UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

JOÃO ANTÔNIO SILVA SOUSA

INFLUÊNCIA DE ADITIVOS NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS BOVINOS LEITEIROS

Botucatu

2021

JOÃO ANTÔNIO SILVA SOUSA

INFLUÊNCIA DE ADITIVOS NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS BOVINOS LEITEIROS

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

Orientador: Prof. Dr. Jorge de Lucas Junior

Botucatu

2021

S725i

Sousa, João Antônio Silva
Influência de aditivos na digestão anaeróbia de dejetos bovinos leiteiros / João Antônio Silva Sousa. -- Botucatu, 2021
78 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: Jorge de Lucas Junior

1. biodigestor. 2. energia renovável. 3. inóculo. 4. ionóforo. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INFLUÊNCIA DE ADITIVOS NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS BOVINOS LEITEIROS

AUTOR: JOÃO ANTÔNIO SILVA SOUSA
ORIENTADOR: JORGE DE LUCAS JUNIOR

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

Prof. Dr. JORGE DE LUCAS JUNIOR (Participaçao Virtual)
Engenharia Rural / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP

Prof.ª Dr.ª ROBERTA PASSINI (Participaçao Virtual)
Engenharia Agrícola / Universidade Estadual de Goiás

Prof.ª Dr.ª VALERIA CRISTINA RODRIGUES SARNIGHAUSEN (Participaçao Virtual)
Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 03 de setembro de 2021

À minha companheira, Luana Alves Akamine.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A minha companheira, Luana.

Ao professor, Orientador, Dr. Jorge de Lucas Junior pela confiança na realização deste trabalho, pela oportunidade, contribuições e ensinamentos para meu desenvolvimento pessoal e como pesquisador.

A empresa Premix pela confiança e gentileza em ceder os produtos comerciais utilizados nessa pesquisa. Ao Dr. André Pastori D'Aurea por dispor-se a contribuir com este trabalho.

Aos membros da banca examinadora de qualificação e defesa por se disporem a contribuir e aprimorar este trabalho.

A Aline F. pela amizade, ajuda e troca de experiências durante a condução do experimento e análise dos dados.

A professora e amiga Roberta Passini pelo apoio nesta conquista.

Aos familiares que torceram, deram forças, participam da minha vida e entenderam minha ausência.

Ao programa Energia na Agricultura, FCA e FCAV pelo suporte, e todos os professores e funcionários que me auxiliaram, contribuíram e participaram de alguma maneira para a realização deste trabalho e em minha formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

O uso de aditivos, como promotores de crescimento, na dieta de bovinos, pode interferir na digestão anaeróbia (DA) dos dejetos desses animais. Desta forma, o objetivo com este trabalho foi avaliar a influência de aditivos sintéticos e naturais, na DA de dejetos de bovinos (DB) leiteiros, avaliando a produção e qualidade do biogás em ensaios batelada e semi-contínuo. O ensaio batelada, com tempo de retenção hidráulica (TRH) de 135 dias, foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (6x3), correspondendo a seis inserções de aditivos (sem aditivo; natural 1 (Fator P Premix); natural 2 (Fator P Premix); monensina (MON); virginiamicina (VM) e MON + VM), dosados diretamente ao dejeto, e três tipos de diluições (água; ½ água e ½ biofertilizante e biofertilizante), com 4 repetições por tratamento. O ensaio semi-contínuo (TRH de 30 dias) foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 3 tratamentos (sem aditivo; natural 1 e MON + VM) e 4 repetições. No ensaio batelada, a diluição não afetou os rendimentos de biogás e metano (277,2 e 190,4 L kg_{SVadic}^{-1}, respectivamente), do tratamento sem aditivo. Para a diluição com água, as adições de MON e de VM apresentaram maior influência no processo, acarretando menores rendimentos de metano (114,4 e 119,4 L kg_{SVadic}^{-1}, respectivamente), comparados aos tratamentos controle e natural 1 (175,6 e 174,0 L kg_{SVadic}^{-1}, respectivamente). As diluições com ½ água e ½ biofertilizante e com biofertilizante elevaram os rendimentos de biogás e metano dos demais tratamentos que receberam algum dos aditivos, que foram acompanhados das maiores taxas de remoções de sólidos. O biofertilizante, independente da proporção adicionada na diluição, reduziu os tempos de partida para todos os tratamentos. No ensaio semi-contínuo não houve influência do aditivo N1 e da MON+VM sobre a DA do DB, para todas os parâmetros avaliados. Portanto, o uso do aditivo natural 1 se mostrou como um possível substituto promissor aos aditivos sintéticos, uma vez que se pode evitar a ocorrência de resíduos de antibióticos excretados nos dejetos, e dessa forma permite a aplicação do biofertilizante de forma segura nas culturas, e a comercialização global de produtos de origem animal.

Palavras-chave: biodigestor; energia renovável; inóculo; ionóforo.

ABSTRACT

The use of additives, such as growth promoters, in the diet of cattle, can interfere with the anaerobic digestion (AD) of these animals' waste. Thus, the objective of this work was to evaluate the influence of synthetic and natural additives on the DA of dairy cattle manure (CM), evaluating the production and quality of biogas in batch and semi-continuous essays. The batch essay, with hydraulic retention time (HRT) of 135 days, was carried out in a completely randomized design, in a factorial scheme (6x3), corresponding to six insertions of additives (no additive; natural 1 (Factor P Premix); natural 2 (Factor P Premix); monensin (MON); virginiamycin (VM) and MON+VM), directly dosed to the manure, and three types of dilutions (water; ½ water and ½ biofertilizer and biofertilizer), with 4 replications per treatment. The semi-continuous trial (30 days HRT) was carried out in a completely randomized design, with 3 treatments (no additive; natural 1 and MON+VM) and 4 replications. In the batch trial, the dilution did not affect the biogas and methane yields (277.2 and 190.4 L $kg_{VSadded}^{-1}$, respectively) of the treatment without additives. For dilution with water, the additions of MON and VM had a larger influence on the process, resulting in lower methane yields (114.4 and 119.4 L $kg_{VSadded}^{-1}$, respectively), compared to the control and natural 1 treatments (175.6 and 174.0 L $kg_{VSadded}^{-1}$, respectively). Dilutions with ½ water and ½ biofertilizer and with biofertilizer increased the yields of biogas and methane in the other treatments that received some of the additives, which were accompanied by higher rates of solids removal. The biofertilizer, regardless of the proportion added in the dilution, reduced the starting times for all treatments. In the semi-continuous test, there was no influence of the additive N1 and MON+VM on the DA of the CM, for all parameters evaluated. Therefore, the use of natural 1 additive proved to be a promising possible substitute for synthetic additives, as it can prevent the occurrence of antibiotic residues excreted in manure, and thus allows the application of biofertilizer safely in crops, and the global marketing of animal products.

Keywords: biodigester; ionophore; inoculum; renewable energy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemática das rotas metabólicas envolvidas no processo de digestão anaeróbia 30
Figura 2 - Vista superior, vista frontal e corte do biodigestor batelada, medidas em mm 36
Figura 3 - Desenho esquemático do biodigestor tubular semi-contínuo: camâra de fermentação (A) e gasômetro (B), medidas em mm.....40
Figura 4 - Temperaturas médias, máximas e mínimas no período de avaliação .46
Figura 5 - Teor de metano no biogás para os tratamentos em que os dejetos foram diluídos em água (A), ½ água e ½ biofertilizante (B) e biofertilizante (C) 50
Figura 6 - Produção diária de biogás para os tratamentos em que os dejetos foram diluídos com água (A), ½ água e ½ biofertilizante (B) e biofertilizante (C) 56
Figura 7 - Produção acumulada de biogás para os tratamentos em que os dejetos foram diluídos em água (A), ½ água e ½ biofertilizante (B) e biofertilizante (C) 57
Figura 8 - Temperaturas médias, máximas e mínimas durante o período do ensaio com biodigestores semi-contínuos.....59
Figura 9 - Produção diária de biogás para os tratamentos analisados.....62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização físico-química do dejeto bovino leiteiro e biofertilizante utilizados nos biodigestores bateladas.....37
Tabela 2 – Composição do substrato de cada tratamento para a digestão anaeróbia em biodigestores bateladas 38
Tabela 3 - Caracterização físico-química do dejeto bovino leiteiro utilizado nos biodigestores semi-contínuos.....41
Tabela 4 - Composição do substrato (carga diária) de cada tratamento para a digestão anaeróbia em biodigestores semi-contínuos 42
Tabela 5 - Parâmetros físico-químicos e metodologias utilizadas nas análises experimentais.....42
Tabela 6 - Caracterização físico-química dos afluentes dos tratamentos para as diferentes diluições 45
Tabela 7 - Resumo da análise de variância (valor de p) para as variáveis, produções totais de biogás e de metano, reduções de sólidos totais (STred) e voláteis (SVred) e produções específicas de biogás e de metano, em função dos fatores, aditivo e diluição 47
Tabela 8 - Interação entre aditivo e diluição para as variáveis, produções totais de biogás e de metano da digestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros.....48
Tabela 9 - Interação entre aditivo e diluição para as variáveis, produções específicas de biogás da digestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros.....52
Tabela 10 - Interação entre aditivo e diluição para as variáveis, produções específicas de metano da digestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros.....53
Tabela 11 - Efeito principal da diluição para as variáveis, reduções de sólidos totais (STred) e sólidos voláteis (SVred) 54
Tabela 12 - Médias e síntese da análise de variância para as variáveis, pH, rendimentos de biogás e de metano, teor de metano e reduções de sólidos totais (STred) e sólidos voláteis (SVred).....60
Tabela 13 – Médias e síntese da análise de variância para as variáveis, produções específicas de biogás e de metano.....61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C	Carbono
CD	Carga diária
C/N	Relação Carbono / Nitrogênio
COT	Carbono orgânico total.
COV	Carga orgânica volumétrica
CSTR	Continuously stirred tank reactor /Reator tanque de agitação contínua
DA	Digestão anaeróbia
DB	Dejetos de bovinos
GEE	Gases de efeito estufa
GNV	Gás natural veicular
GRAs	Genes de resistência a antibióticos
$kg_{SV}\ L^{-1}\ d^{-1}$	Quilograma de sólidos voláteis por litro do digestor por dia
$L\ d^{-1}$	Litros por dia
$L\ kg_{STadic}^{-1}$	Litros por quilograma de sólidos totais adicionados
$L\ kg_{SVadic}^{-1}$	Litros por quilograma de sólidos voláteis adicionados
MON	Monensina
MS	Matéria seca
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEB	Produção específica de biogás
PEM	Produção específica de metano
ST	Sólidos totais
ST_{adic}	Sólidos totais adicionados
SV	Sólidos voláteis
SV_{adic}	Sólidos voláteis adicionados
TRH	Tempo de retenção hidráulica
VM	Virginiamicina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 21
2 REVISÃO DE LITERATURA 23
2.1 Bovinocultura leiteira e geração de resíduos 23
2.2 Definição de aditivo e sua utilização na nutrição de ruminantes 24
2.2.1 Influência de aditivos na digestão anaeróbia 27
2.3 Digestão anaeróbia 29
2.3.1 Processo de digestão anaeróbia e parâmetros de influência 29
2.3.2 Produtos 31
2.3.2.1 Biogás 31
2.3.2.2 Biofertilizante 32
2.4 Uso do biofertilizante na diluição do substrato 34
3 MATERIAL E MÉTODOS 35
3.1 Substrato 35
3.2 Configuração dos ensaios 35
3.2.1 Primeiro ensaio – digestão anaeróbia em biodigestores bateladas 36
3.2.2 Segundo ensaio – digestão anaeróbia em biodigestores semi-contínuos 39
3.3 Métodos analíticos 42
3.3.1 Monitoramento do biogás 43
3.4 Análise estatística 44
3.4.1 Ensaio batelada 44
3.4.2 Ensaio semi-contínuo 44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 45
4.1 Ensaio com biodigestores bateladas 45
4.2 Ensaio com biodigestores semi-contínuos 59
5 CONCLUSÕES 65
REFERÊNCIAS 67

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é uma consolidada potência mundial na produção de leite. A biotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento do setor da bovinocultura leiteira e da agropecuária de forma geral, e está presente desde a nutrição animal, até o tratamento e reutilização dos resíduos gerados.

A pesquisa sobre a nutrição animal tem alcançado avanços substanciais, sobretudo pelo estudo de compostos (aditivos) adicionados à dieta, que proporcionam o aumento na produtividade dos animais (JOUANY; MORGAVI, 2007; FERREIRA, 2018).

Os aditivos são substâncias, naturais ou sintéticas, ou organismos vivos (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004), podendo ser antibióticos, ou agirem como tal. A presença dos aditivos na alimentação dos ruminantes promove, aumento de degradabilidade, melhor eficiência e aproveitamento da dieta e redução da liberação de gases de origem animal, que são os gases do efeito estufa (GEE) (FERREIRA, 2018; BARJUD et al.; 2020).

No entanto, apesar dos benefícios promovidos pela utilização de antibióticos na produção animal, a ocorrência dos resíduos nos produtos originários (ex.: carne e leite) tem se tornado uma grande preocupação (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004; VAN EPPS**;** BLANEY**,** 2016). A Organização Mundial da Saúde (OMS), classifica o surgimento de genes de resistência a antibióticos (GRAs) como uma das maiores ameaças para a saúde humana, saúde animal e vegetal (OMS, 2012).

Considerando a necessidade do desenvolvimento de novas classes de aditivos, dando prioridade para aqueles de origem orgânica ou natural, diferentes estudos dentro da biotecnologia têm buscado a avaliação do desempenho de novas substâncias ativas (FERREIRA, 2018).

Devido os antibióticos não serem metabolizados por completo, como consequência esperada, uma proporção geralmente é excretada na urina e nas fezes dos animais (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006; FENG et al., 2017; SPIELMEYER et al., 2017).

Uma vez presente nos dejetos, os resíduos de antibióticos e seus metabólitos, podem influenciar na digestão anaeróbia (DA) dos dejetos desses animais (XIAO et al., 2021).

Para avaliação das possíveis interferências dos aditivos na DA, os aditivos podem ser adicionados na dieta dos animais com posteriori avaliação da DA dos dejetos, ou pode ser realizada diretamente nos dejetos e substrato inseridos nos biodigestores (SPIRITO et al., 2018).

Dentre os efeitos que os aditivos e antibióticos podem ocasionar na DA, apontam-se: retardamento no *start-up* do processo (MITCHELL et al., 2013), alterações na comunidade microbiana, redução na produção de biogás, instabilidade do processo (AKYOL et al., 2016) e remanescente concentração de antibiótico no biofertilizante (YOUNGQUIST et al., 2016; ARIKAN et al., 2018).

Outra consequência decorrente dos antibióticos na DA é a possibilidade de gerar acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs), e uma vez que os AGVs não apresentam conversão total, o seu acúmulo pode levar a redução da produção de metano (XIAO et al., 2021). Em vista disso, o uso do biofertilizante na diluição do dejeto bovino (DB), se apresenta como uma boa estratégia para fornecer alcalinidade aos substratos (KATO et al., 1999; MASIH-DAS; TAO, 2018). Por proporcionar equilíbrio no consumo de ácidos orgânicos, o biofertilizante pode promover maior estabilização do processo (EL-MASHAD et al., 2006; COSTA et al., 2016), desta forma, a influência de compostos tóxicos, como dos aditivos, pode ser reprimida ou atenuada.

Os aditivos naturais, como alternativa aos sintéticos, se apresentam como uma boa opção, uma vez que podem exercer menor influência na DA e podem evitar riscos sanitários e ecológicos.

Desta forma, neste estudo, o objetivo foi estudar a influência de aditivos sintéticos e naturais na DA dos dejetos de bovinos leiteiros, diluídos com água e/ou biofertilizante, em biodigestores batelada e semi-contínuo, avaliando a produção e a qualidade do biogás.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bovinocultura leiteira e geração de resíduos

A grande competitividade internacional, que agronegócio brasileiro possui, se deve principalmente aos esforços historicamente dispendidos por institutos públicos de pesquisa e Universidades (OLIVEIRA et al., 2014).

Em 2020, o Produto Interno Bruto (PIB) do agronegócio representou cerca de 26,6% do PIB total. Dentre os segmentos, o ramo agrícola corresponde a 69,6% desse valor (R$ 1,37 trilhão), a pecuária corresponde a 30,4%, ou R$ 602,3 bilhões (CEPEA/CNA).

O Brasil é uma consolidada potência mundial na produção de leite. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, atrás apenas dos Estados Unidos e da Índia (FAO, 2019). Em 2019, os laticínios que atuam sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária captaram 25 bilhões de litros (IBGE, 2019a), com total de produção de 34,8 bilhões de litros (IBGE, 2019b).

As atividades agropecuárias são extremamente dependentes dos recursos ambientais e responsáveis pela geração de grande volume de resíduos (água residuária e dejetos), sendo imprescindível a compreensão universal de que, sem equilíbrio ambiental, não há condições de crescimento ou até mesmo continuidade das atividades de criações (IPEA, 2012). Desta forma, a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS, Lei nº 12.305/2010), estabelece o tratamento adequado desses resíduos (BRASIL, 2010), tendo a digestão anaeróbia como um dos principais processos adotados para o tratamento e reutilização dos dejetos gerados (BRASIL, 2015).

Os resíduos gerados no setor da agropecuária apresentam significativo potencial para geração de bioenergia e insumo para a produção agrícola, a partir do biogás e o do biofertilizante, e desta forma esses resíduos podem ser considerados um subproduto da cadeia produtiva, que permite o desenvolvimento do setor com menor impacto ambiental (AKAMINE, 2021).

A biotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento do setor da bovinocultura leiteira e da agropecuária de forma geral, e está presente desde a nutrição animal, até o tratamento e reutilização dos resíduos gerados.

A intervenção alimentar na dieta dos bovinos é uma das técnicas mais estudadas, destacando-se o uso de aditivos utilizados como promotores de crescimento e para a melhoria da conversão alimentar. Portanto, o uso de aditivos objetiva aumentar a produtividade de carne e de leite, além de ser empregado para prevenir a propagação de doenças entre os animais, principalmente em criações intensivas, por abrigar maior número de animais (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004; MARCUCCI et al., 2014; VAN EPPS**;** BLANEY**,** 2016).

2.2 Definição de aditivo e sua utilização na nutrição de ruminantes

Segundo o Mistério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (2016), aditivos são produtos destinados à alimentação animal, substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente às dietas, que não são utilizados normalmente como ingredientes, tenham ou não valor nutricional e que melhorem as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhorando o desempenho dos animais sadios.

Os aditivos são substâncias, naturais ou sintéticas, ou organismos vivos (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004), podendo ser antibióticos, ou agirem como tal.

Os antibióticos podem ser divididos em dois grupos, ionóforos e não ionóforos, de acordo com o seu modo de ação (SITTA, 2011). Na pecuária brasileira, dentre os ionóforos mais usados está a monensina, e os não ionóforos, a virginiamicina (BARJUD et al., 2020).

Os ionóforos são produtos de fermentação de espécies de *Streptomyces* sp. (OVCHINNIKOV, 1979). Segundo Austic e Smith (1980, apud SITTA, 2011), ionóforo é um termo genérico aplicado a um número de compostos do grupo dos antibióticos denominados poliésteres, contendo um radical carboxílico, o qual facilita a difusão de íons através de barreiras lipídicas, como as membranas celulares.

