find which of the doses of 0.5; 1.0 and 10 mL of the bioremediation would be the most appropriate. For this purpose, 2.0L biodigesters were used with four treatments and four replications. The 0.5 and 1.0 mL doses of the bioremediation proved to be the most efficient because they had the greatest potential for biogas production and removal of solids ($p < 0.05$). Then, with the doses determined, a second test was developed in 60L semi-continuous tube digesters with hydraulic retention time of 30 days. For this purpose, doses of 1.0 and 0.5 mL of the bioremediator were applied, as well as the direct application of commercial starch (0.025 kg), in order to understand the effect of the bioremediator on substrates of greater biodegradability. For better conduction the test was divided in two periods, determined, testing the direct application, of the doses 1.0 mL and 0.5 mL, respectively. Four treatments were evaluated with four replications distributed in a completely randomized design, in a 2x2 factorial scheme represented by the starch (with and without application) and bioremediation (with and without application). Our results from the treatments with the isolated application of the bioremediator, belonging to the two periods, scenarios were defined on a full scale in order to assess the economic viability of the application of the bioremediator. In the 1st period, the application of starch and bioremediation showed the highest averages of the potentials for biogas production and reductions in solids ($p < 0.05$) compared to the treatment without its applications, however, for the production of methane the application of the bioremediator showed the best result ($p < 0.05$). In the 2nd period, the application of starch showed the highest averages of biogas production potentials and reductions in solids ($p < 0.05$) when compared to treatments without application and with application of the bioremediator, however for methane production the application of starch presented the lowest mean ($p < 0.05$). In both periods evaluated, the combined use of the factors did not enhance the bioremediation effect and there were no great variations in the concentrations of nutrients in the biofertilizer. Of the scenarios evaluated, only the treatment without the application of the bioremediator proved to be financially attractive. Still, the Principal Component Analysis brings the grouping of treatments with the application of additives and the isolation of the treatment without their application. It is concluded that the AD of bovine manure can be optimized with the direct application of additives, being the 1.0 mL dose of the bioremediation efficient in relation to technical viability, but not in relation to economic viability.

Keywords: Bioreactors. Energy from alternative sources. Enzymes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura - 1	Pesagem e peneiramento do substrato	35
Figura - 2	Produto biorremediador e sua aplicação no substrato.....	35
Figura - 3	Amido de milho comercial.....	36
Figura - 4	Representação do biodigestor tipo batelada.....	37
Figura - 5	Representação do biodigestor tipo semicontínuo.....	38
Figura - 6	Potencial de produção de biogás e teor de metano dos tratamentos do ensaio batelada.....	47
Figura - 7	Produção acumulada de biogás dos tratamentos nos 40 dias de processo.....	50
Figura - 8	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador sobre os teores de ST aflu (A), ST eflu (B), SV aflu (C), SV eflu (D), ST red (E) e SV red (F) (1º período)	54
Figura - 9	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador para o teor de CH ₄ (1º período).....	57
Figura - 10	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador para o potencial de produção por sv red ⁻¹ (1º período).....	59
Figura - 11	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador sobre teor de NKT no afluente (A), NKT no efluente (B), P no afluente (C) e P no efluente (D) (1º período).....	61
Figura - 12	Gráfico biplot da análise de componentes principais do ensaio semicontínuo (1º período).....	64
Figura – 13	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador sobre os teores de ST eflu (A), SV eflu (B), ST red (C) e SV red (D) (2º período).....	67
Figura – 14	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador sobre a produção de biogás (2º período).....	68
Figura – 15	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador sobre potenciais de produção de biogás por dejetos (A), por ST adicionados (B) e por SV adicionados (C) (2º período)	70
Figura – 16	Interação dos fatores amido <i>versus</i> biorremediador sobre teor de NKT no afluente (A), NKT no efluente (B), P no afluente (C) (2º período).....	71 73
Figura - 17	Gráfico biplot da análise de componentes principais do ensaio semicontínuo (2º período).....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela- 1	Composição dos substratos nos tratamentos do ensaio batelada.....	38
Tabela - 2	Composição dos substratos dos tratamentos avaliados no ensaio semicontínuo durante 1º e 2º período.....	40
Tabela - 3	Teores de sólidos totais e voláteis e suas reduções do ensaio batelada.....	50
Tabela - 4	Potenciais de produção de biogás no ensaio batelada.....	51
Tabela - 5	Valor do pH no afluente e efluente dos tratamentos do ensaio semicontínuo (1º período).....	53
Tabela - 6	Teores de sólidos totais e voláteis no afluente e efluente e suas reduções em função dos fatores amido e biorremediador (1º período).....	53
Tabela - 7	Potencial de produção de biogás e teor de CH ₄ em função dos fatores amido e biorremediador (1º período).....	56
Tabela - 8	Potenciais de produção de biogás e metano em função dos fatores amido e biorremediador (1º período).....	58
Tabela - 9	Teores dos macronutrientes primários, NKT, P e K, no afluente e efluente em função dos fatores amido e biorremediador (1º período).....	61
Tabela - 10	Valor do pH no afluente e efluente dos tratamentos do ensaio semicontínuo (2º período).....	65
Tabela - 11	Teores de sólidos totais e voláteis no afluente e efluente e suas reduções em função dos fatores amido e biorremediador (2º período).....	66
Tabela - 12	Potencial de produção de biogás e teor de CH ₄ em função dos fatores amido e biorremediador (2º período).....	68
Tabela – 13	Potenciais de produção de biogás e metano em função dos fatores amido e biorremediador (2ºperíodo)	70
Tabela – 14	Teores dos macronutrientes, NKT, P e K, no afluente e efluente em função dos fatores amido e biorremediador (2º período).....	72
Tabela – 15	Fluxo de caixa para os cenários analisados.....	76
Tabela – 16	Indicativos econômicos dos cenários avaliados.....	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	Contribuição da bovinocultura na geração de resíduos.....	21
2.2	Digestão anaeróbia, condições ideais e possíveis inibições ao de Digestão anaeróbia.....	23
2.3	Biodigestores e produção de biofertilizante e biogás.....	25
2.4	Substratos de difícil biodegradabilidade.....	27
2.5	Técnicas de otimização da digestão anaeróbia.....	28
2.6	Viabilidade econômica.....	32
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.1	Substrato e aditivos	34
3.2	Descrição do ensaio e do biodigestor batelada.....	36
3.3	Descrição do ensaio e do biodigestor semicontínuo.....	38
3.4	Análises realizadas	40
3.4.1	Parâmetros operacionais	40
3.4.2	Teores de sólidos totais e sólidos voláteis.....	40
3.4.3	Determinação do volume de biogás e cálculos dos potenciais de produção de biogás	41
3.4.4	Mensuração de metano do biogás.....	42
3.4.5	Determinação dos macronutrientes primários: nitrogênio (NKT), fósforo (P), potássio (K)	42
3.4.6	Análise de viabilidade econômica	43
3.5	Análises estatísticas do ensaio batelada	45
3.6	Análises estatísticas do ensaio semicontínuo.....	45
4	RESULTADOS.....	47
4.1	Resultados do ensaio batelada.....	47

4.2	Resultados do ensaio semicontínuo.....	52
4.2.1	Resultados do ensaio semicontínuo (1º período).....	52
4.2.2	Resultados do ensaio semicontínuo (2º período).....	65
4.2.3	Análise de viabilidade econômica.....	75
5	CONCLUSÕES	79
	REFERÊNCIAS.....	81

1 INTRODUÇÃO

Os setores do agronegócio são imprescindíveis para suprir a demanda por alimento, bem como capacidade para proporcionar energia renovável e para tanto estão em constante desenvolvimento. Vale ressaltar que dentre esses setores a bovinocultura leiteira brasileira é também vista com relevância por apresentar potencial para geração de emprego e distribuição de renda.

É fato, porém, que as produções dos setores do agronegócio geram grandes quantidades de biomassa residual, as quais se não forem direcionadas a um tratamento adequado torna as fontes causadoras de impactos ambientais.

A bovinocultura leiteira por muitas vezes é vista como atividade de alto impacto ambiental, no entanto, a submissão dos resíduos à digestão anaeróbia (DA) garante ao setor redução eficaz do seu potencial poluidor sobre o solo, o ar e os corpos hídricos, minimizando impactos ao meio e a saúde.

O processo de DA é uma biotecnologia atrativa, pois de forma simultânea trata e converte os resíduos em biogás com diferentes aplicabilidades energéticas e em biofertilizante caracterizado pela reciclagem de nutrientes.

Entretanto, por mais que diversos resíduos orgânicos são passíveis ao processo anaeróbio, há também os que podem apresentar características limitantes para alguma de suas fases. Em especial, na fase inicial, no qual as bactérias fermentativas participam da hidrólise do composto orgânico de ligações mais complexas.

O dejetos de bovinos leiteiros tem grande potencial para ser usado como substrato na DA, contudo, devido conter maiores teores de fibras apresenta rendimentos inferiores a outros dejetos (ORRICO et al., 2016).

As técnicas de pré-tratamentos, codigestão, aplicação de aditivos orgânicos, entre outras, são alternativas para o uso dos substratos mais complexos, por propiciar condições mais adequadas ao processo anaeróbio o que garante produção eficiente de biogás (ZHANG et al., 2018). De acordo, com vários autores, o emprego de culturas energéticas e pré-tratamentos indicam efeito significativo sobre a produção de biogás e metano dos dejetos de bovinos leiteiros submetidos a DA (KALAMARAS et al., 2014; MONTORO et al., 2019; VIEIRA et al., 2015; ŞENOL et al., 2019).

A aplicação de enzimas é vista como ambientalmente correta e funcional, além de oferecer melhorias nas condições do substrato para fermentação, assim mostra-se propícia a aumentar a disponibilidade de açúcares fermentáveis o que acarreta melhor rendimento na produção de biogás (CORDOVA et al., 2017; ROMANO et al., 2009).

Desse modo, é possível inferir que a aplicação do amido comercial como aditivo na DA de dejetos bovino ocasionará efeitos semelhantes aos obtidos da codigestão dos dejetos com culturas energéticas amiláceas e, assim, ser capaz a avaliação do efeito do biorremediador testado sobre esses substratos co-digeridos.

Contudo, dentro do nosso conhecimento, faltam estudos sobre a aplicação direta de biorremediador em biodigestores usando dejetos de bovinos leiteiros como substrato. Além do mais, falta informações da submissão dos resultados técnicos à análise de viabilidade econômica.

Uma vez que, para o uso de enzimas comerciais ser considerado viável ao processo anaeróbio é necessário que esse atenda as questões de seletividade e eficiência e acima de ser viável economicamente (ZHENG et al., 2014).

Diante do exposto, neste trabalho objetivou-se avaliar a viabilidade técnica e econômica do uso do biorremediador na produção de biogás e teor de metano de dejetos bovinos leiteiros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Contribuição da bovinocultura na geração de resíduos

A cadeia produtiva do leite é considerada uma das mais relevantes do complexo agroindustrial brasileiro, no qual se destaca pela geração de emprego e renda (ROCHA et al., 2018). Desse modo, contribui significativamente para a elevação do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro (MARTINS et al., 2014). Tanto que no ranking dos dez principais produtores mundiais de leite no ano de 2017 o Brasil ocupou o terceiro lugar (EMBRAPA, 2019).

Esse crescimento da oferta é proporcional a demanda dos produtos lácteos que junto as exigências das indústrias e dos consumidores, em relação aos custos e qualidade, estimularam o setor leiteiro ir à busca por eficiência e produtividade (ROCHA et al., 2018).

Diante disso, foram adotados criação de animais de genética superior, manejo sanitário e reprodutivo, manejo de pastagens, técnicas de ambiência e adesão de outras tecnologias, como a aquisição de tanques de refrigeração para a armazenagem do leite cru na própria propriedade rural, que é uma exigência Legal. Ademais, houve a adoção do sistema de criação em confinamento, isto é, um maior número de animais em uma menor área (BARBIERI et al., 2016; BRASIL, 2018; LORIN et al., 2016; NETO et al., 2018).

Assim, cada vez mais, o uso de recursos tecnológicos é adotado, desde a aquisição de equipamentos até ao uso de aplicativos digitais que permitem monitorar o processo geral de gestão do rebanho leiteiro com mais efetividade. Como consequência, toda essa reestruturação leva a atividade a ser o empreendimento rural mais competitivo e mais lucrativo (MARTINS et al., 2014; NETO et al., 2018).

Em relação ao sistema de criação em confinamento quando comparado a pecuária extensiva demonstra produção mais eficiente e maior rentabilidade, além de que, dentre as vantagens quando bem gerenciados podem potencializar os setores econômicos e sociais da comunidade local onde está instalado (HRIBAR; SCHULTZ, 2010; HU et al., 2017).

É fato, porém, que os sistemas de confinamentos geram quantidade excessiva de dejetos em menor área que para evitar impactos ao meio devem ser direcionados à tratamentos (BRADFORD et al., 2008).

Os dejetos de bovinos apresentam composição química variável influenciada pela técnica de manejo dos animais, mas de forma geral, são compostos por nutrientes, metais pesados, microrganismo patogênicos, hormônios naturais ou sintéticos, antibióticos veterinários, produtos químicos usados na limpeza das instalações ou dos equipamentos e chorume de silagem (BRADFORD et al., 2008; HRIBAR; SCHULTZ, 2010; HU et al., 2017).

Nos últimos anos, a geração dos dejetos oriundos da pecuária até reduziu devido as formulações de dietas balanceadas fornecidas aos animais. Entretanto, quando manejado de forma inadequada ou lançados sem tratamento prévio causam degradação do solo e dos recursos hídricos (NESHAT et al., 2017; QIAN et al., 2018).

Outra contribuição, relevante, do manejo inadequado desses dejetos é a intensificação da emissão de gases de efeito estufa (GEE). Fato que evidencia a importância do gerenciamento desses resíduos em projetos de sustentabilidade ambiental que visam a baixa emissão de gases (KAUFMANN, 2015). Deste modo, a expansão dos sistemas de confinamentos com gerenciamento ineficiente dos dejetos produzidos é potencial de problemas ambientais e de riscos para saúde pública (HRIBAR; SCHULTZ, 2010).

Ademais, não só as questões ambientais são preocupantes, mas também a saúde dos trabalhadores e da população rural próxima as instalações dos confinamentos por estarem expostos aos efeitos nocivos dos dejetos à saúde (MCELROY, 2010).

Paralelamente a problemática ambiental e a saúde, outro ponto a ser considerado no sistema de criação em confinamento é que devido a adoção de novas tecnologias há uma maior dependência de energia elétrica demandada para a iluminação local e para o acionamento de diversos equipamentos (PERAZZOLI; KUNZE, 2018).

Dessa maneira, por mais que o sistema de produção de animais em confinamento trouxe grandes avanços ao setor, também acarretou intensificação nos impactos ambientais decorrente da concentração da atividade. O que ocasiona a necessidade da busca por alternativas para mitigar os impactos e agregar valor aos resíduos gerados (KUNZ; OLIVEIRA, 2006).

Nesse sentido, o manejo dos resíduos gerados é essencial e a capacidade da DA em propiciar simultaneamente o tratamento dos dejetos e maximizar suas propriedades benéficas, contribuindo com as reduções das emissões de GEE de

modo direto, pois evita as emissões da decomposição natural do dejetos no ambiente ou indireto quando o biogás gerado substitui o uso de combustíveis fósseis torna o processo imprescindível (KAUFMANN, 2015; NESHAT et al., 2017; SCARLAT et al., 2018).

2.2 Digestão anaeróbia, condições ideais e possíveis inibições ao processo

Os reinos das Bactérias e *Archaea* compreendem os microrganismos procariontes que interagem de forma sinérgica e complexa na DA, mas mesmo que complexo o processo pode ser dividido em quatro principais fases: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (BOONTIAN, 2014).

Em síntese, na primeira etapa acontece a hidrólise dos componentes complexos do material orgânico em compostos mais simples (KARUPPIAH; AZARIAH, 2019). Após, na acidogênese, os carboidratos são hidrolisados por diferentes bactérias. Assim, são degradados em ácidos graxos voláteis (ácidos acético, propiônico e butírico) e outros subprodutos, como os gases NH_3 , CO_2 , e H_2 e pequenas partes de álcoois, aldeídos e cetonas. Na etapa seguinte na fase acetogênica as bactérias usam como substrato os compostos produzidos da fase anterior, sendo que as cadeias curtas de ácidos orgânicos e álcoois são convertidos em acetato, CO_2 e H_2 . E por fim, a fase metanogênica, em que os compostos da fase anterior são convertidos em metano, dióxido de carbono, entre outros gases que constituem o biogás, assim, essa fase pode ser subdividida em três grupos de substratos aceitáveis: (BOONTIAN, 2014; MORALES-POLO et al., 2018).

Metanogênese acetoclástica = Acetato $\rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ (1)

Metanogênese hidrogenotrófica = $\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4$ (2)

Metanogênese metiltrófica = Metanol $\rightarrow \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$ (3)

A hidrólise é a fase considerada primordial por sua atribuição permitir a ação em cadeia das demais bactérias anaeróbias responsáveis por cada fase do processo. Assim, ela representa influência direta na estabilidade do processo e no tempo de retenção hidráulica (TRH). O mal desempenho dessa fase leva a acidificação, camadas em suspensão e até mesmo a falha total do processo, o que resulta o desafio da sua otimização (GERHARDT et al., 2007; MAGDALENA et al., 2018; MEEGODA et al., 2018).

Ziemiński (2012), também traz considerações relevantes sobre a fase acetogênese por ser intimamente influente na taxa de produção do biogás, isso devido ao fato que aproximadamente 70% dos acetatos produzidos nessa fase são reduzidos na fase seguinte para a formação do metano.

As condições metabólicas dos microrganismos envolvidos na DA são afetadas por parâmetros, sendo os principais a temperatura, pH, relação C/N e TRH. Alguns fatores que também influenciam a eficiência da DA são as características do resíduo, tipos de biodigestores, métodos de abastecimento e a aplicação de aditivos ou de pré-tratamentos (BOONTIAN, 2014; MAO et al., 2018; NESHAT et al., 2017; RIVAS-SOLANO et al., 2016).

Algumas características bioquímicas dos resíduos orgânicos podem causar efeitos inibitórios ou propiciar a formação de compostos secundários tóxicos as bactérias, o que torna necessário o conhecimento da composição dos resíduos antes mesmo de serem inseridos nos biodigestores para evitar instabilidade do processo e garantir eficiência ao tratamento (CHEN et al., 2014; NESHAT et al., 2017).

Os resíduos dos animais aptos à DA geram diferentes rendimentos de biogás fato este relacionado com a composição de cada resíduo gerado, como as variações dos teores de proteínas, carboidratos e lignina (SUTARYO et al., 2014).

Em relação aos sólidos totais que compõe os dejetos de bovinos há a necessidade de melhor investiga-lo, visto que o próprio manejo animal adotado como a dieta oferecida e o sistema digestivo do próprio animal influenciar nas características dos resíduos gerados e, conseqüentemente, no rendimento de produção do biogás (KUNZ e OLIVEIRA, 2006; ORRICO JÚNIOR et al., 2010).

Então, para que o processo de DA seja eficiente, são necessários cuidados cruciais de operação, caso contrário resultará em uma degradação ineficiente com baixo rendimento de biogás composto por impurezas e odor incômodo (ZIEMIŃSKI, 2012).

2.3 Biodigestores e produção de biofertilizante e biogás

O uso de biodigestores é uma tecnologia antiga e ao mesmo tempo promissora, é nele que o substrato é submetido ao processo de fermentação por microrganismos na ausência de oxigênio, o qual oferece meios interessantes para a agricultura local por permitir que os resíduos sejam convertidos em novos produtos: o biogás e o

biofertilizante (VAN STAPPEN et al., 2016; XAVIER et al., 2016). Desde que, todo processo de instalação e condução sejam bem planejados agregando valor às propriedades rurais (HERCULANO; SOUZA, 2016).

No geral, os biodigestores são constituídos por dois componentes principais: um tanque com sistema fechado para a fermentação e o gasômetro que é destinado para armazenar o biogás produzido (MEGHVANSI et al., 2018).

Os biodigestores de dois ou mais estágios quando comparados aos biodigestores de estágio único apresentam vantagens por possibilitar que cada uma de suas câmaras digestoras atendam as diferentes condições exigidas em cada fase e por cada grupo bacteriano envolvido na DA. No entanto, o biodigestor de um estágio ainda destaca-se por apresentar menores desafios técnicos de construção e operação e principalmente requerer menores custos com equipamentos (ZHANG et al., 2018).

Em relação a frequência dos abastecimentos os biodigestores podem ser classificados no tipo batelada, no qual o biodigestor é abastecido de substrato uma única vez, ou seja, é abastecido no início do processo e esse permanece até cessar a produção de biogás, enquanto que os classificados como biodigestores semicontínuos o substrato é adicionado regularmente (MERLIN CHRISTY, 2014).

Nas propriedades rurais a instalação dos biodigestores gera inúmeros benefícios locais por produzir energia descentralizada gerada pelo uso do biogás, bem como ganhos com o material digerido, determinado como fertilizante orgânico (KAUFMANN, 2015). Além de contribuir nas reduções dos GEE, dos patógenos, odores e teores de sólidos totais o que implica de modo positivo no saneamento básico (FERREIRA et al., 2018; MERLIN CHRISTY, 2014).

O biogás, produto da DA, é composto por metano, dióxido de carbono e frações de outros gases ele é considerado fonte de energia limpa e versátil, por ter capacidade de substituir fontes de energias convencionais que oferecem energia térmica, elétrica e veicular, devido ter como principal constituinte o metano, com poder calorífico em média de 9,9 KJ/m³ em condições normais de temperatura e pressão (CNTF) (CATER et al., 2014; MONTGOMERY; BOCHMANN, 2014; SILVA et al., 2016; XAVIER et al., 2016).

A aplicabilidade versátil do biogás se dá após a sua submissão a um processo de refinação, ou seja, a remoção do CO₂ e outros gases, que ressalta suas propriedades, o que permiti ser aplicado como combustível veicular, o biometano. E na geração de eletricidade a ser utilizado na fazenda detentora do biodigestor e o

excedente ser distribuído na rede pública de energia propiciando diversificação da matriz energética, e ainda proporcionar ampliação o acesso de comunidades isoladas à energia elétrica (FERREIRA et al., 2018; MIKI, 2018; MORALES-POLO et al., 2018; NESHAT et al., 2017; SOLARTE-TORO et al., 2018).

