

Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” - UNESP
Faculdade de Ciências Farmacêutica
Campus Araraquara
Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia

JOÃO GABRIEL GUMIERI CASTOLDI

UTILIZAÇÃO DE BIOMASSA FÚNGICA
NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E USO
EM BIORREFINARIAS

Araraquara

2025

Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” - UNESP
Faculdade de Ciências Farmacêutica
Campus Araraquara
Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia

JOÃO GABRIEL GUMIERI CASTOLDI

**UTILIZAÇÃO DE BIOMASSA FÚNGICA
NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E USO
EM BIORREFINARIAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos necessários para conclusão do curso de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Peixoto

Araraquara

2025

C354u

Castoldi, João Gabriel Gumieri.

Utilização de biomassa fúngica na produção de biogás e uso em biorrefinarias / João Gabriel Gumieri Castoldi. – Araraquara, 2025.

56 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Guilherme Peixoto.

1. Metano. 2. Biomassa. 3. Biogás. 4. Biorrefinaria. 5. Biocorantes. I. Peixoto, Guilherme, orient. II. Título.

JOÃO GABRIEL GUMIERI CASTOLDI

**UTILIZAÇÃO DE BIOMASSA FÚNGICA
NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E USO
EM BIORREFINARIAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciência Farmacêutica de Araraquara, para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Data da defesa: 26/05/2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Guilherme Peixoto

UNESP - Faculdade de Ciência Farmacêutica - Campus de Araraquara

Prof.^a Dr.^a Valéria de Carvalho Santos Ebinuma

UNESP - Faculdade de Ciência Farmacêutica - Campus de Araraquara

Mestre Caio de Azevedo Lima

UNESP - Faculdade de Ciência Farmacêutica - Campus de Araraquara

AGRADECIMENTOS

A minha família por todo o apoio que sempre me deram, mesmo nos momentos mais desafiadores.

A todos os amigos que fiz durante a graduação, pelos momentos e experiências que vivemos juntos.

Aos meus colegas de laboratório e meu orientador pelo apoio ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

E a todos os outros que participaram da minha jornada até aqui.

RESUMO

Para evitar a intensificação das mudanças climáticas, causadas principalmente pela ação antrópica, é necessário que a humanidade se adapte para redução da emissão de gases estufa. Com isso, uma das estratégias para solucionar o problema, sem abalar o desenvolvimento econômico e tecnológico, é o desenvolvimento de uma economia verde, baseada em formas sustentáveis e renováveis de produção energética e de mercadorias. Dentro dessa nova visão de mercado, as estratégias integradas vêm ganhando destaque no setor industrial, como é o caso do uso de biorrefinarias para produção de bioprodutos de alto valor agregado, a partir da biomassa residual do processo. Essa demanda por biorrefinarias, faz com que novos estudos sejam necessários para otimizar os modelos integrados existentes e para descobrir novas fontes de biomassas com alto potencial de produção para a indústria. Este trabalho teve como objetivo, estudar e comparar o potencial metanogênico de duas biomassas fúngicas, subprodutos da produção biotecnológica de corantes, por meio da fermentação anaeróbia com lodo anaeróbio mutagênico. Além de avaliar a viabilidade técnica e econômica da utilização do biogás produzido em soluções integradas de biorrefinarias, buscando entender as vantagens ambientais e energéticas associadas a essa abordagem. As duas biomassas estudadas, *Phaffia rhodozyma* (branca) e *Talaromyces amestolkiae* (vermelha), apresentaram respectivamente uma redução de DQO de $51,68\% \pm 3,96$ e $76,29\% \pm 2,83$, e um rendimento na produção de metano igual a $4,98 \text{ mL/g}_{\text{DQO removida}}$ e $5,27 \text{ mL/g}_{\text{DQO removida}}$. A biomassa vermelha demonstrou possuir um maior potencial para produção de biogás, em comparação com a biomassa branca, e consequentemente, mais vantagens na produção energética e nos ganhos econômicos e ambientais. Por fim, vale destacar a hipótese que relaciona a utilização de solventes para extração do corante intracelular da biomassa branca, com os menores índices de produção de metano. Além disso, novos estudos são necessários para entender como otimizar os parâmetros de produção e desenvolver novas técnicas para potencializar o uso do biogás em biorrefinarias integradas e viabilizar a produção de biocorantes. Como por exemplo a aplicação das biomassas em processos de codigestão e a aplicação de formas mais eficientes de extração de biocorantes.

Palavras-chave: metano; biorrefinaria; biomassa; biocorantes.

ABSTRACT

To prevent the intensification of climate change, primarily caused by human activities, humanity must adapt to reduce greenhouse gas emissions. One strategy to solve this problem without compromising economic and technological development is the development of a green economy, based on sustainable and renewable forms of energy production and goods. Within this new market vision, integrated strategies have been gaining prominence in the industrial sector, such as the use of biorefineries to produce high value-added bioproducts from process residual biomass. This demand for biorefineries requires new studies to optimize existing integrated models and to discover new biomass sources with high production potential for the industry. This study aimed to investigate and compare the methanogenic potential of two fungal biomasses, by-products of biotechnological biodye production, through anaerobic fermentation with mutagenic anaerobic sludge. Additionally, the technical and economic feasibility of using the produced biogas in integrated biorefinery solutions was evaluated, aiming to understand the associated environmental and energy advantages. The two biomasses studied, *Phaffia rhodozyma* (white) and *Talaromyces amestolkiae* (red), showed a reduction in COD of $51.68\% \pm 3.96$ and $76.29\% \pm 2.83$, respectively, with methane production yields of $4.98 \text{ mL/g COD removed}$ and $5.27 \text{ mL/g COD removed}$. Furthermore, both biomasses demonstrated similar and promising results in heat production and energy generation. Furthermore, they demonstrated a potential for cost reduction in large bioprocessing industries producing biodyes, through waste management reduction, heat production, and energy generation. The red biomass exhibited a higher potential for biogas production compared to the white biomass, and consequently, in energy production and economic and environmental gains. Finally, it is worth highlighting the hypothesis that links the use of solvents for extracting intracellular dye from white biomass with the lower methane production rates. Furthermore, new studies are needed to understand how to optimize production parameters and develop new techniques to enhance the use of biogas in integrated biorefineries and enable the production of biodyes. For example, the application of biomass in co-digestion processes and the application of more efficient biodye extraction methods.

Keywords: methane; biorefinery; biomass; biodyes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de rotas de conversão de biorrefinarias.....	16
Figura 2 - projeções do mercado de biorrefinarias no mundo (2023-2034).....	18
Figura 3 - Fluxograma das etapas de produção de metano.....	23
Figura 4 - Experimento de DQO.....	33
Figura 5 - Preparo dos frascos com inóculo utilizados para produção de biogás.....	34
Figura 6 - Volume de metano acumulado ao longo da fermentação anaeróbica, com a utilização da biomassa branca como substrato.....	35
Figura 7 - Volume de metano acumulado ao longo da fermentação anaeróbica, com a utilização da biomassa vermelha como substrato.....	35
Figura 8 - Quantificação da porcentagem da composição do biogás, para a biomassa branca, ao longo da digestão anaeróbica.....	38
Figura 9 - Quantificação da porcentagem da composição do biogás, para a biomassa vermelha, ao longo da digestão anaeróbica.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de produção de metano, obtidos utilizando programa STATISTICA® 8.0.360, da equação modificada de Gompertz (Zwietering, 1990).....	36
Tabela 2 - Informações de redução de DQO, em porcentagem e em massa, após a produção de metano, e o rendimento de produção de volume de metano por massa de DQO removida.....	41
Tabela 3 - Análise de recuperação de calor fornecida pelo metano, a partir da produção pelas biomassas estudadas, com os respectivos equivalentes energéticos fósseis.....	43
Tabela 4 - Análise econômica e energética da produção de metano pelas biomassas estudadas.....	23
Tabela 5 - comparação da aplicação dos resultados experimentais, em cenários industriais, das biomassas branca e vermelha.....	46

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVO.....	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3. 1. Biomassa.....	13
3.1.1. Biomassa para geração de energia.....	13
3. 2. Biorrefinarias.....	15
3.2.1. Uso de Microrganismos em Biorrefinarias.....	18
3.2.2. Aplicações Industriais e Biorrefinarias Fúngicas.....	20
3.3. Biogás.....	22
3.3.1. Produção Biológica de Metano.....	22
3.3.2. Perspectivas do uso de biogás.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1. Materiais.....	28
4.2. Métodos.....	28
4.2.1. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	28
4.2.2. Preparo dos inóculos e fermentação.....	28
4.2.3. Análise da Produção de Biogás.....	29
4.2.4. Determinação da concentração celular (SSV).....	29
4.2.5. Análise dos dados.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1. Análise da produção de biogás.....	32
5.2. Potencial energético, econômico e ambiental da adoção das biomassas microbianas em biorrefinarias.....	38
5.3. Aplicação dos resultados em escala industrial.....	46
6. CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	49

1. INTRODUÇÃO

Em toda a história da humanidade, o período posterior à revolução industrial foi o grande responsável pela liberação de enormes quantidades de gases que aceleram e intensificam o efeito estufa. Por conta das atividades humanas, as liberações cada vez maiores de gases, como dióxido e monóxido de carbono, podem resultar em alterações climáticas que aumentem em mais de 1,5°C a temperatura média do planeta Terra ainda no século XXI. Para alcançar a meta de aquecimento máximo de temperatura em até 1,5°C, formulado pelo Acordo de Paris, levando em conta que o clima terrestre já aumentou em 1,25°C, seria necessário a árdua tarefa de zerar as emissões líquidas de CO₂. Além do fato de que seria necessário fazer isso por décadas (Pörtner *et al.*, 2022; Matthews; Wynes, 2022).

Para que isso fosse possível, é necessário reduzir em até 43% as emissões totais de CO₂ no mundo todo, que além de ser algo dificilmente alcançável, geraria um decrescimento em toda a economia mundial (Matthews; Wynes, 2022; Hubacek *et al.*, 2021). A corrente chamada “Crescimento Verde” sugere uma forma das empresas conseguirem melhorar a sustentabilidade de suas atividades, a partir de inovações relacionadas à produção de energia limpa e tecnologias que gerem benefícios ambientais, ao mesmo tempo que agregam para sua cadeia de valor. Na prática, sugere às empresas o investimento em tecnologia que impeça o agravamento das mudanças climáticas. Algo que está diretamente relacionado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, com a busca de estratégias de energia limpa e controle das mudanças climáticas, bem como no investimento em inovação empresarial e consumo e produção responsáveis (Engelmann *et al.*, 2019; Nações Unidas Brasil, 2025; Lin; Zhu., 2019).

Dentro desse contexto, uma estratégia para auxiliar a descarbonização do sistema econômico, ao mesmo tempo que mantém a segurança para o abastecimento energético mundial, é a adoção da produção de biogás por diversas empresas. Sendo assim, a adoção do biogás é uma oportunidade de estabelecer uma atividade economicamente sustentável, além de fortalecer a competitividade e busca de melhoria de recursos (Sica *et al.*, 2023). Esse setor já é utilizado na União Europeia, pela REPowerEU, para atenuar as mudanças climáticas e garantir autonomia energética na região. Apenas em 2021, houve um aumento de 20% da produção total, gerando 3,5 bilhões de metros cúbicos de gás. A meta é cobrir mais de 60% da demanda europeia por gás, com 167 bilhões de metros cúbicos até 2050 (European Biogas Association, 2023).

A vantagem da utilização do biogás é a forma com que sua utilização é capaz de desenvolver uma dupla transição verde, o configurando como um modelo energético inovador e avançado. Isso se dá pelo fato do biogás ser uma fonte de energia limpa e renovável, contribuindo para uma segura transição energética, ao mesmo tempo que sua produção atua na gestão de resíduos de diversas origens, como industriais, agrícolas e domésticos. Ademais, suas utilização pode contribuir de forma eficiente para criação de uma economia circular. Vale ressaltar que, embora a transição energética e a economia circular sejam, por diversos momentos, encaradas de formas separadas, é visível que sua atuação conjunta é fundamental para gerar um impacto positivo e tornar as atividades econômicas sustentáveis (Sica *et al.*, 2023).

Dentro do conceito de biogás, vem ganhando destaque nos últimos tempos, a ideia de biorrefinarias. Biorrefinaria tem como base a utilização de biomassa para ser uma fonte de produtos renováveis e com alto valor agregado, sendo empregada para substituir diversos produtos que possuem como base combustíveis de origem fóssil, a partir de um método que empregue produtos de base biológica. Com o aumento da demanda por biorrefinarias, é de suma importância a adoção de modelos que sejam equipados a uma cadeia de produção, que possua valor agregado da matéria prima até o produto final. Para a organização de uma biorrefinaria de alta viabilidade econômica, é fundamental a utilização de matérias primas que, ao mesmo tempo que possuam um baixo custo, também tenham uma abundante disponibilidade, e que tenham a capacidade de produzir alvos de alto valor financeiro e utilidade para as empresas e seus consumidores (Son *et al.*, 2022; Son *et al.*, 2023).

2. OBJETIVO

Analisar e comparar o potencial de produção de metano de duas biomassas fúngicas, originadas de resíduos da produção biotecnológica de corantes, por meio de fermentação com lodo anaeróbio mutagênico. Além de avaliar a aplicação dessa produção, para a utilização como forma de biorrefinarias na indústria, bem como entender os benefícios ambientais, energéticos e econômicos de seu uso.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. 1. Biomassa

O conceito de biomassa pode variar de acordo com sua aplicação, mas de uma forma geral, é definida como qualquer material orgânico produzido ou constituído por seres vivos (microrganismos, plantas e animais). Entretanto, em sua definição, são considerados apenas materiais de organismos que estavam vivos a pouco tempo, portanto excluindo resíduos fósseis. Além disso, a biomassa pode ser classificada em dois grupos diferentes: as biomassas tradicionais, oriundas de resíduos naturais (como resíduos agrícolas), e as biomassas modernas, que tem origem nos bioprocessos industriais, como é o caso das biomassas microbianas (Goldemberg, 2009).

Vale destacar, que a biomassa geralmente é encontrada como um material sólido rico em carbono, muitas vezes como resíduos de processos industriais ou agrícolas. Dessa forma, a biomassa é comumente associada com resíduos vegetais agrícolas (palha de milho, bagaço de cana-de-açúcar, lenha, entre outros), empregados para produção de energia através de sua queima. Segundo o Ministério de Minas e Energia, em 2023, no Brasil, essa prática correspondeu a cerca de 8,55% da produção de energia elétrica nacional, sendo a quarta fonte mais utilizada. Entretanto, a aplicabilidade da biomassa é muito mais ampla e vai além do setor energético, podendo ser utilizada para ração animal (biomassa de microrganismos) e até mesmo para produção de biomateriais (polímeros biodegradáveis como PHB e PLA) (Goldemberg, 2009).