Os ionóforos são altamente antagonistas às bactérias gram-positivas, podendo desta forma modificar a flora microbiana e sobretudo influenciar a síntese dos ácidos graxos voláteis (AGVs) produzidos no rúmen, oriundos do processo de fermentação. O mecanismo de ação dos ionóforos está relacionado à sua habilidade em alterar o fluxo de cátions através da membrana das células bacterianas (SITTA, 2011).

A virginiamicina (VM) é um antibacteriano produzido pela bactéria *Streptomyces virginae* (CROOY; NEYS, 1972; DE SOMER; VAN DIJCK, 1955), que penetra na parece celular das bactérias gram-positivas e liga-se a uma unidade cromossomal, inibindo a formação da ligação peptídica durante o processo de síntese protéica bacteriana (COCITO, 1979; DI GIAMBATTISTA et al., 1989). Processos metabólicos são rompidos dentro da célula, cessando a multiplicação da bactéria e ocasionando a morte. Embora seu mecanismo de ação seja diferente do mecanismo de ação dos ionóforos, os seus efeitos são semelhantes (SITTA, 2011).

No geral, os aditivos agem modulando a flora microbiana em favorecimento das espécies mais importantes para o ecossistema ruminal, garantindo a melhor condição da fermentação (FERREIRA, 2018). Por essa razão, a presença dos aditivos na alimentação dos ruminantes promove, aumento de degradabilidade, melhor eficiência e aproveitamento da dieta e redução da liberação de gases de origem animal, que são os gases do efeito estufa (GEE) (FERREIRA, 2018; BARJUD et al.; 2020). O uso de aditivos na alimentação animal tem por objetivo, alcançar maiores índices de produtividade do rebanho e lucratividade do sistema.

No entanto, apesar dos benefícios promovidos pela utilização de antibióticos na produção animal, a ocorrência dos resíduos nos produtos originários (ex.: carne e leite) tem se tornado uma grande preocupação (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004; SPISSO et al., 2009; VAKILI et al., 2013; VAN EPPS**;** BLANEY**,** 2016). A Organização Mundial da Saúde (OMS), classifica o surgimento de genes de resistência a antibióticos (GRAs) como uma das maiores ameaças para a saúde humana, saúde animal e vegetal (OMS, 2012).

A resistência antimicrobiana é um problema de saúde pública, uma vez que, o aumento de cepas resistentes e a possibilidade de contaminação cruzada tem tornado o tratamento de patologias humanas cada vez menos eficiente e mais preocupante (PARANHOS, 2021).

Em vários países há proibições do uso de algumas classes de antibióticos, como promotores de crescimento, sendo que o número de antibióticos destinados aos bovinos é reduzido comparados aos destinados aos suínos e aves (VAN EPPS; BLANEY, 2016).

Considerando a necessidade do desenvolvimento de novas classes de aditivos, dando prioridade para aqueles de origem orgânica ou natural, diferentes estudos dentro da biotecnologia têm avaliado o desempenho de novas substâncias

ativas (FERREIRA, 2018). Ademais, é reforçada a prerrogativa de serem compostos por ingredientes orgânicos permitidos em todos os países (LEITE et al.**,** 2019).

Desse modo, os aditivos naturais estão sendo empregados nas dietas dos ruminantes por também propiciarem capacidade de controlar intercorrências metabólicas e resultar em melhor desempenho animal (WALLACE et al., 2002; JOUANY; MORGAVI, 2007; MARINO; MEDEIROS, 2015).

Há uma série de compostos com propriedades em potencial para ser utilizados como aditivos naturais na nutrição de ruminante, são eles, os prebióticos, probióticos, leveduras, ácidos orgânicos, óleos e extratos de plantas (JOUANY; MORGAVI, 2007; MARINO; MEDEIROS, 2015). Os extratos naturais de plantas possuem diversos compostos secundários, produzidos como mecanismo de defesa contra fungos, bactérias e insetos, com potencial para alterar a fermentação ruminal (MARINO; MEDEIROS, 2015).

Foram encontrados vários estudos na literatura que mostraram benefícios do uso de diferentes aditivos naturais. O uso de taninos condensados foi verificado por Fagundes et al. (2020), que relataram melhor desempenho e redução nas emissões de metano por bovinos de corte. No trabalho de Silva et al., (2021) foi verificado que a suplementação com extrato de plantas, como aditivos naturais, proporcionou melhor qualidade do leite, em comparação com a dieta suplementada com monensina.

O produto natural, Fator P, utilizado no presente estudo, é um aditivo desenvolvido pela empresa Premix, sendo composto por polímeros de ácidos graxos essenciais, levedura, aminoácidos e mineral orgânico. Tem sido utilizado como promotor de eficiência alimentar para animais ruminantes e equídeos.

O aditivo Fator P, foi avaliado no desempenho de bovinos de corte por Fernandes e Franzolin (2013), onde observaram aumento no desempenho dos animais que receberam o Fator P, em relação aos não tratados com o aditivo. Ainda para bovinos de corte, o trabalho realizado por Fernandes et al. (2015) evidenciou que é possível utilizar o Fator P, em substituição a virginiamicina. Já Leite et al., (2019) relataram melhor desempenho e redução nas emissões de metano.

Para bovinos de leite, D'Aurea et al. (2019), verificaram que o Fator P proporcionou aumento de 7,5% na produção média de leite, em comparação com a dieta sem suplementação com o aditivo.

Uma vez que o Fator P tem sido utilizado na dieta dos animais e tem certificação do MAPA, na categoria de aditivos zootécnicos, é de interesse o estudo da influência desse aditivo no tratamento dos resíduos gerados na produção animal.

2.2.1 Influência de aditivos na digestão anaeróbia

O uso do biodigestor requer um nível de investimento diferente para cada projeto e tipo de substrato. O uso do biogás e a aplicação do biofertilizante são questões a serem observadas nos projetos, uma vez que se deseja alcançar uma eficiência de produção de energia, economia na compra de fertilizantes, e tempo de retorno do investimento. Desta forma, é necessário avaliar as possíveis interferências que podem ocorrer no processo de digestão anaeróbia (DA), pois o controle desse processo pode garantir o alcance da eficiência almejada.

Devido os antibióticos não serem metabolizados por completo, como consequência esperada, uma proporção geralmente é excretada na urina e nas fezes dos animais, tanto na forma do composto original ou já parcialmente metabolizada (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006; FENG et al., 2017; SPIELMEYER et al., 2017). Como são substâncias bioativas, que atuam de forma eficaz em doses baixas e são excretadas após um curto período de residência, podem ser integralmente eliminados sem sofrer qualquer metabolização no trato digestivo animal (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006; KEMPER, 2008).

Uma vez presentes nos dejetos, os resíduos de antibióticos e seus metabólitos, podem influenciar na digestão anaeróbia (DA) dos dejetos desses animais (YANG et al., 2019; XIAO et al., 2021).

A taxa de excreção dos princípios ativos de antibióticos, administrado aos animais, está na ampla faixa de 30 a 90% (YANG et al., 2019), a qual depende de alguns fatores como o tipo de substância, o modo de administração, a dosagem, a espécie animal, a idade, o modo de aplicação, dentre outros fatores (KEMPER, 2008; SPIELMEYER et al., 2017).

Para avaliação das possíveis interferências dos aditivos na DA, os aditivos podem ser adicionados na dieta dos animais com posteriori avaliação da DA dos dejetos, ou pode ser realizada diretamente nos dejetos e substrato inseridos nos biodigestores (SPIRITO et al., 2018). O último método apresenta a vantagem de

manipulação das dosagens exatas dos aditivos a serem adicionadas e avaliadas no processo de DA.

Dentre os efeitos que os aditivos podem ocasionar na DA, apontam-se: retardamento no *start-up* do processo (MITCHELL et al., 2013; HASHIMOTO et al., 1981; VAREL e HASHIMOTO, 1982), redução de alguns grupos metanogênicos (INCE et al., 2013, XIN et al., 2014; SANZ et al., 1996), redução na produção de biogás (AKYOL et al., 2016; BENERAGAMA et al., 2013; GUO et al., 2012; INCE et al., 2013; MASSÉ et al., 2000; POELS et al., 1984) e remanescente concentração de antibiótico no biofertilizante (ARIKAN et al., 2018; MASSÉ et al., 2014; VAREL et al., 2012, YOUNGQUIST et al., 2016).

A influência dos antibióticos na DA depende de alguns fatores como, a concentração e tempo de ação dos antibióticos, do tipo de substrato e da temperatura que o processo estará exposto (XIAO et al., 2021).

Diante do fato do tratamento biológico dos dejetos pela DA, ser cada vez mais comum, estudos atuais investigam os padrões de remoções e degradações dos antibióticos utilizados na produção animal durante a DA, visando avaliar a qualidade do biofertilizante (FENG et al., 2017).

Hashimoto et al., (1981), avaliando a DA (35 e 55°C) de dejetos de bovinos, em biodigestores batelada, encontraram uma inibição de 20% na presença do antibiótico, clortetraciclina (CTC), e uma inibição completa da produção de metano quando foi adicionado a monensina (MON). Contudo, segundo Varel e Hashimoto (1982), a inibição do MON pode ser superada após uma adaptação de 6 meses.

Xin et al. (2014) pesquisaram sobre a oxitetraciclina (OTC) e relataram que as concentrações de 20, 50 e 80 mg L^{-1} de OTC adicionadas na DA (condições mesofílicas) de DB, em relação aos digestores sem antibióticos, apresentaram diferentes níveis de inibição na produção de metano, e influenciaram na diversidade da comunidade bacteriana do processo.

Arikan et al. (2018) estudaram o efeito da monensina (1 e 10 mg L^{-1}, adicionadas ao dejeto) durante o processo de DA de DB leiteiros em reatores “plug-flow” (condições mesofílicas). Os autores relataram que a adição de 1 mg L^{-1} de monensina não provocou redução na produção de metano, e não alterou a estabilidade do processo. Porém, a concentração de 10 mg L^{-1} de MON ocasionou redução na produção de metano e instabilidade do processo de DA.

Devido os antibióticos serem encontrados, muitas vezes, associado um ao outro, tanto em resíduos como no ambiente, ressalta a necessidade de estudos de antibióticos de forma conjunta em processos biológicos (XIAO et al., 2021). Dessa forma, ressalta-se a importância da avaliação da inserção da MON com a VM, na DA do DB, desenvolvida nesta pesquisa.

A perda do potencial de geração de biogás dos dejetos, implica na redução dos lucros obtidos com a atividade, uma vez que o gás poderia colaborar para a redução do uso de outras fontes de energia no processo produtivo (FERREIRA, 2013).

Os aditivos naturais, como alternativa aos sintéticos, se apresentam como uma boa opção, uma vez que podem exercer menor influência na DA e podem evitar riscos sanitários e ecológicos.

2.3 Digestão anaeróbia

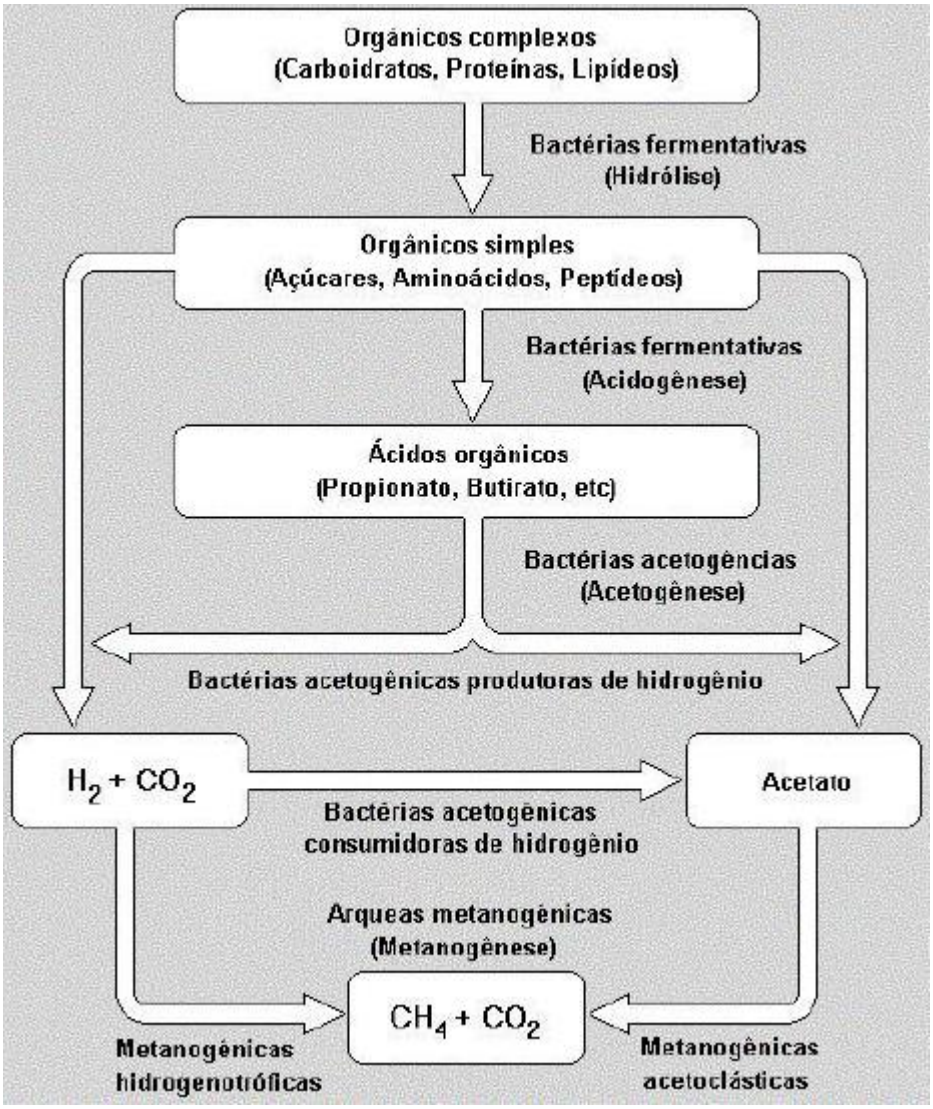
2.3.1 Processo de digestão anaeróbia e parâmetros de influência

A DA é um processo biológico que ocorre na ausência de oxigênio molecular, no qual uma associação simbiótica de microrganismos específicos metaboliza substratos orgânicos por meio de complexas reações bioquímicas (CHYNOWETH et al., 1971; FORESTI et al., 1999).

Dentre os benefícios do processo de DA, Chynoweth et al. (1999) apontam: a geração de uma fonte energética renovável (biogás), a reciclagem de nutrientes (biofertilizante ou digestato), a redução de patógenos (parasitas, bactérias, fungos e vírus) e a diminuição da emissão de GEE.

A representação esquemática das rotas metabólicas envolvidas no processo de DA pode ser visualizada no esquema da Figura 1.

Figura 1 - Representação esquemática das rotas metabólicas envolvidas no processo de digestão anaeróbia



FONTE: Chernicharo (2007).

Em síntese, na hidrólise, primeira etapa da DA, grupos de bactérias fermentativas transformam a matéria orgânica complexa (lipídios, polissacarídeos e proteínas) em compostos mais simples (AMARAL et al., 2019).

Posteriormente, na acidogênese, os produtos da hidrólise são metabolizados pelas bactérias acidogênicas e expelidos na forma de compostos orgânicos ainda mais simples, como AGVs de cadeia curta (1 a 5 carbonos, tais como os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico e valérico), álcoois, dióxido de carbono (CO_2), hidrogênio (H_2), amônia (NH_3) e sulfeto de hidrogênio (H_2S). (GERARDI, 2003; AMARAL et al., 2019).

Na acetogênese, os ácidos orgânicos e demais produtos da acidogênese são convertidos, por reações endotérmicas, principalmente em acetato (CH_3COOH^-), H_2 e CO_2 (substratos intermediários que serão metabolizados pelas arqueas metanogênicas para a obtenção de metano e CO_2) (FORESTI et al., 1999).

Na metanogênese, última fase do processo de DA, evidenciam-se organismos denominados arqueas, responsáveis pela produção de metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), podendo ocorrer por diferentes vias metabólicas (acetoclástica ou acetotrófica e hidrogenotrófica), através de reações exotérmicas (AMARAL et al., 2019).

A DA depende do equilíbrio entre as comunidades microbianas presentes na biomassa, com isso, tem-se condições específicas que devem ser respeitadas e seguidas para o correto funcionamento dos biodigestores (AMARAL et al., 2019). Fatores relativos ao substrato (relação C:N, nutrientes, pH, capacidade de tamponamento, tempo de retenção e compostos inibitórios) e as condições de operação do biodigestor (temperatura e carga orgânica) influenciam diretamente o desempenho dos microrganismos (KUMAR et al., 2013; KARLSSON et al., 2014).

A DA de dejeto de animais além de proporcionar os benefícios já citados, pode oferecer redução dos compostos residuais de antibióticos, desde que, suas concentrações não estejam acima dos níveis críticos que inibem o processo (MITCHELL et al., 2013).

2.3.2 Produtos

2.3.2.1 Biogás

O biogás é um combustível renovável, produto da DA, composto por CH_4 (40-75%), CO_2 (15-60%), H_2 (0,5-1%) e impurezas (vapor de água, NH_3, H_2S, entre outros elementos traço). O poder calorífico do CH_4 proporciona o carácter energético ao biogás, possibilitando sua conversão em energia mecânica, térmica e elétrica (BACIOCCHI et al., 2013).

Atualmente, o Brasil tem 486 usinas de biogás operantes que destinam seu uso para a produção de energia térmica, elétrica, mecânica e produção de gás

natural veicular (GNV) (CIBiogás, 2020). Os substratos utilizados na digestão provêm de diversas fontes industriais e agropecuárias.

O emprego energético do biogás, a partir dos dejetos de bovinos apresenta vários benefícios e aplicabilidades dentro dos parâmetros técnicos, econômicos e ambientais (TIETZ et al., 2013).

A forma mais comum de uso do biogás é a conversão em energia elétrica e térmica. A conversão para a energia elétrica conta com auxílio de diversas tecnologias disponíveis, sendo possível seu melhor aproveitamento em microturbinas e geradores específicos, podendo apresentar bons rendimentos energéticos se forem utilizados para fins de geração e cogeração. As microturbinas e geradores modernos podem operar com o biogás recolhido diretamente do biodigestor, sem a necessidade de prévio tratamento, reduzindo custos (HIRANO; SILVA, 2014).

Assim sendo, a DA é considerada uma das formas mais sustentáveis de tratamento de resíduos orgânicos devido à produção de biogás, por ser passível de substituir a energia advinda de combustíveis fósseis (PASSOS et al.,2017).

Dessa forma, o notório potencial de recuperação de energia por meio da DA de resíduos agrícolas faz com que pesquisas que buscam otimizar o processo sejam indispensáveis.

2.3.2.2 Biofertilizante

Além do biogás, a DA também origina o biofertilizante. Esse outro produto pode ser considerado um recurso valioso e estratégico como insumo agrícola de baixo custo (DAMACENO et al., 2019) e reduzido impacto ambiental.

Segundo Oliveira et al. (2014), a competitividade internacional alcançada pelo agronegócio brasileiro é decorrente do uso em larga escala de fertilizantes e agroquímicos, que são importados em grandes quantidades para suprir a demanda dos agricultores. Neste sentido, os autores ressaltam que a segurança e a sustentabilidade do agronegócio brasileiro estão ameaçadas pela disponibilidade e susceptibilidade destes insumos aos preços praticados pelo mercado internacional.