O processo de DA além de resultar o biogás que, como visto, apresenta vantagens em comparação a outras fontes renováveis, fornece também o biofertilizante. Devido uma porcentagem dos nutrientes que entram no processo ser mobilizados e reciclados, ou seja, resulta um valioso biofertilizante líquido (GONZÁLEZ- GONZÁLEZ et al., 2018; ZIEMIŃSKI, 2012).

Cerca de 50% da produção mundial de alimento, forragem, fibra e combustível não convencional depende do suprimento adequado de nutrientes essenciais por meio da aplicação dos fertilizantes, além do mais, seu uso evita que mais áreas de florestas sejam convertidas em áreas cultivadas. Desse modo, o uso de fertilizantes de fonte orgânica ou mineral aumenta proporcionalmente ao crescimento da população (REETZ, 2016).

Diante dos fatos, o biofertilizante destaca-se como fonte propícia à fertilização do solo por ser constituído por material orgânico, rico em nitrogênio, fósforo, potássio e outros nutrientes, assim como, por apresentar propriedades de recuperação do solo e ser indicado para adubação de diversos cultivos de culturas e pastagens (BARBOSA; LANGER, 2011; NASCIMENTO, 2010; SURENDRA et al., 2014).

Além de fornecer nutrientes, o biofertilizante apresenta diversas outras vantagens, entre elas: melhor troca catiônica no solo, melhor retenção da água no solo, aliás, pode ser aplicada de maneira conjunta ao sistema de irrigação. Em quantidade exata pode apresentar propriedades de bioestimulador de crescimento, sendo capaz de promover atividades fisiológicas das plantas. E também se apresenta isento da maioria dos patógenos e, praticamente, sem risco de transmitir doenças e dispersar sementes de plantas daninhas. Assim, quando aplicado adequadamente beneficia o potencial produtivo das culturas (GROTHUSEN et al., 2016).

Contudo, por ser necessário investimentos para armazenamento e outros custos mais elevado como o de transporte por ser líquido, o uso do biofertilizante é melhor indicado para as áreas próximas onde os biodigestores estão instalados (REETZ, 2016; TORNWALL et al., 2017; XAVIER et al., 2016). Assim, proporcionando papel fundamental nas condições locais nas vertentes ambiental, econômica e social (MARQUES et al., 2014).

2.4 Substratos de difícil biodegradabilidade

Os resíduos agroindustriais, os dejetos de animais e as culturas energéticas são tipos de biomassa mais comuns na submissão ao processo de DA (MONTGOMERY; BOCHMANN, 2014).

E esta diversidade de substratos passíveis a DA que a torna destaque dos outros processos de tratamento de resíduos. No entanto, alguns substratos podem apresentar características limitantes ao processo, assim a classificação da composição bioquímica dos resíduos é essencial (HAGOS et al., 2017; MONTGOMERY; BOCHMANN, 2014).

No geral, a composição bioquímica de alguns resíduos (agricultura, dejetos animal, resíduos municipais e industriais) apresentam compostos orgânicos específicos e podem ser divididos nos grupos das proteínas, dos carboidratos, dos lipídios e dos lignocelulósicos (HAGOS et al., 2017; LÜBKEN et al., 2010) os quais interferem diretamente na estabilidade do processo e na eficiência da taxa de conversão ao biogás (MORALES-POLO et al., 2018).

A biomassa constituída por altos teores de proteína apresenta rápida conversão em biogás, mas pode liberar compostos inibidores ao processo como: amônia e sulfuretos. A biomassa composta por carboidratos, como o amido, é exemplo de substância de fácil hidrólise, porém pode proporcionar teor de metano não tão elevado (LÜBKEN et al., 2010; MORALES-POLO et al., 2018).

Por sua vez, a biomassa rica em lipídios apresenta maior rendimento de biogás, mas pode causar inibição ao processo devido a formação rápida e acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa e ácidos graxos voláteis (MORALES-POLO et al., 2018).

E por fim, a lignocelulose que é uma cadeia de polímeros de lignina, celulose e hemicelulose. Sendo que a celulose e a hemicelulose são mais susceptíveis a ação dos microrganismos (LÜBKEN et al., 2010) e a lignina apresenta maior resistência à biodegradação (ZHENG et al., 2014). A biomassa lignocelulósica é uma excelente oportunidade para converter dejetos de animais e resíduos vegetais em energia renovável (ACHINAS et al., 2017; SAWATDEENARUNAT et al. 2015).

Dessa maneira, devido as características da maioria dos resíduos orgânicos faz necessário um tratamento prévio à DA, que atuará de alguma forma na estrutura da biomassa deixando-a mais acessível aos microrganismos (AHMAD et al., 2018; JAIN et al., 2015; KARUPPIAH e AZARIAH, 2019).

Fato que ocorre com o dejetos de bovinos que é amplamente submetido à DA, entretanto por apresentar teor de ST com aproximadamente 40 a 50% de material fibroso quando submetido na sua forma natural ao processo não atinge seu potencial energético total, sendo assim, necessário o uso de técnicas para tornar o processo eficaz e com retorno econômico (ANGELIDAKI; BOE, 2005; IMENI et al., 2019; MARAÑÓN et al., 2012; ZULKIFLI et al., 2015;).

2.5 Técnicas de otimização da digestão anaeróbia

Como visto, a DA tem seus pilares bem definidos, sendo considerada como método essencial de sustentabilidade, no gerenciamento de resíduos orgânicos, o que salienta pesquisas serem realizadas para compreender a otimização do processo na conversão dos resíduos em biogás e a melhor relação custo-benefício de um biodigestor (ARIF et al., 2018; MAO et al., 2018; MASEBINU et al., 2019; MEEGODA et al., 2018;). Diante disso, em meio a algumas pesquisas realizadas destacam as técnicas de pré-tratamento, a otimização do biodigestor, a codigestão e a adição de inóculo (XAVIER e LUCAS JÚNIOR, 2010; ZHANG et al., 2018).

Os pré-tratamentos podem ser divididos, principalmente, nas categorias: térmica, mecânica, química, física e biológica (MAGDALENA et al., 2018). Seus efeitos são dependentes do tipo de pré-tratamento aplicado em cada tipo de substrato, os quais, de maneira geral, apresentam redução no tamanho de partículas, solubilização, melhoria da biodegradabilidade e maior taxa de hidrólise o que culmina em melhores condições para a DA (CARRERE et al., 2016; CARLSSON et al., 2012).

Em destaque, as alterações sucedidas por meio dos pré-tratamentos no dejetos bovino são semelhantes aos que ocorrem nos resíduos de vegetais fibrosos, isto é, a solubilização de hemicelulose e lignina (CARLSSON et al., 2012).

Dentre os pré-tratamentos, os físicos e mecânicos, são amplamente utilizados para a maioria dos substratos (AMIN et al., 2017; CARLSSON et al., 2012). No geral, apresentam finalidade de reduzir o tamanho das partículas do substrato que interferem, consideravelmente, no TRH e na estabilidade do processo anaeróbio (ZHANG et al., 2012).

O pré-tratamento mecânico não atinge a composição bioquímica do substrato, apenas aumenta a área de superfície ou ainda separa componentes. O inconveniente desse método é a necessidade da utilização de energia e ter altos custos de

manutenção devido as máquinas utilizadas serem sensíveis aos materiais inertes que podem danificar seus sistemas (CORDOVA et al., 2017; RODRIGUEZ et al., 2017).

O pré-tratamento químico promove ótimos resultados, entretanto, pode gerar compostos secundários que em quantidade excessiva provocam a inibição do processo, corrosão dos equipamentos e até mesmo poluição secundária (KUMAR et al., 2009; RODRIGUEZ et al., 2017; YU et al., 2019).

A seleção dos pré-tratamentos que requerem altas cargas de energia deve ser empregada com precaução para não causarem desequilíbrio energético. Isto é, o pré-tratamento torna-se inviável quando requer mais energia do que é capaz de converter na forma de biogás (MAGDALENA et al., 2018).

Essa situação pode ocorrer com os pré-tratamentos físicos e químicos que apresentam eficiência sobre substratos lignocelulósicos, mas demandam energia extra, além do mais o uso de produtos químicos compromete os princípios da DA (GERHARDT et al., 2007; SPEDA et al., 2017).

Por sua vez, o pré-tratamento biológico ou enzimático atinge amplo espectro de biomassa (BRÉMOND et al., 2018) e sua eficácia está relacionada com a seleção específica das enzimas que serão aplicadas com ação sobre a composição bioquímica do substrato (PASSOS et al., 2016). Os principais pontos positivos dessa categoria são a baixa demanda por energia e a não formação de compostos secundários. No entanto, o custo da enzima deve ser considerado em relação a proporção do rendimento de biogás gerado (RODRIGUEZ et al., 2017).

Além de serem aplicadas como pré-tratamento as enzimas comerciais também podem ser aplicadas de forma direta ao biodigestor (processo em estágio único), adicionada ao primeiro conjunto do biodigestor quando conduzido em sistema de dois estágios, ou ainda, aspergida no substrato quando o processo utiliza a técnica de recirculação (BRÉMOND et al., 2018).

A aplicação direta de enzimas é um método atrativo por não requerer outros biodigestores ou equipamentos, por apresentar menor complexidade e menor custo de operação (BRÉMOND et al., 2018; ROMANO et al., 2009). Além da vantagem de as enzimas serem biodegradáveis e inóxia aos microrganismos anaeróbios (DONOSO-BRAVO et al., 2013). No entanto, para a aplicação deve ser considerado o tipo de substrato e biodigestor, a dose, a viabilidade técnica e econômica entre outros fatores (ROMERO-GÜIZA et al., 2016).

Donoso-Bravo et al. (2013) estudaram a codigestão anaeróbia do lodo remanescente de estações de tratamento de esgoto e o efeito da adição da enzima lipase nas doses entre 0,2 e 0,5 mL o que beneficiou a biodegradação do resíduo devido sua capacidade de catalisar a hidrólise dos ácidos graxos de cadeia longa, com consequente aumento na taxa de produção total de biogás e no teor de metano.

Assim, como no estudo realizado por Costa et al. (2013), utilizando água residuária de frigorífico mais a aplicação de 1 mL de um biorremediador comercial que resultou maior taxa de redução de sólidos voláteis, indicando que o feito do biorremediador foi eficaz ao processo de digestão.

Da mesma forma, Speda et al. (2017) avaliaram o efeito da aplicação direta de enzimas, coletadas de comunidade de bactérias metanogênicas sobre a DA com substrato lignocelulósico e constataram eficiência no rendimento do biogás e metano quando comparando aos resultados de outros pré-tratamentos. Bhatnagar et al. (2020) também avaliaram a aplicação direta de enzimas na digestão de cama de frango, em escala laboratorial, e constataram melhor rendimento de biogás.

No entanto, nas pesquisas realizadas por Binner et al. (2011) sobre a aplicação direta de enzimas em biodigestores e por Oliva-Merencio et al. (2015) que estudaram a adição da celulase à DA, em biodigestores bateladas, contendo silagem de milho em diferentes comprimentos de corte não obtiveram resultados satisfatórios. E ainda, a pesquisa desenvolvida por Sutaryo et al. (2014) que adicionaram uma mistura enzimática (celulase, protease e pectinase) diretamente em biodigestores semicontínuos contendo dejetos de bovinos leiteiros e obtiveram resultados insignificantes.

Essas oscilações constatadas nos resultados, relacionados aos benefícios da adição de enzimas, encontrados na literatura, evidencia a necessidade de estudos conduzidos com diferentes resíduos nas mesmas configurações operacionais para melhor entendimento, uma vez que diferentes doses, condições operacionais ou a estabilidade e sensibilidade das diferentes enzimas podem exercer diferentes efeitos no desempenho do processo (GARCIA et al., 2019).

Como visto, as diferentes técnicas de pré-tratamentos apresentam vantagens e desvantagens, sendo assim algumas combinações dessas técnicas validas para melhorar a acessibilidade das enzimas no substrato (ANDRADE et al., 2018; SUN et al., 2016).

Desse modo, em decorrência dos resultados relatados da aplicação isolada das diferentes técnicas de pré-tratamentos, as pesquisas atuais estão voltadas ao uso dessas técnicas de forma integrada, como na aplicação conjunta de um pré-tratamento mais a aplicação de aditivos, como no caso de substratos lignocelulósicos a fim de uma conversão ao biogás ainda mais eficiente (ZHANG et al., 2018).

Outra técnica empregada para otimizar a DA é a codigestão, ou seja, a combinação de biomassas, que resultam maiores rendimentos de biogás e de metano e redução do TRH (NESHAT et al., 2017). Essa técnica é uma alternativa para suprir características dos resíduos que de forma isolada não atendem todos os parâmetros necessários para a DA. Logo, a importância do conhecimento bioquímico dos componentes dos substratos selecionados para a codigestão (HAGOS et al., 2017).

O que acontece, no caso, da codigestão de resíduos agroindustriais ou agropecuários com culturas energéticas, como a batata-doce ou até mesmo de seus resíduos, devido sua composição físico-química os quais apresentam resultados satisfatórios por proporcionarem melhores rendimentos de biogás (CREMONEZ et al., 2016; DAMACENO et al., 2019; MONTORO et al., 2019).

Os carboidratos constituem mais de 90% da matéria seca das plantas o que os tornam amplamente disponíveis e de baixo custo (FENNEMA et al., 2010). O amido é considerado um polímero natural, que depois da celulose é a maior reserva de carboidratos nos vegetais. Embora todas as plantas sejam capazes de acumular o amido, as passíveis de extração economicamente viáveis são os cereais e as raízes, com destaque para as culturas do milho, trigo, batata e mandioca (SILVA et al., 2000).

O amido é formado por dois grupos de polissacarídeos, amilose e amilopectina. A amilose corresponde a uma estrutura linear de α -glicose unidas por meio de ligação α -1,4'-glicosídica. Já a amilopectina tem uma estrutura muito ramificada de unidades de α -glicose unidas entre a ligação α -1,4'-glicosídica com outra unidade de α -glicose (ligação α -1,6'-glicosídica) (SANTOS, 2018).

O amido pode ser extraído com alto grau de pureza por meio de processos industriais relativamente simples, em todo o mundo é extraído anualmente cerca de 60 milhões de toneladas, destinado às diversas aplicações industriais nas áreas alimentícia, de papel, química, de medicamentos, têxtil, metalúrgica, petrolífera, de construção civil, entre outras. A junção dessas características determina o imenso potencial agrícola e industrial do amido (LEONEL et al., 2011; UDA et al., 2017; URBANO et al., 2017).

Outra notável aplicação do amido é como fonte de energia renovável, no Brasil o intuito da utilização da biomassa e dos resíduos agroindustriais para a produção de biocombustível é proporcionar redução dos impactos ambientais e agregar valor à cadeia produtiva (URBANO et al., 2017).

Diante do exposto, é possível inferir que a aplicação do amido comercial como aditivo na DA de dejetos bovino ocasionara efeitos semelhantes de quando esses dejetos são codigeridos com culturas energéticas, como a batata doce, por ser composta, principalmente, por amido e assim ser capaz de abranger o conhecimento do efeito do biorremediador sobre a codigestão de dejetos de bovinos leiteiros com resíduos de maior biodegradabilidade.

2.6 Viabilidade econômica

Sabendo-se da variedade de resíduos orgânicos com potenciais para produção de bioenergia e recuperação de nutrientes, os processos de tratamento biológicos são de extrema importância para reduzir custos, riscos à saúde e impacto ambientais (MARTIN-RYALS et al., 2015).

O aproveitamento dos produtos da DA proporciona valor econômico para as diversas cadeias do agronegócio, de pequeno a grande porte, devido a menor dependência dos fertilizantes minerais e o aumento da autossuficiência energética (FERNANDES FILHO, 2018; MONTORO et al., 2019).

Portanto, nas propriedades com confinamento de bovinos leiteiros, a viabilidade econômica da implantação de biodigestores é fundamentada no rendimento energético recuperado, fato que ressalta a necessidade de aplicação de técnicas para otimizar o rendimento de biogás e metano desses dejetos (IMENI et al., 2019).

As características vantajosas dos pré-tratamentos químicos, físicos e térmicos torna-os opções promissoras para as aplicações em larga escala. Entretanto, suas aplicações devem ser ponderadas aos custos com equipamentos e produtos, problemas com segurança de trabalhadores e a alta necessidade de energia (ZHANG et al., 2018).

No caso do pré-tratamento enzimático, é necessário equipamento extra para reter o substrato para ação das enzimas, o que também gera custos adicionais aos sistemas de biodigestores. Assim, para reduzir custos de implantação e despesas com

operação é plausível a possibilidade da aplicação direta das enzimas aos biodigestores (PURI et al, 2013).

Assim, para selecionar qual técnica de otimização da DA é ideal há vários critérios a serem considerados como: o tipo de substrato (componentes principais, relação C/N, ST e SV), parâmetros operacionais (pH, TRH e temperatura), possíveis componentes inibidores (metais pesados e amônia). Essencialmente, não ocasionar impacto ambiental secundário e ser economicamente viável (ZHANG et al., 2018).

Portanto, os indicadores econômicos são essenciais para a tomada de decisão assertiva das empresas, independente do porte econômico (REGERT et al., 2018).

O payback é o indicador que mostra o tempo de retorno do investimento, ou seja, é o indicador que apresenta o tempo requerido para que o fluxo de caixa acumulado atinja valor positivo, mesmo com algumas ressalvas por não considerar reajustes monetários e os riscos envolvidos no investimento, esse indicador é o quanto o investimento é atrativo (MOURA, 2017). O payback descontado é o período de tempo necessário para o retorno do capital investido em determinado empreendimento (GITMAN, 1997).

A taxa interna de retorno (TIR) que é o método mais utilizado para análise de um projeto. Uma vez que considerado os fluxos de caixa do projeto é possível comparar o seu retorno com outros tipos de investimentos (MOURA et al., 2017).

A TIR representa a rentabilidade interna de um projeto observado no período de análise e que anule o valor do investimento inicial (SVIECH; MANTOVANI, 2013). A TIR é maior que a taxa mínima de atratividade considerada na simulação do projeto, sendo assim, se for negativa invalida o projeto (AFONSO et al., 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Digestão Anaeróbia do Departamento de Engenharia Rural, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista / UNESP – Campus de Jaboticabal, situado nas coordenadas geográficas: 21°14'05" S; 48°17'09" W e altitude média de 613,68 metros e temperatura média anual de 22,2 °C.

Adotaram-se dois ensaios, sendo o primeiro conduzido em biodigestores bateladas, afim de encontrar entre as concentrações do biorremediador testadas (0,5; 1,0 e 10 mL) as mais apropriadas a DA dos dejetos bovinos e o segundo ensaio em biodigestores semicontínuo conduzido em dois experimentos, e em dois períodos diferentes, afim de testar as duas melhores concentrações resultantes do ensaio batelada e ainda o efeito da aplicação do biorremediador na DA de dejetos bovinos em conjunto com o amido, por esse ser o carboidrato encontrado ricamente na composição das culturas energéticas. Os aditivos foram aplicados nas cargas diárias e essas conduzidas imediatamente aos abastecimentos dos biodigestores.

3.1 Substrato e aditivos

O substrato utilizado para abastecer os biodigestores bateladas e semicontínuos foi composto por água e dejetos de bovinos leiteiros, provenientes de vacas da raça Holandesa, em lactação, alimentadas principalmente com forragem. O dejetos foi coletado nas instalações de semiconfinamento, sobre piso de concreto, nas dependências do Setor de Bovinocultura do Departamento de Zootecnia, situado na UNESP-FCAV.

Após calculadas as quantidades de dejetos, considerando-se 6% de sólidos totais, e de água com a função de diluição do dejetos, com auxílio de pás esses foram homogeneizados em baldes. Em seguida, todo substrato foi submetido a um pré-tratamento mecânico, no qual, por meio de uma peneira de malha de 2mm, retirou-se o material de maior diâmetro (Figura 1), o qual foi retornado ao setor de Bovinocultura para ser destinado a leira de compostagem do setor. Sendo o material que passou pela peneira utilizado como substrato para os tratamentos utilizados.

Figura 1- Pesagem, homogeneização e peneiramento do substrato



O produto comercial utilizado nesta pesquisa, será chamado de biorremediador e foi cedido por uma empresa, localizada na região da cidade de Jaboticabal. Esse produto é composto por um complexo enzimático: amilase, celulase, pectinase, fitase, lipase e protease, e pôr os probióticos: *Lactobacilos Acidófilos*, *Bifidobacterium Longum*, *Bifidobacterium Thermophilum* e *Bacillus Subtilis* liofilizados em maltodextrina (Figura 2).

Figura 2- Produto biorremediador e aplicação no substrato



Outro produto também aplicado, porém, para compor os tratamentos testados somente nos ensaios com os biodigestores semicontínuos foi o amido comercial, obtido pelo processo de moagem dos grãos de milho (*Zea mays*), e adquirido em estabelecimentos comerciais (Figura 3).

Figura 3 - Amido de milho comercial



Foto: Aline Fernandes - 2018

3.2 Descrição do biodigestor batelada e do ensaio

Os biodigestores utilizados foram confeccionados por tubos de PVC de 50 cm de comprimento com diâmetros de 75, 100 e 150mm, e CAP de PVC de diâmetro de 100 e 150mm. O biodigestor, com volume total de dois litros, foi disposto de maneira em que o tubo de 150mm permanece fixado no CAP correspondente ao seu diâmetro, assumindo a base do biodigestor, no seu interior foi fixado o tubo de 75mm o qual é destinado a câmara de fermentação do substrato. O espaço existente entre a parede externa do cilindro interior e a parede interna do cilindro exterior comporta um volume de água ("selo de água"). O tubo de diâmetro intermediário teve uma das extremidades vedadas por outro CAP, conservando-se apenas uma abertura com um registro para descargas do biogás e esse permanece inserido no selo de água, para propiciar condições anaeróbias e armazenar o biogás produzido (Figura 4).

Figura 4 - Representação do biodigestor tipo batelada



Para o ensaio dos biodigestores bateladas, foram utilizadas 16 unidades, com capacidade para 2 L, sendo 1,8 L de volume útil. Foram avaliados quatro tratamentos, com quatro repetições cada. A concentração de sólidos totais adotada foi de aproximadamente 4% do volume da carga total. O ensaio foi conduzido em temperatura ambiente até a produção de biogás cessar (123 dias).