3.1.1. Biomassa para geração de energia

Segundo a UNICA (União Nacional da Indústria de Cana-de-Açúcar), a estimativa, do ano de 2024, é que a biomassa acrescentou 1125 MW à matriz energética brasileira, a partir da instalação de mais 22 usinas termelétricas. Entretanto, o uso de biomassa para geração de energia e calor é bem antigo, e remonta desde o período pré-histórico com a descoberta do fogo pela humanidade. Porém, seu apogeu ocorreu durante as fases da Revolução Industrial, em que grandes quantidades de lenha eram utilizadas para gerar energia para indústria e transporte, com destaque para as máquinas a vapor. Posteriormente, seu uso foi rapidamente substituído pelo de combustíveis fósseis, uma vez que sua aplicação era mais eficiente (Udop, 2023; LorenssetI, 2024).

Todavia, no final do século XX, motivado pela crise do petróleo, foi colocado em pauta a diversidade energética, fazendo com que a utilização de biomassa ganhasse destaque novamente, com isso, diversos setores industriais passaram a utilizar a biomassa. Um dos métodos mais tradicionais e comuns, utilizando esses resíduos, é a produção de energia térmica a partir da combustão da biomassa, que geralmente é feita em motores e caldeiras. A combustão direta, é a forma mais simples e prática de realizar essa conversão, entretanto é o método menos eficiente para se gerar energia, uma vez que as biomassas utilizadas possuem alta umidade e baixa densidade energética, o que prejudica também o transporte desses materiais (Nogueira; Rendeiro, 2008).

Outro método muito utilizado é o de cogeração, que promove a produção de energia térmica e mecânica ao mesmo tempo, sendo empregado em diversos segmentos e utilizado em turbinas e moendas. Mas esse processo apresenta os mesmos problemas de umidade e densidade energética que a combustão direta. Além disso, um problema considerável de ambos os métodos tradicionais é o impacto ambiental. Embora seja uma forma renovável e menos poluente que resíduos fósseis, a queima da biomassa ainda gera uma quantidade considerável de resíduos poluentes ao ambiente. Primeiramente, a queima gera uma grande quantidade de gases responsáveis pela mudança climática, como CO₂, bem como materiais particulados. As cinzas e outros resíduos líquidos que podem ser originados da queima, podem conter também diversos compostos orgânicos que têm o potencial de contaminar o solo e a água (Amay *et al.*, 2013).

Dessa forma, uma alternativa que vem ganhando bastante destaque para geração de energia é a utilização da biomassa para a produção de biocombustíveis. Esses podem ser divididos em: sólidos (como carvão vegetal), líquidos (como etanol e biodiesel) e gasosos (como o biogás). No Brasil, se destaca principalmente a produção de etanol, e atualmente, pesquisas em relação ao etanol de segunda geração, que envolve biomassas vegetais que as leveduras originalmente não conseguiriam fermentar, como biomassas lignocelulósicas (Guedes *et al.*, 2021)

Com isso, o emprego de biocombustíveis vem sendo cada vez mais estudado na indústria, principalmente seu uso para produção de energia elétrica a partir de modelos integrados de biorrefinarias. Sendo uma das estratégias a diversos tipos de resíduos industriais para digestão anaeróbica (Pervaiz; Correa, 2009).

3. 2. Biorrefinarias

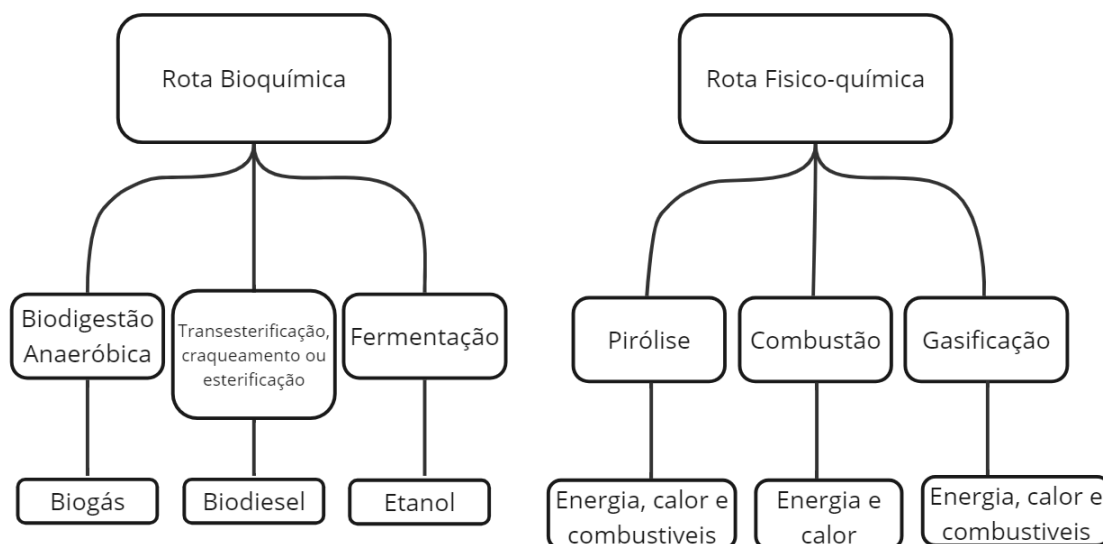
Biorrefinaria é um conceito que pode se referir a diversos tipos de processos industriais, mas basicamente se caracteriza pelo processo de conversão de uma biomassa em um produto de maior valor agregado. A Associação Internacional de Energia (AIE) a definiu como sendo uma planta industrial de conversão de biomassa em produtos economicamente e sócio-ambientalmente viáveis. Entre esses produtos, geralmente se destacam a energia elétrica, predominantemente originada de biocombustíveis, além de outros insumos químicos (solventes, tintas e fragrâncias), rações animais, biopolímeros, fertilizantes, entre outros. Ou seja, enquanto as tradicionais refinarias transformam petróleo em seus derivados fósseis, as biorrefinarias convertem as biomassas, de origem animal, vegetal ou microbiana, em diversos bioprodutos (Jong; Jungmeier, 2015).

Como o emprego de biorrefinaria é amplo, existem diversos segmentos que fazem uso dela para geração de produtos. No Brasil, o setor agrícola é um dos que mais se destaca, com o uso de materiais lignocelulósicos em biorrefinarias, para o desenvolvimento de produtos como etanol (incluindo o de segunda geração) e outros tipos de insumos químicos. A biomassa vegetal, que é um resíduo, passa por diversos processos, físico-químicos e bioquímicos, até ser convertida no produto final de alto valor agregado. Com isso, é possível perceber o grande potencial do aproveitamento das biomassas, por sua grande quantidade e diversidade, para a utilização em biorrefinarias, tanto com benefícios econômicos, quanto para a transição energética sustentável e segura. Por conta disso, vale destacar a importância das biorrefinarias para economia circular, que faz com que os processos industriais reciclam os resíduos gerados, diminuindo o impacto ambiental e a dependência de novos recursos (Makepa; Chihobo, 2024)

Dessa forma, a principal função de uma biorrefinaria é tornar o processo industrial mais eficiente, de forma a minimizar os efluentes e resíduos gerados, bem como garantir uma redução de custos, o que por consequência aumenta o lucro do processo. Essa prática é muito interessante para a indústria, uma vez que toneladas de biomassa rica em material orgânico são geradas anualmente. Para que isso seja possível, as biorrefinarias utilizam diversos métodos para conseguir converter as biomassas em energia e outros materiais de maior valor agregado. Entre esses métodos é possível destacar os microbianos/bioquímicos e termoquímicos/físico-químicos, como mostrado na Figura 1. Os métodos físico-químicos, se destacam pela alta velocidade e aplicabilidade para diversas biomassas. Já os métodos

microbianos se destacam pela alta gama de possibilidades de produtos produzidos (Mitra; Nagchaudhuri, 2020; Verma *et al.*, 2012)

Figura 1 - Fluxograma de rotas de conversão de biorrefinarias.



Fonte: Adaptado de Mitra; Nagchaudhuri (2020).

Além dos métodos de conversão, existem outras formas de classificar as biorrefinarias, de acordo com alguns parâmetros e características de produção. Como a partir da matéria prima utilizada em seu processo, que pode ser primária (referente a resíduos oriundos do setor agrícola, como palha, bagaços, lenhas, entre outros), secundária (resíduos oriundos do processo principal, como é o caso do licor negro, ou biomassas microbianas), ou terciária (tem origem em dejetos humanos e industriais, como águas residuais). Ou ainda em relação ao produto final produzido: que pode ser energético (biogás, biodiesel, etanol), ou não energético (ração, fertilizantes e agentes químicos) (Alvim *et al.*, 2015).

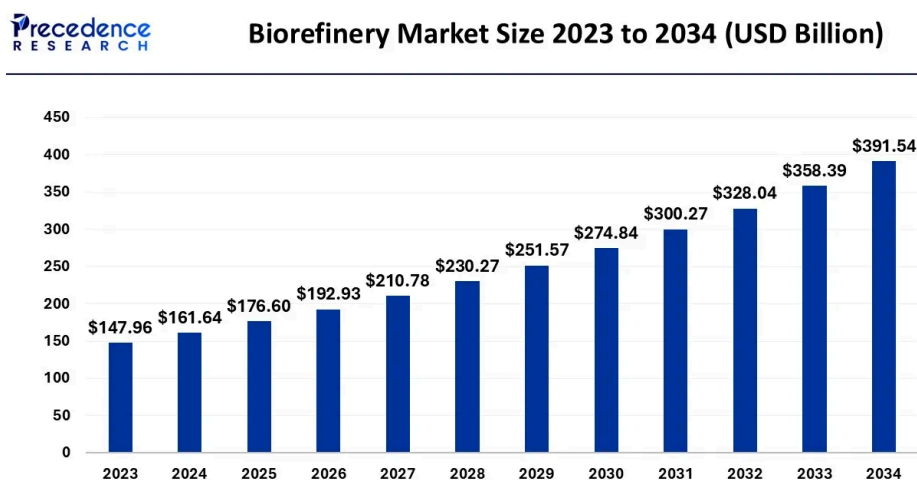
Em relação a forma de implementação industrial, existem 2 modelos principais para a execução de biorrefinarias. O primeiro deles é o modelo bottom-up, esse modelo é caracterizado pela expansão de um processo de refino previamente instalado em uma planta, mas que possua um pequeno número de produtos produzidos. Geralmente, se emprega o modelo bottom-up quando se necessita aumentar a versatilidade da biomassa, aumentando o número de produtos de forma a integrar diferentes etapas do processo. Além disso, também existe o modelo top-down, em que se cria um processo de biorrefino novo, sem integrar

etapas existentes. Esses processos tendem a ser originalmente projetados para utilizar diversas frações da biomassa e produzir vários produtos (FNR, 2012).

Entretanto, dentro de qualquer modelo de produção pode se acrescentar o conceito de cascata de valor frente ao destino de uma biomassa nas etapas de uma biorrefinaria. Dessa forma, a biomassa pode ser utilizada, em momentos diferentes, ou ao mesmo tempo, para produzir produtos diferentes, mas iniciando pelos de maior valor agregado. Além disso, é possível se ter um modelo de biorrefinarias integradas, em que se utiliza o subproduto de uma como substrato para outra. Para entender melhor essa ideia, é necessário saber que muitas vezes o processo de refinamento ocorre em etapas, podendo ter um refinamento primário, geralmente incluindo um pré-tratamento para separar os componentes da biomassa, e um refino secundário posterior. O refino secundário ocorre com a biomassa confinada, passando por um dos métodos de conversão para gerar o produto final. As conversões podem ocorrer de forma total, ou parcial, gerando produtos diferentes (Kehili *et al.*, 2016; FNR, 2012).

Por conta dessa inovação no destino dos resíduos industriais e agrícolas, que ao mesmo tempo geram vantagens econômicas e ambientais, diversos países do mundo já possuem a adoção de biorrefinarias como parte de suas metas de desenvolvimento sustentável, com programas de pesquisa e financiamento, tanto governamentais, quanto do setor privado, com um foco especial para o desenvolvimento na Europa e na Ásia. Em 2022, o mercado global de biorrefinarias atingiu uma marca de US\$ 135,43 bilhões, e impulsionada pelas mudanças climáticas e diminuição de recursos fósseis, a estimativa, mostrada na Figura 2, é que chegue a US\$ 391,54 bilhões até 2034 (Precedence Research, 2023).

Figura 2 - projeções do mercado de biorrefinarias no mundo (2023-2034).



Fonte: Precedence Research (2023).

Porém, essas expectativas e projeções do mercado abrem margem para alguns questionamentos. Como quais serão os bioprodutos, produzidos através de biorrefinarias, que vão apresentar as melhores margens de lucro, para se tornarem competitivos? Ou ainda, quais serão os investimentos tecnológicos e financeiros necessários para garantir esse retorno? Isso se deve a existência de alguns desafios presentes para a consolidação das biorrefinarias no mercado, como a disponibilidade constante de biomassas adequadas para os processos integrados, a necessidade de desenvolvimento de novas tecnologias de conversão de biomassas, para que eles se tornem mais eficientes e viáveis em larga escala, além dos altos investimentos iniciais que uma indústria deve fazer para implementação da biorrefinaria. Portanto, ainda é um campo que necessita de pesquisas para tornar o processo economicamente mais viável no futuro (Makepa; Chihobo, 2024)

3.2.1. *Uso de Microrganismos em Biorrefinarias*

A indústria de bioprocessos faz um uso amplo de microrganismo para sintetizar, fermentar e catalisar uma série de produtos. Eles são empregados em diversos setores, como no de biocombustíveis, bioeletricidade, entre outros, para produção de diversos metabólitos que possuem alto valor agregado, como proteínas, anticorpos e lipídios. Além de biomateriais, diversos tipos de alimentos fermentados e para realização de biorremediação de ambientes poluídos. Entretanto, a utilização de microrganismos pela indústria também enfrenta uma

série de obstáculos para se tornar mais viável. Em especial, os produtos mais inovadores, que buscam substituir produtos convencionais menos sustentáveis, como é o caso de biocorantes sintetizados por fungos. Porém, um dos principais obstáculos para a ampla produção e comercialização desses produtos, são os altos custos de produção. Outro ponto crucial é a questão da sustentabilidade ecológica do processo, pois esses bioprocessos acabam gerando grandes quantidades de resíduos, principalmente biomassas. Dessa forma, para o aumento de escala desses processos, a utilização de uma abordagem que gerasse ao mesmo tempo uma redução dos custos e uma maior sustentabilidade seria de suma importância (Gaur *et al.*, 2024).

Por consequência, uma forma de aumentar a eficiência econômica e ambiental dos processos industriais microbiológicos, seria um modelo industrial integrado, de forma a utilizar uma matéria prima de baixo custo, ou ainda, a própria biomassa residual em um processo de produção de bioprodutos que possuam alto valor agregado. Bem como, o emprego de microrganismos versáteis, que possibilitem seu uso para desenvolver diversos tipos de produtos. Desse modo, o emprego de modelos de biorrefinarias vem cada vez mais sendo explorado para conseguir o melhor proveito que os processos biotecnológicos podem oferecer, viabilizando a produção desses bioprodutos. Dessa forma, matérias-primas, como a biomassa, que geralmente é tida como um empecilho no processo, além de ser encarada como um material de baixo ou nenhum valor, ganham destaque nesse novo modelo integrado. (Gaur *et al.*, 2024).