Uma das alternativas concretas à redução da dependência da agricultura brasileira por fertilizantes minerais é a ampliação da oferta e o desenvolvimento de

insumos biológicos de alta eficiência (OLIVEIRA et al., 2014), aliados a tecnologia e logística adequadas para aplicação (MIELE et al., 2015).

Uma vez implantado o biodigestor e havendo demanda de nutrientes nas áreas agrícolas, o biofertilizante torna-se um fertilizante mais barato quando comparado aos fertilizantes químicos, vendidos comercialmente (MIELE et al., 2015, MONTORO et al., 2019). Santos e Nogueira (2012) complementam que o uso do biofertilizante, permite reciclar nutrientes e manter a produtividade do solo em níveis adequados.

Segundo Corrêa et al. (2011), a adubação com biofertilizante proporciona grande potencial de produção agrícola, podendo ser utilizada na adubação de diversas culturas (grãos, fruticultura, pastagem, reflorestamento e recuperação de áreas degradadas), entretanto, é necessário se atentar aos critérios técnicos adequados, especialmente pela possibilidade do comprometimento da qualidade do solo, das águas e do ar. Os autores explicam que, para a obtenção de bons resultados agronômicos e ambientais, antes da aplicação do biofertilizante, é necessário avaliar as características do resíduo orgânico (N, P, K, entre outros), bem como a análise, manejo e conservação do solo, a necessidade nutricional e a produtividade esperada para cada espécie vegetal.

Níveis residuais de antibióticos são encontrados em variadas fontes de dejetos e biossólidos (NRC, 2002; USEPA, 2013; MUNIR e XAGORARAKI, 2011), levando a preocupações sobre os riscos para a saúde humana e animal devido à aplicação no solo. De acordo com a literatura, a DA pode reduzir níveis de 0 a 100% dos antibióticos presentes nos dejetos (YOUNGQUIST et al., 2016). Desta forma, a aplicação de biofertilizante, pode levar ao acúmulo de produtos farmacêuticos veterinários em solos de cultivo (SONG et al., 2010). Estudos em estufas indicaram que o milho, a cebola e o repolho absorvem pequenas concentrações de antibióticos quando cultivadas com a utilização de esterco que continha essa substância (KUMAR et al., 2005).

CHEW et al. (2019) ressaltam que, a formulação obtida no biofertilizante dependerá da biomassa utilizada no processo de DA. Sendo assim, a composição química dos biofertilizantes varia de acordo com a alimentação do animal (SANTOS; NOGUEIRA, 2012), dentre outros fatores, como espécie animal, raça, idade e manejo dos dejetos (KIEHL, 1985).

2.4 Uso do biofertilizante na diluição do substrato

O biofertilizante, pode ser utilizado como inóculo e/ou diluente do substrato na DA. Além de substituir a água limpa, o biofertilizante é rico em microrganismos ativos, o que garante a presença de bactérias adaptadas ao ambiente anaeróbio, evitando perda de tempo no processo de aclimatação (DAMACENO et al., 2019b; YANG et al., 2019). Desta forma, o uso do biofertilizante na diluição do substrato pode facilitar a atividade enzimática e as reações bioquímicas (GU et al., 2014), ao mesmo tempo que se apresenta como uma boa estratégia para fornecer alcalinidade aos substratos (KATO et al., 1999; MASIH-DAS; TAO, 2018).

A adição de biofertilizante ao substrato resultam em interferências na DA como, taxas de degradação mais rápidas e maiores rendimentos de metano em TRH mais curtos, devido a redução do tempo de hidrólise (YADVIKA et al., 2004; COSTA et al., 2016; DAMACENO, 2018). O resultado pode ser atribuído as diferentes interações do inóculo com os substratos (GUERI et al., 2018), diferentes tipos de inóculo (NAKASIMA-LÓPEZ et al., 2017; RAJPUT; SHEIKH, 2019; DHAMODHARAN et al., 2015) e relação substrato / inóculo (SV_i SV_s^{-1}) (PASSOS et al., 2017; SOUZA et al., 2020).

Santana et al. (2021) realizaram um ensaio do Potencial Bioquímico de Metano da fração orgânica dos resíduos sólidos urbano (RSU) de um aterro sanitário, com e sem a inclusão de inóculo. Foi verificado pelos autores, acréscimo de 46,1% na taxa de produção de metano nos reatores com inóculo, com pico de produção no 10º dia de operação, sendo verificado produção máxima no 30º dia de operação para o reator sem inóculo.

Para biodigestores semi-contínuos, a partida do biodigestor sem o uso de inóculo pode retardar o início do abastecimento diário até que as condições estejam favoráveis aos microrganismos. Em biodigestores bateladas, a adição de inóculo propicia o pico de produção logo no início do processo. Portanto, o uso do biofertilizante como inóculo, favorece a estabilização do processo (COSTA, 2005; EL-MASHAD et al., 2006; COSTA et al., 2016), desta forma, a influência de compostos tóxicos, como dos aditivos, pode ser reprimida ou atenuada.

3 MATERIAL E MÉTODOS

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

O clima da região é classificado como Aw, clima tropical úmido, com inverno seco, e média de temperatura acima de 18 ºC para o mês mais frio, de acordo com Köppen-Geiger e de Thornthwaite (ANDRE; GARCIA, 2015).

O experimento foi executado entre os meses de setembro de 2017 e fevereiro de 2018.

3.1 Substrato

Os dejetos de bovinos (DB) leiteiros foram coletados semanalmente no Setor de Bovinocultura leiteira do Departamento de Zootecnia, situado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP - Campus de Jaboticabal, Jaboticabal-SP. Os animais não recebiam nenhum aditivo na dieta.

Os produtos comerciais (aditivos) utilizados nesta pesquisa, foram cedidos pela empresa Premix, localizada na cidade de Patrocínio Paulista, SP.

3.2 Configuração dos ensaios

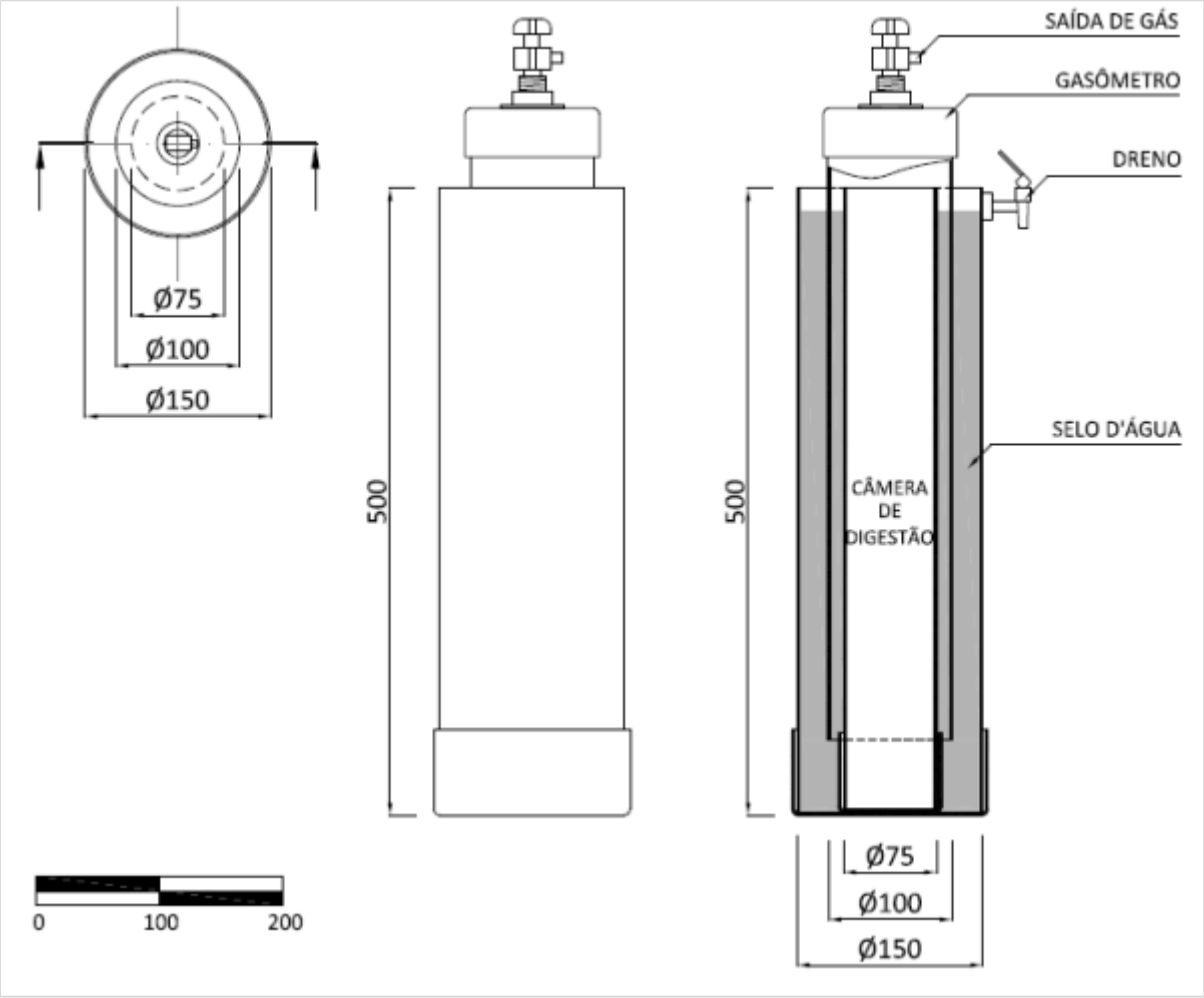
O experimento foi desenvolvido em dois ensaios. No primeiro, foram utilizados biodigestores bateladas (um único abastecimento) com o objetivo de avaliar a influência dos aditivos sintéticos e naturais e da diluição, em água e/ou biofertilizante, no *start-up* do processo de DA, sobre a produção e qualidade do biogás. No segundo ensaio, foram utilizados biodigestores semi-contínuos (abastecimento diário), com a finalidade de avaliar a influência dos aditivos na DA com regime de alimentação diário, semelhante ao regime de funcionamento dos biodigestores em escala real. Apenas três aditivos foram avaliados no segundo ensaio. Foram eles, natural 1, monensina e virginiamicina, sendo os dois últimos escolhidos em razão de serem os mais utilizados na criação de bovinos de leite.

3.2.1 Primeiro ensaio – digestão anaeróbia em biodigestores bateladas

Os biodigestores bateladas foram mantidos em local com temperatura ambiente, com média de 25,0°C, máxima de 31,0°C e mínima de 19,0°C.

Foram utilizados no primeiro ensaio, 72 biodigestores bateladas (Figura 2), construídos pela equipe do Laboratório de Biomassa e Digestão Anaeróbia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP – Campus Jaboticabal.

Figura 2 - Vista superior, vista frontal e corte do biodigestor batelada, medidas em mm



Fonte: Santi (2013).

O biodigestor batelada constitui-se, basicamente, por três cilindros retos de PVC com diâmetros de 50, 100 e 150 mm, acoplados sobre um cap e caracterizados como biodigestores de bancada, com volume total e útil de 2 e 1,8 L, cada um,

respectivamente. Os cilindros de 50 e 150 mm estão inseridos um no interior do outro, de tal forma que o espaço existente entre a parede externa do cilindro interior e a parede interna do cilindro exterior comporta um volume de água (“selo de água”), atingindo profundidade de 50 cm. O cilindro de diâmetro intermediário tem uma das extremidades vedadas, conservando-se apenas uma abertura para descarga do biogás, e permanece inserido no selo de água, para propiciar condições anaeróbias e armazenar o gás produzido.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, consistindo em esquema fatorial 6x3, correspondendo a seis inserções de aditivos, sendo, tratamento controle (sem aditivo), aditivo natural 1 (Fator P Premix); aditivo natural 2 (Fator P Premix); monensina (MON); virginiamicina (VM) e monensina + virginiamicina (MON+VM), e três tipos de diluições, sendo, água, ½ água e ½ biofertilizante e biofertilizante, com 4 repetições por tratamento. O tempo de retenção hidráulica (TRH) foi de 135 dias.

A caracterização do DB e do biofertilizante utilizados no abastecimento dos biodigestores bateladas segue na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização físico-química do dejeto bovino leiteiro e biofertilizante utilizados nos biodigestores bateladas

Parâmetros	Unidade	Dejeto bovino[1]	Biofertilizante
Sólidos totais	% (MN)	15,40 ± 0,12	0,58 ± 0,01
Sólidos voláteis	% de ST	89,48 ± 2,82	31,10 ± 2,78
COT	% de ST	49,71 ± 1,56	17,28 ± 1,54
Nitrogênio, N	% de ST	2,80 ± 0,10	2,60 ± 0,14
Relação C/N	adimensional	17,75 ± 0,45	6,65 ± 0,29
pH	upH	5,50 ± 0,3	7,35 ± 0,10
Fósforo, P	% de ST	-	1,68 ± 0,05
Potássio, K	% de ST	-	2,48 ± 0,06

[1]Dejeto bovino *in natura*. COT: Carbono orgânico total. MN: matéria natural. ST: Sólidos totais. (n ± desvio padrão, n=4).

Os aditivos foram adicionados diretamente aos substratos. As misturas de cada substrato foram trituradas em liquidificador industrial, atingindo granulometria ≤2mm. Foi adotado um teor de sólidos totais (ST) de 6%.

As quantidades dos materiais utilizados em cada tratamento (Tabela 2) foram calculadas em gramas, baseados na matéria seca do dejeto bovino leiteiro.

Tabela 2 – Composição do substrato de cada tratamento para a digestão anaeróbia em biodigestores bateladas

Aditivo	Composição do substrato				Concentração do aditivo (mg $L_{substrato}^{-1}$)
	Dejeto (g)	Água (g)	Biofertilizante (g)	Aditivo (mg)	
Sem aditivo (Controle)	585	1215	0	-	-
	585	607,5	607,5	-	-
	585	0	1215	-	-
Natural 1 (N1)	585	1215	0	63,23	35,125
	585	607,5	607,5	63,23	35,125
	585	0	1215	63,23	35,125
Natural 2 (N2)	585	1215	0	63,23	35,125
	585	607,5	607,5	63,23	35,125
	585	0	1215	63,23	35,125
Monensina (MON)	585	1215	0	2,70	1,50
	585	607,5	607,5	2,70	1,50
	585	0	1215	2,70	1,50
Virginiamicina (VM)	585	1215	0	2,25	1,25
	585	607,5	607,5	2,25	1,25
	585	0	1215	2,25	1,25
Monensina + Virginiamicina (MON+VM)	585	1215	0	2,70 + 2,25	1,50 + 1,25
	585	607,5	607,5	2,70 + 2,25	1,50 + 1,25
	585	0	1215	2,70 + 2,25	1,50 + 1,25

Os aditivos naturais, (N1 e N2), utilizados nesta pesquisa, são produtos comerciais, Fator P, composto por: ácido linoleico (2.686,86 mg kg^{-1}), ácido oleico (1.708,74 mg kg^{-1}), minerais orgânicos, lisina (19,0 mg kg^{-1}), metionina (0,35 mg kg^{-1}), tirosina (0,36 mg kg^{-1}), Saccharomyces cerevisiae (10 x 10^{10} UFC kg^{-1}) (Premix Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brasil).

As doses adotadas dos aditivos MON e VM, foram escolhidas a partir do pressuposto que abrangiam a faixa de valores esperados usando as taxas de dosagem mínima e máxima (115 - 600 mg_{MON} $vaca^{-1}$ dia^{-1}) (McClary et al., 2008), as taxas de excreção de 50% a 85% e uma taxa diária de estrume de 50 L por vaca (HILPERT et al., 1984). As dosagens dos aditivos naturais foram determinadas a partir da recomendação do fabricante dos produtos.

Os aditivos tiveram aplicação direta na carga de abastecimento para ser possível o controle preciso das doses consideradas residuais dos aditivos em cada biodigestor (BENERAGAMA, 2013). Além de possibilitar a padronização das características químicas dos dejetos em todos os biodigestores, devido terem sido coletados no mesmo dia e do mesmo grupo de animais.

3.2.2 Segundo ensaio – digestão anaeróbia em biodigestores semi-contínuos

Os biodigestores semi-contínuos foram mantidos em local com temperatura ambiente, com média de 25,2°C, máxima de 30,9°C e mínima de 19,6°C.

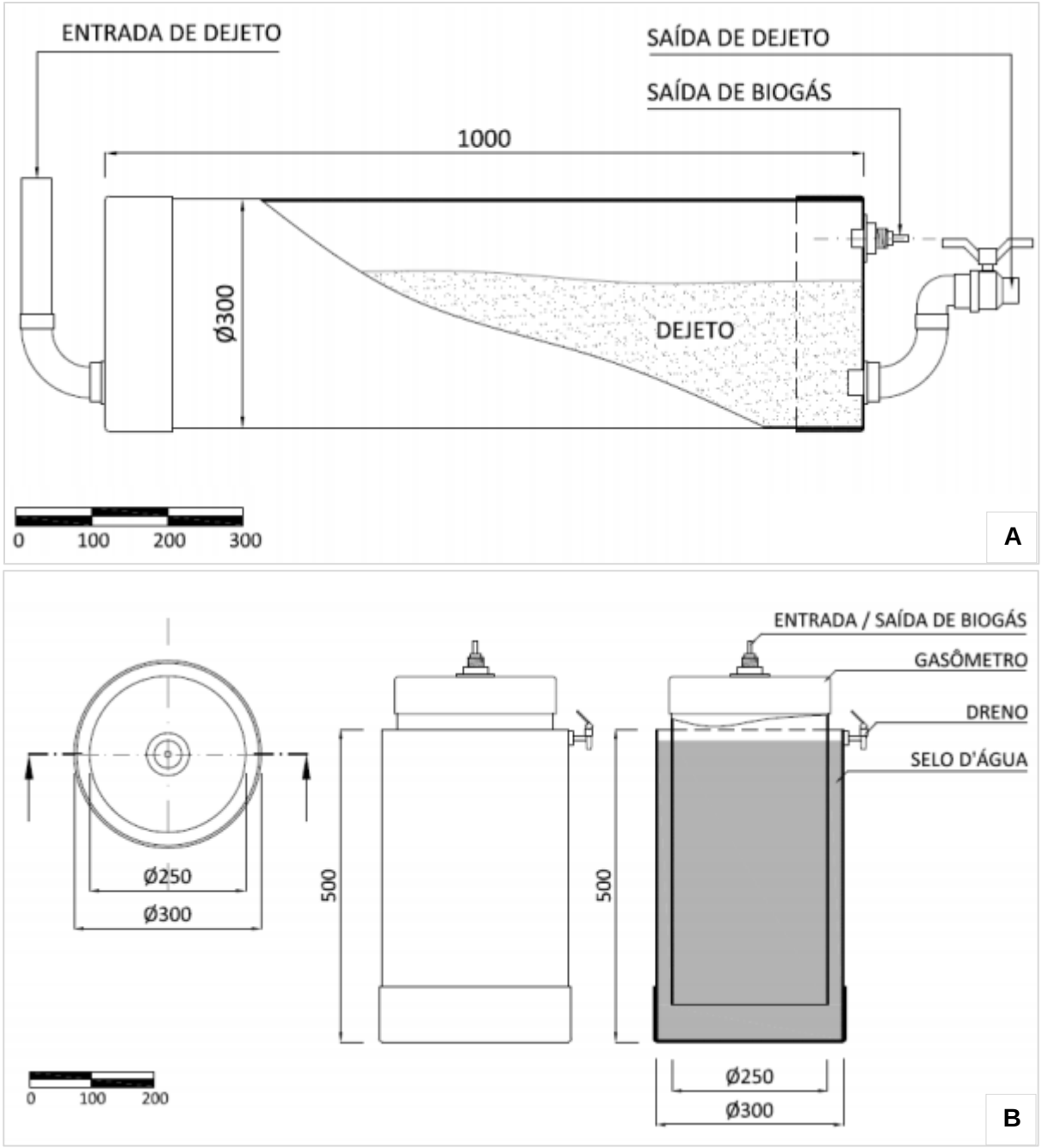
Foram utilizados no segundo ensaio, 12 biodigestores tubulares semi-contínuos em escala laboratorial (Figura 3), construídos pela equipe do Laboratório de Biomassa e Digestão Anaeróbia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP – Campus Jaboticabal.