O biorremediador foi testado nas doses de 0,5; 1,0 mL e 10 mL, sendo que o valor de 1,0 mL do biorremediador foi determinado com base nos trabalhos encontrados na literatura que apresentou resultados eficientes (COSTA, et al., 2013) e a concentração dez vezes maior, ou seja, uma superdose com a finalidade de ampliar o conhecimento do efeito do biorremediador (BINNER et al., 2012) sobre a DA dos dejetos bovinos. O substrato composto por dejetos bovinos leiteiros diluído em água recebeu a adição do produto comercial, no momento do abastecimento, variando-se as doses (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição dos substratos dos tratamentos avaliados no ensaio batelada

Tratamento	Componentes		
	Dejeto Bovino (Kg)	Água (Kg)	Biorremediador (mL)
SB	0,5	1,300	0
CB0,5	0,5	1,300	0,5
CB1,0	0,5	1,300	1,0
CB10,0	0,5	1,300	10,0

3.3 Descrição do biodigestor semicontínuo e do ensaio

Para a fabricação da câmara de fermentação dos biodigestores semicontínuos foram utilizados tubo de PVC com 1m de comprimento e diâmetro de 300mm. Suas extremidades foram vedadas por CAP de PVC. Em um dos lados foi acoplado uma curva de 60 mm de diâmetro, ao CAP para entrada do substrato e na extremidade oposta outro tubo de PVC com curva conectado a um registro de esfera para saída do efluente.

O biogás gerado nos biodigestores foi conduzido por mangueira de silicone para o gasômetro, esse confeccionado por tubos de 60 cm de comprimento e diâmetros de 230 mm e 300 mm, esse último fixado em CAP de PVC preenchido com água e o tubo de diâmetro menor com uma das extremidades vedada por outro CAP de PVC com abertura para um registro que permite a liberação do biogás. Assim originando os biodigestores semicontínuos tubulares de bancada com capacidade para 60 litros (Figura 5).

Figura 5 - Representação do biodigestor tipo semicontínuos



Foto: Aline Fernandes - 2018

Sendo o volume total de 60L de cada biodigestor o tempo de retenção hidráulica adotado de 30 dias, as cargas diárias corresponderam a 2L, com concentração de sólidos totais de aproximadamente de 6%.

O início do ensaio deu-se com o abastecimento total dos 16 biodigestores, composto apenas por dejetos de bovinos leiteiros diluídos em água. Para que dessa forma, os microrganismos anaeróbios pudessem se adaptar ao meio e assim obter-se a padronização da produção de biogás.

Os tratamentos foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x2, representados pelo biorremediador (com e sem aplicação) e o amido (com e sem aplicação).

Sendo assim, o ensaio foi dividido em quatro tratamentos, com quatro repetições cada, designados da seguinte maneira: SASB (sem amido e sem biorremediador), CASB (com amido e sem biorremediador), SACB (sem amido e com biorremediador) e CACB (com amido e com biorremediador).

Para o início, do ensaio contínuo, os 16 biodigestores foram preenchidos na sua capacidade total, considerando 6% de ST, com dejetos de bovinos diluídos em água (e peneirados em malha de 2mm) após foram abastecidos durante 30 dias com 2,0 litros de carga referente ao tratamento SASB (Tabela 2), com a finalidade de adaptação dos microrganismos anaeróbios ao meio e assim obter produção de biogás padronizada. Após iniciou-se as variações dos tratamentos referente ao 1º período (Tabela 2).

A fase de transição do ensaio entre os experimentos do 1º para o 2º período durou 30 dias, no qual as aplicações dos fatores amido e biorremediador foram suspensas e todos os biodigestores foram abastecidos com cargas diária de 2 litros referente ao tratamento SASB, para proporcionar a estabilidade da produção de biogás entre todos os biodigestores. Passando essa fase de transição, iniciou-se as variações das cargas referentes aos tratamentos pertencentes ao 2º período (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição dos substratos dos tratamentos avaliados no ensaio semicontínuo, durante o 1º e 2º período

Tratamentos	Dejeto Bovino (kg)	Água (kg)	Amido comercial (kg)	Biorremediador (mL)	
	Substrato base			1º período	2º período
SASB	0,5	1,5	0	0	0
CASB	0,5	1,5	0,025	0	0
SACB	0,5	1,5	0	1,0	0,5
CACB	0,5	1,5	0,025	1,0	0,5

Vale ressaltar que os tratamentos que receberam biorremediador no ensaio semicontínuo são decorrentes dos resultados obtidos dos tratamentos testados no ensaio batelada. Assim, em primeiro instante, foi considerado a dose de 1,0 mL do biorremediador que melhor correspondeu aos resultados da DA do dejetto bovino leiteiro. No entanto, posteriormente, configurando o segundo período foi testada a dose de 0,5 mL, por ter apresentado, no ensaio batelada, resultados satisfatórios em comparação a não aplicação do biorremediador, o que levou a acreditar que sua aplicação semicontínua ao sistema poderia ocasionar melhores resultados e possivelmente o uso de uma menor dose do biorremediador nos biodigestores semicontínuos.

3.4 Análises realizadas

3.4.1 Parâmetros operacionais

O potencial hidrogeniônico (pH) foi medido com auxílio de um pHmetro digital “Digimed (DMPH-2)”, nas amostras recém coletadas do substrato de afluente e efluente. A temperatura ambiente foi aferida com auxílio de um termômetro digital (em °C), antes da mensuração diária do biogás armazenado no gasômetro.

3.4.2 Teores de sólidos totais e sólidos voláteis

Para determinação de sólidos totais, as amostras dos afluentes e efluentes foram acondicionadas em triplicata em recipientes de alumínio, previamente tarados e pesados para obtenção do peso úmido (Pu) do material em balança com precisão

de 0,01g. Posteriormente, foram levados à estufa com circulação forçada de ar, a temperatura de 65°C, até atingirem peso constante. Após serem retirados da estufa, aguardou-se para atingirem temperatura ambiente e então, foram novamente pesadas, obtendo-se o peso seco (Ps). O teor de sólidos totais foi determinado semanalmente segundo metodologia descrita por APHA (2005). O teor de sólidos totais (ST), em porcentagem, foi determinado por meio da seguinte equação:

$$ST = \left[1 - \left(\frac{Pu - Ps}{Pu} \right) \right] \times 100 \quad (4)$$

Onde ST é o teor de ST, em porcentagem; PU é o peso úmido da amostra, em g; PS é o peso seco da amostra, em g.

Para a determinação dos sólidos voláteis, o material seco em estufa, resultante da determinação dos sólidos totais, foi levado à mufla, em cadinhos de porcelana previamente tarados em balança analítica com precisão de 0,0001g, e mantidos a uma temperatura de 575° C por um período de 2 horas. Após o resfriamento em dessecadores, o material resultante foi pesado, obtendo-se o peso da matéria mineral. Os teores de sólidos voláteis foram determinados semanalmente e expressos em porcentagem de matéria seca segundo metodologia descrita por APHA (2005). No qual:

$$SV = \left[1 - \left(\frac{Pf - T}{Pi - T} \right) \right] \times 100 \quad (5)$$

Onde SV é o teor de SV, em porcentagem; Pi é o peso inicial da amostra, em g; Pf é o peso obtido após queima em mufla, em g; T é a tara do cadinho, em g.

3.4.3 Determinação do volume de biogás e cálculo dos potenciais de produção de biogás

O volume de biogás produzido de cada biodigestor foi mensurado pela medida do deslocamento vertical dos gasômetros através de régua graduada, multiplicado o dado registrado pela área da seção transversal interna dos gasômetros. Após cada leitura, o registro de descarga de biogás era aberto até que os gasômetros fossem zerados e em seguida eram fechados. A correção do volume de biogás para as

condições de 1 atm e 20°C foi efetuada com base no trabalho de Caetano (1985), no qual verificou-se que, pelo fator de compressibilidade (Z), o biogás apresentou comportamento próximo ao ideal. Conforme descrito por Santos (2001), para a correção do volume de biogás, utilizou-se a expressão resultante da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac:

$$\frac{V_o P_o}{T_o} = \frac{V_1 P_1}{T_1} \quad (6)$$

Onde V_o é volume de biogás corrigido, m^3 ; P_o é a pressão corrigida do biogás, 10322,72 mm de água; T_o é a temperatura corrigida do biogás, 293,15 K; V_1 é volume do gás no gasômetro; P_1 é a pressão do biogás no instante da leitura, 9652,10 mm de água; T_1 é a temperatura do biogás, em K, no instante da leitura.

Os potenciais de produção de biogás foram calculados utilizando-se os dados de produção diária em razão da quantidade de dejetos adicionados, quantidades de ST e SV adicionados nos biodigestores, além das quantidades de SV reduzidos durante o processo de digestão anaeróbia. Os valores são expressos em m^3 de biogás por Kg de dejetos, ST, SV e suas reduções.

3.4.4 Mensuração de metano do biogás

O teor de metano (CH_4) da composição do biogás foi determinado uma vez por semana. As amostras foram colhidas em seringas e injetadas no cromatógrafo de gás (modelo CG-2010 Plus, Shimadzu Scientific Instruments) equipado com um detector de ionização por plasma (BID-2010 Plus), utilizando hélio como gás de arraste em coluna Carboxen® 1010 Plot.

3.4.5 Determinação dos macronutrientes primários: nitrogênio (NTK), fósforo (P), e potássio (K)

Posteriormente a secagem em estufa a 65°C, as amostras dos ensaios de digestão anaeróbia (afluentes e efluentes) foram trituradas em moinho de bola com câmara fechada. O Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) foi determinado por meio da digestão sulfúrica das amostras, seguida da destilação utilizando o destilador Kjeldahl, cujo princípio baseia-se na transformação do nitrogênio amoniacal ($(NH_4)_2SO_4$) em

amônia (NH_3), a qual é fixada pelo ácido bórico e posteriormente titulada com H_2SO_4 até nova formação de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, na presença do indicador ácido/base, conforme metodologia descrita por Silva (1981).

Para a determinação do fósforo (P) e potássio (K) as amostras foram submetidas a digestão nítrico-perclórica. Os teores de P foram determinados pelo método colorimétrico detectado via absorbância por meio de um espectrofotômetro HACH (modelo DR-2000). As concentrações de K foram determinadas em espectrofotômetro de absorção atômica (modelo GBC 932 AA).

3.4.6 Análise de viabilidade econômica

A viabilidade econômica foi proposta para avaliar o projeto da implantação de um biodigestor, em uma propriedade rural, visando o tratamento dos dejetos gerados da atividade da bovinocultura leiteira com a utilização do produto comercial, considerado como biorremediador. Para tanto foram calculados os investimentos necessários para implementar o projeto, considerando os produtos finais da digestão anaeróbia como receitas, ou seja, o biogás, destinado a geração de energia elétrica e o biofertilizante, composto por nutrientes, destinado a adubação orgânica e os custos de manutenção e operação do biodigestor, no horizonte de planejamento de 10 anos.

Para definir os cenários econômicos utilizou-se, os resultados do potencial de produção de biogás por sólidos totais adicionados e os teores de nitrogênio, fósforo e potássio obtidos dos ensaios semicontínuos, no entanto, não foram considerados os tratamentos com a adição do amido, assim os cenários foram definidos em: sem aplicação do biorremediador (SB) e com a aplicação de 0,5 (CB0,5) e 1,0 mL (CB1,0), correspondentes aos dois períodos avaliados, sendo que para cada cenário foram adotadas: 200 vacas em lactação confinadas e produção diária de 30 kg de dejetos.

Os custos operacionais de cada projeto foram compostos por:

- a) Investimento inicial, considerando as aquisições de equipamentos e materiais para a implantação do biodigestor, bem como, o grupo moto-gerador instalado na rede de transmissão de energia elétrica;
- b) Custos de aquisição do biorremediador, para os cenários que utilizam o produto (CB0,5 e CB1,0);
- c) Custos de manutenção dos biodigestores e geradores à biogás;

- d) Custos com mão de obra para operacionalizar o sistema, determinada referente a remuneração do trabalhador rural no estado de São Paulo;
- e) Custos com equipamentos de proteção individual (EPIs);
- f) Depreciação dos equipamentos e
- g) Tributos, com alíquota de 24%, segunda a base de cálculo por Lucro Real.

Os preços dos equipamentos que compuseram os investimentos iniciais, assim como seus custos de manutenção e aquisição do biorremediador foram obtidos em fabricantes especializadas (no mês de fevereiro de 2020). Cabe ressaltar, que para a troca da manta plástica do biodigestor foi considerado um período de 5 anos de vida útil, segundo as informações dos fabricantes.

Para calcular a receita de energia elétrica gerada, por meio dos resultados do potencial de produção de biogás por sólidos totais adicionados, foi adotada a média das tarifas de energia elétrica de R\$ 0,40 centavos por kWh com impostos, correspondentes a categoria “consumidor do Grupo B2/Convencional Rural” cobrada pelas distribuidoras de energia do país no primeiro semestre de 2020 (ANEEL, 2020).

Para calcular a receita do biofertilizante produzido foi considerado 100% o seu aproveitamento, na adubação de culturas produzidas para compor as dietas das vacas, gerando uma economia, na aquisição de fertilizantes minerais. O cálculo foi realizado a partir de sua composição química (macronutrientes primários) com equivalência aos adubos comerciais (sulfato de amônio: 21% de N; superfosfato simples: 18% de P_2O_5 e cloreto de potássio: 60% K_2O). Considerou-se o valor de R\$ 1.237,00; R\$ 921,00 e R\$ 1.932,00 por tonelada de fertilizante comercial para sulfato de amônio (SA), superfosfato simples (SS) e cloreto de potássio (KCl), respectivamente, de acordo com cotação direta com empresa especializada em vendas, de acordo com o mercado em fevereiro de 2020.

Os fluxos de caixa livre dos projetos foram descontados a uma taxa mínima de atratividade de 4,15%, referente a taxa básica de juros da economia brasileira (SELIC), em fevereiro de 2020.

A partir dos custos e benefícios obtidos foi possível definir o fluxo de caixa descontado do projeto, e assim realizar a análise viabilidade econômica a partir dos indicadores: Taxa Interna de Retorno (TIR), Valor Presente Líquido (VPL), Índice de Lucratividade (IL), Tempo de recuperação do investimento (Payback) (GRAHAM e HARVEY, 2001; MONTORO et al., 2019).

$$VPL = \sum_{t=1}^n \frac{FCL_t}{(1+K)^t} - FC_0 \quad (7)$$

Onde FCL_t é o fluxo de caixa de cada período; K é a taxa de desconto de projeto, representada pela rentabilidade mínima requerida e FC₀ é o Investimento processado no momento zero.

$$M0 = \sum_{t=1}^0 \frac{FCL}{(1+TIR)^t} - FC_0 \quad (8)$$

Onde M0 é o investimento no momento zero (início do projeto); FCL_t são os montantes previstos de investimento em cada momento subsequente; TIR é a taxa de rentabilidade equivalente periódica.

$$IL = \frac{\sum_{t=1}^n \frac{FCL_t}{(1+K)^t}}{I} \quad (9)$$

Onde IL é o índice de Lucratividade; FCL é o fluxo de caixas; I é o investimento.

3.5 Análises estatísticas do ensaio batelada

O ensaio batelada foi distribuído em um delineamento inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos a não aplicação do biorremediador (SB) e as doses 0,0, 1,0, e 10,0 em quatro repetições (biodigestores). Os resultados foram submetidos à análise de variância considerando-se como fonte de variação as doses de biorremediador. Foram verificados se os dados atendiam as pressuposições de normalidade pelo teste de Cramér-von Mises, de homocedasticidade pelo teste de Homocedasticidade: 1 pertence ao IC (λ) e ausência de valores outliers. Os dados foram avaliados pelo teste de comparação múltipla de médias Student-Newman-Keuls (SNK) com 5% de significância realizadas por pacotes estatísticos disponível na Linguagem R (R CORE TEAM, 2017).

3.6 Análises estatísticas do ensaio semicontínuo

Para análise dos dados do ensaio com biodigestores semicontínuos, foi utilizado delineamento inteiramente casualizado e um arranjo fatorial 2x2, sendo com

e sem aplicação do amido e com e sem aplicação do biorremediador. Assim as variáveis foram analisadas quanto aos efeitos da aplicação ou não do amido (A: sem e com) e aplicação ou não do biorremediador (B: sem e com) segundo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (A \times B)_{ij} + e_{ijkl} \quad (10)$$

Onde Y corresponde às variáveis dependentes, μ às médias gerais e e aos erros padrões.

Todas as variáveis foram analisadas com base nas repetições (quatro repetições por tratamento). Após verificação do atendimento ao modelo e aos pressupostos os dados foram submetidos as análises de variância. Quando necessário os dados foram avaliados pelo teste de comparação múltipla de médias Tukey com 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando pacotes estatísticos disponíveis na Linguagem R (R CORE TEAM, 2017).

A técnica de estatística multivariada foi realizada pelo método de Análise de Componentes Principais (ACP) com o objetivo de encontrar combinações das variáveis analisadas que mais contribuíram para os melhores resultados da DA, sendo aplicada nas variáveis de potencial de produção de biogás (PP biogás), potássio (K), fósforo (P), nitrogênio (NKT), metano (CH₄), sólidos totais reduzidos (STred), sólidos voláteis reduzidos (SVred), potencial de produção de biogás por sólidos voláteis adicionados (PPSVadc⁻¹), produção de biogás por sólidos totais adicionados (PPSTadc⁻¹), produção de metano por sólidos totais adicionados (PPCH₄STadc⁻¹), produção de metano por sólidos voláteis adicionados (PPCH₄SVadc⁻¹), sobre os resultados obtidos do ensaio semicontínuo. A ACP foi conduzida de acordo com o pacote FactoMineR (LÊ et al., 2008) e Factoextra (KASSAMBARA e MUNDT, 2019) disponível na Linguagem R (R CORE TEAM, 2020).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

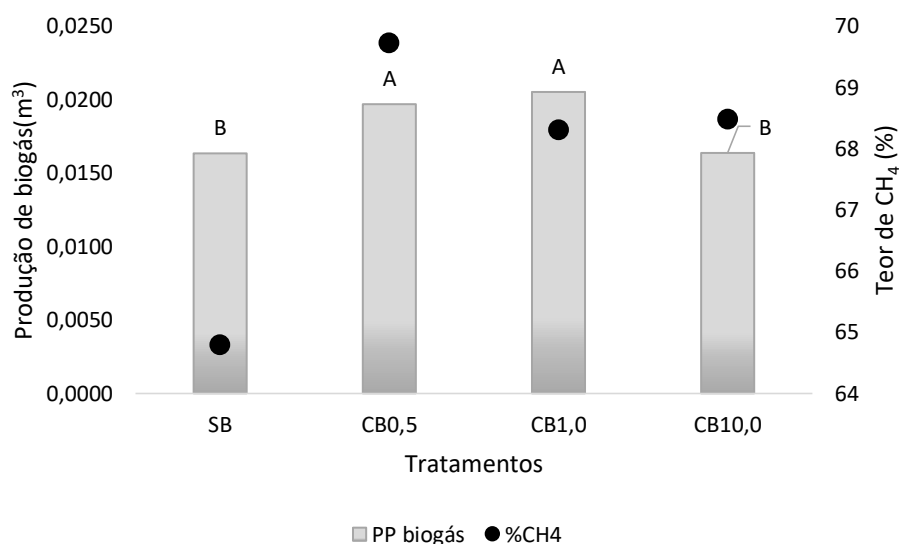
4.1 Resultados do ensaio batelada

A temperatura ambiente aferida, diariamente, durante o ensaio batelada apresentou leves oscilações, sendo: a média de 26,7°C, a máxima de 33,4°C e a mínima de 21,9°C permanecendo durante todo o ensaio dentro da faixa mesofílica (20 a 45 °C), sendo uma das faixas propícias ao crescimento microbiológico anaeróbio (CHERNICHARO, 2007).

Os valores de pH dos tratamentos CB, CB0,5, CB1,0 e CB10,0 foram de 6,92, 6,84, 6,85, 6,61, respectivamente. O pH dos tratamentos não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) e estão dentro da faixa considerada apropriada para a ação das bactérias responsáveis pela DA, sendo que o pH ótimo é considerado entre 6,5 a 7,5 e as variações máximas e mínimas para a maior parte delas estão entre 6 e 8 (CAMPOS et al., 2006).

A produção de biogás (m^3) e o teor de metano (%) obtidos a partir da digestão anaeróbia de dejetos bovinos com adição direta das doses 0, 0,5, 1,0 e 10 mL do biorremediador são apresentados na Figura 6.

Figura 6 - Potencial de produção de biogás e teor de metano dos tratamentos do ensaio batelada



Letras diferentes representam tratamentos estatisticamente diferentes pelo teste de SNK (5%).

Os tratamentos avaliados no ensaio batelada apresentaram biogás com teores de CH₄ entre 64,79 a 69,72%, não diferindo entre si ($p > 0,05$ – CV de 3,77%). Os maiores potenciais produção de biogás (m³), foram apresentados pelos tratamentos CB0,5 e CB1,0 ($p < 0,05$) que também apresentaram ligeiro acréscimo no teor de CH₄ (%).

Esse resultado demonstra que o potencial de produção biogás do dejetos bovino leiteiro pode ser melhor com a aplicação do biorremediador devido seu complexo enzimático proporcionar condições desejáveis a ação das atividades catalíticas dos microrganismos (PARAWIRA et al., 2012). Indicando que os tratamentos C0,5 e CB1,0 tiveram a ação da atividade enzimática contida no biorremediador atuando na quebra dos polissacarídeos de degradação mais lenta e melhorando a fase hidrolítica e com consequência todo o processo. Além do mais, possivelmente, o pré-tratamento mecânico (peneira) permitiu o melhor acesso dos microrganismos à parte mais complexa e passível à digestão (AHMAD et al., 2018; ROMANO et al., 2009).

Os menores potenciais de produção de biogás (m³) foram apresentados pelos tratamentos SB e CB 10,0. Esse desempenho referente ao tratamento SB é justificado pela composição da dieta oferecida aos bovinos leiteiros serem compostas por altos teores de ligninas e celulose (MØLLER et al., 2004), as quais nem sempre são totalmente degradadas no trato digestório dos animais, assim constituindo cerca de 50% da matéria seca dos dejetos desses animais (CHEN et al., 2014), o que leva a necessidade de intervenção desse substrato, com função de remediação, para o aumento da hidrólise dos polissacarídeos encontrados para o alcance da melhor recuperação energética (GERHARDT et al., 2007).