Entre eles, pode ser citado o uso crescente de microalgas, microorganismos autotróficos, que podem ser encontrados em diversos ambientes aquáticos, inclusive águas residuais. Esses microrganismos possuem uma alta taxa de conversão, para transformar CO₂ em biomassa. Com isso, essas biomassas de microalgas possuem quase metade de seu peso sendo carbono, o que faz de seu uso um grande potencial para diversos bioprodutos, como rações e biocombustíveis. Isso ocorre, pois a biomassa é rica em diversas biomoléculas, como proteínas e lipídeos, além de bioativos. Apesar de seu amplo uso, as biorrefinarias de microalgas se destacam pela produção de biodiesel, fazendo parte da terceira geração de biocombustíveis (Kadri *et al.*, 2024; Silva; *et al.*, 2024)

Isso acontece, pois elas são ricas em lipídeos microbianos, uma vez que armazenam facilmente TAGs em seu interior. A principal vantagem, além da alta produção de biomassa, está no fato de utilizar uma matéria prima que não depende de terrenos de grande extensão para ser produzida, nem compete com a produção de alimentos, bem como, não depende do

clima e outras variáveis que o setor agrícola possui. Entretanto, mesmo as microalgas mostrando um grande potencial de uso em biorrefinarias, para biocombustíveis, ela ainda enfrenta diversos problemas de aplicação. O principal deles, é o alto custo industrial das operações unitárias necessárias para realizar o processamento do material. Com isso, o emprego em grande escala de biorrefinarias de microalgas, ainda depende do avanço em pesquisas na área, tornando os processos mais econômicos e viáveis (Gifuni *et al.*, 2019; Silva; *et al.*, 2024; Singh; Ahluwalia, 2012).

Outro tipo de microrganismo, empregado pela indústria de bioprocessos, são as bactérias, responsáveis pela produção de uma gama de produtos, entre eles os biocombustíveis. Porém, em relação a modelos integrados de biorrefinarias, as bactérias geralmente apenas são utilizadas como agentes para conversão de biomassas e substratos. Alguns exemplos da literatura, que empregam esses modelos integrados usando bactérias, são a produção de celulose bacteriana, através do extrato de casca de laranja e de resíduos de vinícolas por *Komagataeibacter sucrofermentans*. Também já existem pesquisas que demonstram a possibilidade de soluções integradas para produção de biopolímeros e outros insumos químicos, como ácido lático. Porém, assim como no caso das microalgas, também existem problemas no que se diz respeito ao aumento de escala dos processos, principalmente no caso de bactérias extremófilas (García-Torreiro, 2018; Polanowska, 2023; Tsouko *et al.*, 2020).

3.2.2. Aplicações Industriais e Biorrefinarias Fúngicas

Os fungos são microrganismos eucarióticos que se dividem em dois grupos, os fungos filamentosos, caracterizados pelos seus esporos e hifas, e as leveduras. Esses organismos estão presentes em diversos ecossistemas, e possuem um grande emprego na indústria de bioprocessos. As biorrefinarias fúngicas trabalham em grande parte com a conversão e síntese de materiais pelos fungos, como ácidos orgânicos, biocombustíveis, biopolímeros, aminoácidos e compostos farmacêuticos. Mas além dos metabólitos oriundos dessas biorrefinarias, as biomassas fúngicas, que são resíduos do processo, também são empregadas para produção de ração animal, principalmente pelo seu grande teor proteico. (Buddhiwant *et al.*, 2016; Troiano *et al.*, 2020)

Entre os diversos setores da indústria, um dos que mais se destaca na aplicação de biorrefinarias fúngicas é o setor agroindustrial, principalmente para conversão de biomassa

lignocelulósica dos resíduos agrícolas, como madeira, palha e bagaço. Isso se deve ao fato desse setor possuir a necessidade de diminuir os custos de produção, em especial da produção de biocombustíveis. Com isso, o emprego de fungos nessas biorrefinarias busca aumentar a aplicabilidade desses recursos que seriam descartados, aumentando a sustentabilidade do processo (Maleki *et al.*, 2020; Yadav *et al.*, 2019).

Os fungos lignocelulolíticos, são escolhidos como biocatalisadores nessas tecnologias devido à sua capacidade de secretar uma gama diversificada de enzimas que atuam na parede celular das células vegetais, desfazendo a cadeia polimérica. Podendo ser aplicados na produção de biocombustíveis, ácidos orgânicos, solventes, lubrificantes, entre outros. Fungos, tanto filamentosos quanto leveduras, produzem enzimas que permitem a criação de biocommodities de alto valor agregado a partir de diversas matérias-primas, ampliando seu uso além do setor ligno-celulósico. Diversas enzimas, como amilases, peroxidases e oxidases, entre outras, estão presentes em processos para produção de ácidos orgânicos e biocombustíveis. (Okamoto *et al.*, 2011; Troiano *et al.*, 2020; Saini *et al.*, 2021).

Entretanto, um produto de alto valor agregado que vem ganhando destaque, em relação a aplicação industrial de fungos, são os biocorantes. Os biocorantes são aplicados no setor alimentício e farmacêutico, e quando produzidos por fungos, possuem a vantagem de possuírem uma variedade de tons, além de poderem ser aplicados em diversos tipos de substratos e terem uma quantidade potencialmente alta de produção. Um exemplo de biocorante produzido por fungos são os carotenóides, pigmentos de cor amarela e avermelhada, por meio de resíduos agrícolas. Além disso, também se utiliza a produção de carotenoides simultaneamente a produção de lipídeos microbianos por leveduras oleaginosas, a fim de buscar formas de viabilizar a produção (Kalra *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021 *apud* Oliveira *et al.*, 2024).

Além dos carotenóides, outras categorias de biocorante e metabólitos de alto valor agregado também são sintetizados por fungos na indústria, como policetídeos, terpenos e polifenóis. Em especial, os policetídeos, sintetizados por ascomicetos, constituem uma classe de corantes de coloração semelhante aos carotenoides e propriedades antimicrobianas e anticâncer, sendo também sintetizados em resíduos agroindustriais. (Dzurendova *et al.*, 2021; Mapari *et al.*, 2009 *apud* Oliveira *et al.*, 2024)

Por fim, existe uma demanda crescente em explorar cada vez mais uma diversidade maior de produtos de alto valor agregado por fungos, entre eles a diversa gama de

biocorantes. Com isso, é notável a importância da aplicação de fungos, assim como de outros microrganismos em sistemas integrados. Porém, algumas pesquisas ainda são necessárias para que essas soluções integradas se tornem mais viáveis economicamente e energeticamente, em comparação com os modelos de produções tradicionais. Somando-se a isso, a necessidade de explorar mais o potencial de microrganismos para produção conjunta de vários produtos em um mesmo sistema industrial. Isso se traduz em uma crescente exploração no emprego de microrganismos na produção de biocombustíveis, como o caso do biogás (Goel *et al.*, 2023).

3.3. Biogás

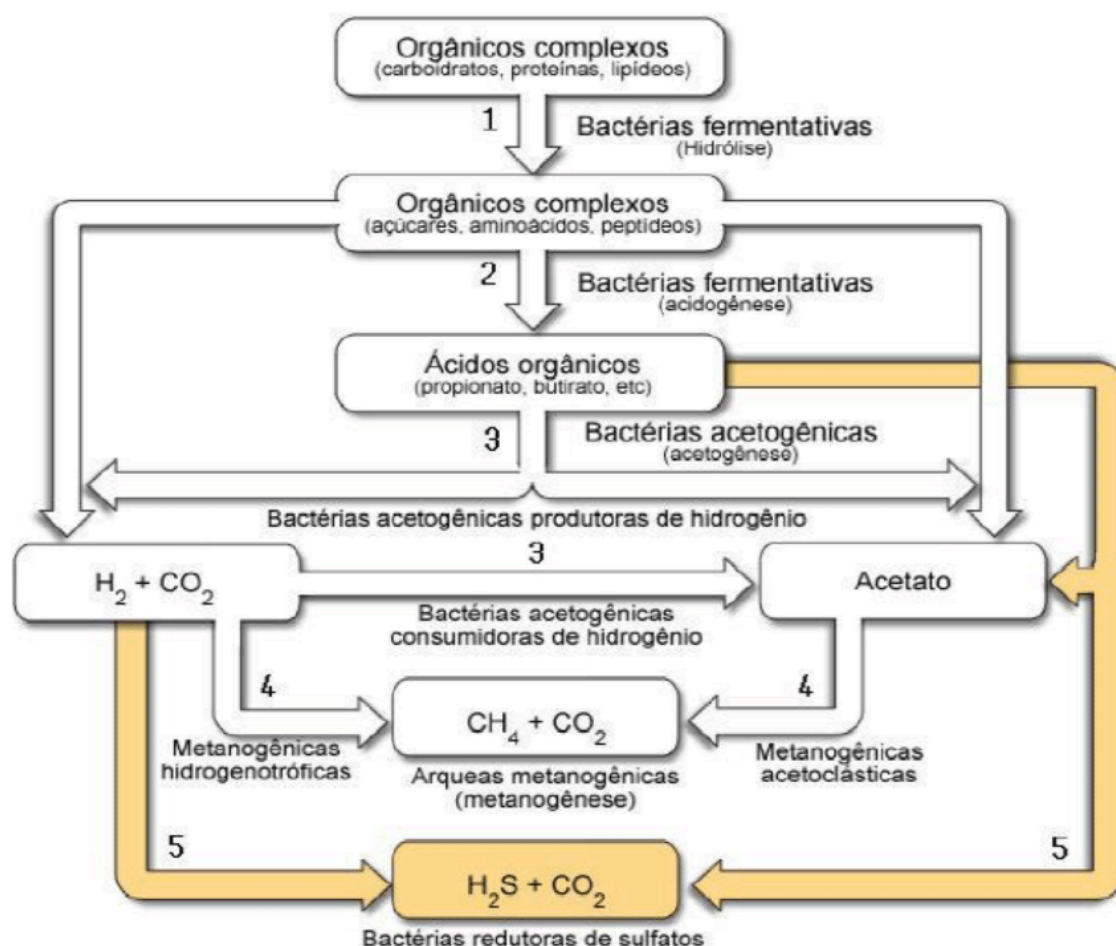
O biogás é considerado uma mistura de diferentes gases, os quais foram produzidos por meio de uma digestão anaeróbica, ou seja, um processo que ocorre na ausência de oxigênio. Para que a digestão anaeróbica aconteça, é necessário a utilização de diferentes bactérias que possam degradar os compostos orgânicos presentes no substrato, e com isso, produzir o biogás. Esse processo microbiológico faz parte do ciclo geral do carbono e possui uma grande aplicabilidade industrial, o qual pode ser melhor direcionado e aprimorado para uma maior geração de energia. Tendo como principais destaques para esse uso, os gases hidrogênio (H_2) e metano (CH_4). Também vale ressaltar que diferentes fontes de carbono irão produzir volumes e composições de biogás diferentes (Xu *et al.*, 2022).

3.3.1. Produção Biológica de Metano

A produção de metano é um processo que ocorre de forma natural em diversas situações e ambientes, como florestas que possuem solos alagados e plantações dos mais diversos tipos de produtos. Essa produção natural corresponde a 80% da quantidade de metano na atmosfera, e constitui a última etapa do ciclo do carbono em ambientes anaeróbios, sendo realizada por arqueas metanogênicas. Entretanto, a produção desse gás pode sofrer influências dos compostos presentes nesses ambientes, como por exemplo uma menor produção em ambientes ricos em sulfato, pela maior presença de bactérias que redutoras desse composto, porém é documentado que em ambientes em que se encontram íons de ferro a produção de metano é favorecida. Além da presença de compostos químicos, a temperatura é outro fator chave para a produção de metano, possuindo seu pico entre 30 e 40°C (Agostinetto *et al.*, 2002)

Diversos microrganismos estão envolvidos nas fases da produção de metano, apesar desses microrganismos serem anaeróbios, eles conseguem tolerar a presença de oxigênio, embora a oxidação impeça o crescimento celular e a produção de biogás. Em muitos casos, como em ambientes solubilizados, essas bactérias criam micro ecossistemas de degradação, a partir da agregação em grânulos. O processo bioquímico da produção de metano é dividido em 4 etapas, que são responsáveis por transformar os substratos orgânicos nesse gás, exemplificadas no fluxograma da Figura 3 (Chernicharo, 2007).

Figura 3 - Fluxograma das etapas de produção de metano.



Fonte: Souza; Rossini; Schaeffer (2013).

A primeira etapa corresponde à hidrólise, que é responsável por degradar compostos de alta massa molecular (como proteínas, lipídeos e carboidratos) em moléculas monoméricas (aminoácidos, monossacarídeos e ácidos graxos) mais simples e solúveis. Essa degradação

acontece pela ação de enzimas extracelulares secretadas por bactérias hidrolíticas, a qual caracteriza essa etapa como etapa limitante da velocidade para o processo anaeróbico. Em vista disso, o processo de hidrólise pode ter diferentes velocidades de degradação, sendo influenciadas pela complexidade dos substratos utilizados. No caso de carboidratos, a hidrólise ocorre em poucas horas, porém pode levar dias quando se utiliza proteínas e lipídeos. Já no caso de materiais de alta complexidade, como os lignocelulósicos, esse processo pode ocorrer de forma incompleta e mais lenta (Amani *et al.*, 2010).

A etapa seguinte é a acidogênese, caracterizada pelo uso dos monômeros da etapa anterior para serem degradados e darem origem compostos orgânicos, como dióxido de carbono, álcoois, amônia, hidrogênio, ácidos orgânicos de cadeia curta (como ácido acético e butírico), entre outros. Cada um desses compostos são originados de diferentes monômeros, como os monossacarídeos que são reduzidos a piruvato e posteriormente convertidos em ácido lático ou etanol. Já os ácidos graxos são oxidados em acetato e os aminoácidos degradados em diversos compostos (amônia, sulfeto de hidrogênio, dióxido de carbono e outros). As leveduras podem estar envolvidas nessa etapa, além de bactérias, como *Acetobacter* e *Lactobacillale*. A pressão parcial de hidrogênio é um parâmetro que possui grande influência nessa etapa, gerando uma maior oxidação e aumentando a quantidade de carbonos por molécula orgânica (Amani *et al.*, 2010).