Os biodigestores tubulares semi-contínuos foram constituídos de duas partes distintas; sendo um deles o recipiente com o material em fermentação (câmara de fermentação) e o outro o gasômetro. O recipiente com o material em fermentação foi composto por um cilindro reto de PVC com diâmetro de 300 mm e com 1 m de comprimento tendo as extremidades vedadas com caps de PVC. Em um cap foi fixado o cano de entrada por onde se fez o abastecimento, e na outra extremidade foram fixados, um cano destinado à saída do biofertilizante, e um furo para a saída do gás (ORRICO JUNIOR, 2007; SANTI, 2013).

O gasômetro foi constituído de dois cilindros de 250 e 300 mm de diâmetro. Cada cilindro teve uma de suas extremidades vedada com um cap de PVC do diâmetro correspondente, e encontram-se inseridos, um no interior do outro, de tal forma que o espaço existente entre a parede externa do cilindro interior e a parede interna do cilindro exterior comporta um volume de água (“selo de água”). O cilindro

de 250 mm diâmetro esteve emborcado no selo de água para armazenar o gás produzido (ORRICO JUNIOR, 2007; SANTI, 2013).

Figura 3 - Desenho esquemático do biodigestor tubular semi-contínuo: camâra de fermentação (A) e gasômetro (B), medidas em mm



Corte transversal da câmara de fermentação (A) e vista superior, vista frontal e corte do gasômetro (B). **Fonte:** Santi (2013).

Os biodigestores tubulares semi-contínuos também são identificados na literatura como reator de fluxo pistonado (plug-flow reactor ou reator fluxo tubular),

não possuindo sistema de mistura. Este consiste em um tubo por onde passa o substrato que é continuamente degradado/consumido à medida que avança no reator ao longo de seu comprimento.

Para iniciar o processo (*start-up*), os 12 biodigestores semi-contínuos foram abastecidos, com 60L de inóculo cada, como mecanismo para acelerar o processo. O inóculo utilizado foi proveniente de biodigestores tipo fluxo tubular, abastecidos com dejetos de bovinos leiteiros. Durante os 15 dias seguintes foram realizadas cargas diárias (CD) com DB leiteiros, posteriormente iniciaram-se as CD dos tratamentos, com a inserção dos aditivos, por um período de 39 dias.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 4 repetições, totalizando 12 biodigestores.

O TRH utilizado foi de 30 dias portanto, como o volume útil dos reatores foi de 60 litros, as CDs possuíam 2 litros.

O DB foi diluído com água na proporção de 1:4 adotando-se uma concentração de ST de 4%. Posteriormente, o DB diluído foi passado em peneira de malha de 2 mm com o intuito de reter o material fibroso (≥2mm), atingindo ao final do preparo da CD, cerca de 2% de ST.

A caracterização do DB utilizado segue na Tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização físico-química do dejeto bovino leiteiro utilizado nos biodigestores semi-contínuos

Parâmetros	Unidade	Dejeto bovino[1]	Dejeto bovino[2]
Sólidos totais	% (MN)	16,71 ± 0,81	1,97 ± 0,12
Sólidos voláteis	% de ST	90,56 ± 1,02	77,65 ± 1,75
COT	% de ST	50,31 ± 1,65	43,14 ± 0,82
Nitrogênio, N	% de ST	2,69 ± 0,10	2,35 ± 0,10
Relação C/N	adimensional	18,70 ± 0,42	18,35 ± 0,53
pH	upH	5,53 ± 0,20	6,37 ± 0,04
Fósforo, P	% de ST	-	1,31 ± 0,10
Potássio, K	% de ST	-	1,64 ± 0,10

[1]DB *in natura*. [2]DB diluído sem a fração sólida. ST: Sólidos totais. COT: Carbono orgânico total. MN: matéria natural. (n ± desvio padrão, n=4).

A composição do substrato (carga diária) de cada tratamento, para a digestão anaeróbia em biodigestores semi-contínuos, segue na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição do substrato (carga diária) de cada tratamento para a digestão anaeróbia em biodigestores semi-contínuos

Aditivo	Composição do substrato			Concentração do aditivo
	DB[2] (g) (g)	Água (g) (g)	Aditivo (mg) (mg)	(mg $L_{substrato}^{-1}$)
Sem aditivo (Controle)	275	1725	-	-
Natural 1 (N1)	275	1725	70,25	35,125
MON+VM	275	1725	3,00 + 2,50	1,50 + 1,25

[1] Monensina + Virginiamicina. [2] DB: dejeto bovino sem a fração sólida.

Os aditivos foram adicionados no cano de abastecimento dos biodigestores, de acordo com o respectivo tratamento, e imediatamente eram realizadas as CDs.

3.3 Métodos analíticos

O DB e o biofertilizante, utilizado como inóculo, para ambos os ensaios, foram caracterizados por meio de análises físico-químicas (ST, SV, pH, COT, N, P e K) cujas metodologias empregadas estão descritas (Tabela 5).

Tabela 5 - Parâmetros físico-químicos e metodologias utilizadas nas análises experimentais

Parâmetros físico-químicos	Método (Referência)
ST e SV	Gravimetria (APHA, 2005)
pH	Potenciométrico (APHA, 2005)
COT	Gravimetria (CARMO; SILVA, 2012)
Nitrogênio, NTK	Micro-Kjeldahl (SILVA; QUEIROZ, 2002)
Fósforo, P	Colorimétrico (MALAVOLTA, 1989)
Potássio, K	Espectrofotometria de absorção atômica (BATAGLIA et al., 1983)

ST: sólidos totais. SV: Sólidos voláteis. COT: Carbono orgânico total.

Os afluentes e os efluentes dos tratamentos, para ambos os ensaios, foram caracterizados quanto aos teores de ST, SV e pH. Para o segundo ensaio, a caracterização foi realizada semanalmente.

Para a determinação dos macronutrientes, Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), Fosforo (P) e Potássio (K), as amostras foram submetidas a digestão em aparelho Digesdahl Hach com ácido sulfúrico a 98% (H_2SO_4) e peróxido de hidrogênio a 50% (H_2O_2), de acordo com Bataglia et al. (1983).

A relação C/N foi calculada a partir da razão entre o COT e NTK.

3.3.1 Monitoramento do biogás

O volume de biogás produzido em cada biodigestor foi mensurado pela medição do deslocamento vertical dos gasômetros, com o auxílio de régua graduada, e então multiplicado pela área da seção transversal interna dos gasômetros (0,00785 m² para o batelada e 0,04909 m² para o semi-contínuo). Após cada leitura, o registro de descarga de biogás era aberto até que os gasômetros fossem esvaziados e em seguida fechados.

A correção do volume de biogás para as condições de 1 atm e 20ºC foi efetuada com base no trabalho de Caetano (1985), no qual verificou-se que, pelo fator de compressibilidade (Z), o biogás apresentou comportamento próximo ao ideal. Conforme descrito por Caetano (1985), utilizou-se a Equação 3, resultante da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac, para corrigir o volume de biogás.

$$\frac{V_0 \times P_0}{T_0} = \frac{V_1 \times P_1}{T_1} \quad (1)$$

Onde, V_0 é o volume de biogás corrigido (m^3); P_0 é a pressão corrigida do biogás (10.322,72 mm de H_2O); T_0 é a temperatura corrigida do biogás (293,15 K); V_1 é o volume do gás no gasômetro; P_1 é a pressão do biogás no instante da leitura (9.652,10 mm de H_2O) e T_1 é a temperatura do biogás no instante da leitura (K).

O teor de metano (CH_4) da composição do biogás foi determinado uma vez por semana. As amostras foram colhidas em seringas e injetadas no cromatógrafo de gás (modelo CG-2010 Plus, Shimadzu Scientific Instruments) equipado com um

detector de ionização por plasma (BID-2010 Plus), utilizando hélio como gás de arraste em coluna Carboxen® 1010 Plot.

As produções específicas de biogás (PEB) e metano (PEM) foram calculadas utilizando-se os dados de produção de biogás (L) e as quantidades de ST e SV adicionados (kg) nos biodigestores durante o processo de DA. Os valores foram expressos em L de biogás e metano por kg de ST e SV adicionados (L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}, respectivamente).

3.4 Análise estatística

3.4.1 Ensaio batelada

O delineamento experimental aplicado foi inteiramente casualizado. Como premissas foram verificadas a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. Após os dados foram avaliados mediante a análise de variância de duas vias (ANOVA two-way) e quando significativas, pelo teste de comparação múltipla de médias Tukey, com 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando pacotes estatísticos disponíveis na Linguagem RStudio (R CORE TEAM, 2017).

3.4.2 Ensaio semi-contínuo

No ensaio semicontínuo o delineamento experimental aplicado também foi inteiramente casualizado. Como premissas foram verificadas a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. Após os dados apresentados foram avaliados mediante a ANOVA, e quando significativas, pelo teste de comparação múltipla de médias Tukey, com 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando pacotes estatísticos disponíveis na Linguagem RStudio (R CORE TEAM, 2017).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio com biodigestores bateladas

As características físico-químicas iniciais dos tratamentos avaliados são apresentadas na Tabela 6.

Considerou-se que os aditivos adicionados não alteraram a características físico-químicas iniciais dos afluentes, uma vez que foi adicionada uma quantidade ínfima de aditivo em cada biodigestor, em relação ao teor de ST e SV do substrato. Portanto, a caracterização foi feita para as diluições.

Tabela 6 - Caracterização físico-química dos afluentes dos tratamentos para as diferentes diluições

Parâmetros	Unidade	Diluição		
		Água	½ água e ½ biofertilizante	Biofertilizante
ST	g L^{-1}	56,07 ± 9,42	60,00 ± 4,24	62,19 ± 6,43
SV	g L^{-1}	51,60 ± 8,84	54,90 ± 4,04	55,91 ± 5,92
pH	-	5,85 ± 0,12	6,33 ± 0,11	6,62 ± 0,08

n ± desvio padrão, n=4.

Foi observado que o uso do biofertilizante na diluição acresceu os teores de ST e SV à medida que foi aumentada a proporção do mesmo no substrato.

Os valores de pH também foram acrescidos com o uso do biofertilizante, propiciando maior estabilidade do processo. Fator que pode ser atribuído ao biofertilizante, devido a capacidade em fornecer alcalinidade aos substratos (KATO et al., 1999; MASIH-DAS; TAO, 2018).

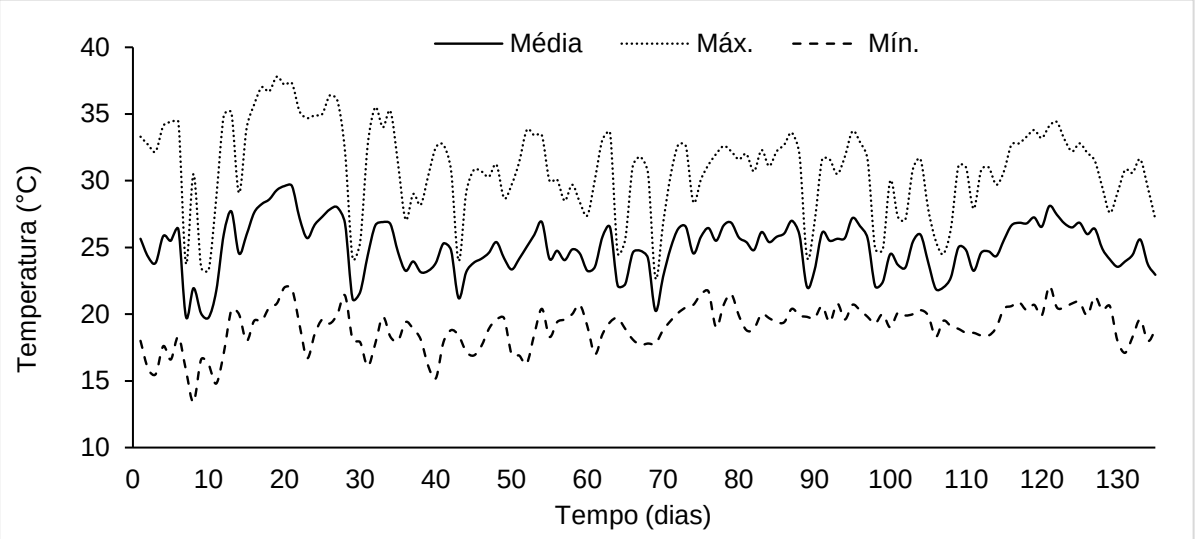
Sabendo-se que o pH é um fator de grande influência na estabilidade da DA, as diluições contendo o biofertilizante indicaram proporcionar condições satisfatórias desde o início de operação dos biodigestores.

A média de pH do efluente dos tratamentos foi de 7,35 (± 0,25). O pH ótimo para a DA varia entre 6,8 e 7,5 e as variações máximas e mínimas estão entre 6 e 8 (WELLINGER et al., 2013). Desta forma, para todos os tratamentos avaliados, os valores de pH encontrados estiveram dentro da faixa considerada apropriada para o processo de DA, o que indica que os substratos estavam suficientemente

tamponados e em equilíbrio diante as possíveis variações de pH (BENERAGAMA 2013).

Ao longo dos 135 dias de TRH as temperaturas médias, máximas e mínimas (25; 31 e 19°C, respectivamente) estiveram dentro da faixa mesofílica (entre 20 e 40°C) (KATO et al., 1999), com exceção da temperatura mínima que esteve bem próxima (Figura 4).

Figura 4 - Temperaturas médias, máximas e mínimas no período de avaliação



Em estudo realizado por Sun et al. (2016), a temperatura da DA (reator batelada) teve efeito na variação de genes de resistência a antibióticos (GRAs). Segundo os autores, as mudanças nos GRAs e nas comunidades bacterianas foram semelhantes nos tratamentos com temperatura moderada (20°C) e mesofílica (35°C), mas distintas daquelas com temperatura termofílica (55°C), na qual foi mais eficiente a redução da quantidade de bactérias mesofílicas portadoras de GRAs.

Observa-se na Tabela 7, por meio da análise de variância, que a diluição apresentou influência em todas as variáveis avaliadas. A presença do aditivo apresentou influência apenas nos rendimentos de metano. Houve interação dos fatores para todas as variáveis, com exceção das reduções de sólidos.

Tabela 7 - Resumo da análise de variância (valor de p) para as variáveis, produções totais de biogás e de metano, reduções de sólidos totais (ST_{red}) e voláteis (SV_{red}) e produções específicas de biogás e de metano, em função dos fatores, aditivo e diluição

FV	Biogás	Metano	ST_{red}	SV_{red}
	L	L	%	%
Aditivo (A)	0,1979^{ns}	**0,0042***	0,5099^{ns}	0,2869^{ns}
Diluição (D)	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***
A x D	**0,0242***	**0,0042***	0,8348^{ns}	0,9066^{ns}
	Biogás		Metano	
	L kg_{STadic}^{-1}	L kg_{SVadic}^{-1}	L kg_{STadic}^{-1}	L kg_{SVadic}^{-1}
Aditivo (A)	0,1452^{ns}	0,1557^{ns}	**0,0026***	**0,0029***
Diluição (D)	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***
A x D	**0,0147***	**0,0161***	**0,0022***	**0,0025***

*A 5% de significância. ^{ns} não significativo.

Na Tabela 8 são apresentadas as produções totais de biogás e de metano, para a interação entre aditivo e diluição.

Para a diluição com água, o tratamento controle, sem nenhum dos aditivos, apresentou maior ($p<0,05$) produção de biogás (L) comparado aos tratamentos com os aditivos MON e VM. O tratamento N1 apresentou a maior ($p<0,05$) produção de biogás (L) se comparado ao tratamento VM, mostrando que o antibiótico VM suscita maior desequilíbrio na DA que o aditivo natural (N1). Os tratamentos controle e N1, apresentaram maior ($p<0,05$) produção de metano (L), em relação aos tratamentos MON e VM, apontando maior influência desses aditivos na DA, em biodigestores batelada. Ainda para a diluição com água, para o tratamento MON, a produção total de metano (L), em relação ao total de biogás (L) produzido, foi correspondente a 57,2%, enquanto para VM foi relativo a 69,4%, podendo ser um indicativo que a MON tem maior influência na qualidade do biogás que a VM.

Para a diluição com biofertilizante, os tratamentos, controle e N1, apresentaram as maiores ($p<0,05$) produções de biogás (L) e metano (L), se comparados a diluição com água, do mesmo modo que os tratamentos N2, MON e MON+VM apresentaram as maiores ($p<0,05$) produções de biogás (L) e metano (L) para as diluições com ½ água e ½ biofertilizante e com biofertilizante, do que para a

diluição com água. Esse resultado pode ser atribuído a capacidade do biofertilizante em proporcionar maior equilíbrio a DA e suprimir a influência desses aditivos.

Tabela 8 - Interação entre aditivo e diluição para as variáveis, produções totais de biogás e de metano da digestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros

Aditivo	Diluição		
	Água	½ água e ½ biofertilizante	Biofertilizante
	Biogás (L)		
Controle	24,02 ± 2,89 Ba	27,72 ± 2,93 ABa	29,44 ± 2,21 Aa
N1	22,69 ± 1,69 Bab	26,53 ± 1,64 ABa	30,06 ± 0,33 Aa
N2	19,56 ± 1,98 Babc	28,22 ± 2,51 Aa	30,75 ± 3,03 Aa
MON	18,57 ± 2,08 Bbc	26,61 ± 0,90 Aa	29,14 ± 5,08 Aa
VM	15,97 ± 4,06 Cc	26,79 ± 1,14 Ba	31,86 ± 3,01 Aa
MON+VM	20,26 ± 1,63 Babc	27,05 ± 1,00 Aa	29,38 ± 2,74 Aa
	Metano (L)		
Controle	16,31 ± 1,96 Ba	18,80 ± 2,12 ABa	20,66 ± 1,54 Aab
N1	16,16 ± 1,29 Ba	18,18 ± 1,21 ABa	20,75 ± 0,21 Aab
N2	13,22 ± 1,21 Bab	19,52 ± 1,80 Aa	20,80 ± 2,06 Aab
MON	10,63 ± 1,32 Bb	18,80 ± 0,71 Aa	18,06 ± 3,54 Ab
VM	11,09 ± 2,79 Cb	18,17 ± 0,80 Ba	21,81 ± 2,18 Aa
MON+VM	13,68 ± 1,00 Bab	18,31 ± 0,59 Aa	21,31 ± 2,05 Aab

N1: aditivo natural 1. N2: aditivo natural 2. MON: monensina. VM: virginiamicina.
Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas (comparação entre os aditivos), e médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas (comparação entre as diluições), não diferem entre si pelo teste Tukey, ($p>0,05$).