Em relação ao tratamento CB10,0 ou seja, a dose dita como superdose nem ao menos diferiu do tratamento SB ($p < 0,05$), indicando que a degradação das enzimas adicionadas aos biodigestores ocorreu nos primeiros dias após o contato com a biomassa (GARCIA et al., 2019).

No entanto, mesmo que os tratamentos CB0,5 e CB1,0 tenham apresentado as maiores médias de produção de biogás ao final do processo, quando se observa os 40 dias iniciais de digestão o tratamento CB10,0 apresenta o maior pico de produção logo na primeira semana, sendo que ao decorrer do processo sua produção é reduzida e estabilizada. Desempenho parecido ao encontrado no estudo realizado por Binner et al. (2011) que também não encontraram resultados significativos com a aplicação de uma superdosagem, decorrente da decomposição rápida das enzimas adicionadas

não sendo capaz de contribuir, significativamente, com a degradação dos compostos complexos do substrato durante todo período do processo analisado.

Ainda pode-se observar que o tratamento SB apresentou o menor pico de produção de biogás em comparação aos demais tratamentos, evidenciado que a aplicação de enzimas associada a outros pré-tratamentos melhora o efeito almejado (SPEDA et al., 2017).

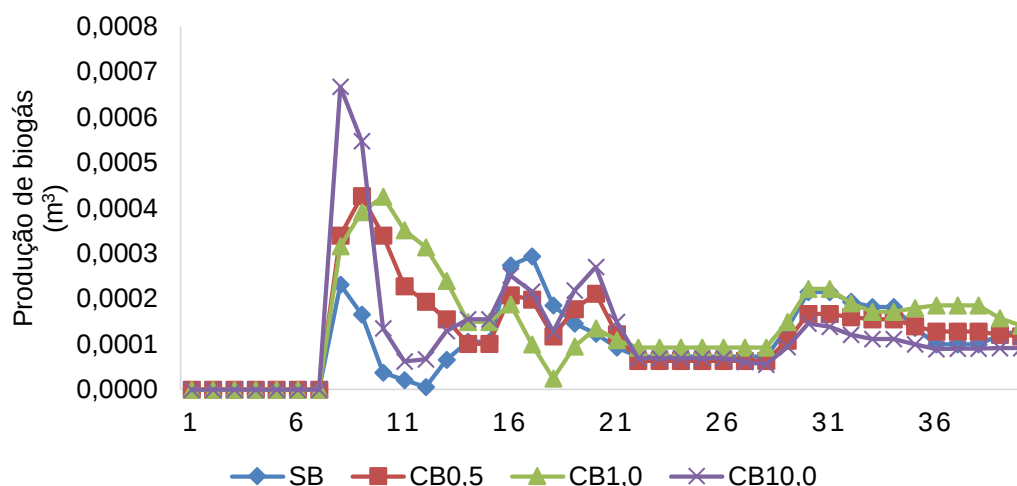
O comportamento de produção de biogás e metano apresentado pelo tratamento CB10,0, mostra que mesmo quando a técnica visa melhor rendimento se for aplicada de forma excessiva pode causar efeito contrário, como o acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) e sua subsequente inibição devido à sobrecarga a fase da hidrólise (MORALES-POLO et al., 2018).

Mesmo que a digestão anaeróbia, naturalmente, gera vários tipos de ácidos graxos voláteis e esses têm efeitos diferentes e cooperativos entre os grupos das bactérias anaeróbias (FRANKE-WHITTLE et al., 2014). No entanto, se a taxa de formação dos ácidos orgânicos for mais rápida que a atividade restrita da população das bactérias metanogênicas, ocorre a queda do pH, condição prejudicial às bactérias (JAIN et al., 2015) o que pode ter acontecido logo após o pico de produção do tratamento CB10,0.

Entretanto, o dejetos bovino, dentre suas características, apresenta efeito sinérgico e possui altos teores de nutrientes essenciais para a atividade microbológica o que o torna capaz de manter o pH estável (KAUFMANN, 2015; LIMA et al., 2016; NESHAT et al., 2017) o que pode ter proporcionado equilíbrio ao tratamento CB10,0 conforme o observado pelo valor de pH final (6,61) e pelo fato que mesmo apresentando desempenho de produção não proporcional ao seu pico inicial ele manteve-se estável durante o período avaliado (Figura 7).

Na figura 7 é apresentado a produção de biogás nos primeiros 40 dias de fermentação, no qual pode se observar o pico de produção inicial e após o comportamento estável dos tratamentos durante o processo.

Figura 7 - Produção acumulada de biogás dos tratamentos nos primeiros 40 dias de processo



Na Tabela 3 estão apresentados os valores para os teores médios de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) do afluente e efluente, assim como de suas reduções resultantes da fermentação.

Tabela 3 - Teores de sólidos totais e voláteis e suas reduções no ensaio batelada

Tratamento	ST	ST	SV	SV	ST	SV
	Aflu	Eflu	Aflu	Eflu	Reduções	
	Kg				%	
SB	0,0771c	0,0446 a	0,0704c	0,0374a	0,0305b	0,0329b
CB0,5	0,0773c	0,0485a	0,0706c	0,0410a	0,0287b	0,0292b
CB1,0	0,0812b	0,04682a	0,0744b	0,0392a	0,0343b	0,0352ab
CB10,0	0,0835a	0,03165b	0,0757a	0,0304b	0,0442a	0,0410 ^a
p-valor	<0,0001	0,01683	<0,0001	0,03934	0,01231	0,01285
CV (%) [*]	2,43	12,41	3,83	11,31	15,92	12,14

^{*}coeficiente de variação. Letras diferentes na coluna representam tratamentos estatisticamente diferentes pelo teste de SNK com 5% de significância. ST Aflu = sólidos totais no afluente, ST Eflu= sólidos totais no efluente, SV Aflu = sólidos voláteis no afluente, ST Eflu= sólidos voláteis no efluente,

Os tratamentos diferiram ($p < 0,05$) para os parâmetros de ST e SV no afluente, de maneira semelhante, nos quais as maiores médias foram do tratamento com 10,0 mL do biorremediador. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os parâmetros de

ST e SV no efluente, mas a resposta dos tratamentos foi inversa, ou seja, o tratamento CB10,0 apresentou a menor média em relação aos demais tratamentos.

O tratamento CB10,0 apresentou a maior redução de ST, sendo que os demais não diferiram entre si ($p > 0,05$). As maiores reduções de SV foram apresentadas pelos tratamentos CB1,0 e CB10,0. Pode-se inferir que essas reduções de sólidos ocorreram, principalmente, nos primeiros dias do processo, pois foi quando esses tratamentos apresentaram os maiores picos de produção de biogás (Figura 7). Devido, possivelmente a ação eficaz do biorremediador aplicado (CATER, 2014).

O tratamento CB1,0 demonstrou relação entre a remoção de SV (Tabela 4) e a produção de biogás (Figura 9). Fato relacionado a produção de biogás ser proporcional a degradação do substrato, por dentro as frações constituintes dos sólidos totais a determinada como sólidos voláteis ser a fração convertida em biogás (JAIN et al., 2015; MERLINCHRISTY et al., 2014).

No entanto, comportamento oposto foi apresentado pelo tratamento CB10,0 que mesmo com reduções significativas de SV não apresentou maior produção de biogás, provavelmente, porque não teve toda essa parte dos SV reduzidos convertidos em biogás o que causa sua acumulação no interior dos biodigestores (IMENI et al., 2019). Os potenciais de produção de biogás analisados no ensaio batelada estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Potenciais de produção de biogás no ensaio batelada

Tratamento	Potenciais de produção de biogás ($\text{m}^3 \text{Kg}^{-1}$)			
	Dej adc^{-1}	ST adc^{-1}	SV adc^{-1}	SV red^{-1}
SB	0,0326a	0,2111b	0,2320b	0,4990bc
CB0,5	0,0411a	0,2544 ^a	0,2801a	0,6754 ^a
CB1,0	0,0407a	0,2528 ^a	0,2755a	0,5831ab
CB10,0	0,0345a	0,1952b	0,2156b	0,4062c
p-valor	0,0548	0,0193	0,0225	<0,0001
CV (%) [*]	12,35	11,83	11,83	14,79

^{*}coeficiente de variação. Letras diferentes na coluna representam tratamentos estatisticamente diferentes pelo teste de SNK com 5% de significância. Dej adc^{-1} = dejetado adicionado, ST adc^{-1} = sólidos totais adicionados, SV adc^{-1} = sólidos voláteis adicionados, SV red^{-1} = sólidos voláteis reduzidos

A variável de potencial de produção por dejetado adicionado ($\text{m}^3 \text{kg} \text{adc}$) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos como o esperado uma vez que a mesma quantidade de dejetado foi distribuída entre todos.

Os menores potenciais de produção de biogás por ST e SV adicionados ($\text{m}^3 \text{kg} \text{adc}$) e SV reduzidos ($\text{m}^3 \text{kg} \text{red}$) foram apresentados pelos tratamentos SB e o

CB10,0. A DA do dejetos de bovino leiteiro sem aplicação do biorremediador apresentou ser limitada, devido sua composição recalcitrante. Ressaltando assim, a necessidade de interferência de um tratamento prévio ou direto, de forma a atingir sua composição bioquímica para aprimorar o seu potencial de produção de biogás. Uma vez, que os dejetos bovinos são compostos, principalmente, por fibras lignocelulósicas que não foram digeridas pelo trato gastrointestinal desses animais (CARLSSON et al., 2012).

A aplicação da superdose, ou seja, o tratamento CB10,0, mostra que, possivelmente, a ação rápida e intensificada das enzimas constituintes do biorremediador gerou um desequilíbrio entre as fases do processo (BINNER et al., 2011) o qual não resultou maiores rendimentos.

Desse modo, em comparação aos resultados apresentados pelo tratamento SB a aplicação das doses testadas do biorremediador mostraram ser promissoras na DA dos dejetos bovinos. No entanto, vale ressaltar, que o tratamento CB10,0, superdose, não resultou melhor eficiência técnica em relação as menores doses aplicadas nos demais tratamentos testados, apontando ser desinteressante, pois um dos pontos a ser considerado na seleção da dose a ser aplicada ao substrato é a viabilidade técnica e a econômica (ZHANG et al., 2018).

4.2 Resultados do ensaio semicontínuo

4.2.1 Resultados do ensaio semicontínuo (1º período)

A temperatura ambiente aferida, diariamente, durante o ensaio semicontínuo apresentou leves oscilações sendo, a média 27,32°C, a mínima 22,10°C e a máxima 31°C permanecendo durante todo o ensaio na faixa mesofílica (20 a 45 °C) (CHERNICHARO, 2007)

Embora a faixa termofílica (45 a 70 °C) apresentar vantagens técnicas sobre a mesofílica, há indicação da DA ser conduzida em condições mesofílica, pois essa faixa de temperatura também demonstra estabilidade ao processo e requer menor investimento (CHERNICHARO, 2007; MAO et al., 2018; NESHAT et al., 2017). A Tabela 5 apresenta o pH, do afluente e efluente, conferido durante o ensaio semicontínuo.

Tabela – 5 Valor do pH no afluente e efluente dos tratamentos do ensaio semicontínuo (1º período)

TRATAMENTOS	AFLUENTE	EFLUENTE
SASB	6,38a	7,24 a
CASB	6,32 a	7,20 a
SACB	6,27 a	7,22 a
CACB	6,20 a	7,17 a
p-valor	0,9837	0,4907
CV(%)	2,67	2,43

*coeficiente de variação. Letras diferentes na coluna representam tratamentos estatisticamente diferentes pelo teste de SNK com 5% de significância.

O pH é um fator de interferência expressiva nas atividades das bactérias anaeróbias e por elas serem de diversos grupos requerem valores diferentes (SIDDIQUE et al., 2018). No entanto, via de regra, o pH ideal para o processo anaeróbio está na faixa de 6 a 8 (ZHANG et al., 2018). Faixa essa em que os valores de pH de todos os tratamentos apresentaram-se compreendidos. Nessas condições experimentais os resultados encontrados com a aplicação do biorremediador apresentaram significativos no rendimento de biogás (m^3), porém podem resultar melhores efeitos sendo testado sob condições diferentes e ideais a atividades das enzimas (BONILLAS et al., 2018).

A tabela 6 apresenta os teores de ST e SV (kg) no afluente e efluente dos tratamentos, bem como suas reduções (%) no final do processo.

Tabela 6 - Teores de sólidos totais e voláteis no afluente e efluente e suas reduções em função dos fatores amido e biorremediador (1º período)

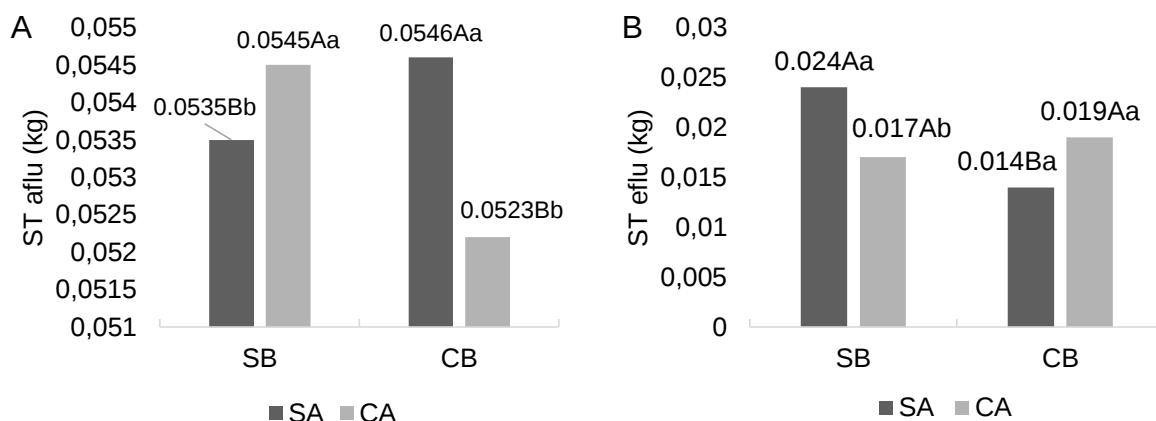
Efeito principal	ST Aflu (kg)	ST Eflu (kg)	SV Aflu (kg)	SV Eflu (kg)	ST red (%)	SV red (%)
Amido (A)						
Sem	0,0540	0,0188	0,0453	0,0140	65,05	68,92
Com	0,0534	0,0178	0,0449	0,0124	65,06	69,21
Biorremediador (B)						
Sem	0,0540	0,0200	0,0450	0,0146	62,89	67,31
Com	0,0535	0,0159	0,0451	0,0115	67,58	71,46
Probabilidades						
Amido	<0,0001	0,5478	<0,0001	0,2291	0,9994	0,9186
Biorremediador	0,0299	0,0406	0,6837	0,0328	0,1768	0,1622
AxB	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
*CV (%)	0,35	7,14	0,39	11,60	4,54	5,98

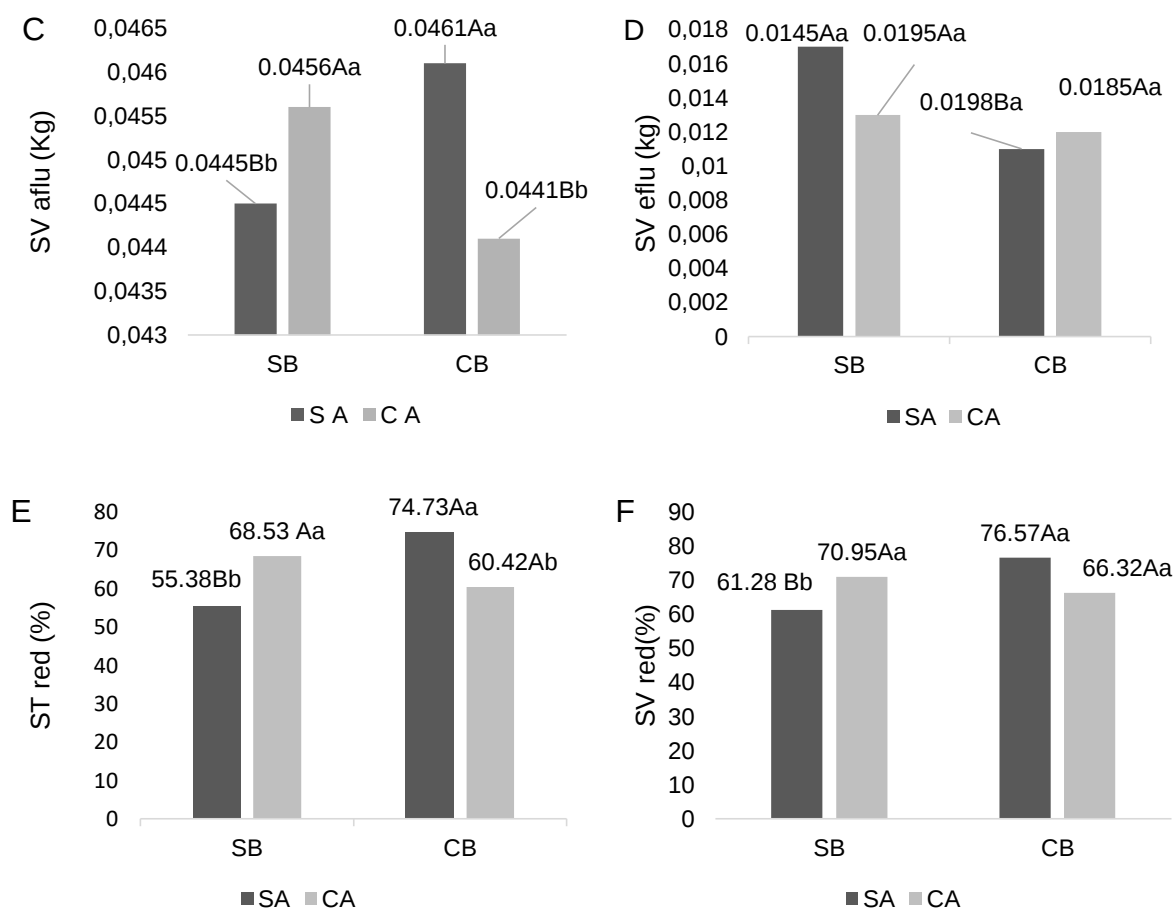
*coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). STaflu = sólidos totais no afluente, STEflu = sólidos totais no efluente, STred = sólidos totais reduzidos, SVaflu = sólidos voláteis no afluente, SVEflu = sólidos voláteis no efluente, SVred = sólidos voláteis reduzidos.

Houve interação ($p < 0,05$) entre os fatores amido e biorremediador em todas as variáveis analisadas. Para as variáveis de ST e SV (kg) no afluente (Figura 8 A e C), as maiores médias foram apresentadas pelo tratamento SACB quando comparado ao tratamento SASB. Para as variáveis de ST e SV (kg) no efluente (Figura 8 B e D) as menores médias foram apresentadas pelo tratamento SACB quando comparado ao tratamento SASB.

O tratamento SACB para a variável sólidos totais reduzidos (%) (Figura 8 E), apresentou as maiores reduções ($p < 0,05$) quando comparado ao tratamento SASB e ao CACB. A interação entre os fatores para essa variável não foi favorável, já que a menor redução de sólidos foi ao aplicar o amido. Assim, o tratamento SACB foi o que apresentou a maior média quando comparado ao tratamento CACB. O tratamento SACB para a variável SV reduzidos (%) (Figura 8 F) apresentou a maior média quando comparado ao tratamento SASB e não diferiu ($p > 0,05$) do tratamento com CACB.

Figura 8 - Interação dos fatores amido versus biorremediador sobre os teores de ST aflu (A), ST eflu (B), SV aflu (C), SV eflu (D), ST red (E) e SV red (F) (1º período)





A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Os sólidos voláteis são definidos como parte da matéria orgânica presente no substrato passível de degradação, isto é, a parte que as bactérias metanogênicas utilizam como substrato para a conversão em biogás (COSTA et al., 2013).

O dejetos de bovino submetido ao processo anaeróbio atinge entre 40 a 50% de degradação do total do teor de sólidos apresentado, devido ser composto por altos teores de fibras (BRUNI et al., 2010). Desse modo, enquanto a biomassa lignocelulósica apresenta desempenho lento pela resistência à hidrólise, o contrário acontece com a biomassa agrícola constituída por altos teores de amido, por ter fácil biodegradabilidade (TEGHAMMA et al., 2012). Condições essas de comportamento que podem ser atribuídas aos resultados de reduções dos sólidos totais e voláteis dos tratamentos deste experimento. A produção total e o teor de metano analisados estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7- Potencial de produção de biogás e teor de CH₄ em função dos fatores amido e biorremediador (1º período)

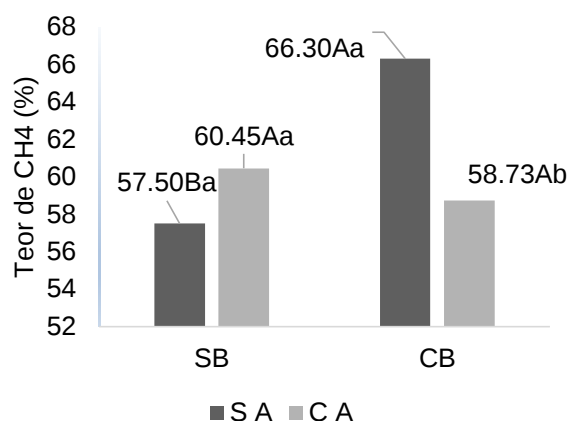
Efeito principal	Produção de biogás (m ³)	Teor de CH ₄ (%)
Amido (A)		
Sem	0,5265b	62,52
Com	0,8574a	59,69
Biorremediador (B)		
Sem	0,6669b	59,52
Com	0,7169a	62,34
Probabilidades		
Amido	<0,0001	0,1045
Biorremediador	0,0443	0,1016
A x B	0,3139	<0,0001
CV (%) ¹	6,44	5,58

¹coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A tabela 7 mostra que as aplicações do biorremediador e do amido influenciaram a produção total de biogás (m³) e o teor de metano (%). Desse modo, ocorreu efeito principal (p<0,05) do fator amido e fator biorremediador sobre a variável de produção total de biogás (m³), sendo menor nos tratamentos sem a aplicação de nenhum dos aditivos. Ainda para melhor compreensão dos efeitos do biorremediador e do amido, a produção total de biogás de cada tratamento é apresentada, a seguir: 0,3059, 0,5168, 0,3401, e 0,5506 (m³) para os tratamentos SASB, CASB, SACB e CACB, respectivamente.