A terceira etapa do processo é a acetogênese, na qual as protagonistas são as bactérias acetogênicas e as reações bioquímicas são endotérmicas ($\Delta G > 0$). Nessa etapa ocorre a produção de hidrogênio e dióxido de carbono, ao mesmo tempo que a da produção de ácidos de cadeia curta (como fórmico e acético). Os gases produzidos são utilizados pelas bactérias homoacetogênicas para produção de acetato, sendo que o consumo de hidrogênio torna termodinamicamente favorável a produção dos ácidos de cadeia curta. Vale destacar que, nessa etapa, a sintrofia entre os diferentes microrganismos, além de favorecer o crescimento de ambos, também torna viável a produção de acetato (Nevin *et al.*, 2010)

Por fim, a última etapa do processo de produção de metano é a metanogênese, cujo processo é totalmente anaeróbico. Nessa etapa, as arqueas metanogênicas são capazes de converter em dióxido de carbono e metano a partir do carbono das moléculas orgânicas da etapa anterior, sendo uma reação exotérmica ($\Delta G < 0$). Essas arqueas são classificadas de acordo com a fonte que metabolizam para utilizar na produção, especialmente as acetoclásticas (cerca de 70% da produção) e as hidrogenotróficas (cerca de 30% da produção). As primeiras são responsáveis por metabolizar o acetato em metano, como o gênero

Methanosarcina, sendo caracterizadas por sua sensibilidade a mudanças de pH. Já as outras convertem o hidrogênio em dióxido de carbono e metano, como os gêneros *Methanobacterium* e *Methanospirillum* (Oliveira, 2012)

Um dos parâmetros mais essenciais é a temperatura, pois ela influencia diretamente tanto a velocidade de crescimento microbiano, quanto às propriedades físico- químicas das moléculas e reações bioquímicas. As reações endotérmicas são beneficiadas por seu aumento, enquanto as exotérmicas são prejudicadas termodinamicamente. Vale ressaltar que as arqueas acetoclásticas são mais sensíveis que as demais ao aumento da temperatura, sendo que de forma geral a temperatura ótima para esses processos é entre 30 e 40°C. O pH é outro parâmetro de suma importância, sendo que o ideal é que seu valor se mantenha a uma faixa entre 6,7 e 7,5, uma vez que as arqueas são sensíveis a suas mudanças. Os ácidos produzidos ao longo do processo tendem a diminuir o pH, por outro lado, as arqueas metanogênicas produzem moléculas alcalinas (como amônia, bicarbonatos e dióxidos) (Deublein; Steinhauser, 2008).

Além desses, outro fator essencial são os nutrientes presentes no meio anaeróbio. Entre eles, podemos destacar os íons de enxofre, cálcio, potássio, cloro e magnésio como importantes para o metabolismo anaeróbio. Entretanto, outros nutrientes são importantes para o crescimento microbiano, como cobre, zinco e amônia. Todavia, as quantidades desses nutrientes devem ser usadas com cautela, especialmente os metais pesados e a amônia livre, para que não se tornem tóxicos para os microrganismos. Vale destacar, que além desses fatores, a composição química do substrato possui grande influência na produção de gás. Isso se deve em parte a variação da composição de elementos químicos presentes em materiais orgânicos, como é o caso do carbono (C), oxigênio (O), nitrogênio (N) e hidrogênio (H) (Deublein e Steinhauser, 2008).

Teoricamente, a reação estequiométrica do processo de produção de metano é a produção de 3 mols de metano e gás carbônico para cada mol de glicose. Entretanto, essa eficiência é dificilmente alcançada por conta da variação entre os fatores que influenciam na produção, da especificidade das bactérias em relação ao substrato e dos níveis de degradação que as moléculas orgânicas sofrem ao longo das 4 etapas de produção. Ou seja, para que ocorra um maior rendimento de produção, é essencial o estudo desses e de outros parâmetros de produção (Le Mer; Roger, 2001).

Para a produção de biogás, sistemas em batelada se mostram muito vantajosos, pois além de terem uma simplicidade e flexibilidade operacional, podem empregar uma produção

em 2 estágios. A separação de dois estágios é um método que separa a etapa de metanogênese das primeiras etapas do processo, o que aumenta a degradação do substrato orgânico utilizado. Isso se deve principalmente por não acumular agentes inibidores do crescimento celular, bem como não acarretar na lavagem de células. Na indústria, a produção de metano utiliza biorreatores, pois possui diversas vantagens para o cultivo. Como maiores concentrações de matéria orgânica e lodo ativado, resultando em uma maior taxa de produção. Geralmente são utilizados modelos que possuem uma menor taxa de cisalhamento, como o UASB. Esse modelo de Biorreator utiliza a própria produção de biogás para gerar o fluxo ascendente que promove a mistura do meio, onde se encontram os grânulos de lodo ativado (V. *et al.*, 2024).

3.3.2. Perspectivas do uso de biogás

Apesar de todas as vantagens trazidas pela adoção do biogás à produção energética mundial, ainda há um grande caminho para transformá-lo em uma fonte de energia mais difundida, proporcional ao seu potencial. Principalmente, em países mais pobres e subdesenvolvidos, que carecem de recursos e tecnologias. Tendo em vista que os impactos ambientais para sua produção e uso são muito baixos (podendo ser oriundos apenas do vazamento ocasional de CH_4), diversos países já adotam políticas estratégicas para incentivar a produção e aproveitar seus benefícios (Sica *et al.*, 2023).

No Brasil, a ANEEL já estabeleceu através da resolução 1.059/2023 que projetos que buscam produção de energia renovável, incluindo biogás e biomassa, podem se beneficiar da mini e microgeração distribuída. Dessa forma, a energia elétrica produzida a partir do biogás pode ser vendida ao distribuidor local de energia. Por consequência, o consumo de energia da propriedade produtora de biogás é compensado. Além da ANEEL, outras instituições no Brasil têm tomado iniciativas para incentivar a produção no país (ANEEL, 2023).

O Ministério de Minas de Energia (2020), visto as circunstâncias para adoção do biogás, incentiva o uso de diversos substratos como fonte de produção nacional. Especialmente os substratos oriundos dos setores agroindustriais, tendo destaque para o setor sucroalcooleiro. Entretanto, também cita outras fontes, desde resíduos urbanos e animais, bem como fontes industriais. Além desse incentivo, o Ministério de Minas de Energia (2020) possui um plano de expansão da produção energética através do biogás. O PDE 2029, que planeja que a partir de 2023, durante 10 anos, haja o aumento da produção energética dessa fonte, no Brasil, para uma escala de até 210 MW.

Em outros países, como os europeus, caminhos semelhantes estão sendo tomados nesta direção, com estratégias de enfrentamento às mudanças climáticas, como a REpowerEU. Na União Europeia, já são produzidos cerca de 18 milhões de metros cúbicos de metano, mas a perspectiva é que, para os próximos anos até 2050, o uso dessa fonte evite a emissão de mais de 192 milhões de toneladas de CO₂ na atmosfera. Além da questão ambiental, a produção de biogás representa para os europeus uma independência energética. Em países como a Itália, a segurança energética é um assunto primordial, uma vez que o país possui um histórico de dependências em matérias primas (Sica *et al.*, 2023).

O biogás é uma ponte para uma transição energética sustentável, sendo sua utilização uma inovação radical para o mercado. A adoção dessa prática pode incentivar uma economia circular em que os resíduos produzidos pelas pessoas e indústrias, possam atenuar a escassez de recursos e a crise ambiental. Com isso, contribuindo para evitar uma insegurança energética, bem como trazer utilidade para os resíduos produzidos. Prova disso é seu emprego no ramo automobilístico, em que seu uso em alternativa a combustíveis fósseis já gera uma série de benefícios e perspectivas. Seu emprego faz com que os veículos emitam menos de 90% da poluição que seria emitida pelos combustíveis tradicionais, além de possuir uma ausência de materiais particulados no ar e uma redução de 70% na produção de óxidos de nitrogênio. Entretanto, seu emprego em larga escala dependeria, tanto de um aumento da produção de biogás, quanto de uma adaptação massiva do setor de transportes e abastecimento (Pöschl *et al.*, 2010; Sharma, *et al.*, 2023).

Por fim, vale destacar que diversas pesquisas no setor buscam aprimorar a tecnologia de produção de biogás. Entre essas tecnologias, o emprego de inteligência artificial, como redes neurais e modelos de aprendizado de máquina, entre eles o SVM (máquinas de vetores de suporte). Essas ferramentas podem ser muito úteis futuramente para aumentar a eficiência da produção de biogás, como estabelecer parâmetros cinéticos e identificar os melhores processos biológicos e físico-químicos para serem empregados. Essas novas tecnologias, juntamente com políticas públicas e investimentos de empresas, podem propiciar a utilização do biogás como uma fonte global de energia, auxiliando em uma transição energética sustentável (Capodaglio *et al.*, 2019).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

As duas biomassas utilizadas no trabalho foram fornecidas pela parceria com o grupo de pesquisa BioPPul, do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia do câmpus da UNESP de Araraquara-SP. As duas biomassas foram cedidas após serem usadas em pesquisas relacionadas ao processo de extração de biocorantes, sendo o microrganismo da biomassa de coloração vermelha *Talaromyces amestolkiae*, enquanto o da branca *Phaffia rhodozyma*, ambas na forma de um pó seco.

4.2. Métodos

4.2.1. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Para a determinação da concentração de matéria orgânica das biomassas, foi utilizada a análise de Demanda Química de Oxigênio (DQO). Para isso, foram feitas duas soluções mães, uma para cada biomassa, em uma concentração de 1 mg/mL. Essas soluções foram feitas em balões volumétricos e agitadas manualmente até as biomassas se dissolverem completamente. A análise consistiu na oxidação da matéria orgânica através do dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), um oxidante forte, com o auxílio do catalisador sulfato de prata (Ag_2SO_4). Para análise de DQO, foi utilizado 2,5 mL da solução mãe de biomassa, com ácido sulfúrico + sulfato de prata (3,5 mL) e dicromato de potássio + sulfato de mercúrio (1,5 mL) (APHA, 2005).

As amostras foram levadas, dentro de tubos de ensaio, a um digestor, em que ficaram por duas horas em uma temperatura de 150°C. Após o resfriamento em temperatura ambiente, foi realizada a leitura de absorbância em 620 nm, por meio de um espectrofotômetro. A concentração foi determinada em gO_2/L de DQO, e a análise foi feita em triplicata para cada uma das amostras.

4.2.2. Preparo dos inóculos e fermentação

Os inóculos foram feitos em frascos de 38mL, utilizando 20 mL de amostra e 18mL de *headspace*. O preparo das amostras foi baseado na concentração de DQO das biomassas analisadas, dessa forma, para as duas biomassas, foram utilizadas uma triplicata com concentrações com 2 gO_2/L de DQO, bem como um controle negativo, sem biomassa.

Além das biomassas fúngicas, também foram adicionados aos frascos, 5 mL de lodo metanogênico anaeróbio que foi coletado em reator UASB ativo utilizado no tratamento de efluente de abatedouro de frango, previamente conservado em câmara fria e mantido a 5°C. Foi adicionado aos inóculos ureia em uma razão de C:N de 40, e sais como fosfato de sódio dibásico (2,76 mg/L), fosfato de potássio dibásico (1,30 mg/L), óxido de selênio (0,036mg/L), sulfato ferroso (2,5 mg/L), cloreto férrico (0,25 mg/L), cloreto de cobalto (0,04 mg/L), sulfato de níquel (0,5 mg/L) e fosfato de potássio monobásico (5,36 mg/L), (Peixoto *et al.*, 2011).

Também foi conferido o pH de todas as amostras, para estarem em torno de 7,2, por meio de um pHmetro. Por fim, foi feito o fluxionamento de N₂ das amostras e os frascos foram devidamente lacrados. Para a etapa de fermentação, foi utilizado o Skaker do tipo incubadora modelo LUCA-223 da marca LUCADEMA®. O qual os frascos de inóculo foram adicionados e mantidos a uma temperatura de 37°C e uma agitação constante de 150 RPM. A etapa de fermentação durou 6 dias, tomando como base para o tempo definido o comportamento da curva de produção de biogás.

4.2.3. *Análise da Produção de Biogás*

Para se analisar a composição do biogás produzido (H₂, CO₂ e CH₄) na fermentação, foram coletados 10 µL de amostras de gás do *headspace* dos frascos, 2 vezes por dia ao longo dos 6 dias em que a produção ocorreu. A coleta foi feita de forma manual, utilizando uma seringa. As amostras coletadas foram analisadas por meio de um cromatógrafo gasoso (GC2010 Shimadzu®) que possui um detector de condutividade térmica (coluna Carboxen 1010 PLOT – Supelco). O número de mols foi calculado a partir de uma curva previamente feita no laboratório para o equipamento. Para o cálculo do volume final dos gases acumulados no headspace dos frascos, foi utilizada a equação dos gases ideais, e foram consideradas as condições normais de temperatura (25°C) e pressão (1 ATM).

4.2.4. *Determinação da concentração celular (SSV)*

Foi utilizado o método de Sólidos Solúveis Voláteis (SSV), para determinação indireta de concentração celular presente nas amostras de inóculo. Dessa forma, foram coletados os 20 mL de amostra dos frascos em que ocorreu a produção de biogás, os quais foram colocados em cadinhos de porcelana, após serem calcinados. Essas amostras foram deixadas por 30

horas na estufa a 105°C, e por fim levadas ao forno mufla, onde ficaram por 2 horas a 550°C (APHA, 1998).

O cálculo da concentração de inóculo foi feito de acordo com a Equação 1 a seguir:

$$SSV = \frac{(M_2 - M_1)}{V} \quad (1)$$

SSV – Sólidos Solúveis Voláteis (Concentração Celular);

M₁ – Massa após retirar o cadinho da estufa;

M₂ – Massa após retirar o cadinho da mufla;

V – Volume do Inóculo.

4.2.5. Análise dos dados

Para análise matemática da produção cumulativa de biogás, foi utilizado o ajuste por meio da equação modificada de Gompertz (Zwietering, 1990). Cada um dos processos de produção originaram uma curva, as quais podem ser interpretadas pela Equação 2 a seguir:

$$H = P \cdot \exp\left\{-\exp\left[\frac{R_m \cdot e}{P} \cdot (\lambda - t) + 1\right]\right\} \quad (2)$$

H – produção acumulada de CH₄ (mL);

P – potencial de produtivo (mL);

R_m – taxa de produção (mL/h);

λ – tempo de fase lag (h);

t – tempo de incubação (h);

e – número de Euler.

Os parâmetros P, R_m e λ foram setados pelo software STATISTICA[®] 8.0.360 para modelos não lineares, resultando em uma modelagem matemática dos processos produtivos para ambas as biomassas estudadas (Lucas *et al.*, 2015).