O tratamento VM apresentou aumento ($p<0,05$) progressivo na produção de biogás (L) e metano (L) à medida que partiu da diluição com água para a proporção com ½ água e ½ biofertilizante e com biofertilizante, evidenciando novamente a capacidade do biofertilizante de reduzir a influência desse aditivo.

Uma possível interpretação para a redução na produção de metano (L) (diluição com água), nos tratamentos que receberam os antibióticos MON e VM, em relação aos demais tratamentos, pode estar relacionada ao fato evidenciado por Xiao et al. (2021), os quais relataram que a presença de antibióticos, do grupo

tetraciclina, ocasiona interferência negativa na fase metanogênica, uma vez que os ácidos graxos voláteis (AGVs) não apresentam conversão total e seu acúmulo pode levar a redução do metano.

Arikan et al. (2006) avaliaram a DA de dejetos de bezerros (reator batelada, sob condições mesofílicas, 35°C), que receberam o antibiótico oxitetraciclina (OTC, 22 mg kg_{animal} dia^{-1}), com a inclusão de inóculo de DB leiteiros. Os autores constataram que o OTC reduziu a produção de biogás em 27%, mas não apresentou resultados negativos na estabilidade do processo, uma vez que não houve diferença, no teor de metano no biogás, nas reduções de SV e carbono orgânico solúvel, em relação ao biodigestor sem o OTC.

A OTC é classificada como antibiótico não ionóforo, semelhante a VM (OLIVEIRA et al., 2005), que apresentou, para a diluição com água, reduções de 33,5 e 32,0% nas produções de biogás (L) e metano (L), respectivamente, em relação ao controle.

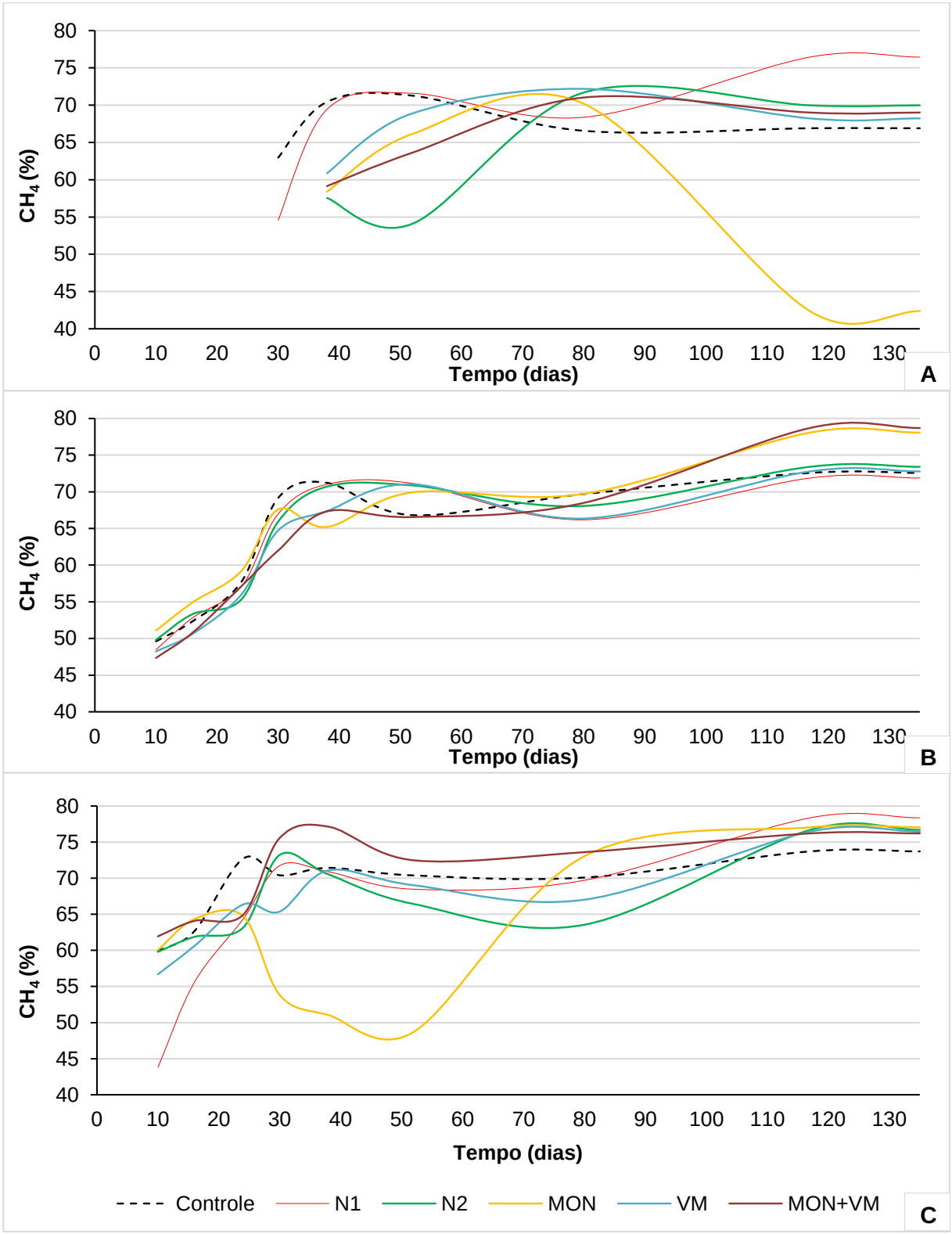
No trabalho realizado por Hilpert et al. (1984), a VM adicionada na DA de lodo de esgoto (reatores batelada), inibiu da produção de metano, sendo considerada como um composto de potencial perturbação na produção de biogás, mesmo para as concentrações mais baixas estudadas (3, 10 e 50 mg L^{-1}).

Poels et al. (1984) forneceram na dieta de suínos doses recomendadas de seis antibióticos: clortetraciclina, tilosina, cloranfenicol, eritromicina, bacitracina e virginiamicina, e observaram que a produção de metano na DA (reatores semi-contínuos) dos dejetos desses animais não foi influenciada. Tal resultado, diferente ao encontrado neste estudo sobre o efeito da virginiamicina pode estar relacionado as diferenças de introdução do antibiótico (diretamente no biodigestor e na dieta) e ao tipo de substrato analisado, devido as diferenças quanto a composição e condições da DA.

Os resultados encontrados nesta pesquisa demonstraram que a concentração de MON (1,5 mg L^{-1}) e de VM (1,25 mg L^{-1}) apresentaram rendimentos de biogás (L) e metano (L) inferiores ao tratamento controle, em especial na diluição água, resultando em menor desempenho da DA. Interferências negativas decorrente do uso de aditivos, podem ocasionar perdas significativas na eficiência de um biodigestor em escala real (FAGUNDES et al., 2020).

Na Figura 5 é apresentando o teor de metano no biogás para os tratamentos dependendo da diluição e aditivo.

Figura 5 - Teor de metano no biogás para os tratamentos em que os dejetos foram diluídos em água (A), ½ água e ½ biofertilizante (B) e biofertilizante (C)



Controle: sem aditivo. N1: aditivo natural 1. N2: aditivo natural 2. MON: monensina. VM: virginiamicina.

O teor de metano no biogás é um parâmetro que indica eficiência do processo de DA (RAJPUT; SHEIKH, 2019), a vista disso, foi possível observar que a MON teve uma influência negativa sobre o processo, provocando um decréscimo no teor de metano aos 90 dias, para a diluição com água e, entre os dias 25 e 70, para a diluição com biofertilizante.

Na pesquisa realizada por Lallai et al. (2002), os antibióticos: amoxicilina, oxitetraciclina e tianfenicol foram adicionados em diferentes concentrações nos dejetos de suínos, para DA (reator batelada) com a inclusão de inóculo. O tratamento controle, sem adição de quaisquer antibióticos, apresentou valor máximo para teor de metano (75%) após um período de 100 horas de incubação, enquanto para a adição de tianfenicol (80 e 160 mg L^{-1}) o mesmo teor de metano foi alcançado após cerca de 320 e 360 h. As maiores concentrações de amoxicilina reduziram a concentração de metano, e a oxitetraciclina pareceu não exercer qualquer efeito sobre a produção de metano. Os autores concluíram que as maiores concentrações de antibióticos causam maiores efeitos inibitórios em uma ou mais etapas da DA.

Hashimoto et al. (1981) avaliando o efeito de antibióticos na DA de DB de corte (biodigestores batelada), relatam que os antibióticos (clortetraciclina e MON) não afetaram o rendimento final de metano, entretanto, observaram que a MON retardou o início da produção de metano e que após a adaptação à MON, a fermentação procedeu a taxas comparáveis às dos fermentadores sem MON. Os autores citam três mecanismos possíveis que podem explicar a aparente adaptação da microflora à monensina: (a) o desenvolvimento de resistência à monensina por cepas mutantes de bactérias; (b) uma mudança nas populações microbianas causada pela inibição de algumas bactérias e um aumento em outras; e / ou (c) desativação da monensina durante o período de retardamento de 40 dias após o qual a produção de metano pode prosseguir normalmente.

Mesmo que os aditivos testados não tenham causado inibições totais no processo, em razão de ter havido produção de metano por todos os tratamentos, o fato do aditivo N1 não influenciar a DA é um bom indicativo do seu uso nas dietas dos animais, devido os antibióticos MON e VM poderem ocasionar reduções consideráveis na produção de metano (CETECIOGLU et al., 2012) e serem prejudiciais quando dispostos ao ambiente (VAKILI et al., 2013).

Além do mais, há estudos que comprovam a eficácia dos aditivos naturais, N1 e N2 (Fator P), na melhora do desempenho dos animais. No estudo realizado por

Leite et al. (2019), o Fator P ofertado na dieta de bovinos de corte, promoveu melhor desempenho e redução nas emissões de metano. Ainda para bovinos de corte, o trabalho realizado por Fernandes et al. (2015) evidenciou que é possível utilizar o Fator P, em substituição a virginiamicina. Para bovinos de leite, D'Aurea et al. (2019), verificaram que o Fator P, proporcionou aumento de 7,5% na produção média de leite, em comparação com a dieta sem suplementação com o aditivo.

Nas Tabelas 9 e 10 são apresentadas as produções específicas de produção de biogás (PEB em L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}) e as produções específicas de metano (PEM em L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}), respectivamente, para a interação entre aditivo e diluição.

Tabela 9 - Interação entre aditivo e diluição para as variáveis, produções específicas de biogás da digestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros

Aditivo	Diluição		
	Água	½ água e ½ biofertilizante	Biofertilizante
	Biogás (L kg_{STadic}^{-1})		
Controle	237,96 ± 28,65 Aa	256,71 ± 27,14 Aa	262,97 ± 19,74 Aa
N1	224,77 ± 16,72 Bab	245,70 ± 15,23 ABa	268,53 ± 2,91 Aa
N2	193,76 ± 19,66 Babc	261,32 ± 23,25 Aa	274,70 ± 27,07 Aa
MON	184,00 ± 20,60 Bbc	246,37 ± 8,31 Aa	260,34 ± 45,34 Aa
VM	158,26 ± 40,18 Bc	248,10 ± 10,53 Aa	284,62 ± 26,93 Aa
MON+VM	200,72 ± 16,17 Babc	250,50 ± 9,25 Aa	262,43 ± 24,46 Aa
	Biogás (L kg_{SVadic}^{-1})		
Controle	258,61 ± 31,13 Aa	280,54 ± 29,66 Aa	292,52 ± 21,95 Aa
N1	244,27 ± 18,17 Bab	268,50 ± 16,64 ABa	298,71 ± 3,24 Aa
N2	210,57 ± 21,37 Babc	285,58 ± 25,41 Aa	305,56 ± 30,12 Aa
MON	199,96 ± 22,38 Bbc	269,24 ± 9,09 Aa	289,59 ± 50,44 Aa
VM	171,99 ± 43,67 Cc	271,13 ± 11,51 Ba	316,60 ± 29,96 Aa
MON+VM	218,13 ± 17,57 Babc	273,75 ± 10,11 Aa	291,92 ± 27,21 Aa

N1: aditivo natural 1. N2: aditivo natural 2. MON: monensina. VM: virginiamicina.
Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas (comparação entre os aditivos), e médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas (comparação entre as diluições), não diferem entre si pelo teste Tukey, (p>0,05).

Tabela 10 - Interação entre aditivo e diluição para as variáveis, produções específicas de metano da digestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros

Aditivo	Diluição		
	Água	½ água e ½ biofertilizante	Biofertilizante
	Metano (L kg_{STadic}^{-1})		
Controle	161,58 ± 19,47 Aa	174,06 ± 19,64 Aa	184,57 ± 13,71 Aa
N1	160,14 ± 12,81 Aa	168,31 ± 11,17 Aa	185,39 ± 1,90 Aa
N2	131,03 ± 11,97 Bab	180,74 ± 16,69 Aa	185,83 ± 18,39 Aa
MON	105,31 ± 13,10 Bb	174,12 ± 6,57 Aa	161,31 ± 31,64 Aa
VM	109,84 ± 27,67 Bb	168,26 ± 7,39 Aa	194,86 ± 19,52 Aa
MON+VM	135,53 ± 9,87 Bab	169,58 ± 5,48 Aa	190,42 ± 18,34 Aa
	Metano (L kg_{SVadic}^{-1})		
Controle	175,60 ± 21,16 Aa	190,22 ± 21,46 Aa	205,31 ± 15,25 Aa
N1	174,03 ± 13,92 Ba	183,93 ± 12,21 ABa	206,22 ± 2,11 Aa
N2	142,40 ± 13,01 Bab	197,52 ± 18,24 Aa	206,71 ± 20,46 Aa
MON	114,44 ± 14,23 Bb	190,29 ± 7,18 Aa	179,44 ± 35,19 Aa
VM	119,37 ± 30,08 Cb	183,88 ± 8,08 Ba	216,76 ± 21,71 Aa
MON+VM	147,29 ± 10,73 Bab	185,32 ± 5,99 Aa	211,81 ± 20,40 Aa

N1: aditivo natural 1. N2: aditivo natural 2. MON: monensina. VM: virginiamicina.
Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas (comparação entre os aditivos), e médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas linhas (comparação entre as diluições), não diferem entre si pelo teste Tukey, ($p>0,05$).

As PEB e PEM acompanharam o desempenho observado para as produções totais de biogás e de metano.

Para a diluição com água, os tratamentos MON e VM apresentaram maior influência na DA, provocando redução nas PEB (L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}), se comparados ao controle ($p<0,05$), ao mesmo tempo que, o tratamento VM apresentou menores ($p<0,05$) rendimentos, quando comparado ao tratamento N1. Já para as PEM (L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}), o tratamento controle não diferiu ($p>0,05$) de N1, e ambos diferiram ($p<0,05$) dos tratamentos MON e VM.

Para o tratamento controle, não foi encontrada diferença ($p>0,05$) nas PEB (L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}) e PEM (L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}) entre as diluições analisadas.

Para as diluições com ½ água e ½ biofertilizante e com biofertilizante não foram encontradas diferenças ($p>0,05$) nas PEB e PEM entre os aditivos e o controle. Foi observado que a influência dos aditivos, principalmente MON e VM, nas produções totais e específicas de biogás e de metano, é atenuada com a inclusão de biofertilizante na diluição, seja com ou sem água, nas proporções avaliadas. Isso porque, o biofertilizante interfere e favorece o equilíbrio dos microrganismos envolvidos na DA, e assim no rendimento do processo (SANTANA et al., 2021).

Não foram encontrados estudos na literatura avaliando os efeitos de antibióticos associados sobre a DA. Contudo, algumas pesquisas relatam que associações de antibióticos apresentam efeitos sinérgicos ou antagônicos, dependendo dos tipos dos antibióticos (XIAO et al., 2021). Neste estudo, a associação da MON com VM (diluição com água) demonstrou ter efeito sinérgico, o que pode ser observado nas variáveis, produção de biogás e de metano (L), bem como nas suas produções específicas (L kg_{STadic}^{-1} e L kg_{SVadic}^{-1}), visto que quando associados apresentam menor influência na DA, que quando adicionados no DB de forma isolada.

Na Tabela 11 são apresentadas as reduções de sólidos totais (ST_{red}) e de sólidos voláteis (SV_{red}) para as diferentes diluições. Embora não tenha havido interação entre AxD ($p>0,05$) e efeito principal do fator aditivo ($p>0,05$), houve efeito principal da diluição ($p<0,05$) para essas variáveis.

Tabela 11 - Efeito principal da diluição para as variáveis, reduções de sólidos totais (ST_{red}) e sólidos voláteis (SV_{red})

Diluição	ST_{red} (%)	SV_{red} (%)
Água	37,5 ± 3,7 b	42,6 ± 4,7 b
½ água e ½ biofertilizante	45,2 ± 1,8 a	51,6 ± 1,4 a
Biofertilizante	45,3 ± 3,7 a	51,8 ± 4,5 a

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey, ($p>0,05$).

Dentro do fator principal Diluição, os menores ($p<0,05$) valores de ST_{red} (%) e SV_{red} (%) foram encontrados para a diluição com água, se comparada as demais diluições analisadas (½ água e ½ biofertilizante e biofertilizante).

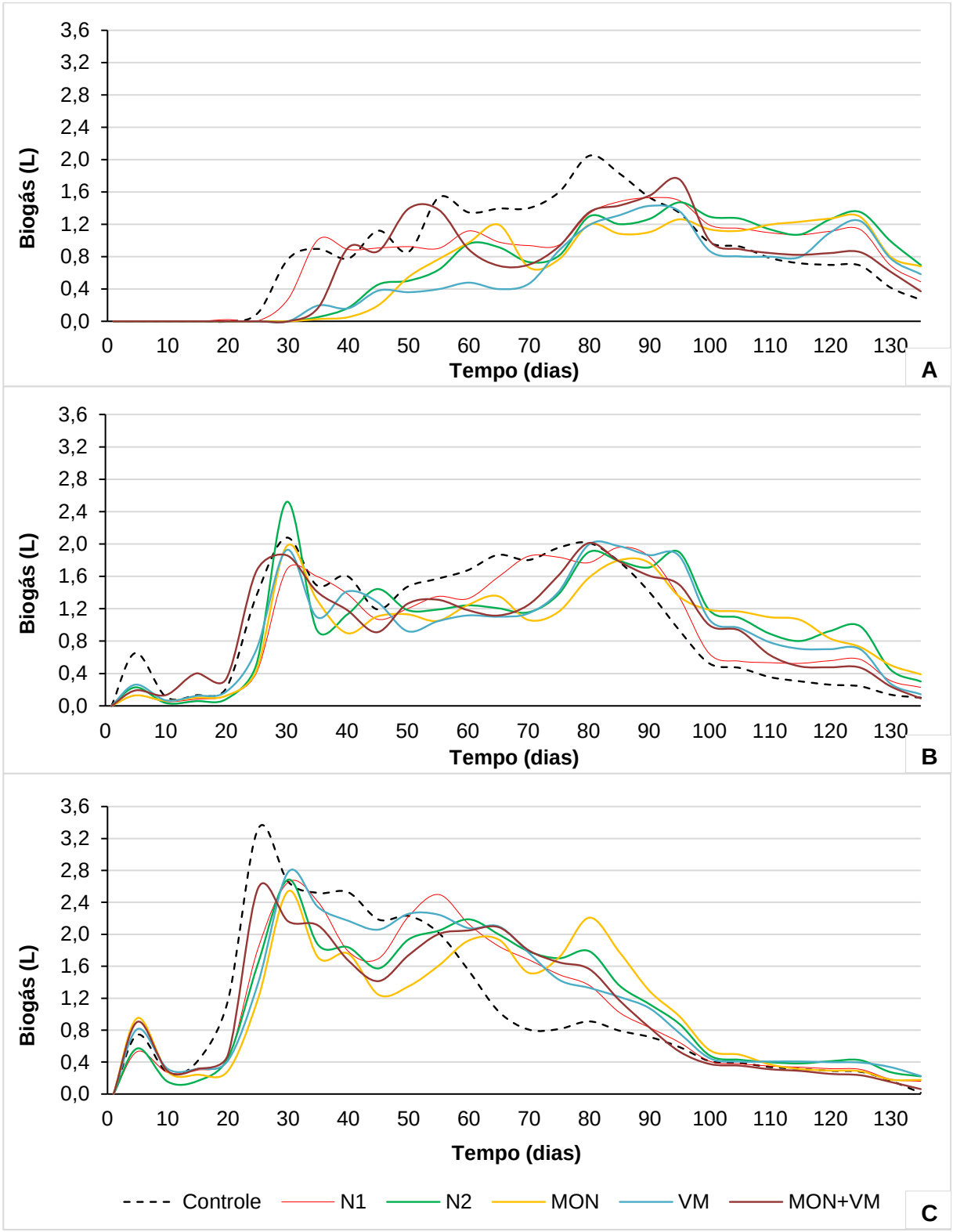
As diluições com ½ água e ½ biofertilizante e com biofertilizante apresentaram as maiores taxas de remoções de SV (51,6 e 51,8%, respectivamente), as quais também apresentaram as maiores PEB e PEM, se comparadas a diluição com água. Essa correlação entre rendimento e redução de sólidos é esperada, dado que os SV representam parte dos ST suscetíveis a serem biodegradados e convertidos em biogás (GUERI et al., 2018). Este resultado parece ter sido influenciado pelas características favoráveis do biofertilizante utilizado como diluente e inóculo.