Houve interação significativa (p<0,05) entre os fatores biorremediador e amido sobre o teor de metano (%) constituinte do biogás produzido (Figura 9). O tratamento SACB apresentou maior média, quando comparado SASB e ao CACB. A interação entre os fatores para essa variável não foi favorável, já que o menor teor de CH₄ foi ao adicionar amido. Assim, o tratamento SACB foi o que apresentou a maior média quando comparado ao tratamento CACB.

Figura 9 - Interação dos fatores amido *versus* biorremediador para o teor de CH₄.



A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Brémond et al. (2018) estudaram a adição direta da enzima amilase na DA o que rendeu um aumento de metano em 111%. No qual, relatam que esse resultado é devido à interferência positiva que as enzimas como: celulasas, hemicelulasas, amilases e pectinases, se bem aplicadas, apresentam ao processo.

A menor produção de biogás e as demais variáveis analisadas com resultados inferiores apresentadas pelo tratamento SASB em relação aos outros tratamentos, isto é, com a aplicação do amido ou do biorremediador, mostra que mesmo após o dejetos de bovino ser submetido ao pré-tratamento mecânico ainda apresenta características a serem alteradas, portanto, ocorreu melhor eficiência da otimização do processo pela aplicação conjunta de pré-tratamento e aditivos (ZHANG et al., 2018).

A degradação biológica do material lignocelulósico na hidrólise é facilitada por enzimas produzidas naturalmente pelos microrganismos envolvidos na DA. No entanto, maiores eficiências são encontradas quando alguns produtos enzimáticos comerciais são aplicados por oferecem melhores condições ao processo (ROMANO et al., 2009).

Orrico et al. (2011) constataram que os maiores teores de carboidratos de degradação lenta são encontrados nos dejetos dos bovinos e caprinos, seguido pelo dejetos de suíno, cama de frangos e dejetos de aves de postura. Via de regra, os dejetos

dos ruminantes apresentam alta concentração de fibra e por isso baixos potenciais de produção de biogás, em relação aos demais dejetos dos animais avaliados.

Assim, a relação positiva da aplicação do biorremediador utilizado neste experimento e a não aplicação, sobre o desempenho da DA é pertinente, pois em síntese, o dejetos bovino é composto, principalmente, por biomassa lignocelulósica não digerida pelo animal e por proteínas (BRÉMOND et al., 2018). E o uso de enzimas proporciona maiores rendimentos de açúcares fermentáveis (BRIJWANI et al., 2010).

Gerhardt et al. (2007), estudaram os efeitos da aplicação direta de enzimas em 30 usinas de biogás abastecidas com resíduos agroindustriais e culturas energéticas e obtiveram bons resultados com ganhos de até 35% na produção de biogás. Resultados semelhantes foram encontrados por Hölker (2008), aplicando enzimas em 68 usinas de biogás abastecidas com dejetos bovino, silagem de milho e capim, conseguiram ganhos de até 15% na produção de biogás. Os potenciais de produção de biogás e metano estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Potenciais de produção de biogás e metano em função dos fatores amido e biorremediador (1º período)

Efeito principal	Potenciais de produção ($\text{m}^3 \text{Kg}^{-1}$)					
	Dej ⁻¹	ST adc ⁻¹	SV adc ⁻¹	SV red ⁻¹	CH ₄ ST adc ⁻¹	CH ₄ SV adc ⁻¹
Amido (A)						
Sem	0,0349b	0,3230b	0,3854b	0,5897	0,2123b	0,2528b
Com	0,0569a	0,5337a	0,6362a	0,8536	0,3019a	0,3594 ^a
Biorremediador (B)						
Sem	0,0445	0,4113b	0,4914b	0,7037	0,2370	0,0283
Com	0,0474	0,4454a	0,5302a	0,7726	0,2900	0,3445
Probabilidades						
Amido	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Biorremediador	0,0738	0,0299	0,0348	0,2330	0,0635	0,0691
A x B	0,2979	0,9871	0,8370	0,0456	0,5956	0,0591
CV (%) ¹	6,50	6,45	6,44	10,16	6,95	6,97

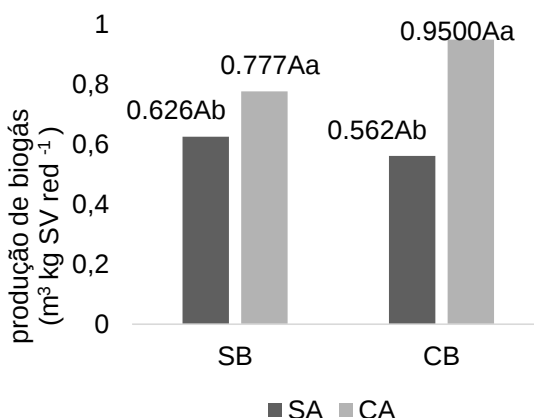
¹coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dej adc⁻¹ = dejetos adicionados, ST adc⁻¹ = sólidos totais adicionados, SV adc⁻¹ = sólidos voláteis adicionados, SV red⁻¹ = sólidos voláteis reduzidos, CH₄ ST adc⁻¹ = metano por sólidos totais adicionados, CH₄ SV adc⁻¹ = metano por sólidos voláteis adicionados

É possível verificar na tabela 8, que a aplicação do biorremediador e do amido influenciaram todas as variáveis analisadas dos potenciais de produção de biogás e metano. Desse modo, ocorreu efeito principal ($p < 0,05$) do fator amido e do fator biorremediador sobre as variáveis de potenciais de produção por ST adicionados (m^3

kg ST adc^{-1}) e SV adicionados (m^3 kg SV adc^{-1}), sendo que dessas variáveis as menores produções foram para os tratamentos sem a aplicação de nenhum dos aditivos.

Entretanto, sobre o potencial de produção de biogás por dejetos adicionados (m^3 kg dej adc^{-1}), potencial de produção de metano por sólidos totais adicionados (m^3 kg ST adc^{-1}) e por sólidos voláteis adicionados (m^3 kg SV adc^{-1}) ocorreu efeito principal ($p < 0,05$) do fator amido, o qual foi maior nos tratamentos com a aplicação do amido em relação aos que não receberam. Houve interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores amido e biorremediador sobre o potencial de produção de biogás por SV reduzidos (m^3 kg SV red^{-1}). Em que o tratamento SACB não diferiu ($p > 0,05$) quando comparado ao tratamento SASB. E apresentou a menor média quando comparado ao tratamento CACB. A interação entre os fatores foi favorável, já que a maior média de potencial de produção de biogás por SV reduzidos (m^3 kg SV red^{-1}) foi com a aplicação do amido (Figura 10).

Figura 10 - Interação dos fatores amido *versus* biorremediador para o potencial de produção por sv red^{-1} (1º período)



A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Nossos resultados, de maneira geral, indicam que os biodigestores abastecidos com o tratamento da aplicação conjunta de amido e biorremediador apresentaram a mesma eficiência de produção quando comparados aos que tiveram as aplicações isoladas desses fatores.

Esse desempenho é parecido com o encontrado por Garcia et al. (2019), que relatam que a aplicação de enzimas comerciais em biodigestores abastecidos com substratos com alto teor de lignina apresenta efeitos relevantes, no entanto efeito não significativo em substratos facilmente degradáveis, os ricos em açúcares. E inferem que esse resultado está relacionado com a alta degradabilidade natural de culturas energéticas, como grãos de milho e triticale.

Entre os carboidratos, derivados dos vegetais, encontrados naturalmente na biomassa os que mais apresentam potencial para a geração de biogás é a celulose que possui degradação mais lenta e o amido degradado facilmente no processo anaeróbio (ZHOU et al., 2014). O que pode ser atribuído aos resultados encontrados nesse experimento representados pelo tratamento SASB e o tratamento CASB por esses carboidratos serem componentes do dejetos usado como substrato e do aditivo aplicado ao processo anaeróbio.

Speda et al. (2017) estudaram o efeito da adição direta de uma mistura de enzimas celulolíticas, coletadas de uma comunidade específica de bactérias metanogênicas, sobre a DA de silagem. No qual constataram efeito significativo na produção de biogás devido a solução enzimática ter degradado material celulósico menos acessíveis as bactérias naturais do processo.

Outras pesquisas conduzidas com diferentes substratos foram desenvolvidas, como no caso dos pesquisadores Donoso-Bravo; Fdz-Polancoc (2013) que estudaram o efeito da adição da enzima lipase sobre a codigestão de resíduos em uma estação de tratamento. As doses aplicadas de lipase entre 0,2 e 0,5 mL demonstraram aumento significativo na taxa de produção total de metano. Outro ponto avaliado foi em relação ao TRH, que apresentou redução de cerca de 30%, o que permitiu redução no tamanho (volume) do biodigestor, resultando investimentos menores.

A Tabela 9 apresenta os teores dos macronutrientes primários. Houve efeito principal ($p < 0,05$) do fator biorremediador somente sobre o teor de potássio (K) no efluente, nos quais os biodigestores que receberam o biorremediador obtiveram a maior média. Ocorreu interação ($p < 0,05$) entre os fatores amido e biorremediador sobre os teores de nitrogênio (NKT) e fósforo (P) tanto no afluente como efluente (Figura 11). Dos quais para as variáveis NKT aflu (Figura 11 A), P aflu (Figura 11 C) e eflu (Figura 11 D) o tratamento SACB apresentou menores médias em comparação ao tratamento CACB. Sendo a interação para essas variáveis favoráveis, já que a

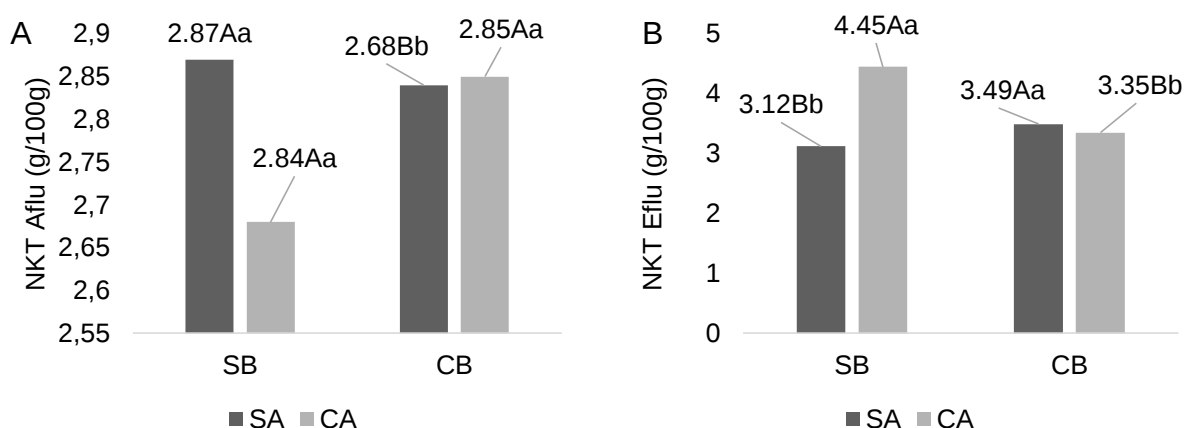
aplicação do amido aumentou os teores desses nutrientes. No entanto, sobre o NKT no efluente (Figura 11 B) a interação não apresentou ser favorável.

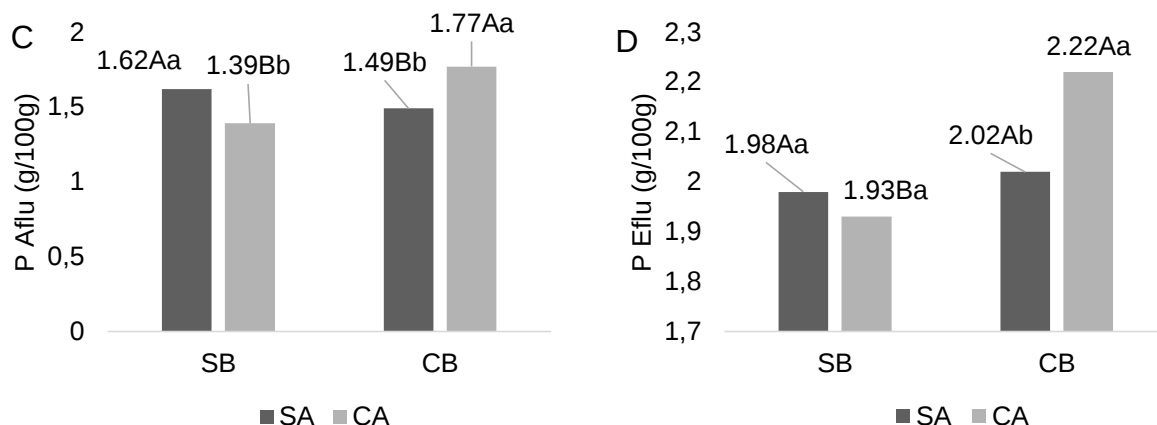
Tabela 9 - Teores dos macronutrientes primários, NKT, P e K, no afluente e efluente em função dos fatores amido e biorremediador (1º período)

Efeito principal	Macronutrientes (g/100g)					
	NKT Aflu	NKT Eflu	P Aflu	P Eflu	K Aflu	K Eflu
Amido (A)						
Sem	2,86	3,27	1,55	2,00	1,72	2,66
Com	2,85	3,78	1,54	2,08	1,75	2,73
Biorremediador (B)						
Sem	2,78	3,71	1,50	1,96	1,62	2,41b
Com	2,85	3,35	1,60	2,12	1,81	2,97a
Probabilidades						
Amido	<0,0001	<0,0001	0,1775	<0,0001	0,8758	0,7839
Biorremediador	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3011	0,0473
AAxAB	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,7654	0,6928
CV(%) ¹	1,27	1,07	1,88	2,66	14,55	13,12

¹coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). NKT aflu: nitrogênio total no afluente; NKT eflu: nitrogênio total no efluente; P aflu: fósforo no afluente; P eflu: fósforo no efluente; K aflu: potássio no afluente; K eflu: potássio no efluente.

Figura 11 - Interação dos fatores amido *versus* biorremediador sobre teor de NKT no afluente (A), NKT no efluente (B), P no afluente (C) e P no efluente (D) (1º período).





A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, $p < 0,05$).

A obtenção de um efluente, ou seja, do biofertilizante com alta qualidade está relacionado com a capacidade do processo degradar compostos orgânicos complexos, por ocasionar maior eficiência na remoção de matéria orgânica (CAMMAROTA; FREIRE, 2006).

Assim, os resultados mostram que os teores de macronutrientes primários analisados no substrato se apresentaram abaixo do que os encontrados após a digestão, ou seja, no biofertilizante. Isso ocorre pelo fato que no processo de digestão anaeróbia há perdas de carbono como na forma de CH_4 e CO_2 , resultando a concentração de outros nutrientes (PRAES et al., 2015).

O nitrogênio (N), fósforo (P) e o potássio (K) são, dentre os nutrientes, os três macronutrientes primários requeridos pelas plantas, relativamente, em maiores quantidades. Não menos necessários, há os macronutrientes secundários e os micronutrientes que também são fundamentais para o desenvolvimento das plantas, porém exigidos em quantidades menores (REETZ, 2016).

Na planta o N é um elemento-chave dos aminoácidos e das proteínas. E igualmente compõe a molécula de clorofila. De tal modo, seu suprimento é necessário para o processo de fotossíntese e para a produção de proteínas. O fósforo (P) também apresenta função fundamental na fotossíntese. É encontrado em altas concentrações em tecidos meristemáticos novos e na composição de matérias genéticas, DNA e RNA, e ainda no metabolismo de açúcares e amidos, todos cruciais nos processos de divisão celular e crescimento (REETZ, 2016).

De acordo, com o autor supracitado, vale ressaltar a importância do potássio na solução do solo, por estar envolvido pelo processo das trocas catiônicas. Na planta,

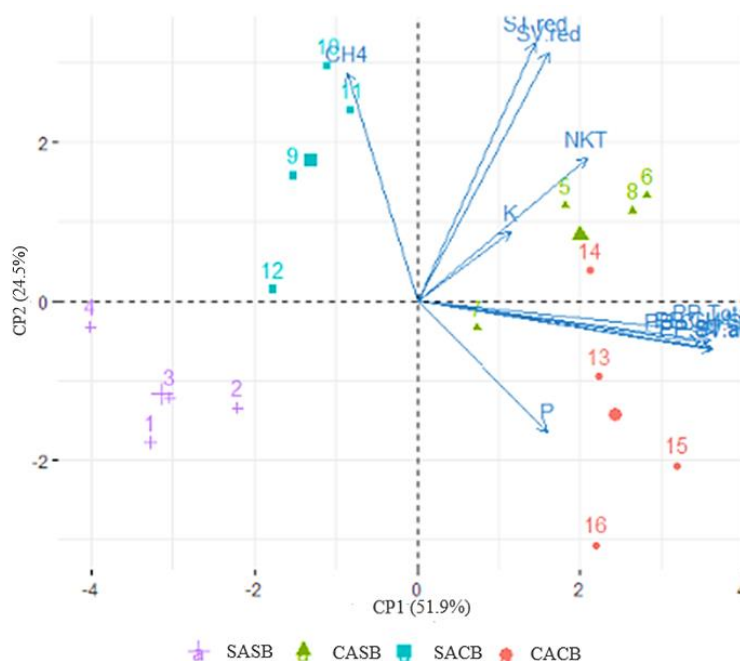
o K regula o fluxo de água e outras substâncias através das membranas celulares, e auxilia amplos processos químicos e enzimáticos. No geral, é essencial na manutenção no balanço hídrico da planta e na absorção e movimento dos nutrientes.

A figura 12 apresenta o gráfico biplot da análise de componentes principais.

As variáveis de potencial de produção de biogás total (m^3), potencial de produção de biogás por sólidos totais adicionados ($\text{m}^3 \text{ kg STadc}^{-1}$), potencial de produção de biogás por sólidos voláteis adicionados ($\text{m}^3 \text{ kg SVadc}^{-1}$), potencial de produção de CH_4 por sólidos totais adicionados ($\text{m}^3 \text{ kg STadc}^{-1}$), potencial de produção de CH_4 por sólidos voláteis adicionados ($\text{m}^3 \text{ kg SVadc}^{-1}$), teor de CH_4 (%), reduções de sólidos totais e voláteis (%), nitrogênio total Kjeldahl ($\text{g}/100$), fósforo ($\text{g}/100$) e K ($\text{g}/100$) dos tratamentos avaliados no ensaio semicontínuo foram analisadas pela técnica multivariada de componentes principais.

Os dois primeiros componentes principais foram responsáveis por 76,4% da variação total, sobre a eficiência da DA dos tratamentos avaliados no ensaio semicontínuo, em que o CP1 explica 51,9% e o CP2 explica 24,5% das variações dos dados. O terceiro componente principal, embora com 15,9% de variância, não foi considerado por não acrescentar informação relevante na discriminação dos tratamentos avaliados.

Figura 12 - Gráfico biplot da análise de componentes principais do ensaio semicontínuo (1º período).



SASB= sem amido e sem biorremediador; CASB= com amido e sem biorremediador; SACB= sem amido e com biorremediador; CACB= com amido e com biorremediador; PPtotal = Produção total; ; CH₄ = teor de metano; PPST adc⁻¹ = Potencial de produção por sólido total adicionado; PPSV adc⁻¹ = Potencial de produção por sólido volátil adicionado; PPCH₄ ST adc⁻¹ = Potencial de produção de metano por sólidos totais adicionados; PPCH₄ SV adc⁻¹ = Potencial de produção de metano por sólidos voláteis adicionados; NKT= nitrogênio total; P= fósforo; K= potássio.

A correlação positiva entre as variáveis produção de biogás (m³), potencial de produção de biogás por sólidos totais (m³ kg STadc) e por voláteis adicionados (m³ kg SVadc), potencial de produção de CH₄ por sólidos totais (m³ kg CH₄ STadc) e voláteis adicionados (m³ kg CH₄ SVadc), teor de CH₄ (%) e nitrogênio total Kjeldahl, apresentadas no CP1 são responsáveis pela discriminação dos tratamentos CASB e CACB, localizados à direita do componente.

O CP2 apresentou correlação positiva com o teor CH₄ (%) situado no quadrante superior esquerdo próximo ao tratamento SACB que foi o tratamento que apresentou o maior teor de CH₄ (Figura 9).

As variáveis de ST reduzidos (%), SV reduzidos (%) e NKT (g/100g) são explicadas pelos dois componentes principais, discriminando os tratamentos CASB, SACB e CACB.

A correlação positiva entre as variáveis de potenciais de produção (m³), reduções de sólidos (%) e do teor de nutrientes (g/100g) estão relacionadas a melhor

biodegradabilidade do substrato e a eficiência da digestão, nos quais são responsáveis pelo agrupamento dos tratamentos que receberam a aplicação direta do amido e/ou do biorremediador e o isolamento, à esquerda do CP1 e na parte inferior do CP2, do tratamento SASB, ou seja, o tratamento que não recebeu nenhum aditivo, o que justifica a necessidade do dejetos bovino leiteiro ser submetido a técnica de pré-tratamento e aplicação direta de aditivos.

Visto que o dejetos de bovino leiteiro é, sem dúvidas, promissor para o processo anaeróbio, porém por apresentar no teor de sólidos totais material fibroso de difícil degradação faz com que o rendimento de biogás seja reduzido (ZULKIFLI et al., 2015).

Dessa forma, a maior produção de biogás (m^3) nos biodigestores conduzidos com aplicação fator amido e biorremediador em comparação aos que não tiveram a aplicação, parece caracterizar, à primeira vista, que houve melhor degradabilidade proporcionada pelo amido e que também houve um suprimento às bactérias hidrolíticas que receberam enzimas extras constituintes do biorremediador. Visto que, as enzimas aplicadas na DA assumem a função de favorecer o desenvolvimento dos diferentes microrganismos envolvidos na degradação da biomassa e, portanto, permite o uso de substratos mais resistentes ao processo anaeróbio (ZHENG et al., 2014).

4.2.2 Resultados do ensaio semicontínuo 2º período

A temperatura ambiente apresentou oscilações moderadas e manteve-se na faixa mesofílica sendo: a média de 27,78°C, mínima de 23,9°C e a máxima de 33,13°C durante todo período em que o experimento foi conduzido, o pH dos efluentes também indicaram estabilidade ao processo sendo que a sua faixa ideal está compreendida entre 6 a 8 (Zhang et al., 2018).