Já para os cálculos da produção de metano, eletricidade e energia foram usadas as seguintes equações:

Para o cálculo da produção de metano foi usada a Equação 3:

$$V_{CH_4} = [(P_O \cdot Q_B) \cdot P_{DQO}] \cdot Y_{CH_4} \quad (3)$$

V_{CH₄} – produção de CH₄ (L)

P_O – porcentagem de matéria orgânica (%)

Q_B – massa de substrato (g)

P_{DQO} – porcentagem de DQO reduzida (%)

Y_{CH_4} – rendimento de produção de metano (L_{CH_4}/g DQO removida)

Para o cálculo do potencial calor recuperado foi usada a Equação 4:

$$C = V_{CH_4} \cdot Ci \quad (4)$$

C – calor recuperado (Kcal)

V_{CH_4} – produção de CH_4 (L)

Ci – calor específico inferior metano (Kcal/L)

Para o cálculo da potência energia produzida foi usada a Equação 5:

$$E = V_{CH_4} \cdot Ei \cdot \eta \quad (5)$$

E - produção elétrica (kWh)

V_{CH_4} – produção de CH_4 (L)

Ei – rendimento de produção elétrica de CH_4 ((kWh/L)

η – eficiência de produção (%)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

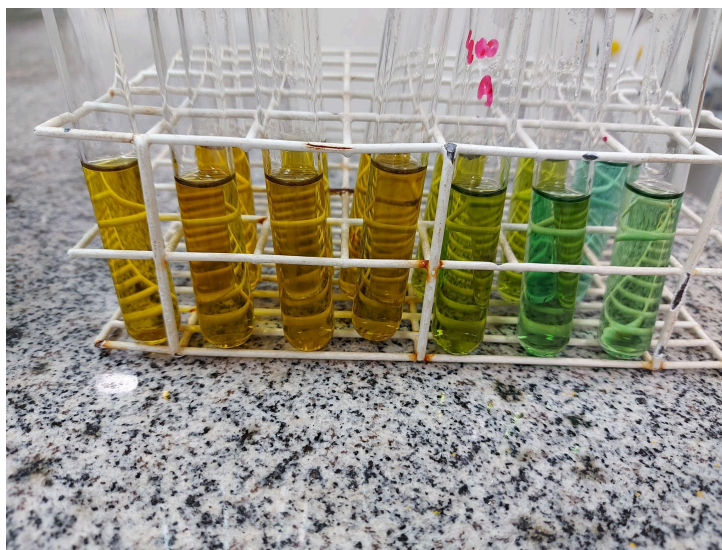
5.1. Análise da produção de biogás

As biomassas microbianas utilizadas neste trabalho, para produção de biogás, foram concedidas pelo grupo de laboratório BioPPul do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Unesp de Araraquara (DEBB). O processo de produção e as análises realizadas foram feitas no laboratório do mesmo departamento no período entre agosto e setembro de 2022. As duas biomassas fúngicas utilizadas, *Phaffia rhodozyma* (branca) e *Talaromyces amestolkiae* (vermelha), foram originadas de pesquisas envolvendo a produção de biocorantes. Para facilitar a compreensão, ao longo do trabalho, as biomassas serão nomeadas de acordo com suas respectivas cores.

A biomassa da levedura *Phaffia rhodozyma* (biomassa branca) utilizada neste trabalho, teve como origem o processo de produção do biocorante intracelular astaxantina, em que a extração do biocorante da biomassa foi feita a partir de uma extração sólido-líquido utilizando os solventes de base biológica. Já a biomassa do fungo filamentoso *Talaromyces amestolkiae* (biomassa vermelha) foi obtida a partir da produção de biocorantes policetídeos vermelhos. No caso desta produção, o bioproduto originado era extracelular. Sendo assim, a separação do corante das células fúngicas foi feita através de um simples método de filtração.

Inicialmente, foi feita a análise da Demanda Química de Oxigênio (DQO) das duas biomassas estudadas, como mostrado na Figura 4. Para o preparo dos inóculos, foram utilizadas essas informações para se fazer as triplicatas de cada uma das biomassas, contendo 2 g/L de DQO.

Figura 4 - Experimento de DQO



Fonte: Autor (2025).

Para o preparo dos frascos das amostras, apresentados na Figura 5, as biomassas fúngicas tiveram que ser devidamente diluídas para alcançar as concentrações de DQO mencionadas. A diferença de coloração entre as amostras, se dá pela coloração prévia das biomassas fúngicas utilizadas. Além do preparo das triplicatas de 2 g/L de DQO, para ambas as biomassas, também foi preparado um frasco controle (branco), que continha os demais componentes das amostras, com exceção da biomassa. Foram adicionados aos frascos inóculos de lodo metanogênico anaeróbico, em uma concentração de sólidos voláteis de 3,86 g/L de SSV.

Figura 5 - Preparo dos frascos com inóculo utilizados para produção de biogás

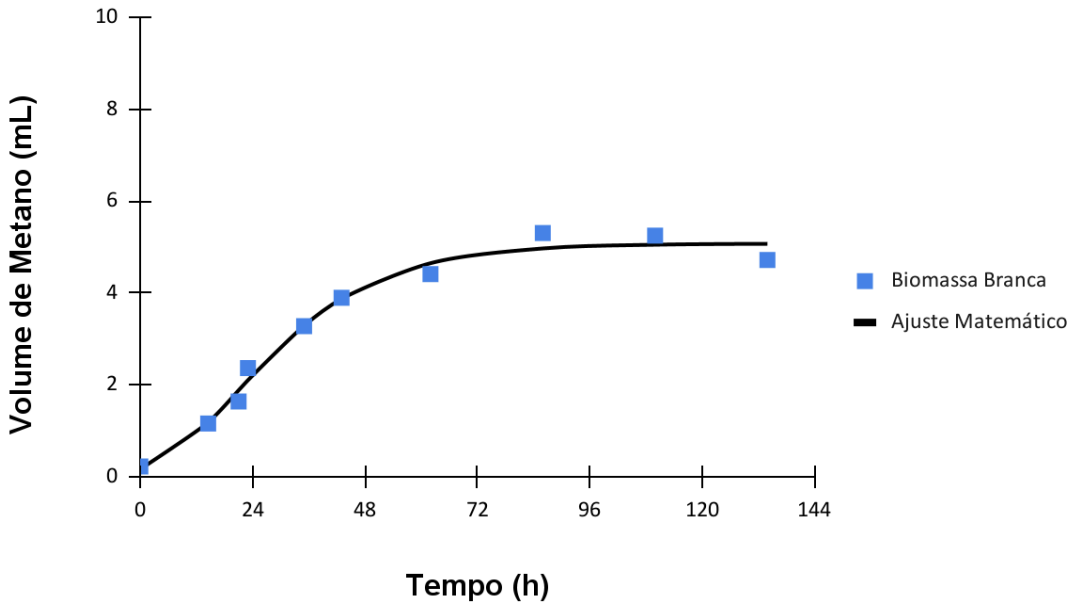


Fonte: Autor (2025).

Após o preparo das triplicatas e do branco, deu-se início a etapa de produção de biogás. Os frascos foram mantidos a uma temperatura e agitação constante no shaker, bem como foram realizadas as coletas periódicas de gás para análise por cromatografia gasosa. Para análise cromatográfica, o cálculo da composição do biogás foi feito com base na curva de calibração fornecida pelo próprio laboratório do DEBB. Os quatro gases identificados, a partir pela curva de calibração, foram: H_2 , N_2 , CH_4 e CO_2 , com os seus respectivos tempos de retenção de 1,85 minutos, 2,18 minutos, 3,02 minutos e 4,15 minutos.

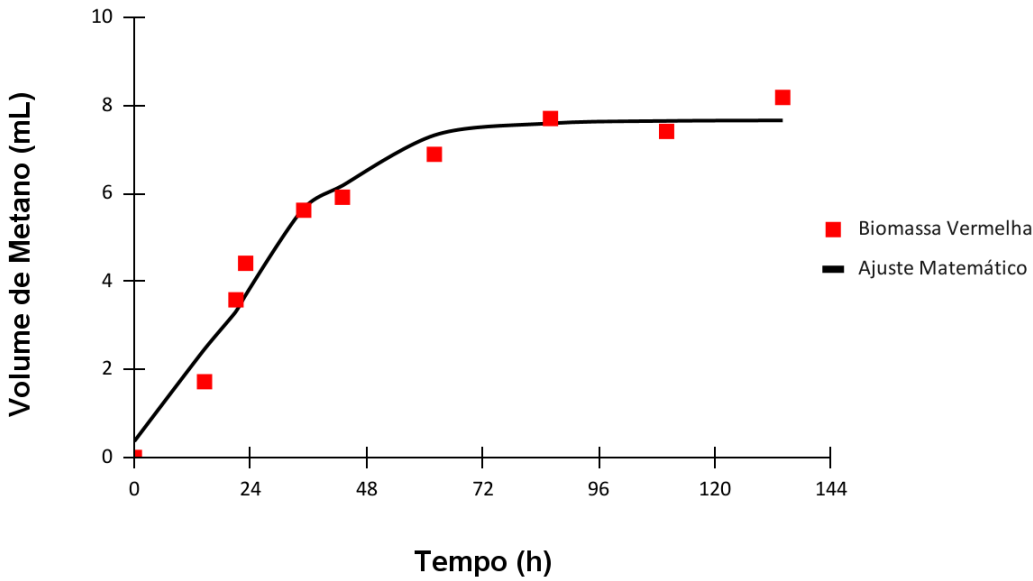
As Figuras 6 e 7 mostram os gráficos de volume acumulado de metano produzido durante a fermentação, para as duas biomassas, construídos a partir dos dados coletados pela cromatografia.

Figura 6 - Volume de metano acumulado ao longo da fermentação anaeróbica, com a utilização da biomassa branca como substrato.



Fonte: Autor (2025).

Figura 7 - Volume de metano acumulado ao longo da fermentação anaeróbica, com a utilização da biomassa vermelha como substrato.



Fonte: Autor (2025).

Os gráficos apresentados anteriormente nas Figuras 6 e 7, mostram os pontos de volume da produção de metano, para o uso de suas respectivas biomassas como substrato, que foram coletados ao longo dos experimentos com uma seringa. Também contém o ajuste matemático de Gompertz modificado, descrito na Equação 2 do item 4.2.5 da metodologia, que foi possível de ser feito pelo software STATISTICA. Além disso, vale lembrar que os gráficos foram construídos a partir da média das triplicatas de cada biomassa, excluindo o controle negativo que não possuiu produção de metano.

Os dois gráficos apresentaram comportamentos parecidos, sendo assim, a análise de ambos foi encerrada no momento em que atingiram a estabilidade de produção. Também vale dizer que em ambos os casos, foi analisado um comportamento esperado para gráficos de produção de metano, segundo o Guia Prático do Biogás, desenvolvido pelo Ministério da Nutrição, Agricultura e Defesa do Consumidor da Alemanha (2010), como uma fase de alta taxa de produção e uma fase de estabilidade.

A partir da análise pelo software STATISTICA®, foi possível definir os parâmetros de produção de biogás (P , R_m e λ) para as duas biomassas, como mostrado na Tabela 1. Cada parâmetro se refere respectivamente ao potencial produtivo de metano (mL), à taxa de produção de gás ao longo do processo (mL/h), e por fim, ao tempo de duração da fase lag (h).

Tabela 1 - Parâmetros de produção de metano, obtidos utilizando programa STATISTICA® 8.0.360, da equação modificada de Gompertz (Zwietering, 1990).

Amostra	P (mL)	Rm (mL/h)	λ (h)	R ²
Biomassa Branca	5,08 ± 0,16	0,059 ± 0,0083	3,95 ± 2,73	0,99
Biomassa Vermelha	8,04 ± 0,62	0,093 ± 0,033	2,46 ± 1,97	0,97

Fonte: Autor (2025).

Como apresentado anteriormente, os dados da Tabela 1 apresentam os parâmetros cinéticos do processo de produção de metano. Da mesma forma que os gráficos das Figuras 6 e 7, eles foram calculados a partir da análise dos dados de coleta de biogás, das triplicatas das respectivas biomassas e sem o controle negativo. As diferenças dos parâmetros entre as

biomassas, detalham melhor como os processos ocorreram de forma particular em cada uma delas. Pode-se notar que o rendimento da produção de metano da biomassa vermelha foi superior ao rendimento da biomassa branca. Consequentemente, por ambos os processos de produção terem durado o mesmo tempo e os gráficos tiveram comportamentos semelhantes, a biomassa vermelha obteve um maior volume de produção. Outro parâmetro importante a se analisar na tabela é a duração da fase lag, fase em que os microrganismos se preparam para o crescimento, adaptando-se ao novo ambiente, em que em ambos os casos, os valores foram semelhantes, e com duração de algumas horas.

Entretanto, esses resultados destoam do encontrado na literatura no que se refere a trabalhos utilizando biomassas de microalgas. Pois, no caso de biomassa de algas, processos de extração mais agressivos geram a ruptura das paredes celulares e podem aumentar a ação das enzimas, as tornando mais disponíveis para a biodegradabilidade e, consequentemente, aumentando o rendimento do processo. Algumas espécies de microalgas, em particular, são bastante resistentes à degradação, o que reduz significativamente a produção de metano (Sialve *et al.*, 2009).

Portanto, no caso dos microrganismos estudados neste trabalho, é possível que a menor produção de metano da biomassa branca tenha sido consequência do uso de solvente para realização da extração do biocorante intracelular, que poderia estar presente na biomassa branca. Porém, não poderia estar presente na biomassa vermelha, uma vez que a separação dela do extrato extracelular de corantes foi realizada por meio de uma filtração simples.

Segundo o Guia Prático do Biogás, desenvolvido pelo Ministério da Nutrição, Agricultura e Defesa do Consumidor da Alemanha (2010), diversos inibidores da produção de biogás podem estar presentes nos substratos adicionados ao processo, reduzindo a taxa de decomposição e produção de metano. Entre esses inibidores, estão presentes os solventes químicos utilizados em processos prévios à biodigestão, como no caso da extração do biocorante da biomassa branca. Na literatura, um trabalho semelhante, de Lage *et al.* (2021), utilizou solventes orgânicos (hexano e isopropanol) para extração de lipídios em microalgas, que posteriormente seriam utilizadas para biodigestão, ficando evidente que a presença dos solventes orgânicos na biomassa impactou negativamente a produção de metano, com uma redução de rendimento superior a 50%.

No trabalho de Lage *et al.* (2021), também foram demonstradas possíveis soluções para o impasse, através da remoção prévia dos solventes da biomassa e da aplicação de métodos de codigestão para atenuar a inibição do solvente orgânico. Portanto, são necessárias

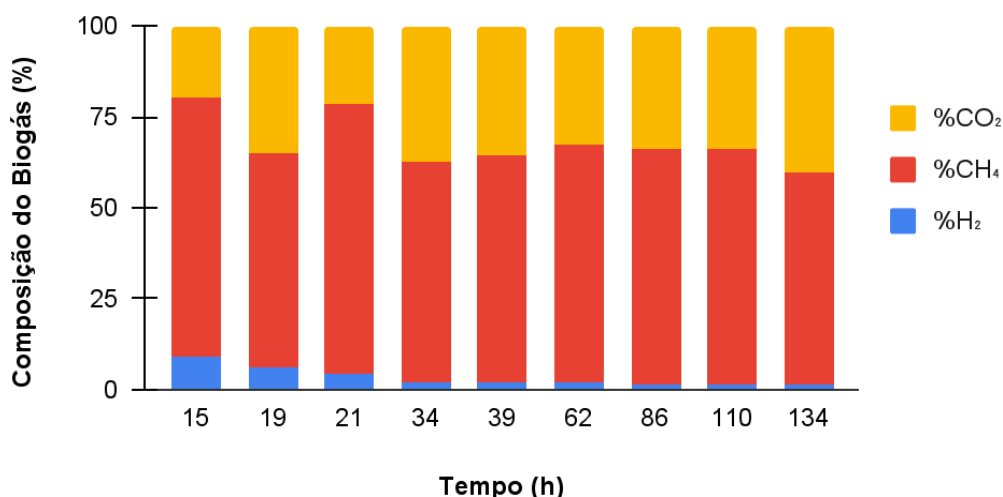
novas análises para um melhor entendimento de como os métodos de extração de biocarantes, em especial os que utilizam solvente, podem impactar a produção de biogás das biomassas usadas como substrato, bem como buscar soluções para a questão.