Nota-se que os tratamentos com biofertilizante, independentemente da proporção na diluição, foram os quais apresentaram maior produção de biogás (L). É importante salientar que houve um acréscimo nos teores de ST e SV, advindo do biofertilizante, aplicado como diluente do DB. Isto posto, o aumento na produção de biogás, para as diluições com biofertilizante, pode ser associado à degradação de substâncias orgânicas que foram reintroduzidas nos biodigestores (ESTEVEZ et al., 2014).

O biofertilizante utilizado como inóculo pode proporcionar a ampliação e/ou diversificação dos microrganismos (NI et al., 2017; WEI et al., 2020), o que pode ter resultado no aumento da taxa de degradação de uma maior fração de carboidratos e proteínas presentes no DB, como observado por Costa et al. (2016) na DA de DB e, por Ni et al. (2017) na DA de dejetos de suínos.

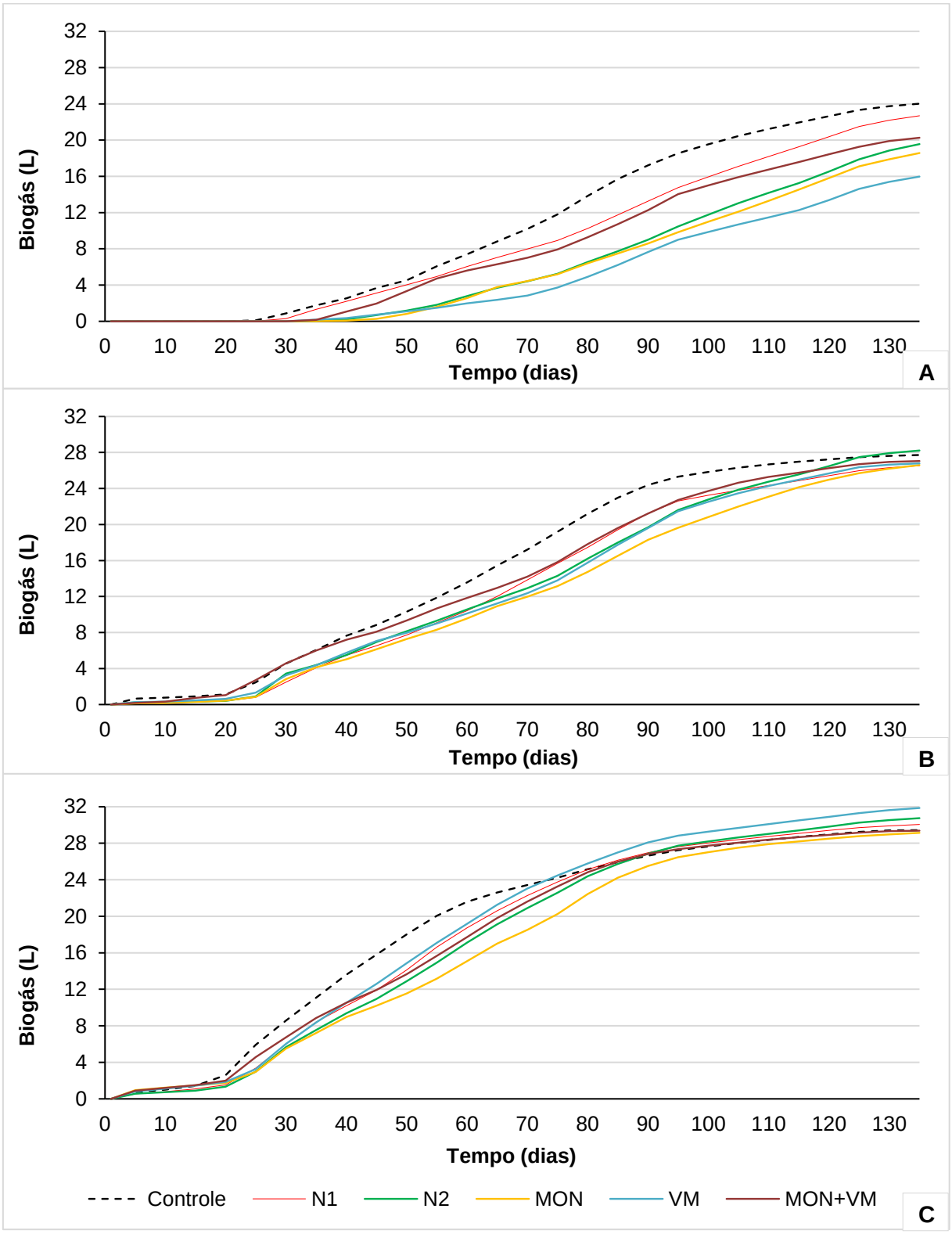
Quando observada a cinética de produção de biogás ao longo do TRH (135 dias) (Figuras 6 e 7), nota-se que houve uma variação nos tempos de partida e picos de produção de biogás para as diferentes diluições e aditivos utilizados.

Figura 6 - Produção diária de biogás para os tratamentos em que os dejetos foram diluídos com água (A), ½ água e ½ biofertilizante (B) e biofertilizante (C)



Controle: sem aditivo. N1: aditivo natural 1. N2: aditivo natural 2. MON: monensina. VM: virginiamicina.

Figura 7 - Produção acumulada de biogás para os tratamentos em que os dejetos foram diluídos em água (A), ½ água e ½ biofertilizante (B) e biofertilizante (C)



Controle: sem aditivo. N1: aditivo natural 1. N2: aditivo natural 2. MON: monensina. VM: virginiamicina.

Para a diluição com água (Figuras 6A e 7A), os tratamentos, N2, MON, VM e MON+VM tiveram seus tempos de partida aumentados, cerca de 10 a 12 dias após a partida dos tratamentos controle e N1. O tratamento controle teve seu pico de produção aos 80 dias, enquanto os demais tratamentos ocorreram aos 95 dias, com exceção do tratamento MON, que teve sua produção distribuída ao longo da segunda metade do TRH.

O início de produção de biogás dos tratamentos N2, MON, VM e MON+VM foi precedida de um período mais longo (Figuras 6A e 7A). Esse comportamento pode ser devido as bactérias anaeróbias requerer um tempo de adaptação e desenvolver algum tipo de resistência a esses aditivos (HILPERT et al., 1984).

Xiao et al. (2021) constataram que dependendo da concentração dos antibióticos, do grupo macrolídeos e tetraciclinas, no material submetido a DA, ocasiona inibições às bactérias envolvidas nas primeiras fases do processo. Mesmo que os antibióticos usados nesta pesquisa sejam de outros grupos, o comportamento de produção de biogás observado (Figuras 6A e 7A) sugere que eles possuem efeito semelhante sobre a DA.

Para a diluição com ½ água e ½ biofertilizante (Figuras 6B e 7B), os tempos de partida foram semelhantes. Os tratamentos tiveram dois picos de produção de biogás, aos 30 dias e aproximadamente aos 81 dias.

Para a diluição com biofertilizante (Figuras 6C e 7C), os tempos de partida foram semelhantes, com os picos de produção de biogás entre 25 e 30 dias. Todos os tratamentos, com algum dos aditivos, apresentaram cinética de produção de biogás parecida. Aos 70 dias, o tratamento controle alcançou cerca de 80% de sua produção total, enquanto os demais tratamentos, com algum dos aditivos, haviam alcançado cerca de 70% de sua produção total.

A inserção de inóculo (biofertilizante) no biodigestor batelada normalmente decorre em uma cinética de produção de biogás que pode ser dividida em três fases, na qual a primeira ocorre um aumento exponencial de produção de biogás e, no decorrer do TRH a produção permanece estável e por último ocorre um declínio na produção (XIN et al., 2014). Comportamento este representado pela produção de biogás dos tratamentos com biofertilizante, Figura 6 (B e C).

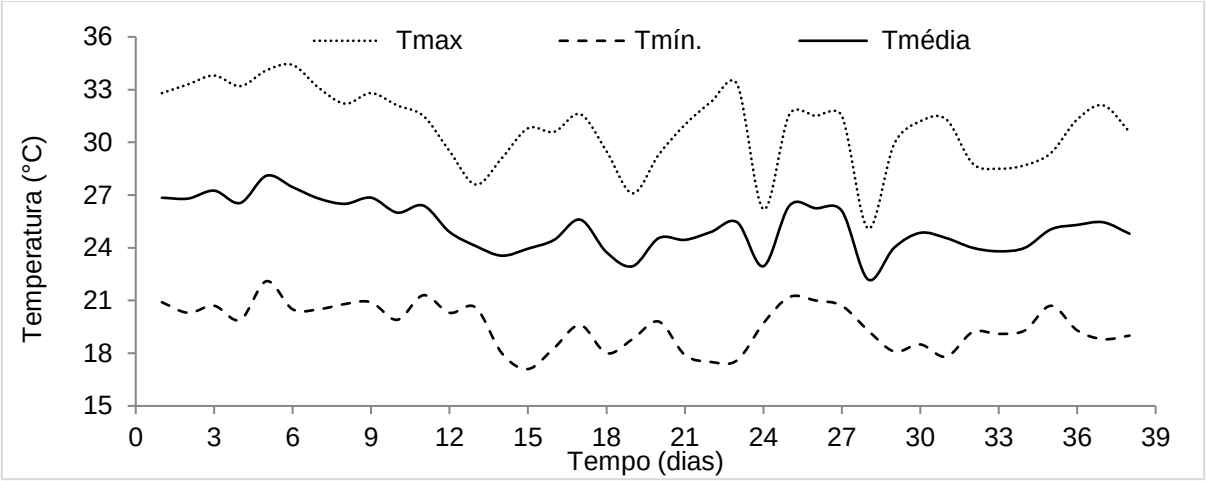
Nas Figuras 7B e 7C, onde houve adição de biofertilizante, para todos os tratamentos, a partida de produção de biogás foi semelhante, logo nos primeiros dias do ensaio. Até mesmo os tratamentos, N2, MON, VM e MON+VM, que na

diluição água (Figura 7A) apresentaram tempo de partida prolongado em relação ao controle, sugerindo que não ocorreram inibições no início do processo com a presença dos aditivos. A vista disso, pode-se considerar um indicativo que o biofertilizante utilizado conseguiu fornecer biomassa adequada ao início do processo de conversão e estabilização da matéria orgânica nos biodigestores (SOUZA et al., 2020).

4.2 Ensaio com biodigestores semi-contínuos

As temperaturas médias, máximas e mínimas durante o período de avaliação estão apresentadas na Figura 8.

Figura 8 - Temperaturas médias, máximas e mínimas durante o período do ensaio com biodigestores semi-contínuos



Ao longo dos 39 dias as temperaturas médias, máximas e mínimas (25,2; 30,9 e 19,6°C, respectivamente) estiveram dentro da faixa mesofílica (entre 20 e 40°C) (KATO et al., 1999), com exceção da temperatura mínima que esteve bem próxima.

Os resultados da pesquisa realizada por Arikan et al. (2015) mostraram que a DA de DB leiteiros, em biodigestores (plug-flow reactor) operados a 22, 28 e 35°C, apresentaram estabilidade com rendimento de metano, a 28°C, quase tão eficiente quanto a 35°C (260; 340 e 370 L kg_{SVadic}^{-1}, respectivamente). Os rendimentos de metano encontrados pelos autores foram próximos a média alcançada pelos tratamentos avaliados no presente estudo, 321,4 L kg_{SVadic}^{-1} (Tabela 13).

Resende et al. (2014) avaliaram a persistência de bactérias potencialmente patogênicas e resistentes a antibióticos durante a DA de DB leiteiros (reatores tubulares; volume útil: 60L; TRH; 60 dias e ST: 3 a 4%), sob temperatura mesofílica (entre 25 e 35 °C), no estado de Minas Gerais, BR. Bactérias multirresistentes foram detectadas tanto no afluente quanto no efluente. A média de produção diária de biogás registrada pelos autores foi de 17 L dia^{-1}, com teor de metano variando entre 44,1 e 70,3%. A média encontrada pelos autores foi próxima à encontrada no presente estudo (15,1 L d^{-1}), considerando que os biodigestores utilizados eram similares.

A demanda de energia para manter a temperatura elevada do substrato é a principal desvantagem da DA termofílica. Desta forma, a adoção de baixas dosagens de antibióticos como promotores de crescimento é altamente recomendada para o tratamento e reutilização dos dejetos, uma vez que permite a aplicação segura do biofertilizante no solo evitando riscos sanitários e ecológicos.

O resultado da ANOVA e as médias das variáveis, pH, rendimentos de biogás e de metano, teor de metano e reduções de ST e SV estão apresentados na Tabela 12. Não houve diferença (p>0,05) entre os tratamentos para nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 12 - Médias e síntese da análise de variância para as variáveis, pH, rendimentos de biogás e de metano, teor de metano e reduções de sólidos totais (ST_{red}) e sólidos voláteis (SV_{red})

Parâmetros	Tratamentos			F	p valor
	Controle	N1	MON+VM		
pH	7,35 ± 0,13	7,45 ± 0,10	7,30 ± 0,11	-	-
Biogás (L)	588,8 ± 11,2 a	592,8 ± 10,1 a	580,5 ± 6,6 a	1,75	0,228
Metano (L)	372,6 ± 7,1 a	381,0 ± 6,5 a	379,1 ± 4,3 a	2,12	0,176
Biogás (L dia^{-1})	15,1 ± 0,3 a	15,2 ± 0,3 a	14,9 ± 0,2 a	1,75	0,228
Metano (%)	63,3 ± 1,8 a	64,3 ± 0,8 a	65,3 ± 0,6 a	3,04	0,098
ST_{red} (%)	41,8 ± 5,2 a	43,7 ± 5,7 a	37,3 ± 12,6 a	0,45	0,66
SV_{red} (%)	56,3 ± 4,4 a	58,2 ± 6,0 a	49,8 ± 13,6 a	0,73	0,52

Controle: sem aditivo. N1: aditivo natural 1. MON: monensina. VM: virginiamicina.
Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey, (p>0,05).

A redução de SV é um parâmetro que indica eficiência do processo de DA (RAJPUT; SHEIKH, 2019), assim como o teor de metano no biogás (BENERAGAMA et al., 2013). Visto que não houve diferença (p>0,05) entre os tratamentos, para esses parâmetros avaliados, é presumível que as concentrações dos aditivos N1 e MON+VM presentes na DA do DB, não provocam efeitos adversos no desempenho e estabilidade do processo, em biodigestores semi-contínuos. Na prática, as concentrações adicionadas nos biodigestores, equivalente as quantidades remanescentes desses aditivos nos dejetos dos animais, podem não gerar efeitos negativos na DA.

A Tabela 13 mostra as produções específicas de biogás (PEB) e de metano (PEM). As PEB e PEM também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

É fato que os antibióticos presentes na dieta dos animais, alteram a população microbiana do dejeto, podendo influenciar a produção de biogás na DA desses dejetos. No entanto, alguns antibióticos perdem seu efeito inibitório quando em DA, tendo como possíveis fatores, hidrólise desses antibióticos e tolerância desenvolvida pelas bactérias metanogênicas a certas concentrações (XIAO et al., 2021). Os fatores mencionados podem explicar a semelhança dos resultados alcançados pelos tratamentos controle e MON+VM.

Tabela 13 – Médias e síntese da análise de variância para as variáveis, produções específicas de biogás e de metano

Parâmetros	Tratamentos			F	p valor
	Controle	N1	MON+VM		
Biogás (L kg_{STadic}^{-1})	388,9 ± 7,4 a	391,6 ± 6,7 a	383,4 ± 4,3 a	1,75	0,228
Biogás (L kg_{SVadic}^{-1})	501,3 ± 9,5 a	504,7 ± 8,6 a	494,2 ± 5,6 a	1,75	0,228
Metano (L kg_{STadic}^{-1})	246,1 ± 4,7 a	251,6 ± 4,3 a	250,4 ± 2,8 a	2,12	0,176
Metano (L kg_{SVadic}^{-1})	317,2 ± 6,0 a	324,3 ± 5,5 a	322,8 ± 3,6 a	2,12	0,176

Controle: sem aditivo. N1: aditivo natural 1. MON: monensina. VM: virginiamicina.
Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey, (p>0,05).

Arikan et al. (2018) avaliaram a DA (reator plug-flow) de DB com MON (1 mg L^{-1}) e relataram rendimento de metano semelhante ao controle (0,19 e 0,22 m^3 kg_{SV}^{-1}, com e sem MON, respectivamente). Para a DA com 10 mg L^{-1} de MON, foi

relatada redução de 78% na produção de metano (0,04 m^3 kg_{SV}^{-1}), comparado ao controle.