Tabela – 10 Valor do pH no afluente e efluente dos tratamentos do ensaio semicontínuo (2º período)

TRATAMENTOS	AFLUENTE	EFLUENTE
SASB	6,67	7,33
CASB	6,06	7,44
SACB	6,68	7,39
CACB	6,80	7,31

A temperatura e o pH além de serem parâmetros cruciais para a eficácia da DA é também para a atividade enzimática dos aditivos aplicados. Tanto que no estudo realizado por Oliva-Merencio et al. (2015) os resultados indicaram que não houve efeito significativo da adição da enzima sobre a produção de biogás pelo fato das condições experimentais da pesquisa ter apresentado pH 4 e temperatura de 50 °C, além da origem do inóculo usado os quais não foram propícios para a ação da enzima celulose.

Houve efeito principal ($p < 0,05$) do fator amido e do biorremediador para ST (kg) no afluente, no qual as maiores médias foram para os tratamentos que receberam suas aplicações. Não ocorreu efeito principal e interação ($p > 0,05$) entre os fatores biorremediador e amido sobre os teores de SV (kg) no afluente (Tabela 11).

Ocorreu interação ($p > 0,05$) entre os fatores amido e biorremediador para os teores de ST e SV por kg no efluente e nas suas reduções (%). O tratamento SACB para essas variáveis, não apresentaram diferença significativa quando comparados ao tratamento SASB e ao tratamento CACB.

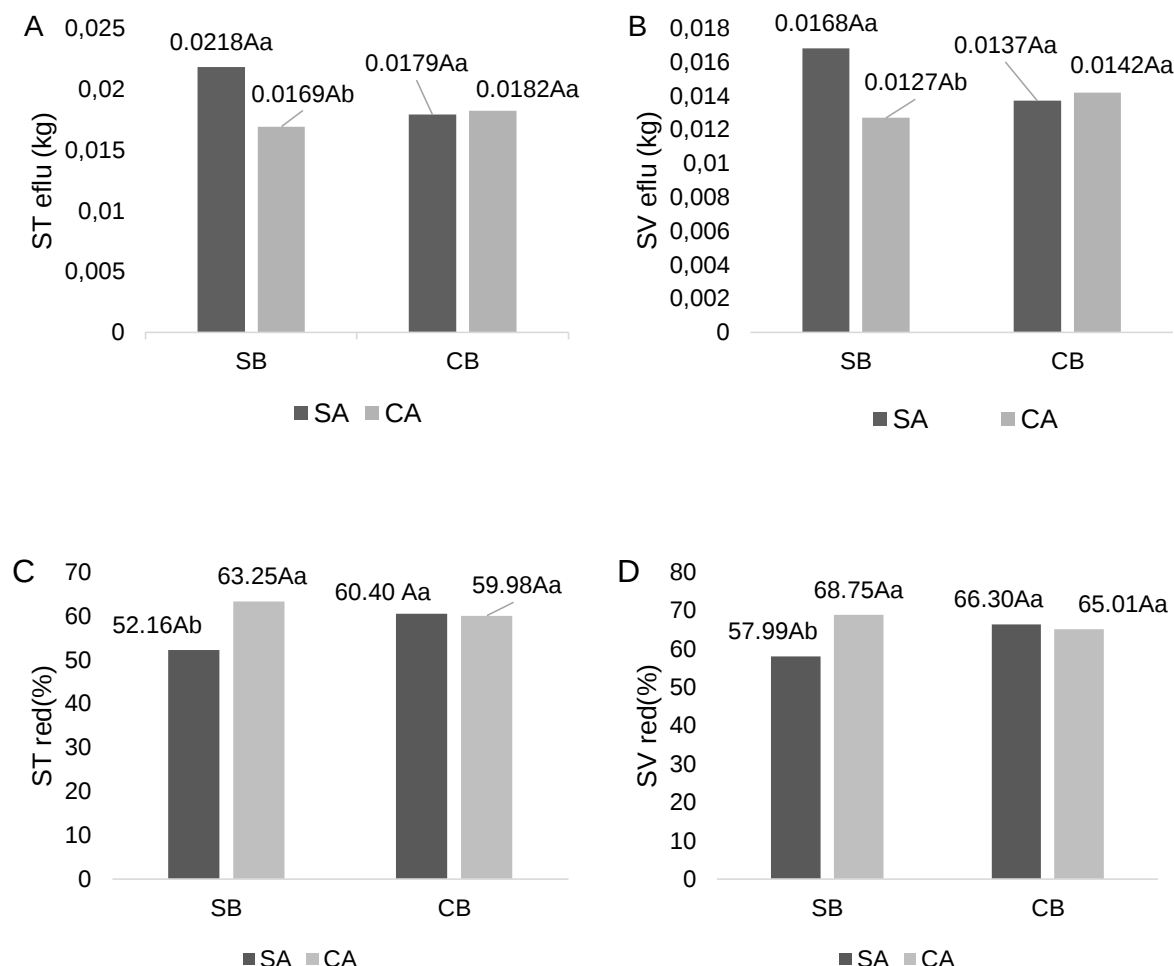
Tabela 11 - Teores dos sólidos totais e voláteis no afluente e efluente e suas reduções em função dos fatores amido e biorremediador (2º período)

Efeito principal	ST Aflu (kg)	ST Eflu (kg)	SV Aflu (kg)	SV Eflu (kg)	ST red (%)	SV red (%)
Amido (A)						
Sem	0,0449b	0,0199	0,0394	0,0153	56,28	62,15
Com	0,0452a	0,0176	0,0399	0,0134	61,62	66,88
Biorremediador (B)						
Sem	0,0449b	0,0194	0,0394	0,0148	57,70	63,37
Com	0,0452a	0,0181	0,0399	0,0140	60,19	65,66
Probabilidades						
Amido	0,0391	<0,0001	0,7843	0,0557	0,0408	0,0339
Biorremediador	0,0167	0,24305	0,7843	0,3874	0,3064	0,2703
AxB	0,6517	0,0363	0,6927	0,0199	0,0293	0,0101
*CV (%)	0,48	11,71	0,59	12,06	7,90	6,13

*coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). STaflu = sólidos totais no afluente, STEflu = sólidos totais no efluente, STred = sólidos totais reduzidos, SVaflu = sólidos voláteis no afluente, SVEflu = sólidos voláteis no efluente, SVred = sólidos voláteis reduzidos.

Na figura 13 estão apresentadas as interações entre os fatores biorremediador e amido sobre os teores de ST e SV no efluente e suas reduções.

Figura 13 - Interação dos fatores amido *versus* biorremediador sobre os teores de ST eflu (A), SV eflu (B), ST red (C) e SV red (D) (2º período)



A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, $p < 0,05$).

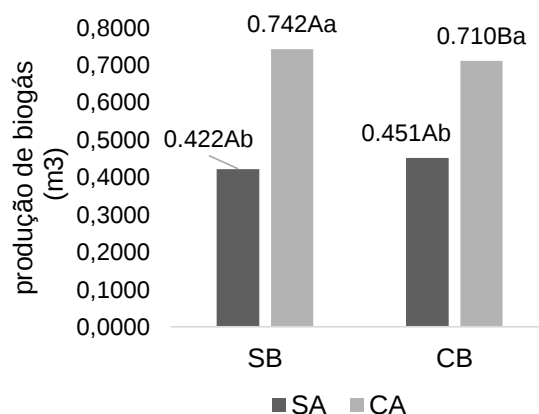
A fim de determinar a eficiência do pré-tratamento de dejetos bovinos não só a taxa de produção de biogás deve ser considerada, mas também o teor de SV reduzidos (GABALLAH et al., 2020), no caso deste estudo considerando a eficiência da aplicação direta do fator amido e biorremediador, em que o tratamento SACB não apresenta melhores resultados em comparação ao tratamento SASB. Os dados referentes a produção total de biogás (m^3) e teor de metano (%) analisados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12- Potencial de produção de biogás e teor de CH₄ em função dos fatores amido e biorremediador (2º período)

Efeito principal	Produção de biogás (m ³)	Teor de CH ₄ (%)
Amido (A)		
Sem	0,4365	64,75a
Com	0,7240	59,70b
Biorremediador (B)		
Sem	0,5700	62,99
Com	0,5713	60,82
Probabilidades		
Amido	<0,0001	0,0128
Biorremediador	0,8868	0,2260
A x B	<0,0001	0,2057
CV (%) ¹	5,57	4,96

¹coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). Prod total = Produção total; CH₄ = teor de metano.

Sobre o teor de metano (%) no biogás produzido houve efeito principal (p<0,05) do fator amido, sendo que os biodigestores sem a sua aplicação tiveram o maior teor de CH₄. Ocorreu interação (p<0,05) entre os fatores amido e biorremediador para a variável de produção total (Figura 14). O tratamento SACB quando comparado ao tratamento SASB não diferiram entre si (p<0,05). Esse tratamento ainda apresentou a menor média quando comparado ao tratamento CACB. Assim, a interação entre os fatores foi favorável já que a aplicação do amido proporcionou a maior média de produção total.

Figura 14 - Interação dos fatores amido *versus* biorremediador sobre produção de biogás

A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, p<0,05).

A estrutura dos grãos de amido confere-o a definição de ser carboidrato disponível, pela suposição da amilose e da amilopectina serem facilmente hidrolisadas (UDA et al., 2017). Essa maior biodegradabilidade proporcionada aos tratamentos com a aplicação do amido pode ter gerado gás carbônico na forma de CO_2 , que é sua forma volátil, liberado após a hidrólise. O que implica a concentração de CH_4 obtida na fase subsequente, ou seja, na metanogenese. Assim, quando maior o teor de CO_2 liberado menor será o teor de CH_4 (MONTGOMERY; BOCHMANN, 2014).

As enzimas, desde que, sejam adicionadas em biodigestores conduzidos em condições ideais à DA, como as deste experimento com valor de pH e temperatura apresentados dentro das faixas consideradas ideais, são funcionais para obter maiores rendimentos de biogás pelas melhores condições oferecidas ao substrato (ROMANO et al., 2009). No entanto, a eficácia da aplicação enzimática dentre estes fatores está estritamente relacionada a composição bioquímica do substrato, a seleção específica das enzimas e a dose a ser aplicada (PASSOS et al., 2016; ROMERO-GÜIZA et al., 2016). O que leva a compreender que a dose de 0,5 mL do biorremediador não foi efetiva no desempenho da DA de dejetos bovinos, nas condições experimentais desse ensaio.

Como mostra a tabela 14 ocorreu efeito principal ($p < 0,05$) do fator amido sobre o potencial de produção de biogás por SV reduzidos ($\text{m}^3 \text{ kg SV red}^{-1}$), e para os potenciais de produção de metano por ST adicionado ($\text{m}^3 \text{ kg ST adc}^{-1}$) e por SV adicionados ($\text{m}^3 \text{ kg SV red}^{-1}$), as quais essas variáveis apresentaram as médias maiores de produção para os biodigestores que receberam a aplicação do amido em relação aos que não receberam o amido.

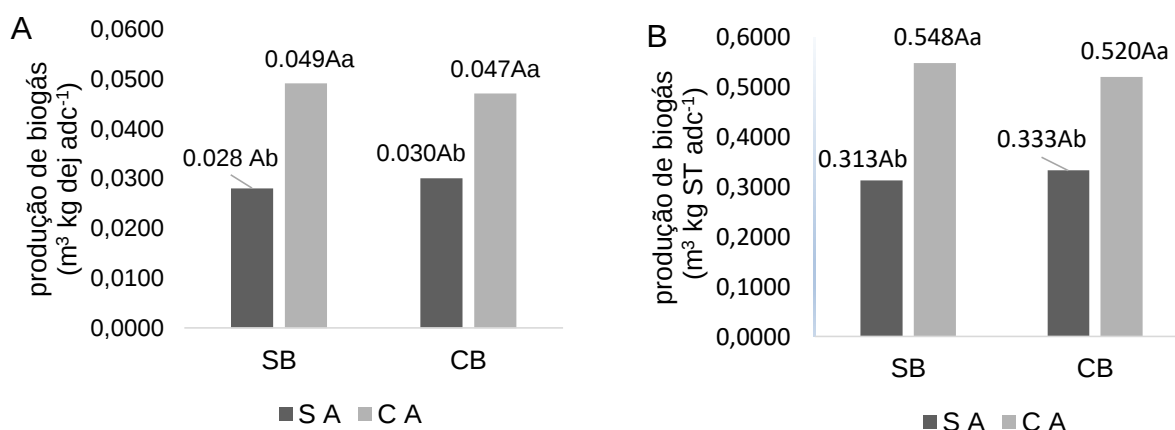
Tabela 13 – Potenciais de produção de biogás e metano em função dos fatores amido e biorremediador (2º período)

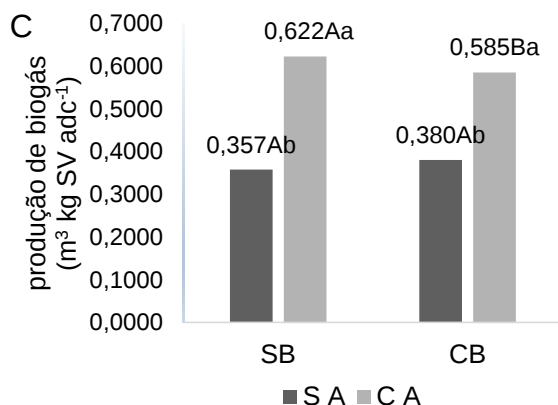
	Potenciais de produção ($\text{m}^3 \text{ Kg}^{-1}$)					
	Dej adc^{-1}	ST adc^{-1}	SV adc^{-1}	SV red^{-1}	CH ₄ ST adc^{-1}	CH ₄ SV adc^{-1}
Amido (A)						
Sem	0,0291	0,3226	0,3684	0,6066b	0,1961b	0,2392b
Com	0,0483	0,5319	0,6009	0,9161a	0,2974a	0,2989a
Biorremediador (B)						
Sem	0,0380	0,4214	0,4791	0,7694	0,2440	0,2927
Com	0,0381	0,4194	0,4749	0,7349	0,2647	0,2989
Probabilidades						
Amido	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Biorremediador	0,8858	0,7704	0,5932	0,2988	0,3467	0,7928
AxB	<0,0001	0,0045	0,0022	0,8377	0,3634	0,5839
CV(%) ¹	3,07	5,57	3,07	7,15	11,26	10,93

¹coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dej adc^{-1} = dejetado adicionado, ST adc^{-1} = sólidos totais adicionados, SV adc^{-1} = sólidos voláteis adicionados, SV red^{-1} = sólidos voláteis reduzidos, CH₄ ST adc^{-1} = metano por sólidos totais adicionados, CH₄ SV adc^{-1} = metano por sólidos voláteis adicionados,

Os potenciais de produção de biogás por dejetado ($\text{m}^3 \text{ kg dej adc}^{-1}$), STadc ($\text{m}^3 \text{ kg ST adc}^{-1}$) e SV adc ($\text{m}^3 \text{ kg SV adc}^{-1}$) (Figura 15 A, B e C, respectivamente) apresentaram interação ($p < 0,05$) entre os fatores biorremediador e amido e comportamento semelhante. Em que, o tratamento SACB quando comparado ao tratamento SASB não diferiram ($p > 0,05$) e apresentou a menor média quando comparado ao tratamento CACB. Assim, a interação, entre os fatores, foi favorável já que a maior média de potencial de produção destas variáveis foram com a aplicação do amido.

Figura 15 - Interação dos fatores amido versus biorremediador sobre potenciais de produção de biogás por dejetado (A), por sólidos totais adicionados (B) e por sólidos voláteis adicionados (C) (2º período)





A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Os resultados encontrados, neste experimento, indicam que o efeito da aplicação de 0,5 mL do biorremediador nos biodigestores semicontínuos foi uma dose sem efeito significativo nos potenciais de produção de biogás quando confrontadas com o tratamento CACB. Nos quais as interações significativas ($p < 0,05$), com a aplicação do amido mostrou-se positiva, por aumentar as médias de produção e dos potenciais com o biorremediador. No entanto, para o teor de CH_4 (%) encontrado no biogás houve efeito principal ($p < 0,05$) do fator amido apresentando a menor média.

Na DA a hidrólise ocorre de forma rápida em substratos ricos em polissacarídeos como o amido e torna-se mais lenta na degradação de substratos compostos por hemicelulose e celulose (CREMONEZ et al., 2015) para tanto nesses substratos a fim do alcance de maiores rendimentos de biogás é necessária uma interferência eficaz (CATER, 2014).

Os estudos realizados pelos grupos de pesquisadores Cremonez et al. (2015) e Fang et al. (2011) sobre o processo de DA envolvendo fécula de mandioca (amido) apresentam resultados satisfatórios, mas também por sua elevada biodegradabilidade constatou-se a possibilidade desfavorável de alta produção de ácidos voláteis e seu acúmulo.

Essa maior facilidade de degradação dos carboidratos disponibiliza energia extra para os microrganismos que resulta em vários ganhos no processo, ou seja, maior produção de massa celular o que proporciona maior produção de biogás (LIMA et al., 2016). O que condiz com os resultados significativos apresentados pelos

tratamentos CASB E CACB, ou seja, os tratamentos referentes a aplicação do amido, em relação ao tratamento SASB (sem a aplicação dos aditivos) e ainda ao tratamento SACB com a dose de 0,5 mL sem efeito significativo.

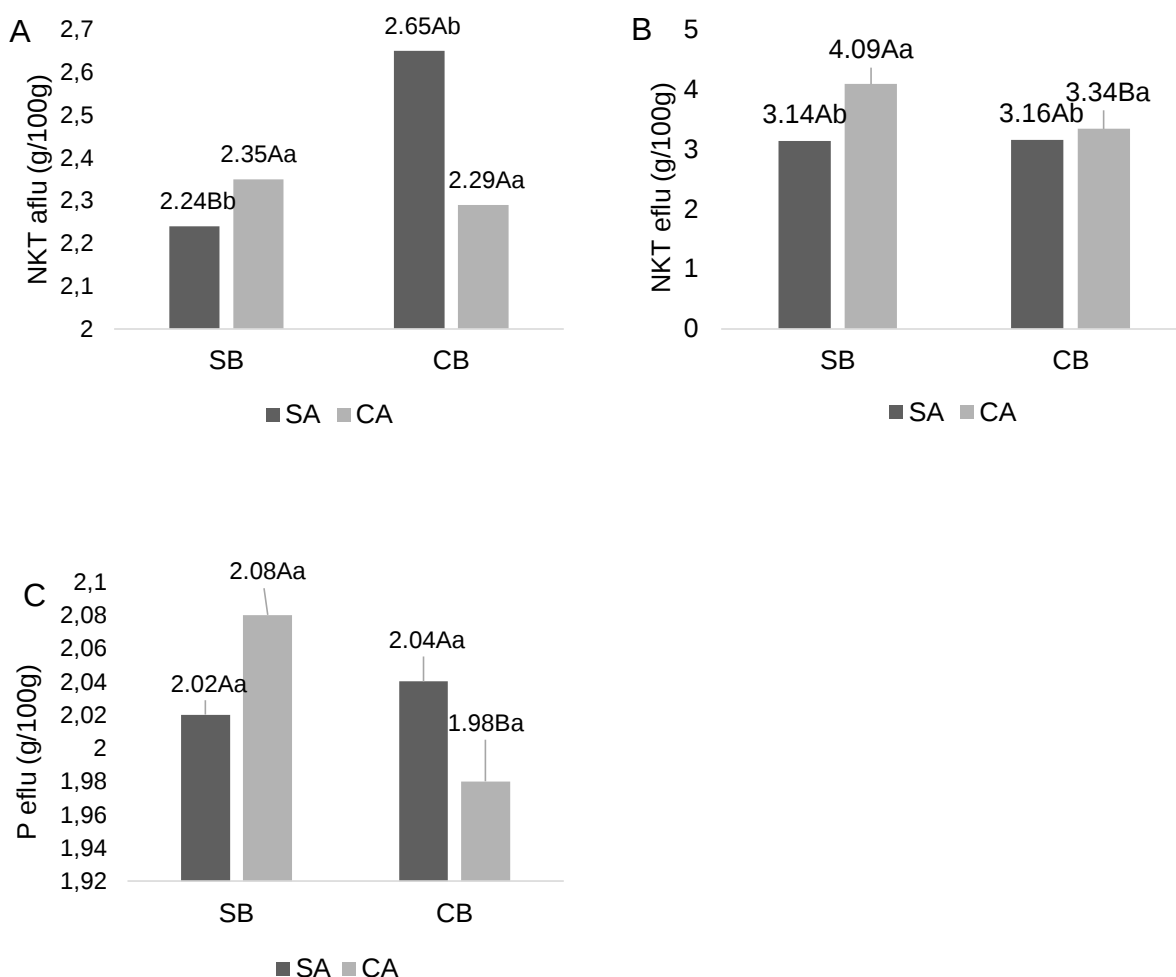
A tabela 14 apresenta os teores dos macronutrientes analisados, NKT, P e K. Não ocorreu efeitos isolados dos fatores amido e biorremediador e nem interação entre eles ($p>0,05$) sobre os teores K (g/100g) no afluente e efluente. Houve efeito principal ($p>0,05$) do fator amido sobre o teor de P (g/100g) no afluente, com a maior média para os biodigestores que não receberam a aplicação do amido. E ocorreu interação ($p<0,05$) sobre os teores de NKT (g/100g) afluentes e efluentes e P (g/100g), apresentando as maiores médias (Figura 16).

Tabela 14 - Teores dos macronutrientes, NKT, P e K, no afluente e efluente em função dos fatores amido e biorremediador (2º período)

Efeito principal	Teores (g/100g)					
	NKT Aflu	NKT Eflu	P Aflu	P Eflu	K Aflu	K Eflu
Amido (A)						
Sem	2,45	3,15	1,60a	2,03	2,66	3,68
Com	2,32	3,79	1,53b	2,03	2,67	3,53
Biorremediador (B)						
Sem	2,29	3,62	1,57	2,05	2,67	3,54
Com	2,85	3,25	1,56	2,01	2,66	3,67
Probabilidades						
Amido	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0.9491	0.9563	0.5473
Biorremediador	<0,0001	<0,0001	0.09607	0.0663	0.9781	0.6352
AxB	<0,0001	<0,0001	0.09607	<0,0001	0.9128	0.9687
CV(%) ¹	1,67	1,07	1,78	1,89	15,31	11,85

¹coeficiente de variação. a-b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). NKT aflu: nitrogênio total no afluente; NKT eflu: nitrogênio total no efluente; P aflu: fosforo no afluente; P eflu: fosforo no efluente; K aflu: potássio no afluente; K eflu: potássio no efluente.