Uma segunda hipótese que pode ser levantada, diz respeito a composição bioquímica das duas biomassas utilizadas. Segundo Possa *et al.* (2016) a composição bioquímica dos substratos, pode ter um impacto significativo na produção de metano, sendo que substratos mais ricos em lipídios e carboidratos possuem um maior potencial de produção desse gás. Também segundo Amani *et al.* (2010), substratos mais complexos podem demorar mais tempo para que ocorra a etapa de hidrólise. Portanto uma variação na composição das biomassas pode ser também uma explicação plausível para a diferença de produção. Entretanto, são necessários novos experimentos com as biomassas, para que essa hipótese seja confirmada.

5.2. Potencial energético, econômico e ambiental da adoção das biomassas microbianas em biorrefinarias

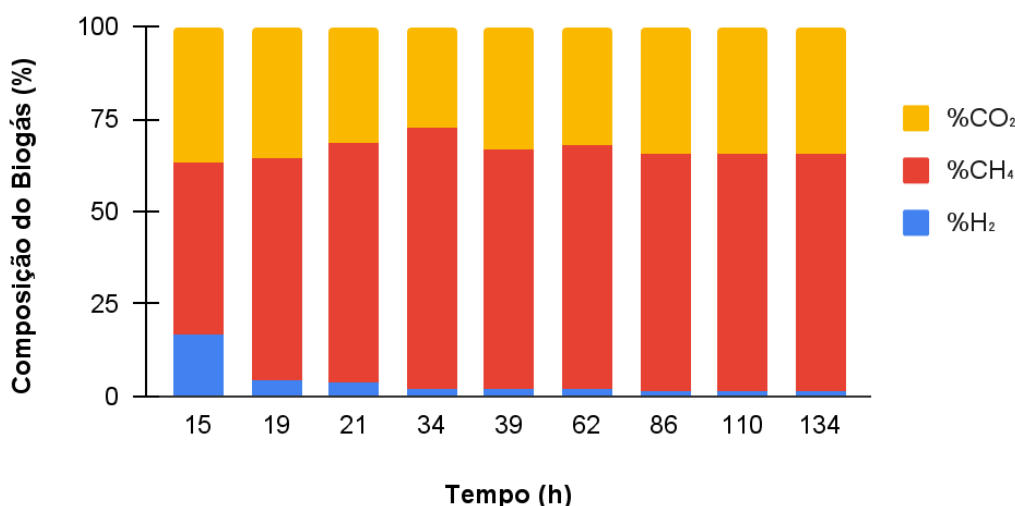
Nas Figuras 8 e 9, é possível observar, a partir dos gráficos, a variação percentual da composição do biogás nos momentos da análise da produção anaeróbica das duas biomassas. Com os dados dos três gases produzidos durante o processo de fermentação, H_2 , CO_2 e CH_4 (principal interesse deste estudo).

Figura 8 - Quantificação da porcentagem da composição do biogás, para a biomassa branca, ao longo da digestão anaeróbica.



Fonte: Autor (2025).

Figura 9 - Quantificação da porcentagem da composição do biogás, para a biomassa vermelha, ao longo da digestão anaeróbica.



Fonte: Autor (2025).

Como pode ser observado, foi desconsiderado a proporção de Nitrogênio (N₂) presente no headspace dos frascos, uma vez que, mesmo sendo o gás mais presente na atmosfera, não é um dos gases que compõem o biogás. Além disso, é possível notar que em ambos os gráficos, existe uma grande produção inicial de hidrogênio, mas que ao longo do tempo de fermentação, acaba gradativamente diminuindo. Isso está de acordo com o que ocorre nas etapas da produção de metano, em que o hidrogênio, que é produzido durante as etapas de acidogênese e acetogênese, é utilizado para produção de metano na etapa de metanogênese. Portanto, nos experimentos de ambas as biomassas, pode-se concluir que as características do processo direcionaram para produção de metano (Nevin *et al.*, 2010).

Em relação ao teor de metano presente no biogás, as duas biomassas apresentaram um comportamento parecido, mantendo uma certa estabilidade na composição a partir de 34 horas de experimento. Além disso, mantiveram um teor final de metano muito parecido, embora a biomassa vermelha tenha sido mais bem sucedida no volume bruto de biogás e consequentemente de metano. A biomassa branca possuiu em sua composição final de biogás uma proporção de $61,86\% \pm 10,30$, enquanto a biomassa vermelha manteve uma proporção de $60,25\% \pm 9,61$.

Algumas pesquisas utilizando microrganismos como forma de biomassa para produção de biogás mostram resultados de composição de metano semelhantes. Trabalhos utilizando microalgas, como substrato para digestão anaeróbica, se mostram capazes de atingir altas qualidades de biogás com composições que variam entre 60 e 75%. Como as pesquisas de Yen e Brune (2007) utilizando *Clorella scenesmus* que conseguiram atingir uma composição de 69% de metano em um reator CSTR, e o trabalho de Samson e Le Duy (1986) que empregando o uso de *Espirulina máxima* foi possível atingir uma composição de 75% de biogás. Entretanto, além das algas, vale comparar a produção utilizando as biomassas fúngicas estudadas com o trabalho de Vitanza *et.al* (2016) que empregou extrato de leveduras da produção de cerveja para produção de biogás, atingindo uma composição de 55,1%. Um valor razoavelmente menor em relação às biomassas estudadas neste trabalho.

A proporção de metano no biogás é um dos principais fatores para determinar sua qualidade, uma vez que está completamente ligado a sua eficiência energética, sendo essa diretamente proporcional. Com isso, diversos fatores podem influenciar essa proporção durante a produção, como a alcalinidade do meio (quanto mais alcalino, maior será a produção de metano) e o grau de oxidação do substrato (quanto maior a oxidação, menor a proporção de metano). Vale destacar, que a proporção de metano produzido pelas duas biomassas estudadas neste trabalho, podem ter uma série de aplicabilidades, uma vez que estão em uma proporção ideal para serem empregadas na maioria dos motores que utilizam biogás, sendo possível aplicar sua combustão e energia nos setores de transporte e cozinha. Além de ser possível a realização de um processo de purificação, por métodos como separação por membrana, adsorção química, lavagem com água, para aumentar ainda mais a eficiência energética do biogás e diminuir seu grau de toxicidade por H_2S (Rajaeifar *et al.*, 2017; Tsapekos *et al.*, 2019).

Além da proporção e potencial de volume para produção de biogás, algumas outras análises são interessantes para entender os potenciais benefícios da aplicabilidade dessas duas biomassas em biorrefinarias integradas. Entre essas análises, estão em destaque na Tabela 2, os resultados dos cálculos da redução de DQO, variável importante para se calcular o potencial de eliminação de resíduos, e dados do rendimento da produção de metano, indispensáveis para se entender o potencial de produção em grandes plantas industriais.

Tabela 2 - Informações de redução de DQO, em porcentagem e em massa, após a produção de metano, e o rendimento de produção de volume de metano por massa de DQO removida.

Amostra	Redução de DQO (%)	Redução de DQO (g/mL)	Rendimento (mL _{CH4} /g DQO removida)
Biomassa Branca	51,68 ± 3,96	1,03 ± 0,08	4,98
Biomassa Vermelha	76,29 ± 2,83	1,52 ± 0,06	5,27

Fonte: Autor (2025).

Uma das comparações mais notáveis que se pode fazer, a partir da Tabela 2, é sobre a redução de DQO que os resíduos das duas biomassas sofreram após a fermentação. Enquanto a biomassa branca teve uma redução de 51,68% ± 3,96 (cerca de 1,03 g/L de DQO), a biomassa vermelha teve uma redução de 76,29% ± 2,83 (cerca de 1,52 g/L de DQO). A diferença entre as reduções de DQO das duas biomassas foi o principal fator de impacto para que a biomassa vermelha obtivesse uma produção consideravelmente maior de metano. Uma vez que o rendimento de produção não foi tão diferente, embora discretamente maior, na biomassa vermelha. Como mostrado na mesma tabela, os rendimentos de produção de metano das biomassas branca e vermelha foram respectivamente de 4,98 mL/g DQO Removida e 5,27 mL/g

DQO Removida.

O que corrobora com a hipótese levantada sobre o impacto da presença do solvente orgânico na biomassa branca, que pode ter resultando em uma menor produção de metano. Com uma maior inibição da metanogênese, a biomassa branca acabou tendo uma menor redução de DQO, gerando um volume final de gás menor que o da biomassa vermelha. Assim como descrito no trabalho de Lage *et al.* (2021), parte da potencial produção de metano permaneceu na biomassa após a biodigestão.

Em relação à redução de DQO, vale destacar que o gerenciamento de resíduos é uma grande preocupação para a indústria, representando um gastos de R\$ 120 bilhões para o Brasil em 2020, com uma grande tendência de aumento. Em especial, a indústria de corantes é considerada uma das mais poluidoras, por conta da grande produção de resíduos e substâncias tóxicas. Com isso, a aplicação integrada da produção de biocorantes microbianos aliadas à produção de metano, podem contribuir para uma produção mais sustentável e com menos produção de resíduos (Albuquerque, 2024; Kishor *et al.*, 2021).

O trabalho de Vitanza *et.al* (2016), que empregou extrato de leveduras, atingiu uma redução de DQO semelhante ao da biomassa vermelha (72.9%), embora tenha atingido um rendimento de produção substancialmente maior (255mL/g_{DQO removida}). O trabalho Sialve *et al.* (2009) faz uma revisão de diversos casos de produção de metano por biomassa de microalgas, demonstrando uma quantidade de produção pelo menos 10 vezes superior à das biomassas branca e vermelha estudadas. Entretanto, isso não significa que o emprego das biomassas estudadas neste trabalho não seria viável em biorrefinarias, como mencionado anteriormente, grandes plantas de produção poderiam se beneficiar com a redução dos resíduos produzidos. Além disso, vale lembrar que este é um trabalho inicial empregando as biomassas estudadas para produção de biogás, e que existem novas estratégias de produção a serem estudadas para aumentar o rendimento de metano.

Na literatura, diversos trabalhos buscam aumentar o rendimento da produção de metano utilizando biomassas microbianas. Como na pesquisa de He *et al.*(2016), em que o tratamento hidrolítico a partir de *Bacillus licheniformis* foi utilizado para aumentar em até 22,7% a produção do gás. Já algumas pesquisas buscam empregar de forma mais simples a biomassa microbiana, aplicando elas em processos de co-digestão. A co-digestão é um processo que emprega a utilização de vários substratos para a serem utilizados durante a fermentação anaeróbica, tendo uma aumento de cerca de 54% no rendimento de metano. Isso ocorre, pois a junção de diferentes substratos podem equilibrar a razão de C/N e torná-la ideal para a produção. Ambas as biomassas deste trabalho demonstraram uma boa solubilidade durante os experimentos, sendo possível aplicá-las junto com substratos como resíduos agrícolas e da indústria de papel e celulose (Hubenov *et al.*, 2020; Sialve *et al.*, 2009; Vitanza *et.al.*, 2016).

Além da análise de redução de resíduos a serem gerenciados, é interessante realizar uma comparação entre as biomassas, para entender como a aplicação da biorrefinaria no processo traria benefícios como fornecimento de calor , além de redução das emissões de carbono. Uma vez que a produção energética poderia ser utilizada para fornecimento de calor para o próprio processo, não seria mais necessário, pelo menos parcialmente, a utilização de recursos fósseis. Para isso, a Tabela 3 faz um comparativo do calor recuperado por meio metano produzido, e a emissão de CO₂ seria evitada ao substituir os resíduos fósseis pelo gás.

Tabela 3 - Análise de recuperação de calor fornecida pelo metano, a partir da produção pelas biomassas estudadas, com os respectivos equivalentes energéticos fósseis.

Amostra	Recuperação de Calor ^{a,b} (Kcal/Kg _{biomassa})	Equivalente em lenha ^{a,c} (Kg_{CO2})	Equivalente em carvão ^{a,c} (Kg_{CO2})	Equivalente em óleo combustível ^{a,c} (Kg_{CO2})
Biomassa Branca	22,01	0,00064	0,0093	0,0066
Biomassa Vermelha	34,04	0,00099	0,014	0,010

Fonte: Autor (2025).

a - cálculo baseado na tabela de poder calorífico de combustíveis (Tec Calor, 2024).

b - cálculo baseado no poder calorífico de metano (CEBGAS, 2024)

c - emissões de carbono por combustível (Forest Research, 2024)

Como pode ser observado, a Tabela 3 mostra o potencial de produção de energia para o metano produzido a partir de cada quilograma de biomassa. Como esperado, a biomassa vermelha possui um maior potencial energético por conta de seu maior potencial mutagênico. Como mencionado anteriormente, o biogás obtido neste trabalho possui uma composição de metano apropriada para aplicações em motores térmicos. Segundo Khoshnevisan et al. (2020), assim como o cálculo realizado neste trabalho para ambas as biomassas, a maioria dos motores que utilizam biogás para geração de energia possuem uma eficiência térmica de cerca de 50%. Entretanto, a aplicabilidade térmica do metano vai muito além do seu uso 37 direto na planta industrial. Veículos com motores a metano podem ser usados para o transporte da matéria prima e de biocorantes produzidos. O biogás refinado apresenta características tão semelhantes ao gás natural fóssil que pode substituí-lo diretamente em diversas aplicações, incluindo a propulsão de veículos. Essa intercambialidade é uma das grandes vantagens do biogás (Jhawar, 2022).

Veículos movidos a gás natural, seja ele fóssil ou renovável (como o biogás), geralmente exigem menos manutenção e oferecem custos operacionais inferiores quando comparados a veículos a diesel equipados com sistemas de pós-tratamento de gases de escape. A economia com combustível durante o processo logístico é de grande ajuda, uma vez que de 35% a 55% do custo logístico é relacionado aos gastos com combustíveis. Um exemplo do benefício dessa aplicação é o trator T6.180 Methane Power da New Holland, que apresenta um custo inicial cerca de 32% superior a um modelo convencional. No entanto, com o gasto com metano sendo 6 vezes menor que o com diesel, essa diferença é compensada em apenas

dois anos, tornando o investimento altamente rentável a longo prazo. Já especificamente no setor de transporte, os caminhões a gás da Scania, com o motor Otto, podem fazer um transporte de 700 a 1200 km com os 5 a 6 cilindros acoplados ao caminhão (Castro, 2024; Jhawar, 2022; Romio, 2024; Scania, 2023).