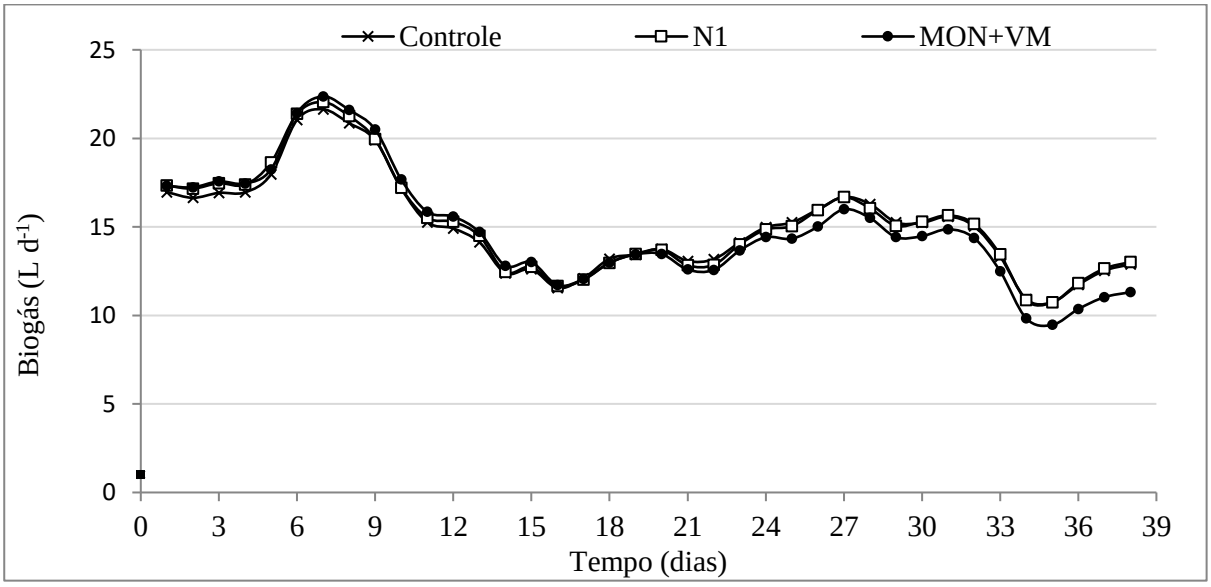
No estudo realizado por Hilpert et al. (1984) sobre o efeito da MON na DA (reatores semi-contínuos) de lodo de esgoto, foi mostrado que 1 mg L^{-1} de MON adicionada ao lodo ocasionou redução de 20% na produção acumulada de biogás nos primeiros dias do processo. Segundo os autores, nos dias sucessivos a influência da MON diminuiu gradativamente, e aos 40 dias, do período de avaliação, a produção foi quase semelhante ao tratamento sem MON.

De acordo com Hilpert et al. (1984), esse comportamento sugere que a MON foi hidrolisada ou que os microrganismos anaeróbios aclimataram a MON. No entanto, os autores relataram que concentrações mais altas (10 e 50 mg L^{-1}) de MON tiveram efeito inibitório total sobre as bactérias metanogênicas, ocasionando queda rápida de pH e aumento na taxa de AGVs.

No trabalho realizado por Beneragama et al. (2013), as doses de OTC e cefazolina individuais, ou estas de forma conjunta, aplicadas ao DB leiteiro submetidos a DA, não apresentaram nenhum impacto negativo na estabilidade do processo.

A Figura 9 mostra a produção diária de biogás ao longo do período avaliado.

Figura 9 - Produção diária de biogás para os tratamentos analisados



Controle: sem aditivo. N1: aditivo natural 1. MON: monensina. VM: virginiamicina.

As curvas de produção diária de biogás dos tratamentos foram semelhantes. No entanto, é perceptível uma discreta redução na produção diária de biogás do tratamento MON+VM, a partir do 25º dia do processo. Essa diferença na produção diária, entre os tratamentos controle e MON+VM, durante o período citado, foi de 1 a 1,5 L d^{-1}, e pode ser atribuída a hidrólise da MON ao longo do tempo de avaliação. Desta forma, a presença de MON, na concentração adicionada (1,5 mg L^{-1}), na DA em biodigestores semi-contínuos, pode requerer um tempo de avaliação maior.

Spirito et al. (2018) estudaram a DA (CSTR) de DB leiteiros com doses de MON adicionadas na dieta (194 a 546 mg L^{-1}) e diretamente nos dejetos (1 a 5 mg L^{-1}). Os autores relataram taxa de excreção de 13% (0,09 a 0,19 mg L^{-1} no DB diluído) nos dejetos dos animais que receberam MON na dieta, sendo verificada pequenas alterações no desempenho da DA, enquanto, a concentração mais alta de MON (5 mg L^{-1}), dosada diretamente no dejeto, apresentou reduções significativas na produção de metano. Os autores observaram comportamento contrário quando a mesma concentração (5 mg L^{-1}) de MON foi adicionada de forma gradual ao dejeto, o que proporcionou tempo de adaptação dos microrganismos. Contudo, os autores pressupõem que o menor rendimento de biogás pode também estar relacionado com uma possível diferença na composição dos dejetos utilizados nos tratamentos avaliados.

Varel e Hashimoto (1982) avaliaram a DA de DB (reatores CSTR sob condições termofílicas, 55°C) que receberam antibióticos (MON, lasalocida e salinomicina) na dieta (29, 20 e 16,5 mg $kg_{alimento}^{-1}$, respectivamente). Os autores relataram que não houve inibição da produção de metano com a salinomicina ou lasalocida, enquanto os resíduos contendo monensina exigiram um período de aclimatação de 6 meses nos fermentadores a 35°C antes que a produção de metano fosse comparável ao controle. Segundo os autores a MON reduziu a capacidade de tamponamento e acarretou acúmulo de AGVs.

Conforme resultados obtidos da pesquisa de Spirito et al. (2018), assim como relatado por Varel e Hashimoto (1982), a MON não foi degrada rapidamente no processo de DA, mas provavelmente os microrganismos responsáveis pela DA se adaptaram à MON.

É importante ressaltar que, a monensina e a virginiamicina, como visto, são normalmente utilizadas na nutrição de bovinos no Brasil, portanto, altas concentrações desses produtos podem ser encontradas nos dejetos, mesmo

considerando que há uma redução durante o processo de DA, pode haver contaminação dos solos com a aplicação do biofertilizante.

O aditivo natural (N1) não apresentou efeitos negativos no processo, visto os rendimentos de biogás e metano foram semelhantes ao tratamento controle.

Fagundes et al. (2020) pesquisaram o efeito de taninos condensados, como aditivo natural, adicionados as dietas de bovinos de corte como atenuantes das emissões de metano pelos animais, bem como seu efeito na DA dos dejetos desses animais. Os autores relataram influência positiva do emprego do tanino, com redução nas emissões diárias de metano por animal e, efeitos negativos não foram observados na produção de biogás.

Portanto, o uso do aditivo natural se mostrou como substituto promissor, uma vez que se pode evitar a ocorrência de resíduos de antibióticos excretados nos dejetos, e dessa forma permite a aplicação do biofertilizante de forma segura nas culturas, e a comercialização global de produtos de origem animal.

5 CONCLUSÕES

No ensaio batelada, a diluição não afetou os rendimentos de biogás e metano, por sólidos totais e voláteis adicionados, do tratamento sem aditivo. Para a diluição com água, as adições de monensina e de virginiamicina apresentaram maior influência no processo, acarretando menores rendimentos de metano, comparados aos tratamentos controle e natural 1. As diluições com ½ água e ½ biofertilizante e com biofertilizante elevaram os rendimentos de biogás e metano, que foram acompanhados das maiores taxas de remoções de sólidos, dos demais tratamentos que receberam algum dos antibióticos e aditivos naturais.

Quanto a cinética de produção de biogás, para a diluição somente com água, os tempos de partida dos tratamentos com os aditivos, natural 2; monensina; virginiamicina e monensina mais virginiamicina, foi precedida de um período mais longo, o que indica que as bactérias anaeróbias requerem um tempo de adaptação e/ou podem ter desenvolvido algum tipo de resistência a esses aditivos, principalmente no início do processo.

O biofertilizante, independente da proporção adicionada na diluição, reduziu os tempos de partida para todos os tratamentos. O biofertilizante ofereceu condições mais favoráveis aos microrganismos anaeróbios e propiciou melhor desempenho e estabilidade do processo anaeróbio.

A configuração e o regime de alimentação dos biodigestores exercem influência sobre o desempenho global do processo anaeróbio. O ensaio batelada foi mais sensível aos acréscimos dos aditivos, ao passo que o ensaio semi-contínuo suportou os acréscimos diários dos aditivos, sem alteração nos parâmetros, tendo apresentado menor suscetibilidade a influência dos aditivos.

No ensaio semi-contínuo não houve influência do aditivo natural 1 e da associação da monensina mais virginiamicina sobre a digestão anaeróbia dos dejetos de bovinos leiteiros, para todos os parâmetros avaliados. Portanto, o uso do aditivo natural se mostrou como substituto promissor, uma vez que se pode evitar a ocorrência de resíduos de antibióticos excretados nos dejetos, e dessa forma permite a aplicação do biofertilizante de forma segura nas culturas, e a comercialização global de produtos de origem animal.

REFERÊNCIAS

AKAMINE, L. A. **Uso de reciclo e aquecimento nas cargas diárias de biodigestores abastecidos com dejetos de bovinos e batata doce**. 89 p. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2021.

AKYOL, Ç.; AYDIN, S.; INCE, O.; INCE, B. A comprehensive microbial insight into single-stage and two-stage anaerobic digestion of oxytetracycline-medicated cattle manure. **Chemical Engineering Journal**, v. 303, p. 675–684, 2016. https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.06.006.

AMARAL, A. C.; STEINMETZ, R. L. R.; KUNZ, A. O processo de biodigestão. Cap. 1. In: KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. (ed.). **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Concórdia, SC: Sbera e Embrapa Suínos e Aves, 2019. p. 13-26. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1108617>. Acesso em 19 jun. 2020.

ANDRE, R.; GARCIA, A. Alguns aspectos climáticos do município de Jaboticabal-SP. **Nucleus** v.12, p. 263-269, 2015. https://doi.org/10.3738/1982.2278.1543.

ANDREOTTI, R.; NICODEMO, M. L. F. **Uso de antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento de resistência.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2004 (ISSN 1517-3747; Documentos 144).

APHA, 2005. American Public Health Association. American water works association; water environment Federation – APHA/AWWA/WEF. **Standard Methods for Examination of Water and Manure Water** (twenty-first ed.), American Water Works Association, Washington, D.C. (2005), p. 1368p.

ARIKAN, O. A.; MULBRY, W.; LANSING, S. Effect of temperature on methane production from field-scale anaerobic digesters treating dairy manure. **Waste Management**, v. 43, p. 108–113,
2015. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.06.005.

ARIKAN, O. A.; MULBRY, W.; RICE, C.; LANSING, S. The fate and effect of monensin during anaerobic digestion of dairy manure under mesophilic conditions. **PloS ONE**, v. 13, n. 2, p. e0192080, 2018. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192080.

ARIKAN, O. A.; SIKORA, L. J.; MULBRY, W.; KHAN, S. U.; RICE, C.; & FOSTER, G. D. The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 7, p. 1637-1643, 2006. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.010.

BACIOCCHI, R.; CARNEVALE, E.; COSTA, G.; GAVASCI, R.; LOMBARDI, L.; OLIVIERI T.; ZANCHI, L.; ZINGARETTI, D. Performance of a biogas upgrading process based on alkali absorption with regeneration using air pollution control

residues. **Waste Management**, n.12, v.33, p.2694-2705, 2013. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.08.022.

BATAGLIA, O.G.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Methods of chemical analysis of plants**. Campinas, Instituto Agronômico, 48p. (Boletim técnico 78). 1983.

BARJUD, S. F. L.; CARVALHO NETO, J. P.; BARBOSA, A. O.; SILVA, R. S.; SOUSA, V. C. Efeito da monensina e da virginiamicina sobre a digestibilidade em bovinos de corte. **Revista Eletronica Nutritime**, v. 17, n. 4, 2020.

BENERAGAMA, N.; LATEEF, S. A.; IWASAKI, M.; YAMASHIRO, T.; UMETSU, K. The combined effect of cefazolin and oxytertracycline on biogas production from thermophilic anaerobic digestion of dairy manure. **Bioresource technology**, v. 133, p. 23-30, 2013. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.032.

BRASIL. **Lei Federal no 12.305, de 2 de agosto de 2010**. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Brasília, 2 ago. 2010a. Disponível em < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm >.

BRASIL. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Probiogás. O estado da arte da tecnologia de metanização seca / Probiogás; organizadores, Ministério das Cidades, Deutsche Gesellschaf für Internationale Zusammenarbeit GmbH (GIZ); autor, Luis Felipe de Dornfeld Braga Colturato. – Brasília, DF: Ministério das Cidades, 2015. 97 p. : il. – (Aproveitamento energético de biogás de resíduos sólidos urbanos; 1) https://antigo.mdr.gov.br/images/stories/ArquivosSNSA/probiogas/probiogas-metanizacao-rsu.pdf.

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

CARMO, D. L. do; SILVA, C. A.. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 4, p. 1211-1220, 2012. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832012000400015.

CEPEA/CNA. CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA / CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **PIB do agronegócio brasileiro de 1996 a 2020.** Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>.

CETECIOGLU, Z.; INCE, B.; ORHON, D.; INCE, O. Acute inhibitory impact of antimicrobials on acetoclastic methanogenic activity. **Bioresource Technology**, v.114, p. 109–116, 2012. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.020.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Anaerobic reactors**. Biological wastewater treatment series, London: IWA, v. 4, 175p, 2007.

CHEW, K. W.; CHIA, S. R.; YEN, H. W.; NOMANBHAY, S.; HO, Y. C.; SHOW, P. L. Transformation of Biomass Waste into Sustainable Organic

Fertilizers. **Sustainability**, v. 11, n. 8, p. 2266, 2019. https://doi.org/10.3390/su11082266.

CHYNOWETH, D. P.; MAH, R. A. Anaerobic biological treatment processes. **Adv. Chem. Sci**, v. 105, p. 41-53, 1971.

CHYNOWETH, D. P.; WILKIE, A. C.; OWENS, J. M. Anaerobic treatment of piggery slurry-review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 12, n. 4, p. 607-628, 1999. https://doi.org/10.5713/ajas.1999.607.

CIBIOGAS. **BiogasMap**. Foz do Iguaçu, 2020. Disponível em: <https://mapbiogas.cibiogas.org/>. Acesso em 19 jun. 2020.

COCITO, C. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. **Microbiological Reviews**, v. 43, n. 2, p. 145-192, 1979. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/mr.43.2.145-192.1979> Acesso em: 30 set. 2021.

CORRÊA, J. C.; NICOLOSO, R. da S.; MENEZES, J. F. S.; BENITES, V. de M. Embrapa Suínos e Aves. **Critérios técnicos para recomendação de biofertilizante de origem animal em sistemas de produção agrícolas e florestais**. Comunicado Técnico, 486. Concórdia. 8 p. 2011.
Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/910346>. Acesso em: 27 ago. 2019.

COSTA, M. S. S. D. M. **Caracterização dos dejetos de novilhos superprecoces: reciclagem energética e de nutrientes**. 126 p. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

COSTA, M. S. S. D. M.; COSTA, L. A. D. M.; LUCAS JUNIOR, J. DE; COSTA, L. A. DE M.; ORRICO, A. C. A. A highly concentrated diet increases biogas production and the agronomic value of young bull's manure. **Waste Management**, v. 48, p. 521-527, 2016. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.09.038.

CROOY, P.; NEYS, de R. Virginiamygin: Nomenclature. **The Journal of Antibiotics**, v. 25, n. 6, p. 371-372, 1972. https://doi.org/10.7164/antibiotics.25.371.

D'AUREA, A. P.; FERNANDES, L. B.; OLIVEIRA, A. P.; FERREIRA, L. E.; LIMA, M. M.; LIMEDE, A. C.; SILVA, M. F. Natural additives can replace the conventional growth promoters in cattle feedlot diet. In: **EAAP Scientific Series**. Wageningen Academic Publishers, 2019. p. 1-18. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-891-9_27.

DAMACENO, F. M. **Codigestão anaeróbia do lodo obtido em abatedouros de frangos e batata-doce: valorização energética e agronômica**. 94 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel-PA, 2018.

DAMACENO, F. M.; BULIGON, E. L.; PIRES SALCEDO RESTREPO, J. C.; CHIARELOTTO, M.; NIEDZIALKOSKI, R. K.; DE MENDONÇA COSTA, L. A.; LUCAS JUNIOR, J. de; DE MENDONÇA COSTA, M. S. S. Semi-continuous anaerobic co-digestion of flotation sludge from broiler chicken slaughter and sweet

potato: Nutrients and energy recovery. **Science of the Total Environment**, v. 683, p. 773–781, 2019. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.314.

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

DE SOMER, P.; P. VAN DIJCK. **A preliminar report on antibiotic number 899**. Antibiot. Chemother. v.5, p.632-639. 1955. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19562701718>. Acesso em: 29 dez. 2020.

DHAMODHARAN, K.; KUMAR, V.; KALAMDHAD, A. S. Effect of different livestock dungs as inoculum on food waste anaerobic digestion and its kinetics. **Bioresource Technology**, v.180, p. 237–241,
2015. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.066.

DI GIAMBATTISTA, M.; CHINALI, G.; COCITO, C. The molecular basis of the inhibitory activities of type A and type B synergimycins and related antibiotics on ribosomes. The Journal of antimicrobial chemotherapy, v. 24, n. 4, p. 485-507, 1989. https://doi.org/10.1093/jac/24.4.485.

EL-MASHAD, H. M.; VAN LOON, W. K.; ZEEMAN, G.; BOT, G. P.; & LETTINGA, G. Effect of inoculum addition modes and leachate recirculation on anaerobic digestion of solid cattle manure in an accumulation system. **Biosystems Engineering**, v. 95, n. 2, p. 245-254, 2006. https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.06.006.

EMBRAPA. **Anuário leite 2019**. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/198698/1/Anuario-LEITE-2019.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2019.

ESTEVEZ, M. M.; SAPCI, Z.; LINJORDET, R.; SCHNÜRER, A.; MORKEN, J. Semi-continuous anaerobic co-digestion of cow manure and steam-exploded Salix with recirculation of liquid digestate. **Journal of Environmental Management**, v. 136, p. 9–15, 2014. http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.01.028.

FAGUNDES, G. M.; BENETEL, G.; WELTER, K. C.; MELO, F. A.; MUIR, J. P., CARRIERO, M. M.; SOUZA, R. L. M.; MEO-FILHO, P.; FRIGHETTO, R. T. S.; BERNDT A.; BUENO, I. C. S**.** Tannin as a natural rumen modifier to control methanogenesis in beef cattle in tropical systems: Friend or foe to biogas energy production?. **Research in Veterinary Science**, v.132, p. 82–93, 2020. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.05.010.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO STAT** - Livestock Primary. Roma, Italy, 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Acesso em 18 mai. 2021.

FENG, L.; CASAS, M. E.; OTTOSEN, L. D. M.; MØLLER, H. B.; BESTER, K. Removal of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. **Science of**

The Total Environment, 603-604, p. 219–225, 2017. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.280.

FERNANDES, L. B.; D'AUREA, A. P.; FERNANDES, L. F. The technology of organic additive Fator P® replaces the use of growth promoters in cattle feedlot diet with 90% of concentrate. In: **Proceedings of XXII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants**, 2015, p. 267. Sassari, Italy: Università degli Studi di Sassari.

FERNANDES, L. B.; FRANZOLIN, R. Suplementação mineral-proteica com e sem uso de aditivo para bovinos de corte em pastagem tropical. **Archivos Latino Americanos de Producción Animal**, v. 21, n. 4, p. 207-213, 2013.

FERREIRA, L. E. A aplicação da biotecnologia no desenvolvimento de aditivos para aumentar a produção de ruminantes. **Revista Safra**, Goiânia. 2018. Disponível em: <http://revistasafra.com.br/31392-2/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

FERREIRA, L. M. S. **Biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros com e sem separação da fração sólida**. 67 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Jaboticabal, 2013.

FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; VAN HAANDEL, A.; ZAIAT, M.; CAVALCANTI, P. F. F. Fundamentos do Tratamento Anaeróbio. Cap. 2. In: CAMPOS, J.R. (coord.). **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**. PROSAB, Rio de Janeiro, p. 29-52. (1999). Disponível em: <https://www.finep.gov.br/images/apoio-e-financiamento/historico-de-programas/prosab/prosabcamposfinal.pdf>. Acesso em 19 jun. 2020.