Figura 16 - Interação dos fatores amido *versus* biorremediador sobre teor de NKT no afluente (A), NKT no efluente (B), P no afluente (C) (2º período).



A-B: letras distintas maiúsculas representam diferenças entre os fatores sem e com biorremediador. a-b: letras distintas minúsculas indicam diferenças dentro dos fatores sem e com biorremediador (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Para a variável de NKT (g/100g) no afluente e efluente (Figura 16 A e B) a interação entre os fatores biorremediador e amido foi favorável em relação a aplicação do amido.

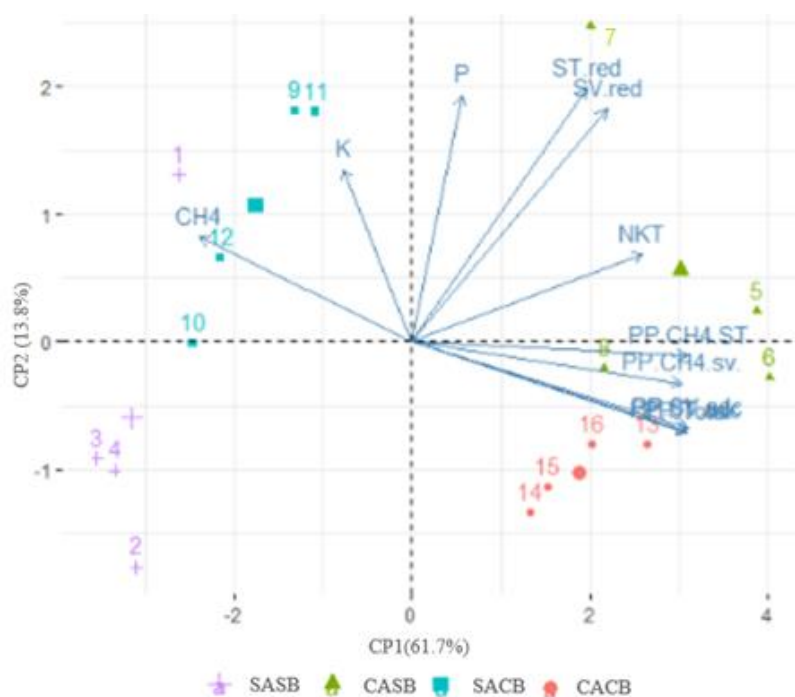
É possível observar na Tabela 14 o teor de nutrientes primários dos substratos submetidos ao processo anaeróbio. Os nutrientes apresentam papéis essenciais e devem ser fornecidos, naturalmente, pelo substrato, o carbono desempenha a função de fortalecer a estrutura celular dos microrganismos, o nitrogênio participa da biossíntese de proteínas e o fósforo é essencial para fornecer energia na forma de ATP e NADP durante todo o processo (MAO et al., 2015).

O biofertilizante (efluente) obtido a partir dos tratamentos deste período apresentou concentração dos nutrientes avaliados, N, P e K. Fato, que demonstra a estabilidade do processo (FAGBOHUNGBE et al., 2016).

A figura 17 apresenta o gráfico biplot da análise de componentes principais. A análise de componentes principais das variáveis de potencial de produção de biogás (m^3), potencial de produção de biogás por sólidos totais adicionados ($m^3 \text{ kg ST}_{\text{adc}}^{-1}$), potencial de produção de biogás por sólidos voláteis adicionados ($m^3 \text{ kg SV}_{\text{adc}}^{-1}$), potencial de produção de CH_4 por sólidos totais adicionados ($m^3 \text{ kg CH}_4 \text{ ST}_{\text{adc}}^{-1}$), potencial de produção de CH_4 por sólidos voláteis adicionados ($m^3 \text{ kg CH}_4 \text{ SV}_{\text{adc}}^{-1}$), teor de CH_4 (%), reduções de sólidos totais (%), redução de sólidos voláteis (%), nitrogênio total Kjeldahl (mg/100), fósforo (mg/100) e K (mg/100) resultou dois componentes principais responsáveis por 75,5% da variação total, sobre a eficiência da digestão anaeróbia dos tratamentos avaliados no ensaio semicontínuo.

Sendo que, o CP1 e o CP2 contribuíram com 61,7% e 13,8% da variabilidade, respectivamente.

Figura 17 - Gráfico biplot da análise de componentes principais do ensaio semicontínuo (2º período)



SASB= sem amido e sem biorremediador; CASB= com amido e sem biorremediador; SACB= sem amido e com biorremediador; CACB= com amido e com biorremediador; PPtotal = Produção total; CH_4 = teor de metano; $\text{PPST}_{\text{adc}}^{-1}$ = Potencial de produção por sólido total adicionado; $\text{PPSV}_{\text{adc}}^{-1}$ = Potencial de produção por sólido volátil adicionado; $\text{PPCH}_4 \text{ ST}_{\text{adc}}^{-1}$ = Potencial de produção de metano por sólidos totais adicionados; $\text{PPCH}_4 \text{ SV}_{\text{adc}}^{-1}$ = Potencial de produção de metano por sólidos voláteis adicionados; NKT= nitrogênio total; P= fósforo; K= potássio.

No CP1 a correlação positiva entre as variáveis potencial de produção de biogás (m^3), potencial de produção de CH_4 ($\text{m}^3 \text{ kg CH}_4$), teor de CH_4 (%), nitrogênio total Kjeldahl (g/100g) e fósforo (g/100g) discriminaram os tratamentos CASB e CACB, que são os tratamentos associados aos maiores potenciais de produção de biogás.

As variáveis de teor de CH_4 (%) e K (g/100g) com correlação positiva são as responsáveis pela discriminação do tratamento SACB localizado na parte superior do CP2.

As variáveis ST reduzidos (%), SV reduzidos (%), NKT (g/100g) e P (g/100g) são explicadas pelos dois componentes principais, discriminando os tratamentos CASB, SACB e CACB.

A análise de componentes principais das variáveis analisadas pertencentes aos dois períodos de condução dos ensaios semicontínuos apresentou estrutura de covariância semelhante. No qual, o tratamento SASB também ficou isolado à esquerda do CP1 e na parte inferior do CP2 demonstrando a capacidade de melhor desempenho da digestão anaeróbia de dejetos de bovino leiteiro já submetidos ao pré-tratamento mecânico ao receber a aplicação dos aditivos.

4.2.3 Análise de viabilidade econômica

A tabela 15 apresenta a média obtida do fluxo de caixa da análise econômica, do período de 10 anos, desenvolvida para os cenários SB (sem aplicação do biorremediador), CB0,5 (com a aplicação de 0,5mL do biorremediador) e CB1,0 (com aplicação de 1,0 mL do biorremediador).

Tabela 15 - Fluxo de caixa para os cenários analisados

	SB	CB0,5	CB1,0
Receita total	148.985,32	171.677,98	166.900,87
Energia elétrica	91.645,19	98.865,36	101.891,24
Biofertilizante	57.340,13	72.812,62	65.009,63
Investimento inicial	342.521,58	342.561,58	342.561,58
Biodigestor	193.944,58	193.944,58	193.944,58
Motogerador	148.617,00	148.617,00	148.617,00
Custos operacionais	83.487,24	194.198,22	287.370,42
Manutenção do biodigestor	969,72	969,72	969,72
Manutenção do motogerador	16.597,96	16.597,96	18.453,64
Mão de obra (1 funcionário)	30.844,80	30.844,80	30.844,80
EPIs	818,60	818,60	818,60
Vinimanta superior (5º ano)	77.577,83	77.577,83	77.577,83
Desmobilização do sistema (10º ano)	19.394,46	19.394,46	19.394,46
Custo da aquisição do biorremediador	0,00	101.013,75	202.027,50

A média das receitas no período de 10 anos estimadas nos projetos, nos demonstram que, o aumento de biogás proporcionado pela utilização do biorremediador nos biodigestores permitiu um aumento de 15,23 e 12,02%, em relação ao cenário que não utiliza o produto.

As receitas anuais referentes à geração de energia elétrica foram maiores que a receita proveniente da reciclagem dos nutrientes em todos os cenários, 37,43 26,35 e 36,19%, para os cenários SB, CB0,5 e CB1,0, respectivamente. Isso nos demonstra que a geração de energia elétrica é um fator determinante para viabilizar o projeto, e que, a busca por produtos que possibilitem aumentar a produção de biogás é essencial para promover a implantação de biodigestores no meio rural.

Os maiores potenciais de produção de biogás foram observados nos tratamentos que receberam a aplicação de 0,5 e 1,0 mL do biorremediador, consequentemente, os cenários econômicos que apresentaram as maiores receitas totais. No entanto, os custos operacionais dos três projetos se diferem.

É possível observar que todos os cenários apresentam o mesmo custo total de investimento. O dimensionamento dos equipamentos (biodigestor e gerador) foram calculados com base no número de vacas e quantidade de resíduos gerados, que foi

igual nos três cenários, ou seja, os biodigestores tinham capacidade de 1000m³ e o gerador uma potência de 50kVA. Porém, os custos operacionais totais variaram em cada cenário de acordo com a utilização do biorremediador. Por isso, na medida que se aumentou a quantidade de biorremediador, houve um aumento expressivo nos custos totais dos projetos CB0,5 e CB1,0.

A quantidade de biorremediador estimada para cada cenário, CB0,5 e CB1,0 foi de 54 e 109,5 Kg⁻¹ ano, respectivamente, o que gerou custos a mais de R\$101.013,75 e R\$ 202.027,50 por ano, de acordo com o valor comercial do produto, quando comparados aos custos do cenário SB.

A partir da análise tradicional do fluxo de caixa descontado foram calculados o Valor Presente Líquido (VPL) e a Taxa Interna de Retorno (TIR) com a finalidade de verificar a viabilidade econômica para cada cenário avaliado. A tabela 16 apresenta os indicadores econômicos no horizonte de 10 anos, dos cenários estudados.

Tabela 16- Indicativos econômicos dos cenários avaliados

Cenários	Valor Presente líquido (R\$)	Taxa interna de retorno (%)
SB	264.273,2	18
CB0,5	-231.706,71	-
CB1,0	-1.126.293,69	-

Os resultados demonstram que o cenário SB, foi o único viável economicamente. A inviabilidade econômica observada nos cenários CB0,5 e CB1,0 é decorrente do custo adicional do biorremediador utilizado para aumentar a produção de biogás. Com isso, pode-se constatar que o produto não apresenta um bom custo/benefício para ser utilizado nestas proporções, com dejetos de 200 vacas, para aumentar a produção de energia elétrica na propriedade rural.

A partir da análise do fluxo de caixa descontado, quando consideramos os resultados do indicador econômico VPL (Tabela 16), correspondentes aos cenários com a aplicação do biorremediador, observamos valores negativos, o que indica que a aplicação do produto não foi economicamente viável.

No entanto, o cenário CB1,0 apresentou os maiores potenciais de produção de biogás no ensaio semicontínuo, o que demonstra a eficácia técnica na melhoria do processo de digestão anaeróbia do dejetos de bovinos leiteiros para aumentar a produção de biogás. Contudo, a sua utilização só será viável ao produtor rural, caso

o produto seja oferecido a um preço mais competitivo e reduzido no mercado, tornando assim o projeto economicamente viável.

5 CONCLUSÕES

No ensaio batelada as doses de 0,5 e 1,0 mL do biorremediador aplicado na DA dos dejetos de bovinos apresentaram maiores produções de biogás, o que mostra que mesmo o dejetos de bovino leiteiro submetido ao pré-tratamento mecânico (peneira) as menores frações de fibras que não ficam retidas na peneira ao sofrerem a ação das enzimas resultam maior conversão em biogás. A dose de 10 mL foi ineficiente para aumentar a produção de biogás, apresentado maior pico inicial de produção (hidrólise mais intensa) e, em seguida, teve uma queda e seguiu estável entre os tratamentos.

No ensaio semicontínuo conduzido no primeiro período a aplicação isolada dos fatores amido e biorremediador apresenta efeito positivo, fato que mostra ser possível a aplicação direta desses aditivos e assim a vantagem de eliminar a aquisição de equipamentos auxiliares e seus custos operacionais com o emprego da aplicação desses aditivos como técnica de pré-tratamento.

No ensaio semicontínuo conduzido no segundo período com a aplicação da menor dose do biorremediador, ou seja, 0,5 mL não resultou melhoria na DA dos dejetos de bovinos leiteiros. Por outro lado, o amido apresentou as maiores médias de produção de biogás sem proporcionalidade com a produção de metano.

A aplicação do biorremediador em conjunto ao amido, simulando a técnica de codigestão do dejetos de bovinos com culturas energéticas amiláceas, não resultou melhorias técnicas em relação a produção de biogás devido a biodegradabilidade natural apresentada pelo amido.

A dose de interesse de viabilidade técnica de 1,0 mL, no entanto, não correspondeu positivamente a análise de viabilidade econômica, o que leva necessidade do seu preço comercial ser ajustado.

Análise de Componentes Principais apresentou o agrupamento dos tratamentos com a aplicação direta dos aditivos correlacionados com as variáveis de potenciais de produção por biogás e metano, além das reduções de sólidos assegurando a possibilidade de se melhorar a DA de dejetos bovinos, mesmo após pré-tratamento mecânico.

REFERÊNCIAS

- ACHINAS, S.; ACHINAS, V.; EUVERINK, G. J. W. A Technological Overview of Biogas Production from Biowaste. **Engineering**, v. 3, n.3, p.299-307, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eng.2017.03.002>
- AFONSO, E. R.; NACIMENTO, R. A.; ALVES, L. K. S.; PALHARES, P. J. C.; GAMEIRO, A. H. **Viabilidade econômica na construção e implantação de biodigestor e esterqueira na suinocultura**. v. 13 n. 12, p. 162, 2019. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n12a470.1-16>.
- AHMAD, F.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Hydrothermal processing of biomass for anaerobic digestion – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.98, p.108-124, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.09.008>
- AMIN, F. R.; KHALID, H.; ZHANG, H.; RAHMAN, S. U; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. **AMB Express**, v.72. p.1-12, 2017. <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-017-0375-4>
- ANDRADE, T. C.; SIQUEIRA, L. N.; SOUZA, D. A.; SILVA, F. V.; GUARDA, P.; GUARDA, E. A. Análise da influência do pré-tratamento químico e físico sob a caracterização das frações celulose e lignina de diferentes biomassas e seu potencial para produção de etanol de segunda geração. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá (PR), v. 11, p. 955-974. <http://dx.doi.org/10.17765/2176-9168.2018v11n3p955-974>
- ANGELIDAKI, I.; BOE, K.; ELLEGAARD, L. Effect of operating conditions and reactor configuration on efficiency of full-scale biogas plants. **Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research**. V.52, p.189-94, 2005. <https://doi.org/10.2166/wst.2005.0516>.
- ANEEL – AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELETRICA. Tarifa Média por Classe de Consumo e por Região. 2020.
- APHA. AWWA. WPCF. - American Public Health Association. **Standart methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington, 2005.
- ARIF, S.; LIAQUAT, R.; ADIL, M. Applications of materials as additives in anaerobic digestion technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.97, p.354–366, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.08.039>
- BARBIERI, R. S.; CARVALHO, J. B.; SABBAG, O. J. Economic viability analysis of feedlot beef cattle. **Interações** (Campo Grande) [online]. 2016, v.17, n.3, p.357-369. ISSN 1518-7012. [https://doi.org/10.20435/1984-042X-2016-v.17-n.3\(01\)](https://doi.org/10.20435/1984-042X-2016-v.17-n.3(01)).
- BARBOSA, G.; LANGER, M. **Uso de biodigestores em propriedades rurais: uma alternativa à sustentabilidade ambiental**. **Unoesc & Ciência – ACSA**, Joaçaba, v. 2, n. 1, p. 87-96, jan./jun. 2011
- BHATNAGAR, N.; RYAN, D.; MURPHY, R.; ENRIGHT, A.-M. Trace element supplementation and enzyme addition to enhance biogas production by anaerobic

digestion of chicken Litter. **Energies**, v.13, p.3477, 2020. <https://doi:10.3390/en13133477>

BINNER, R.; MENATH, V.; HUBER, H.; THOMM, M.; BISCHOF, F.; SCHMACK, D.; REUTER, M. Comparative study of stability and half-life of enzymes and enzyme aggregates implemented in anaerobic biogas processes. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v.1, n.1, p. 1–8, 2011. <http://dx.doi:10.1007/s13399-010-0002-y>.

BONILLA, S.; CHOOLAEI, Z.; MEYER, T.; EDWARDS, E. A.; YAKUNIN, A. F.; ALLEN, D. G. Evaluating the effect of enzymatic pretreatment on the anaerobic digestibility of pulp and paper biosludge. **Biotechnology Reports**, v.17, p. 77–85, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.btre.2017.12.009>

BOONTIAN, N. Conditions of the anaerobic digestion of biomass. **World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Environmental and Ecological Engineering**. v.8, n.9, p. 1036-1040, 2014.

BRADFORD, S. A., SEGAL, E., ZHENG, W., WANG, Q., HUTCHINS, S. R. Reuse of concentrated animal feeding operation wastewater on agricultural lands. **Journal of Environment Quality**, v. 37, n. 5, p.97, 2008. <http://dx.doi:10.2134/jeq2007.0393>

BRÉMOND, U.; DE BUYER, R.; STEYER, J. P.; BERNET, N.; CARRERE, H. Biological pretreatments of biomass for improving biogas production: an overview from lab scale to full-scale. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.90, p. 583–604, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.rser.2018.03.103>

BRIJWANI, K; OBEROI, H.S; VADLANI, P. V. Production of a cellulolytic enzyme system in mixed-culture solid-state fermentation of soybean hulls supplemented with wheat bran. **Process Biochem**, v.45, p.120–128, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2009.08.015>

BRUNI, E.; JENSEN, A. P.; ANGELIDAKI, I. Steam treatment of digested biofibers for increasing biogas production. **Bioresource Technology**, v.101, n.19, p. 7668–7671, 2010. <http://dx.doi:10.1016/j.biortech.2010.04.064>

CAETANO, L. **Proposição de um sistema modificado para quantificação de biogás**. 1985. 75f. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1985.

CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 17, p. 2195–2210, 2006. <http://dx.doi:10.1016/j.biortech.2006.02.030>

CARLSSON, M.; LAGERKVIST, A.; MORGAN-SAGASTUME, F. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review. **Waste Management**. v.32. p. 1634–1650, 2012.

CARRERE, H.; ANTONOPOULOU, G.; AFFES, R.; PASSOS, F.; BATTIMELLI, A.; LYBERATOS, G.; FERRER, I. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application.

Bioresource Technology, v.199, p. 386–397, 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.007>

ČATER, M.; ZOREC, M.; MARINŠEK LOGAR, R. Methods for improving anaerobic lignocellulosic substrates degradation for enhanced biogas production. **Springer Science Reviews**, v.2, n.1-2, p 51–61, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s40362-014-0019-x>

CHEN, J. L.; ORTIZ, R.; STEELE, T. W. J.; STUCKEY, D. C. Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, v.32, n. 8, p.1523–1534, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.005>

CHERNICHARO, C.A.L. Reatores Anaeróbios. 2 ed. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias, v. 5, 380 p. Belo Horizonte: UFMG, 2007.

COSTA, L. V.; MOGHRABI, J. A.; SAGULA, A. L.; JUNIOR, J. L. Tratamento anaeróbico da água residuária de frigorífico com uso de biodigestores: utilização de remediadores biológicos para produção de biogás. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v.7, n.2, p. 77-85, 2013.

CREMONEZ, P. A.; TELEKEN, J. G.; FEIDEN, A.; ROSSI, E.; SOUZA, S. M.; TELEKEN, J.; DIETER, J.; ANTONELLI, J. Biodigestão anaeróbia de polímero orgânico de fécula de mandioca. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 39, n. 1, p. 122-133, 2016. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA15028>

DAMACENO, F. M.; CHIARELOTTO, M.; RESTREPO, J. C. P. S.; BULIGON, E. L.; COSTA, L. A. M.; DE LUCAS JUNIOR, J.; COSTA, M. S. S. M. Anaerobic co-digestion of sludge cake from poultry slaughtering wastewater treatment and sweet potato: Energy and nutrient recovery. **Renewable Energy**, v. 133, p. 489-499, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2018.10.070>

DONOSO-BRAVO, A., & FDZ-POLANCO, M. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and grease trap: Assessment of enzyme addition. **Process Biochemistry**, v.48, n.5-6, p. 936–940, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2013.04.005>

DONOSO-BRAVO, A.; ORTEGA-MARTINEZ, E.; RUIZ-FILIPPI, G. Impact of milling, enzyme addition, and steam explosion on the solid waste biomethanation of an olive oil production plant. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v.39, n.2, p. 331–340, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-015-1519-z>

EMBRAPA. Anuário leite 2019: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, p. 104, 2019.

FAGBOHUNGBE, M. O.; HERBERT, B. M. J.; HURST, L.; IBETO, C. N.; LI, H.; USMANI, S. Q.; SEMPLE, K. T. The challenges of anaerobic digestion and the role of biochar in optimizing anaerobic digestion. **Waste Management**, v. 61, p. 236–249, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.11.028>

FANG, C.; BOE, K.; ANGELIDAKI, I. Biogas production from potato-juice, a by-product from potato-starch processing, in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) and expanded granular sludge bed (EGSB) reactors. **Bioresource Technology**, v.102, n.10, p. 5734–5741, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.013>

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. cap. 6, p. 416-536

FRANKE-WHITTLE, I. H.; WALTER, A.; EBNER, C.; INSAM, H. Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities. **Waste Management**, v.34, n.11, p. 2080–2089, 2014. <http://dx.doi:10.1016/j.wasman.2014.07.020>

FERREIRA, L. R. A.; OTTO, R. B.; SILVA, F. P.; DE SOUZA, S. N. M.; DE SOUZA, S. S.; ANDO JUNIOR, O. H. Review of the energy potential of the residual biomass for the distributed generation in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, p. 440–455, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.rser.2018.06.034>

GABALLAH, E. S.; EL-FATAH A. A.; XU, C.; ELSAYED, M.; KH ABDELKADER, T.; LIN, J.; YUAN, Q. Enhancement of biogas production from rape straw using different co-pretreatment techniques and anaerobic co-digestion with cattle manure. **Bioresource Technology**, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123311>

GARCIA, N. H.; BENEDETTI, M.; BOLZONELLA, D. Effects of enzymes addition on biogas production from anaerobic digestion of agricultural biomasses. **Waste and Biomass Valorization**, v.10, p. 3711–3722, 2019. <http://dx.doi:10.1007/s12649-019-00698-7>

GERHARDT, M.; PELENC, V.; BÄUML, M. Application of hydrolytic enzymes in the agricultural biogas production: Results from practical applications in Germany. **Biotechnology Journal**, v. 2, n.12, p. 1481–1484, 2007. <http://dx.doi:10.1002/biot.200700220>

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, L. M.; CORREA, D. F.; RYAN, S.; JENSEN, P. D.; PRATT, S.; SCHENK, P. M. Integrated biodiesel and biogas production from microalgae: Towards a sustainable closed loop through nutrient recycling. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p.1137–1148, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.rser.2017.09.091>

GRAHAM, J. R.; HARVEY, C. R. The theory and practice of corporate finance: Evidence from the field. **Journal of Financial Economics**, v. 60, n. 2-3, p. 187-243, 2001.