Também pode ser analisado pela Tabela 3 o comparativo do equivalente energético do gás produzido pelos processos biológicos estudados e do potencial energético de alguns dos principais combustíveis fósseis utilizados. Apesar da massa de CO₂ não emitida ser discreta, é interessante de se notar como a biorrefinaria pode contribuir para um modelo industrial mais sustentável, de forma a reduzir tanto os resíduos sólidos de sua produção, quanto diminuir os resíduos de gases poluentes.

Além dos pontos mencionados anteriormente, com os benefícios ambientais e energéticos trazidos pela aplicação em processos integrados das 2 biomassas fúngicas, é indispensável realizar uma análise econômica para entender a viabilidade de aplicação da solução. Uma vez que a indústria sempre preza pelo lucro, essa pode ser uma das variáveis mais importantes para aplicação. Portanto, na Tabela 4 estão os dados das análises econômicas das duas biomassas, em relação à venda direta do biogás produzido, e a venda da eletricidade que pode ser fornecida por ele.

Tabela 4 - Análise econômica e energética da produção de metano pelas biomassas estudadas.

Amostra	Venda direta^a (R\$/ Kg biomassa)	Eletricidade^b (kWh/Kg biomassa)	Venda da eletricidade^c (R\$/ Kg biomassa)
Biomassa Branca	0,0022	0,012	0,011
Biomassa Vermelha	0,0034	0,019	0,018

Fonte: Autor (2025).

a - preço médio de referência do gás natural (ANP, 2024).

b - cálculo a partir do rendimento energético do metano de 9.97 kWh.Nm³ com uma eficiência de motor de 50% na produção (Admasu *et al.*, 2022).

c - preço médio do kWh segundo a CPFL Paulista em Set. de 2024 (NG Solar, 2024).

Na Tabela 4, é possível ver o retorno financeiro obtido da venda de metano produzido para cada quilograma de biomassa fermentada. Entretanto, esses valores, em comparação com o uso tradicional das biomassas fúngicas para produção de ração animal, ainda são bem inferiores. Uma vez que o preço final da ração para gado, gira em torno de R\$1,51/Kg,

podendo ter pequenas variações de valor (Lima *et al.*, 2022). Isto reforça o posicionamento de Mussagy *et al.* (2024), de que apesar de biocompatíveis e ecologicamente corretos, os bioprocessos envolvidos na produção de carotenóides por fungos, ainda apresentam desafios econômicos. Como por exemplo os baixos rendimentos de produção, a necessidade de extração complexa e pré-tratamentos como ruptura celular limitam sua viabilidade comercial. Em contraste, as microalgas, são capazes de utilizar carbono como matéria-prima e iniciar o processo com pegada de carbono negativa, oferecem vantagens econômicas e ambientais significativas, posicionando-se como uma alternativa mais sustentável e acessível para a produção industrial de carotenóides.

Já em relação à produção elétrica, pode-se notar que os valores financeiros são consideravelmente maiores que o da venda direta de metano, uma vez que o preço da energia é superior. Apesar do valor economizado não ser desprezível, ele ainda não consegue realizar uma mudança significativa na economia de custos de uma planta industrial. Como demonstrado no trabalho de Mussagy *et al.* (2024), os custos iniciais de investimento para uma planta de biocorantes sintetizados por *P. rhodozyma* gira em torno de US\$ 12 milhões, além de possuir um ROI (retorno do investimento) consideravelmente negativos ao longo dos 5 primeiros anos, resultando em uma inviabilidade econômica. Mas o principal destaque está no custo total da produção de biocorantes, sendo superior a US\$1.500 por grama produzida. Enquanto os corantes sintéticos estão por volta de US\$1.000 por Kg.

A análise econômica é uma das principais análises para se verificar a viabilidade da aplicação de uma biorrefinaria, principalmente em relação aos biocorantes sintetizados por microrganismos, por conta de seu alto custo de produção em comparação com os de síntese química. Sendo que os corantes microbianos ocupam apenas cerca de 20% do mercado, que será de US\$2 bilhões até 2026 (Saini; Keum, 2019). Segundo Torregrosa-Crespo *et al.* (2018), o preço de biocorantes microbianos, como a astaxantina, tenderá a diminuir principalmente por conta da biomassa microbiana gerada pelo processo de síntese. Com isso, trabalhos como este que buscam entender o potencial e propor novas rotas para a utilização da biomassa criada são de suma importância. Por fim, Liu *et al.* (2021) cita outros processos que também podem beneficiar a síntese microbiana de corantes, tornando a mais viável, como aplicações de métodos da biologia sintética, para melhorar a eficiência de produção, e o estudo de solventes verdes, que além de mais sustentável, economizam custos com a secagem.

5.3. Aplicação dos resultados em escala industrial

A principal vantagem analisada em estudos com este, relacionado a utilização de estratégias integradas de biorrefinarias, diz respeito à aplicabilidade, em cenários industriais reais, dos resultados obtidos em nível laboratorial. Levando-se isso em conta, foi comparado o hipotético desempenho da aplicação da estratégia de biorrefinaria, a partir da produção de metano, para ambas as biomassas estudadas (branca e vermelha) como demonstrado na Tabela 5. Para esse efeito, foi levado em conta a produção média de carotenóides por leveduras, 46,5 mg/g de biomassa seca, encontrado no estudo de Fathi *et al.* (2020).

Além da produção real realizada por indústrias de carotenóides, sendo uma de grande produção (40 toneladas anuais) realizadas pela Basf, e outra de menor produção (1 tonelada anual), da E.I.D. Parry, uma empresa indiana. Embora a produção de ambas as empresas não seja 100% de base biotecnológica, a intenção foi calcular os resultados de uma substituição completa da produção pelos microrganismos estudados neste trabalho, não levando em conta nos cálculos a necessidade de adaptações técnicas e de diferenças na eficiência da produção em relação a produção atual (Viana *et al.*, 2020).

Tabela 5 - comparação da aplicação dos resultados experimentais, em cenários industriais, das biomassas branca e vermelha.

Aplicação	Conversão de resíduos (tonelada/ano)	Recuperação de Calor (Kcal/ano) ^c	CO ₂ não emitido (kg/ano) ^c	Produção Energética (kWh/ano) ^d	Economia Financeira (R\$) ^e
Biomassa Branca (planta maior) ^a	444,56	1,89 . 10 ⁷	5707,86	11104,64	9883,14
Biomassa Vermelha (planta maior) ^a	656,26	2,93 . 10 ⁸	8828,05	17174,98	15285,74
Biomassa Branca (planta menor) ^b	11,11	4,73 . 10 ⁵	142,69	277,61	247,07
Biomassa Vermelha (planta menor) ^b	16,41	7,32 . 10 ⁵	220,69	429,37	382,13

Fonte: Autor (2025)

a - Produção anual de carotenóides da Basf (Viana *et al.*, 2020).

b - Produção anual de carotenóides da E.I.D. Parry (Viana *et al.*, 2020).

c - Cálculo baseado na tabela de poder calorífico de óleo combustível (Tec Calor, 2024).

d - Cálculo a partir do rendimento energético do metano de 9.97 kWh.Nm³ com uma eficiência de motor de 50% na produção (Admasu *et al.*, 2022).

e - Preço médio do kWh segundo a CPFL Paulista em Set. de 2024 (NG Solar, 2024).

A partir da tabela apresentada, é possível notar que a aplicação da estratégia integrada de produção de biogás possui um grande potencial de ação em escala industrial, principalmente em relação a grandes indústrias, como a Basf. É notório como a produção de biogás pode diminuir em grande quantidade a produção de resíduos orgânicos nas indústrias, podendo chegar a quase 700 toneladas anuais em um dos casos apresentados. Isso mostra que a estratégia pode diminuir consideravelmente problemas ambientais, ao mesmo tempo que diminui o custo das indústrias com a gestão de resíduos. Já em relação a diminuição de resíduos de gasosos, existe um potencial de redução de quase 9 toneladas anuais de CO₂.

Apesar dos grandes benefícios ambientais, pode se dizer que os benefícios energéticos e econômicos não são tão grandes levando em conta os gastos industriais. Todavia, os resultados obtidos não são desprezíveis, principalmente em relação a biomassa vermelha, que tem o potencial de trazer uma economia de mais de R\$ 15000 e uma produção que não chega a 18000 kWh por ano.

Além disso, como esperado, os benefícios foram maiores nos cenários utilizando a biomassa vermelha em relação à branca, uma vez que nos resultados em laboratório, a biomassa vermelha obteve uma melhor eficiência de produção de gás e de taxa de conversão de DQO. Por fim, vale notar que o maior impacto de benefícios se deu em um cenário hipotético em uma indústria de maior produção, em comparação com a de menor produção. Isso abre oportunidade para mais estudos utilizando biomassas fúngicas em biorrefinaria, em especial para produção de biocorantes, para aumentar sua eficiência e tornar a produção de biocorantes mais viável financeiramente.

6. CONCLUSÃO

O trabalho apresentado demonstrou resultados interessantes, ao comparar a produção de biogás entre as duas biomassas (*Phaffia rhodozyma* e *Talaromyces amestolkiae*), relacionado a utilização desses substratos fúngicos em processos industriais integrados, tendo a biomassa vermelha obtido valores superiores de volume de produção e rendimento de metano por DQO removida. Duas possíveis hipóteses para a diferença de produção entre as biomassas são uma possível inibição por solvente, presente na biomassa branca, e a diferença da composição bioquímica entre as biomassas. Já em relação a aplicação industrial, o principal benefício encontrado diz respeito às vantagens ambientais, por conta do grande potencial de redução de DQO que ambas as biomassas obtiveram, mas com destaque para a biomassa vermelha, que obteve uma redução 0,68 vezes maior que a redução da biomassa branca, podendo chegar a uma redução de 600 toneladas anuais de resíduos orgânicos em escala industrial. No que se refere a análise energética, os valores de eletricidade produzidos não passam, no melhor dos casos, de mais de 17000 kWh por ano em grandes indústrias. Um valor não desprezível, porém pequeno relacionado aos gastos energéticos de grandes plantas industriais. Da mesma forma, a análise econômica indica que embora tenha sido possível realizar uma economia de custos para produção, o valor economizado com a aplicação de ambas as biomassas não é o suficiente para diminuir os custos da produção de biocorantes em larga escala.

Com isso, por ser um trabalho inicial no que se diz respeito à utilização de substrato fúngico para produção de biogás, ainda é necessário o desenvolvimento de novas estratégias para otimizar a produção de metano a fim de viabilizar a produção de biocorantes. Levando em conta trabalhos semelhantes da literatura, as biomassas estudadas podem ser empregadas em processos de codigestão com substratos agrícolas para aumentar seu rendimento. Bem como, no estudo de novas estratégias de extração que possuam uma ação menos inibidora à metanogênese.

REFERÊNCIAS

ADMASU, A.; BOGALE, W.; MEKONNEN, Y. Experimental and simulation analysis of biogas production from beverage wastewater sludge for electricity generation. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 9107, 1 June 2022.

AGOSTINETTO, D. *et al.* Experimental and simulation analysis of biogas production from beverage wastewater sludge for electricity generation. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 9107, 1 June 2022.

ALBUQUERQUE, F. **Gestão de resíduos no Brasil poderá custar R\$ 168,5 bilhões em 2050**. 2024. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2024-08/gestao-de-residuos-no-brasil-podera-custar-r-1685-bilhoes-em-2050#:~:text=Segundo%20a%20pesquisa%2C%20at%C3%A9%2020,os%20custos%20com%20as%20externalidades>. Acesso em: 1 dez. 2024.

ALVIM, J. C. *et al.* Biorrefinarias: conceitos, classificação, matérias primas e produtos. **Journal of Bioenergy And Food Science**, v. 1, n. 8, p. 61-77, 15 jan. 2015.

AMANI, T.; NOSRATI, M.; SREEKRISHNAN, T. R. Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects — a review. **Environmental Reviews**, v. 18, p. 255-278, Dec. 2010.

AMAY, A.; SILVA, D. D.; SANTOS, F. C. **Cultivo do sorgo biomassa para cogeração de energia elétrica**. 10. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, DC, Estados Unidos da América, 1998.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, DC, Estados Unidos da América, 2005.

Brasil. ANEEL. Resolução nº 1.059/2023, de 7 de fevereiro de 2023. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 7 fev. 2023. Disponível em: <https://www2.aneel.gov.br/cedoc/ren20231059.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2024.

ANP. **Preço de referência do gás natural**. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/royalties-e-outras-participacoes/preco-de-referencia-do-gas-natural>. Acesso em: 16 nov. 2024.

ASSESSORIA ESPECIAL DE COMUNICAÇÃO SOCIAL (Brasil). Ministério de Minas e Energia. **Biomassa: resíduos que são transformados em energia**. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/noticias/biomassa-residuos-que-sao-transformados-em-energia>. Acesso em: 27 dez. 2024.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Empresa de Pesquisa Energética. **Plano Decenal de Expansão de Energia 2029**, Brasília, DF, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/secretarias/sntep/publicacoes/plano-decenal-de-expansao-de-energia>

sao-de-energia/pde-2029-a-2021/pde-2029/plano-decenal-de-expansao-de-energia-pde-2029.pdf/view. Acesso em: 16 nov. 2024.

BUDDHIWANT, P. *et al.* Phytase production by solid-state fermentation of groundnut oil cake by *Aspergillus niger*: a bioprocess optimization study for animal feedstock applications. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 46, n. 6, p. 531-538, 11 Aug. 2016.

CAPODAGLIO, A.; CALLEGARI, A.; LOPEZ, M. European framework for the diffusion of biogas uses: emerging technologies, acceptance, incentive strategies, and institutional-regulatory support. **Sustainability**, v. 8, n. 4, p. 298, 24 Mar. 2019.

CASTRO, D. **Novos tratores usam metano da fazenda como combustível 6 vezes mais barato.** **UOL Economia**, 3 maio 2024. Disponível em: <https://economia.uol.com.br/noticias/redacao/2024/05/03/novos-tratores-usam-metano-da-fazenda-como-combustivel-6-vezes-mais-barato.htm>. Acesso em: 27 dez. 2024.

CEBGAS. **Gás Natural.** Disponível em: <https://www.cebgas.com.br/gas-natural>. Acesso em: 19 nov. 2024.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios.** 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2007.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources: an introduction.** Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008.

DZURENOVA, S. *et al.* Mucoromycota fungi as powerful cell factories for modern biorefinery. **Applied Microbiology And Biotechnology**, v. 106, n. 1, p. 101-115, 10 Dec. 2021.

ENGELMANN, J.; AL-SAIDI, M.; HAMHABER, J. Concretizing green growth and sustainable business models in the water sector of Jordan. **Resources**, v. 8, n. 2, p. 92, 10 May 2019.

EUROPEAN BIOGAS ASSOCIATION (Belgica). **About biogas and biomethane.** 2023. Disponível em: <https://www.europeanbiogas.eu/>. Acesso em: 25 Aug. 2023.

FATHI, Z. *et al.* Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of β -carotene from hydrophobic substrates. **Fems Yeast Research**, v. 21, n. 1, p. 1-11, 17 Dec. 2020.

FNR – AGENCY FOR RENEWABLE RESOURCES E. V. **Biorefinery roadmap.** Berlim, Druckerei Schlesener, Alemanha, 2012.