GERARDI, M. H. **The microbiology of anaerobic digesters**. New Jersey, United States: John Wiley and Sons Inc.; 2003.

GONZALES, E.; DE CARVALHO MELLO, H. H.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, v. 13, n. 13, 2012.

GUERI, M. V. D.; DE SOUZA, S. N. M.; KUCZMAN, O.; SCHIRMER, W. N.; BURATTO, W. G.; RIBEIRO, C. B.; & BESINELLA, G. B. Digestão anaeróbia de resíduos alimentares utilizando ensaios bmp. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 3, n. 1, p. 08-16, 2018. https://doi.org/10.5380/biofix.v3i1.55831.

GU, Y.; CHEN, X.; LIU, Z.; ZHOU, X.; ZHANG, Y. Effect of inoculum sources on the anaerobic digestion of rice straw. **Bioresource Technology**, v. 158, p. 149-155, 2014. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.011.

GUO, J.; OSTERMANN, A.; SIEMENS, J.; DONG, R.; & CLEMENS, J. Short term effects of copper, sulfadiazine and difloxacin on the anaerobic digestion of pig manure at low organic loading rates. **Waste Management**, v. 32, n. 1, p. 131-136, 2012. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.07.031.

HASHIMOTO, A. G.; VAREL, V. H.; CHEN, Y. R. Ultimate methane yield from beef cattle manure: effect of temperature, ration constituents, antibiotics and manure

age. **Agricultural Wastes**, v. 3, n. 4, p. 241-256, 1981. https://doi.org/10.1016/0141-4607(81)90011-1.

HILPERT, R.; WINTER, J.; KANDLER, O. Agricultural feed additives and disinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion. **Agricultural Wastes**, v. 10, n. 2, p. 103-116, 1984. https://doi.org/10.1016/0141-4607(84)90010-6.

HIRANO, M. Y.; SILVA, C. L. Análise da viabilidade do uso de biogás gerado a partir de dejetos bovinos em microturbinas para fins de geração, cogeração e trigeração de energia. **X Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 10, n. 1, p. 28-41. 2014.Disponível em: <http://www.amigosdanatureza.org.br/publicacoes/index.php/forum_ambiental/article/view/783>. Acesso em: 27 ago. 2019.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Trimestral do Leite**. Rio de Janeiro, RJ, 2019a. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1086>. Acesso em 18 mai. 2021.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal.** Rio de Janeiro, RJ, 2019b. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/74>. Acesso em 18 mai. 2021.

INCE, B.; COBAN, H.; TURKER, G.; ERTEKIN, E.; & INCE, O. Effect of oxytetracycline on biogas production and active microbial populations during batch anaerobic digestion of cow manure. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 36, n. 5, p. 541-546, 2013. https://doi.org/10.1007/s00449-012-0809-y.

IPEA – Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Diagnósticos dos resíduos orgânicos do setor agrossilvopastoril e agroindústrias associadas. Relatório de Pesquisa, setembro, 2012. Disponível em: <https://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=15493&catid=222&Itemid=7>. Acesso em: 28 set. 2021.

JOUANY, J.P.; MORGAVI, D. P. Use of ‘natural’products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, v. 1, n. 10, p. 1443-1466, 2007. https://doi.org/10.1017/S1751731107000742.

KARLSSON, T.; KONRAD, Q.; LUMI, M.; SCHMEIER, N. P.; MARDER, M.; CASARIL, C. E.; KOCH, F. F.; PEDROSO, A. G. **Manual básico de biogás**. Lajeado: UNIVATES, 2014. 65p. Disponível em: <https://www.univates.br/editora-univates/media/publicacoes/71/pdf_71.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2019.

KATO, M. T.; NETO, C.O.de A.; CHERNICHARO, C. A. de L.; FORESTI, E.; CYBIS, L. F. Configurações de Reatores Anaeróbios. Cap. 3. In: CAMPOS, J.R. (coord.). **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**. PROSAB, Rio de Janeiro, p. 53-100. (1999). Disponível em: <https://www.finep.gov.br/images/apoio-e-financiamento/historico-de-programas/prosab/prosabcamposfinal.pdf>. Acesso em 19 jun. 2020.

KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological indicators**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2008. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2007.06.002.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes Orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres Ltda., 1985. 492p. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22KIEHL,%20E.%20J.%22>. Acesso em: 27 ago. 2019.

KUMAR, K.; GUPTA, S. C.; BAIDOO, S. K.; CHANDER, Y.; ROSEN, C. J. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. **Journal of Environmental Quality**, v. 34, n. 6, p. 2082-2085, 2005. https://doi.org/10.2134/jeq2005.0026.

KUMAR, K.V.; SRIDEVI, V.; RANI, K.; SAKUNTHALA, M.; KUMAR, C.S. A review on production of biogas, fundamentals, applications its recent enhancing techniques. **Chemical Engineering**, v.57, p.14073-14079, 2013. Disponível em: <http://www.elixirpublishers.com/articles/1364981651_57%20(2013)%2014073-14079.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2019.

LALLAI, A.; MURA, G.; ONNIS, N. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. **Bioresource Technology**, v. 82, n. 2, p. 205–208, 2002. https://doi.org/10.1016/s0960-8524(01)00162-6.

LEITE, R. G.; ROMANZINI, E. P.; DELEVATTI, LM, et al. Organic additives used in beef cattle feedlot: Effects on metabolic parameters and animal performance. **Animal Science Journal**, v. 90, n. 5, p. 628-636, 2019. https://doi.org/10.1111/asj.13183.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Evaluation of the nutritional status of plants: principles and applications. Piracicaba**. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, 193p, 1989. Disponível em: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19900737313. Acesso em: 27 ago. 2019.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2016. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>. Acesso em: 27 ago. 2019.

MARINO, C. T.; MEDEIROS, S. R. de. Aditivos alimentares na nutrição de bovinos de corte. In: MEDEIROS, S. R. de; GOMES, R. da C.; BUNGENSTAB, D. J. (Ed.). **Nutrição de bovinos de corte**: fundamentos e aplicações. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 12 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/120200/1/Nutricao-Animal-CAPITULO-07.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2019.

MARCUCCI, M. T.; TOMA, H. S.; SANTOS, M. D. dos; ROMERO, J. V.; MONTEIRO TOMA, C. D.; CARVALHO, A. de M.; CAMARGO, L. M. de. Efeito do aditivo monensina sódica no metabolismo ruminal de bovinos de corte. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 12, n. 22, p. 1-21, 2014.

MASIH-DAS, J.; TAO, W. Anaerobic co-digestion of foodwaste with liquid dairy manure or manure digestate: Co-substrate limitation and inhibition. **Journal of Environmental Management**, v. 223, n. May, p. 917–924, 2018. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.016.

MASSÉ, DANIEL I.; SAADY, NOORI M. CATA; GILBERT, YAN. Potential of biological processes to eliminate antibiotics in livestock manure: an overview. **Animals**, v. 4, n. 2, p. 146-163, 2014. https://doi.org/10.3390/ani4020146.

MASSÉ, D. I.; LU, D.; MASSE, L.; & DROSTE, R. L. Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 75, n. 3, p. 205-211, 2000. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00046-8.

MCCLARY, D. G.; AGUILAR, A. A.; GREEN, H. B.; MCGUFFEY, R. K.; MECHOR, G. D.; THOMAS, E. E.; & WILKINSON, J. I. Effect of Rumensin® on Health and Reproduction of Lactating Dairy Cows. **NADA**, v. 95, p. 735, 2008. Disponível em: <http://images.vancepublishing.com/pdfs/dairyherd/elanco_health_repro_TechTalk.pdf>. Acesso em: 29 dez. 2020.

MIELE, M.; SILVA, M.; NICOLOSO, R.; CORRêA, J.; HIGARASHI, M.; KUNZ, A.; SANDI, A. Tratamento dos efluentes de usinas de biogás. **Revista de Política Agrícola**, v. 24, n. 1, p. 31-46, 2015. Disponível em: <https://seer.sede.embrapa.br/index.php/RPA/article/view/964>. Acesso em: 27 Ago. 2019.

MITCHELL, S. M.; ULLMAN, J. L.; TEEL, A. L.; WATTS, R. J.; & FREAR, C. The effects of the antibiotics ampicillin, florfenicol, sulfamethazine, and tylosin on biogas production and their degradation efficiency during anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 244-252, 2013. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.048.

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

MUNIR, M.; & XAGORARAKI, I. Levels of antibiotic resistance genes in manure, biosolids, and fertilized soil. **Journal of environmental quality**, 40(1), 248-255, 2011. https://doi.org/10.2134/jeq2010.0209.

NAKASIMA-LÓPEZ, M.; TABOADA-GONZÁLEZ, P.; AGUILAR-VIRGEN, Q.; VELÁZQUEZ-LIMÓN, N. Adaptación de Inóculos Durante el Arranque de la Digestión Anaerobia con Residuos Sólidos Orgánicos. **Información Tecnológica**, v. 28, n. 1, p. 199–208, 2017. https://doi.org/10.4067/s0718-07642017000100020.

NI, P.; LYU, T.; SUN, H.; DONG, R.; WU, S. Liquid digestate recycled utilization in anaerobic digestion of pig manure: Effect on methane production, system stability and heavy metal mobilization. **Energy**, v. 141, p. 1695–1704, 2017. https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.11.107.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. Biosolids applied to land: advancing standards and practices. **National Academies Press**, 2012.

OLIVEIRA, J.S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E.M. Uso de aditivos na nutrição de

ruminantes. **Revista eletrônica da veterinária**, v. 6, n. 11, 2005. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111105.html> Acesso em: 27 ago. 2019.

OLIVEIRA, A. L. M.; DOS REIS COSTA, K.; FERREIRA, D. C.; MILANI, K. M. L.; DOS SANTOS, O. J. A. P.; SILVA, M. B.; ZULUAGA, M. Y. A. Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 56-77, 2014. http://dx.doi.org/10.5433/2316-5200.2014v3n1p56.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **A crescente ameaça da resistência antimicrobiana**. Opções de ação. 2012. Disponível em: <https://www.afro.who.int/sites/default/files/2017 06/OMS_IER_PSP_2012.2_por.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2019.

ORRICO JUNIOR. M. A. P. **Biodigestão anaeróbia e compostagem de dejetos de suínos, com e sem separação de sólidos**. 93 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP, 2007.

OVCHINNIKOV, J. A. Physico chemical basis of ion transport through biological membranes: Ionophores and íon channels. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 94, p. 321- 336, 1979. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1979.tb12898.x.

PARANHOS, A. G. de O. **Efeitos da tilosina na digestão anaeróbia do resíduo avícola: produção de biogás, resistência a antibióticos e comunidade microbiana.** 182 p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Núcleo de Pesquisas e Pós-Graduação em Recursos Hídricos, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2021.

PASSOS, F.; ORTEGA, V.; DONOSO-BRAVO, A. Thermochemical pretreatment and anaerobic digestion of dairy cow manure: Experimental and economic evaluation. **Bioresource Technology**, v.227, p. 239–246, 2017. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.034.

POELS, J.; VAN ASSCHE, P.; VERSTRAETE, W. Effects of disinfectants and antibiotics on the anaerobic digestion of piggery waste. **Agricultural Wastes**, v. 9, n. 4, p. 239-247, 1984. https://doi.org/10.1016/0141-4607(84)90083-0.

RAJPUT, A. A.; SHEIKH, Z. Effect of inoculum type and organic loading on biogas production of sunflower meal and wheat straw. **Sustainable Environment Research**, v. 29, n. 1, 2019. https://doi.org/10.1186/s42834-019-0003-x.

RESENDE, J. A.; SILVA, V. L.; DE OLIVEIRA, T. L. R.; DE OLIVEIRA F., S.; DA COSTA CARNEIRO, J., OTENIO, M. H., & DINIZ, C. G. Prevalence and persistence of potentially pathogenic and antibiotic resistant bacteria during anaerobic digestion treatment of cattle manure. **Bioresource Technology**, v.153, p. 284–291, 2014. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.007.

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

SANTANA, M. S. A. de; CARVALHO, E. C. de; CALLADO, N. H. Influence of the use of inoculum in the estimation of methane gas in organic waste in the landfill of the municipalities of agreste alagoano. **Research, Society and Development**, *[S. l.]*, v. 10, n. 6, p. e0110615407, 2021. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15407.

SANTI, L. **Influência da adição de enzimas e microrganismos sobre a digestão anaeróbia de dejetos bovinos e suínos**. 57 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP, 2013.

SANTOS, I. A.; NOGUEIRA, L. G. H. Estudo energético do esterco bovino: seu valor de substituição e impacto da biodigestão anaeróbia. **Revista Agroambiental**. Pouso Alegre, v. 4, n. 1, p. 41-49, abr. 2012. http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v4n12012373.

SANZ, J. L.; RODRIGUEZ, N.; AMILS, Á. R. The action of antibiotics on the anaerobic digestion process. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 46, n. 5-6, p. 587-592, 1996. https://doi.org/10.1007/s002530050865.

SARMAH, A. K.; MEYER, M. T.; BOXALL, A. B. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, v. 65, n. 5, p. 725-759, 2006. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.026.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Food analysis: chemical and biological methods. 3th ed, Viçosa, MG, v. 235, 166p, 2002.

SILVA, S. N. S.; CHABRILLAT, T.; KERROS, S.; GUILLAUME, S.; GANDRA, J. R.; DE CARVALHO, G. G. P.; DA SILVA, F.F.; MESQUITA, L.G.; GORDIANO, L.A.; CAMARGO, G.M.F.; RIBEIRO C.V. DI M.; DE ARAÚJO M.L.G.M.L.; ALBA, H.D.R; SILVA, R.D.G; & DE FREITAS JR, J. E. Effects of plant extract supplementations or monensin on nutrient intake, digestibility, ruminal fermentation and metabolism in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114886, 2021. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114886.

SITTA, C. **Aditivos (ionóforos, antibióticos não ionóforos e probióticos) em dietas com altos teores de concentrado para tourinhos da raça Nelore em terminação**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade de São Paulo.

SONG, W.; DING, Y.; CHIOU, C. T.; LI, H. Selected veterinary pharmaceuticals in agricultural water and soil from land application of animal manure. **Journal of Environmental Quality**, v. 39, n. 4, p. 1211-1217, 2010. https://doi.org/10.2134/jeq2009.0090.

SOUZA, F. M.; VIANA, E.; JAEGER, J. M. S.; CANDIANI, G.; SIMÕES, A. F.; FONSECA FILHO, H. Influência do inóculo na co-digestão anaeróbia de resíduos alimentares e grama. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.11, n.1, p.146-156, 2020. http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0014.

SPIELMEYER, A.; STAHL, F.; PETRI, M. S.; ZERR, W.; BRUNN, H.; & HAMSCHER, G. Transformation of sulfonamides and tetracyclines during anaerobic fermentation

of liquid manure. **Journal of Environment Quality**, v. 46, n. 1, 2017. https://doi.org/10.2134/jeq2016.04.0152.

SPIRITO, C. M.; DALY, S. E.; WERNER, J. J.; ANGENENT, L. T. Redundancy in anaerobic digestion microbiomes during disturbances by the antibiotic monensin. **Applied and Environmental Microbiology**, v.84, n.9, p. 1-18, 2018. https://doi.org/10.1128/AEM.02692-17.

SPISSO, B. F.; NÓBREGA, A. W. D.; MARQUES, M. A. S. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, p. 2091-2106, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/csc/v14n6/16.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2019.

SUN, W.; QIAN, X.; GU, J.; WANG, X. J.; & DUAN, M. L. Mechanism and effect of temperature on variations in antibiotic resistance genes during anaerobic digestion of dairy manure. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016. https://doi.org/10.1038/srep30237.

TIETZ, C. M.; SOARES, P. R. H.; SANTOS, G. K. Produção de energia pela biodigestão anaeróbia de efluentes: o caso da bovinocultura. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.2, n.3, p. 15-29, 2013.

USEPA, U. S. Literature review of contaminants in livestock and poultry manure and implications for water quality. EPA 820-R-13–002, 2013.

VAKILI, A.R.; KHORRAMI, B.; DANESH, M.; PARAND, E. The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in Holstein calves consuming hogh concentrate diet. **The Asian-Australasian Journal Animal Science**, v.26, p.935-944, 2013. https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12636.

VAN EPPS, A.; BLANEY, L. Antibiotic residues in animal waste: occurrence and degradation in conventional agricultural waste management practices. **Current Pollution Reports**, v.2, n. 3, p. 135–155, 2016. https://doi.org/10.1007/s40726-016-0037-1.

VAREL, V. H.; HASHIMOTO, A. G. Methane production by fermentor cultures acclimated to waste from cattle fed monensin, lasalocid, salinomycin, or avoparcin. **Applied Environmental Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 1415-1420, 1982. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/44/6/1415.short>. Acesso em: 27 ago.

VAREL, V. H.; WELLS, J. E.; SHELVER, W. L.; RICE, C. P.; ARMSTRONG, D. L.; & PARKER, D. B. Effect of anaerobic digestion temperature on odour, coliforms and chlortetracycline in swine manure or monensin in cattle manure. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, n. 4, p. 705-715, 2012. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05250.x.

WALLACE, R. J.; MCEWAN, N. R.; MCINTOSH, F. M.; TEFEREDEGNE, B.; & NEWBOLD, C. J. Natural products as manipulators of rumen fermentation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 15, n. 10, p. 1458-1468, 2002. https://doi.org/10.5713/ajas.2002.1458.

WEI, Y. F.; YUAN, H. R.; WACHEMO, A. C.; LI, X. J. Anaerobic co-digestion of cattle manure and liquid fraction of digestate (LFD) pretreated corn stover: Pretreatment process optimization and evolution of microbial community structure. **Bioresource Technology**, v. 296, p. 122282, 2020. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122282.

WELLINGER, A.; MURPHY, J. D.; BAXTER, D. (eds.). The biogas handbook: science, production and applications. Cambridge, UK. IEA Bioenergy, 464p. 2013.

XIAO, L.; WANG, Y.; LICHTFOUSE, E.; LI, Z.; KUMAR, P. S.; LIU, J.; FENG, D.; YANG, Q.; LIU, F. Effect of antibiotics on the microbial efficiency of anaerobic digestion of wastewater: A Review. **Frontiers Microbiology**, v.11, 2021. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.611613.

XIN, K. E.; WANG, C. Y.; LI, R. D.; & ZHANG, Y. Effects of oxytetracycline on methane production and the microbial communities during anaerobic digestion of cow manure. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 6, p. 1373-1381, 2014. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60683-8.

YADVIKA; SANTOSH; SREEKVISHMAN, T. R.; SANGEETA KOHLI; VINEET RANA. Enhancement of biogas production from solids substrates using different techniques – a review. **Bioresource Technology**, v. 95, p. 1-10, 2004. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.010.

YANG, Y.; HUANG, W.; HUANG, W. Antibiotic inhibition on anaerobic digestion of animal manure and controlling strategies: a short review. CLEAN–Soil, Air, Water, v. 47, n. 1, p. 1700653, 2019. https://doi.org/10.1002/clen.201700653.

YOUNGQUIST, C. P.; MITCHELL, S. M.; COGGER, C. G. Fate of antibiotics and antibiotic resistance during digestion and composting: a review. **Journal of Environmental Quality**, v. 45, n. 2, p. 537-545, 2016. https://doi.org/10.2134/jeq2015.05.0256.