GROTHUSEN, M. A.; BOHLE, E. S.; VICUÑA, A. E.; ROSENBERG, F. C. Biogás de recursos agropecuarios en la región de los ríos: Aspectos Generales, Experiencias y Potencial de Producción. **Valdivia: Imprenta América de Osorno**, p.100, 2016.

HAGOS, K.; ZONG, J.; LI, D.; LIU, C.; LU, X. Anaerobic co-digestion process for biogas production: progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p.1485–1496, 2017. <http://dx.doi:10.1016/j.rser.2016.11.184>

HERCULANO, M. C. R.; & SOUZA, A. D. Biodigestores: cartilha de manejo. Boletim Técnico IFTM, Uberaba-MG, ano 2, n.1, p.14-19, jan./abr., 2016.

HÖLKER, U.: Was leisten Zusatzstoffe & Hilfsmittel zur Optimierung der Biogasproduktion. FNR, ed. Gülzower Fachgespräch Tagungsband Biogas in der Landwirtschaft - Stand und Perspektiven v. 32, p.108–119, 2009.

HRIBAR, C. & SCHULTZ, M. Understanding concentrated animal feeding operations and their impact on communities. **National Association of Local Boards of Health**. Ohio, p. 30, 2010.

HU, Y.; CHENG, H.; TAO, S. Environmental and human health challenges of industrial livestock and poultry farming in China and their mitigation. *Environment International*, v.107, p.111-130, 2017. <http://dx.doi:10.1016/j.envint.2017.07.003>

IMENI, S. M.; PUY, N.; OVEJERO, J.; BUSQUETS, A. M.; BARTROLI, J.; PELAZ, L.; COLÓN, J. Techno-economic assessment of anaerobic co-digestion of cattle manure and wheat straw (raw and pre-treated) at small to medium dairy cattle farms. **Waste and Biomass Valorization**, 2019. doi:10.1007/s12649-019-00728-4

JAIN, S.; WOLF, I. T.; LEE, J.; TONG, Y. W. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.52, p.142–154, 2015. <http://dx.doi:10.1016/j.rser.2015.07.091>

KALAMARAS, S. D., KOTSOPOULOS, T. A. Anaerobic co-digestion of cattle manure and alternative crops for the substitution of maize in South Europe. *Bioresource Technology*, n. 172, p. 68–75, 2014. <http://dx.doi:10.1016/j.biortech.2014.09.005>

KASSAMBARA, A & MUNDT, F. Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.6. <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>. 2019.

KARUPPIAH, T. & AZARIAH, V. E. (January 18th 2019). Biomass Pretreatment for Enhancement of Biogas Production [Online First], IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.82088. Available from: <https://www.intechopen.com/online-first/biomass-pretreatment-for-enhancement-of-biogas-production>

KAUFMANN, T. Sustainable livestock production: Low emission farm – The innovative combination of nutrient, emission and waste management with special emphasis on Chinese pig production. **Animal Nutrition**, v.3, p.104–112, 2015. <http://dx.doi:10.1016/j.aninu.2015.08.001>

KUMAR, P.; BARRETT, D. M.; DELWICHE, M. J.; STROEVE, P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v.48, p. 3713–3729, 2009.

KUNZ, A.; & OLIVEIRA, P. A. V. Aproveitamento de dejetos de animais para geração de biogás. **Revista de Política Agrícola**, v.14, n. 3, 2006.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. **FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis**. *Journal of Statistical Software*, v. 25, p. 1-18, 2008.

LEONEL, M.; CARMO, E. L.; LEONEL, S.; FRANCO, C. M. L.; CAMPANHA, R. B. Extração e caracterização do amido de diferentes genótipos de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. spe1, p. 599-605, Oct. 2011 . <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011000500082>

LIMA, D. M. F.; RODRIGUES, J. A. D.; BOE, K.; ALVARADO-MORALES, M.; ELLEGAARD, L.; ANGELIDAKI, I. Anaerobic modeling for improving synergy and robustness of a manure co-digestion process. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.33, n.4, p. 871–883, 2016. <http://dx.doi:10.1590/0104-6632.20160334s20150314>

LORIN, H. E. F.; COSTA, M. S. S. M.; COSTA, L. A. M.; PEREIRA, D. C.; CARNEIRO, L. J. Stabilization of confined beef cattle manure: characteristics of produced fertilizers. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.36, n. 5, p. 877-885, 2016 . <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v36n5p877-885/2016>.

LÜBKEN, M.; GEHRING, T.; WICHERN, M. Microbiological fermentation of lignocellulosic biomass: current state and prospects of mathematical modeling. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.85, n.6, p.1643–1652, 2009 <http://dx.doi:10.1007/s00253-009-2365-1>

MAGDALENA, J.; BALLESTEROS, M.; GONZÁLEZ-FERNANDEZ, C. Efficient anaerobic digestion of microalgae biomass: proteins as a key macromolecule. **Molecules**, v. 23, n.5, p. 1098, 2018. <http://dx.doi:10.3390/molecules23051098>

MAO, C.; FENG, Y.; WANG, X.; REN, G. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540–555, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.rser.2015.02.032>

MARAÑÓN, E.; CASTRILLÓN, L.; QUIROGA, G.; FERNÁNDEZ-NAVA, Y.; GÓMEZ, L.; GARCÍA, M. M. Co-digestion of cattle manure with food waste and sludge to increase biogas production. **Waste Management**, v.32, n.10, p.1821–1825, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2012.05.033>

MARTIN-RYALS, A.; SCHIDEMAN, L.; LI, P.; WILKINSON, H.; WAGNER, R. Improving anaerobic digestion of a cellulosic waste via routine bioaugmentation with cellulolytic microorganisms. **Bioresource Technology**, v.189, p. 62–70, 2015. <http://dx.doi:10.1016/j.biortech.2015.03.069>

MARTINS, H.; MUYLDER, C.; LOPES, C.; LA FALCE, J. Os impactos da difusão tecnológica na bovinocultura leiteira: um estudo dos integrantes da cadeia agroindustrial do leite em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v.44, p. 1141-1146, 2014. <http://dx.doi: 10.1590/S0103-84782014000600030>.

MARQUES, S. M. A. A.; SILVA JÚNIOR, F. J.; MONTEIRO, M. K. D.; VIEIRA, A. S.; VENTURA, A. F. A.; VENTURA JÚNIOR, R. Produção de biofertilizante, adubo orgânico e biogás para agricultura familiar. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*. v. 18, n. 3, Set-Dez, p. 990-999, 2014.

MASEBINU, S. O.; AKINLABI, E. T.; MUZENDA, E.; ABOYADE, A. O. A review of biochar properties and their roles in mitigating challenges with anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 103, p. 291–307, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.12.048>

MCELROY, K. G. Environmental health effects of concentrated animal feeding operations. **Nursing Administration Quarterly**, v. 34, n.4, p. 311–319, 2010. <http://dx.doi.org/10.1097/naq.0b013e3181f5649c>

MEEGODA, J.; LI, B.; PATEL, K.; WANG, L. A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.15, n. 10, p. 2224 2018. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph15102224>

MEGHVANSI, M.K.; KUMAR, P.; VASUDEVAN, V.; TOMAR, A.; KAMBOJ, D.V.; SINGH, L. Biodigester technology for effective and ecofriendly decomposition of nightsoil. In: Varjani S., Gnansounou E., Gurunathan B., Pant D., Zakaria Z. (eds) **Waste Bioremediation**. Energy, Environment, and Sustainability. Springer, Singapore, 2018. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-10-7413-4_19

MERLIN CHRISTY, P.; GOPINATH, L. R.; DIVYA, D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.34, p.167–173, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.010>

MIKI, R. E. Biometano produzido a partir de biogás de ETEs e seu uso como combustível veicular. **Revista DAE**, n. 209, v. 66, 2018. <http://dx.doi.org/10.4322/dae.2017.022>

MØLLER, H. B., SOMMER, S. G., & AHRING, B. K. Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 26, n. 5, p.485–495, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2003.08.008>

MONTGOMERY, L.F.R.; & BOCHMANN, G. Book. IEA Bioenergy. British Library. ISBN 978-1-910154-05-2 (electronic version) (2014).

MONTORO, S.B; LUCAS, J; SANTOS, D. F. L; COSTA, M. S. S. M. Anaerobic co-digestion of sweet potato and dairy cattle manure: A technical and economic evaluation for energy and biofertilizer production. **Journal of Cleaner Production**, v. 226, p. 1082-1091, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.148>.

MORALES-POLO, C.; DEL MAR CLEDERA-CASTRO, M.; MORATILLA SORIA, B. Y. Reviewing the anaerobic digestion of food waste: from waste generation and anaerobic process to its perspectives. **Applied Sciences**, v. 8, n.10, p.1804, 2018. <http://dx.doi.org/10.3390/app8101804>

MOURA, R. S.; CARPIO, R. C.; DE CARVALHO MACEDO, C. F.; PINHEIRO, D. S.; FIGUEIREDO, L. S.; FREIRE JÚNIOR, L. C. Análise da viabilidade do uso de biodigestores em propriedades rurais. **ForScience**, v. 5, n. 3, 13 nov. 2017.

- NASCIMENTO, R. C. O uso do biofertilizante em solos agrícolas do cerrado da região do Alto Paranaíba (MG). **Boletim goiano de geografia**, Goiânia, v. 30, n. 2, p. 55-66, jul./dez. 2010. <http://dx.doi.org/10.5216/bgg.V30i2.13280>.
- NESHAT, S. A.; MOHAMMADI, M.; NAJAFPOUR, G. D.; LAHIJANI, P. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.79, p.308–322, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.137>
- NETO, A. C.; VIEIRA, G. H S.; HADDADE, I. R.; ROSADO, T. L.;MELLO, B. L. B. Aplicação de novas tecnologias na bovinocultura leiteira. **Incaper em Revista**, Vitória, v.9, p. 51-65, jan/dez 2018. ISSN 2179-5304
- OLIVA-MERENCIO, D.; PEREDA-REYES, I. P.; ULRIKE SCHIMPF, U.; KOEHLER,S.; SILVA, A. J. Cellulase effect on anaerobic digestion of maize silage under discontinuous operation. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal , v. 35, n. 5, p. 951-958, Oct. 2015. <https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v35n5p951-958/2015>.
- ORRICO, J.; MARCO A. P.; ORRICO, A. C. A.; LUCAS JÚNIOR, J. Avaliação de parâmetros da biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos alimentados com dietas à base de milho e sorgo. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 600-607, 2010.
- ORRICO, A. C. A.; LOPES, W. R. T.; MANARELLI, D. M. P.; SUNADA, N. S. Codigestão anaeróbia dos dejetos de bovinos leiteiros e óleo de descarte. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.36, n.3, p.537-545, maio./jun. 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v36n3p537-545/2016>
- PARAWIRA, W. Enzyme research and applications in biotechnological intensification of biogas production. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 32, n.2, p.172-186, 2012. <http://dx.doi.org/10.3109/07388551.2011.595384>
- PASSOS, F.; HOM-DIAZ, A.; BLANQUEZ, P.; VICENT, T.; FERRER, I. Improving biogas production from microalgae by enzymatic pretreatment. **Bioresource Technology**, n. 199, p.347–351, 2016. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.biortech.2015.08.084>.
- PERAZZOLI, M.; & KUNZE, M. A. B. Gestão ambiental aplicada em uma propriedade rural com atividade de bovinocultura de corte. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, Florianópolis, v. 7, n. 4, p. 704-717, out/dez. 2018.
- PRAES, M. F. F. M.; LUCAS JUNIOR, J.; ORRICO, A. C. A.; ORRICO JUNIOR, M. A. P.; HERMES, R. G.; SORBARA, J. O. B.; DUARTE, K. F.; SCHWINGEL, A. W.; SGAVIOLI, S.; DOMINGUES, C. H. F.; SUNADA, N. S. Biogas production: litter from broilers receiving direct-fed microbials and an enzyme blend. **Scientia Agrícola**, v.73, n.5, p. 406-411, 2015. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0195>
- PURI, D.J.; HEAVEN, S.; BANKS, C. J. Improving the performance of enzymes in hydrolysis of high solids paper pulp derived from MSW. **Biotechnol Biofuels**. v.6, n.107, 2013.

QIAN, Y.; SONG, K.; HU, T.; YING, T. Environmental status of livestock and poultry sectors in China under current transformation stage. **Science of The Total Environment**, v. 622, p. 702–709, 2018.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.045>

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>. 2017.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>. 2020.

REETZ, H. F. **Fertilizantes e seu uso Eficiente**. Paris: International Fertilizer Industry Association, 2016. 179 p. Tradução: Alfredo Scheid Lopes. Edição em português, ANDA, São Paulo, Brasil, Setembro 2017.

REGERT, R.; BORGES JÚNIOR, G. M.; BRAGAGNOLO, S. M.; BAADE, J. H. Importância dos indicadores econômicos, financeiros e de endividamento como gestão do conhecimento na tomada de decisão em tempos de crise. **Visão**, Caçador-SC. v. 7, n. 2, p. 67-83, 2018.

RIVAS-SOLANO, O; FAITH-VARGAS, M; GUILLÉN-WATSON, R. Biodigesters: chemical, physical and biological factors related to their productivity. **Tecnología en Marcha**, v. 23, n. 1, p. 47-53, 2016. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i5.2516>.

ROCHA, D. T.; RESENDE, J. C.; MARTINS, P. C. Evolução tecnológica da atividade leiteira no Brasil: Uma visão a partir do Sistema de Produção da Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2018. 62 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 212.). ISSN 1516-7453

RODRIGUEZ, C.; ALASWAD, A.; BENYOUNIS, K. Y.; OLABI, A. G. Pretreatment techniques used in biogas production from grass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 68, p.1193–1204, 2017. doi:10.1016/j.rser.2016.02.022

ROMANO, R. T.; ZHANG, R.; TETER, S.; MCGARVEY, J. A. The effect of enzyme addition on anaerobic digestion of Jose Tall Wheat Grass. **Bioresource Technology**, v.100, n. 20, p. 4564–4571, 2009.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.065>

ROMERO-GÜIZA, M. S.; J. MATA-ALVAREZ; J.; VILA; J. M.; CHIMENOS, S. Astals The role of additives on anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 1486-1499, 2016. ISSN: 1364-0321

SANTOS, T. M. B. **Balanço energético e adequação do uso de biodigestores em galpões de frangos de corte**. 2001. 179 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Jaboticabal, 2001.

SANTOS, T. P. R.; FRANCO, C. M. L.; CARMO, E. L.; JANE, J.; LEONEL, M. Effect of spray-drying and extrusion on physicochemical characteristics of sweet potato starch. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 1, p. 376-383, 2019. <http://dx.doi:10.1007/s13197-018-3498-y>

SANTOS, T. P. R., FRANCO, C. M. L., MISCHAN, M. M., LEONEL, M. Behavior of sweet potato starch after spray-drying under different pretreatment conditions. **Starch – Stärke**, 2019. <http://dx.doi:10.1002/star.201800245>

SAWATDEENARUNAT, C.; SURENDRA, K. C.; TAKARA, D.; OECHSNER, H.; KHANAL, S. K. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, v.178, p. 178–186, 2015. <http://dx.doi:10.1016/j.biortech.2014.09.103>

SCARLAT, N.; DALLEMAND, J.-F.; FAHL, F. Biogas: Developments and perspectives in Europe. **Renewable Energy**, v. 129, p. 457–472, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.renene.2018.03.006>

ŞENOL, H.; AÇIKEL, Ü.; DEMİR, S.; ODA, V. Anaerobic digestion of cattle manure, corn silage and sugar beet pulp mixtures after thermal pretreatment and kinetic modeling study. **Fuel**, 116651, 2019. <http://dx.doi:10.1016/j.fuel.2019.116651>

SIDDIQUE, M. N. I.; & WAHID, Z. A. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. **Journal of Cleaner Production**, v.194, p. 359–371, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.jclepro.2018.05.155>

SILVA, G. A.; MORAIS, J.R.; ROCHA, E. R. Proposta de procedimento operacional padrão para o teste do Potencial Bioquímico do Metano aplicado a resíduos sólidos urbanos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.21, n.1, p11–16, 2016. <http://dx.doi:10.1590/s1413-41520201600100134484>

SILVA, J. R.; ASSUMPÇÃO, R.; VEGRO, C. L. R. A inserção da fécula de mandioca no mercado de amido. **Informações econômicas**, v. 30, n. 7, p. 31-41, 2000.

SOLARTE-TORO, J. C.; CHACÓN-PÉREZ, Y.; CARDONA-ALZATE, C. A. Evaluation of biogas and syngas as energy vectors for heat and power generation using lignocellulosic biomass as raw material. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.33, p. 52–62, 2018. <http://dx.doi:10.1016/j.ejbt.2018.03.005>

SPEDA, J.; JOHANSSON, M. A.; ODNELL, A.; KARLSSON, M. Enhanced biomethane production rate and yield from lignocellulosic ensiled forage ley by in situ anaerobic digestion treatment with endogenous cellulolytic enzymes. **Biotechnology for Biofuels**, v.10, n.1, 2017. <http://dx.doi:10.1186/s13068-017-0814-0>

SURENDRA, K. C., TAKARA, D., HASHIMOTO, A. G., & KHANAL, S. K. Biogas as a sustainable energy source for developing countries: Opportunities and challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.31, p. 846–859, 2014. <http://dx.doi:10.1016/j.rser.2013.12.015>

SUTARYO, S.; WARD, A. J.; MØLLER, H. B. The effect of mixed-enzyme addition in anaerobic digestion on methane yield of dairy cattle manure. **Environmental Technology**, v. 35, n.19, p. 2476–2482, 2017. <http://dx.doi.org/10.1080/09593330.2014.911356>

TEGHAMMAR, A.; KARIMI, K.; SÁRVÁRI HORVÁTH, I.; TAHERZADEH, M. J. Enhanced biogas production from rice straw, triticale straw and softwood spruce by NMMO pretreatment. **Biomass and Bioenergy**, v.36, p.116–120, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.10.019>

TÖRNWALL, E.; PETTERSSON, H.; THORIN, E.; SCHWEDE, S. Post-treatment of biogas digestate – An evaluation of ammonium recovery, energy use and sanitation. **Energy Procedia**, v.142, p. 957–963, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2017.12.153>

UDA, C. F.; PUTAROV, N. B.; BAVELLONI, P. L.; MARCOLINO, V. A. Extração e caracterização do grão de amido de batata, batata-doce e mandioca. **REVISTA UNINGÁ**, [S.l.], v. 17, n. 1, out. 2017. ISSN 2318-0579.

URBANO, L. H.; GARCIA, E. L.; LEONEL, M.; CABELLO, C. Estudo cinético e fermentativo do amido de mandioca. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 13, n. 1, p. 46-55, 2017. <http://dx.doi.org/10.17766/1808-981X.2017v13n1p46-55>

VAN STAPPEN, F.; MATHOT, M.; DECRUYENAERE, V.; LORIER, A.; DELCOUR, A.; PLANCHON, V.; STILMANT, D. Consequential environmental life cycle assessment of a farm-scale biogas plant. **Journal of Environmental Management**, v.175, p.20–32, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.03.020>

VIEIRA, A. D.; MIRANDA, V. C.; ALVES, A. F.; TAVARES, A. T. Avaliação agrônômica de clones de batata doce com potencial para produção de etanol. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava-PR, v.8, n.1, p.69-74, 2015. <http://dx.doi.org/10.5935/PAeT.V8.N1.08>

XAVIER, C. A. N.; LUCAS JÚNIOR, J. Parâmetros de dimensionamento para biodigestores batelada operados com dejetos de vacas leiteiras com e sem uso de inóculo. **Revista Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.30, n.2, p.212-223, 2010.

XAVIER, C. A. N.; SANTOS, T. M. B.; LUCAS JÚNIOR, J. Digestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros: efeito da dieta e da adição de caldo de cana-de-açúcar. **Archivos de Zootecnia**, v. 65, n. 250, p. 131-138. 2016. <http://dx.doi.org/10.21071/az.v65i250.479>

YU, Q.; LIU, R.; LI, K.; MA, R. A review of crop straw pretreatment methods for biogas production by anaerobic digestion in China. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.107, p. 51–58, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2019.02.020>

ZHANG, L.; LOH, K.-C.; ZHANG, J. Enhanced biogas production from anaerobic digestion of solid organic wastes: Current status and prospects. **Bioresour. Technology Reports**, v.5, p. 280-296, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biteb.2018.07.005>

ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, p. 35–53, 2014. <http://dx.doi:10.1016/j.pecs.2014.01.001>

ZHOU, A.; DU, J.; VARRONE, C.; WANG, Y.; WANG, A.; LIU, W. VFAs bioproduction from waste activated sludge by coupling pretreatments with *Agaricus bisporus* substrates conditioning. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 2, p. 283–289, 2014. <http://dx.doi:10.1016/j.procbio.2013.11.005>

ZIEMIŃSKI, K. Methane fermentation process as anaerobic digestion of biomass: Transformations, stages and microorganisms. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.18, 2012. <http://dx.doi:10.5897/ajbx11.054>

ZULKIFLI, Z.; ISMAIL, S. B.; ZAHARI, M. S. M.; UMOR, N. A.; AZIZ, N. I. A. Screening on biogas optimization of lignocellulose-based materials using enzymatic hydrolysis process. **Chemical engineering transactions**, v. 45, p. 1585-1590, 2015. <http://dx.doi:10.3303/CET1545265>.