FOREST RESEARCH. **Carbon emissions of different fuels.** Disponível em: <https://www.forestresearch.gov.uk/tools-and-resources/fthr/biomass-energy-resources/reference-biomass/facts-figures/carbon-emissions-of-different-fuels/>. Acesso em: 19 Nov. 2024.

GARCÍA-TORREIRO, M.; LU-CHAU, T. A.; LEMA, J. M. Biopolymers production by a halophilic bacteria in an integrated biorefinery. **New Biotechnology**, v. 44, p. 51, Oct. 2018.

GAUR, S. *et al.* Application of microbial resources in biorefineries: current trend and future prospects. **Heliyon**, v. 10, n. 8, p. 2086, Apr. 2024.

GOEL, M.; KAUR, M.; PESHWANI, H. A brief mapping of patents in microalgae based systems. **Microalgae-Based Systems**, p. 479-506, 18 Sept. 2023.

GOLDEMBERG, J. Biomassa e energia. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 582-587, 2009.

GUEDES, J. M.; SANTOS, A. G. D.; SANTOS, H. S. Uso da biomassa como fonte energética para produção de biocombustíveis. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, Universidade Estadual de Roraima, p. 1, 31 ago. 2021.

HE, S. *et al.* Enhanced methane production from microalgal biomass by anaerobic bio-pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 204, p. 145-151, mar. 2016.

HUBACEK, K. *et al.* Evidence of decoupling consumption-based CO₂ emissions from economic growth. **Advances In Applied Energy**, v. 4, p. 100074, Nov. 2021.

HUBENOV, V. *et al.* Biomethane production using ultrasound pre-treated maize stalks with subsequent microalgae cultivation. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 34, n. 1, p. 800-809, 1 Jan. 2020.

JHAWAR, P. S. **Motores a gás natural: perguntas respondidas**. 2022. Disponível em: <https://www.cummins.com/pt/news/2022/05/04/natural-gas-engines-questions-answered>. Acesso em: 27 dez. 2024.

JONG, E.; JUNGMEIER, G. Biorefinery concepts in comparison to petrochemical refineries. **Industrial Biorefineries & White Biotechnology**, p. 3-33, 2015.

KADRI, M. S. *et al.* Greening the oil industry: microalgae biorefinery for sustainable oil-produced water treatment and resource recovery. **Journal Of Water Process Engineering**, v. 60, p. 105259, Apr. 2024.

KALRA, R.; CONLAN, X. A.; GOEL, M. Fungi as a potential source of pigments: harnessing filamentous fungi. **Frontiers In Chemistry**, v. 8, n. 8, p. 1-23, 8 May 2020.

KEHILI, M. *et al.* Biorefinery cascade processing for creating added value on tomato industrial by-products from Tunisia. **Biotechnology For Biofuels**, v. 9, n. 1, p. 261, Dec. 2016.

KISHOR, R. *et al.* Ecotoxicological and health concerns of persistent coloring pollutants of textile industry wastewater and treatment approaches for environmental safety. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, p. 105012, Apr. 2021.

LAGE, S. *et al.* Impact of organic solvents on lipid-extracted microalgae residues and wastewater sludge co-digestion. **Bioresource Technology Reports**, v. 16, p. 100850, Dec. 2021.

LE MER, J.; ROGER, P. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: a review. **European Journal of Soil Biology**, v. 37, n. 1, p. 25-50, 2001.

LIMA, L. S. F. R. de *et al.* Custo de produção de pecuária de corte em pequena propriedade no município de Cacaulândia, RO. **EduTec**, Cacaulândia - RO, v. 3, n. 1, p. 17-24, June 2022.

LIN, B.; ZHU, J. The role of renewable energy technological innovation on climate change: empirical evidence from china. **Science Of The Total Environment**, v. 659, p. 1505-1512, Apr. 2019.

LIU, C. *et al.* Carotenoids from fungi and microalgae: a review on their recent production, extraction, and developments. **Bioresource Technology**, v. 337, p. 125398, Oct. 2021.

LIU, Z. *et al.* Strategies for an improved extraction and separation of lipids and carotenoids from oleaginous yeast. **Separation And Purification Technology**, v. 257, p. 117946, Feb. 2021.

LORENSETTI, R. **Histórico do uso da biomassa no Brasil e no mundo**. 2024. Disponível em: <https://blog.coontrol.com.br/uso-da-biomassa-no-brasil-e-no-mundo/#:~:text=No%20Brasil%2C%20o%20uso%20da,com%20o%20lan%C3%A7amento%20do%20ProAlcool..> Acesso em: 19 ago. 2024.

LUCAS, S. D. M. *et al.* Energy recovery from agro-industrial wastewaters through biohydrogen production: kinetic evaluation and technological feasibility. **Renewable Energy**, v. 75, p. 496-504, 2015.

MAKEPA, D. C.; CHIHOBBO, C. H. Barriers to commercial deployment of biorefineries: a multi-faceted review of obstacles across the innovation chain. **Heliyon**, v. 10, n. 12, p. 32649, June 2024.

MALEKI, M. *et al.* A novel thermostable cellulase cocktail enhances lignocellulosic bioconversion and biorefining in a broad range of pH. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 349-360, July 2020.

MAPARI, S. *et al.* Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale. **Microbial Cell Factories**, v. 8, n. 1, p. 1-15, 27 Apr. 2009.

MATTHEWS, H. D.; WYNES, S. Current global efforts are insufficient to limit warming to 1.5°C. **Science**, v. 376, n. 6600, p. 1404-1409, 24 June 2022.

MINISTÉRIO DA NUTRIÇÃO, AGRICULTURA E DEFESA DO CONSUMIDOR (Alemanha). **Guia prático do biogás: geração e utilização**. 5. ed. Gülzow: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, 2010.

MITRA, M.; NAGCHAUDHURI, A., **Practices and perspectives in sustainable bioenergy**. Índia: Springer, 2020.

MUSSAGY, C. U. *et al.* Is the carotenoid production from *Phaffia rhodozyma* yeast genuinely sustainable? a comprehensive analysis of biocompatibility, environmental assessment, and techno-economic constraints. **Bioresource Technology**, v. 397, p. 130456, Apr. 2024.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **Sobre o nosso trabalho para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil**. 2025. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 15 jun. 2025.

NEVIN, K. P. *et al.* Microbial electrosynthesis: feeding microbes electricity to convert carbon dioxide and water to multicarbon extracellular organic compounds. **Mbio**, v. 1, n. 2, p. 1, 29 June 2010.

NG SOLAR. **Preço da energia elétrica CPFL 2024**. 2024. Disponível em: <https://www.ngsolar.com.br/single-post/preco-kwh-cpfl#:~:text=Com%20o%20reajuste%20de%202024,%24%200%2C73%20por%20KWh>. Acesso em: 16 nov. 2024.

NOGUEIRA, M. F. M.; RENDEIRO, G. Caracterização energética da biomassa vegetal. BARRETO, E. J. F. (Coord.). **Combustão e gaseificação da biomassa sólida: soluções energéticas para a Amazônia**. Brasília, DF: Ministério de Minas e Energia, 2008. p. 52-63.

OKAMOTO, K. *et al.* Direct ethanol production from starch, wheat bran and rice straw by the white rot fungus *Trametes hirsuta*. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 48, n. 3, p. 273-277, Mar. 2011.

OLIVEIRA, M. M. **Estudo da inclusão de compartimentos em reatores modelo canadense**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

OLIVEIRA, F. de *et al.* Sustainability feasibility of fungi-based biocolorants by biotechnological routes. **Chemical Engineering Journal**, v. 494, p. 152942, Aug. 2024.

PEIXOTO, G. *et al.* Hydrogen and methane production, energy recovery, and organic matter removal from effluents in a two-stage fermentative process. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 168, n. 3, p. 651-671, 2012.

PERVAIZ, M.; CORREA, C. A. Biorrefinaria: desenvolvimento de plataformas químicas através de tecnologias integradas de biomassa. **Polímeros**, v. 19, n. 1, p. 9-11, 2009.

POLANOWSKA, K. Lactic acid bacteria in biorefineries. **Lactic Acid Bacteria As Cell Factories**, p. 49-76, 2023.

PÖRTNER, H. O. *et al.* (Eds.). **Mudanças climáticas 2022: impactos, adaptação e vulnerabilidade**. contribuição do grupo de trabalho ii para o sexto relatório de avaliação do

painel intergovernamental sobre mudanças climáticas. 10. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2022.

PÖSCHL, M.; WARD, S.; OWENDE, P. Evaluation of energy efficiency of various biogas production and utilization pathways. **Applied Energy**, v. 87, n. 11, p. 3305-3321, Nov. 2010.

POSSA, R. D. *et al.* Influência dos nutrientes: carboidratos, lipídios e proteínas na produção de metano. In: **Congresso Nacional De Engenharia De Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**, 2016, Campina Grande. Anais [...]. Campina Grande: Realize Editora, 2016.

PRECEDENCE RESEARCH. **Biorefinery market size, share, and trends 2024 to 2034**. 2023. Disponível em: <https://www.precedenceresearch.com/biorefinery-market>. Acesso em: 25 Aug. 2024.

RAJAEIFAR, M. A. *et al.* Electricity generation and GHG emission reduction potentials through different municipal solid waste management technologies: a comparative review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 414-439, Nov. 2017.

ROMIO, F. 4 Dicas de economia de combustível para transportadoras. In: **Blog KMM**. Ponta Grossa, 4 jan. 2024. Disponível em: <https://kmm.com.br/blog/4-dicas-de-economia-de-combustivel-para-transportadoras/>. Acesso em: 27 dez. 2024.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Microbial platforms to produce commercially vital carotenoids at industrial scale: an updated review of critical issues. **Journal Of Industrial Microbiology And Biotechnology**, v. 46, n. 5, p. 657-674, 1 May 2019.

SAINI, S. *et al.* Fungal lignocellulolytic enzymes and lignocellulose: a critical review on their contribution to multiproduct biorefinery and global biofuel research. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 193, p. 2304-2319, Dec. 2021.

SAMSON, R.; LEDUYT, A. Detailed study of anaerobic digestion of *Spirulina maxima* algal biomass. **Biotechnology And Bioengineering**, v. 28, n. 7, p. 1014-1023, July 1986.

SCANIA. **Caminhões Scania a gás**. 2023. Disponível em: <https://www.scania.com/br/pt/home/products/trucks/gas-truck.html>. Acesso em: 27 Dec. 2024.

SHARMA, V. *et al.* Insights into the recent advances of agro-industrial waste valorization for sustainable biogas production. **Bioresource Technology**, v. 390, p. 129829, Dec. 2023.

SIALVE, B.; BERNET, N.; BERNARD, O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 4, p. 409-416, July 2009.

SICA, D. *et al.* Biogas-based systems: an opportunity towards a post-fossil and circular economy perspective in Italy. **Energy Policy**, v. 182, p. 113719, Nov. 2023.

SILVA, T. A. *et al.* Biofuel from wastewater-grown microalgae: a biorefinery approach using hydrothermal liquefaction and catalyst upgrading. **Journal Of Environmental Management**, v. 368, p. 122091, Sept. 2024.

SINGH, U. B.; AHLUWALIA, A. S. Microalgae: a promising tool for carbon sequestration. **Mitigation And Adaptation Strategies For Global Change**, v. 18, n. 1, p. 73-95, 1 June 2012.

SON, J. *et al.* Consolidated microbial production of four-, five-, and six-carbon organic acids from crop residues: current status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 127001, May 2022.

SON, J. *et al.* Customized valorization of waste streams by *Pseudomonas putida*: state-of-the-art, challenges, and future trends. **Bioresource Technology**, v. 371, p. 128607, Mar. 2023.

SOUZA, J.; ROSSINI, E. G.; SCHAEFFER, L. Ferramentas computacionais para projetos de biodigestores. In: **CONGRESSO SOBRE GERAÇÃO DISTRIBUÍDA E ENERGIA NO MEIO RURAL – AGRENER GD**, 2013, Itajubá. Anais [...]. Itajubá, 2013.

TABELA - poder calorífico inferior. TEC CALOR, 2024. Disponível em: <https://www.ecoverden.com.br/files/tabelaPoderCalorificoGrifado.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2024.

TORREGROSA-CRESPO, J. *et al.* Exploring the valuable carotenoids for the large-scale production by marine microorganisms. **Marine Drugs**, v. 16, n. 6, p. 203, 8 June 2018.

TROIANO, D. *et al.* Status of filamentous fungi in integrated biorefineries. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 117, p. 109472, Jan. 2020.

TSAPEKOS, P. *et al.* Methane oxidising bacteria to upcycle effluent streams from anaerobic digestion of municipal biowaste. **Journal of Environmental Management**, v. 251, p. 109590, Dec. 2019.

TSOUKO, Erminta *et al.* Integrated biorefinery development for the extraction of value-added components and bacterial cellulose production from orange peel waste streams. **Renewable Energy**, v. 160, p. 944-954, Nov. 2020.

UDOP. **Geração de energia com biomassa cresceu 7% de janeiro a julho de 2023.** 2023.

Disponível em:

[https://www.udop.com.br/noticia/2023/09/21/geracao-de-energia-com-biomassa-cresceu-7-de-janeiro-a-julho-de-2023.html#:~:text=A%20gera%C3%A7%C3%A3o%20de%20energia%20a,A%20e%20Bioenergia%20\(Unica\)](https://www.udop.com.br/noticia/2023/09/21/geracao-de-energia-com-biomassa-cresceu-7-de-janeiro-a-julho-de-2023.html#:~:text=A%20gera%C3%A7%C3%A3o%20de%20energia%20a,A%20e%20Bioenergia%20(Unica)). Acesso em: 19 ago. 2024.

V, K. K. *et al.* Upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for bio-methane production from limed tannery fleshings: lab and pilot scale reactors. **Sustainable Chemistry One World**, v. 2, p. 100006, June 2024.

VERMA, M. *et al.* Biofuels production from biomass by thermochemical conversion technologies. **International Journal Of Chemical Engineering**, v. 2012, p. 1-18, 2012.

VIANA, N. M. *et al.* Caracterização do mercado de betacaroteno a partir da microalga *Dunaliella* sp. In: VI ENCONTRO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA EMBRAPA AGROENERGIA, 6., 2020, Online. Anais [...] . Online: Embrapa Agroenergia, 2020. p. 22-28.

VITANZA, R. *et al.* Biovalorization of brewery waste by applying anaerobic digestion. **Chemical And Biochemical Engineering Quarterly Journal**, v. 30, n. 3, p. 351-357, 10 Oct. 2016.

XU, X. *et al.* Enhanced methane production in anaerobic digestion: a critical review on regulation based on electron transfer. **Bioresource Technology**, v. 364, p. 128003, Nov. 2022.

YADAV, M. *et al.* Biological treatment of lignocellulosic biomass by *Chaetomium globosporum*: process derivation and improved biogas production. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 176-183, May 2019.

YEN, H.; BRUNE, D. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 1, p. 130-134, Jan. 2007.

ZWIETERING, M. H. *et al.* Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1875-1881, 1990.