

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 16/12/2026.

BRUNA SAMPAIO DE MELLO

Valorização de resíduos agroindustriais em reator batelada (escala piloto) para a produção de biogás e sua purificação via ação fotossintética

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Arnaldo Sarti

Araraquara

2024

M527v Mello, Bruna Sampaio de
Valorização de resíduos agroindustriais em reator batelada (escala piloto) para a produção de biogás e sua purificação via ação fotossintética / Bruna Sampaio de Mello. -- Araraquara, 2024
173 p. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Química, Araraquara
Orientador: Arnaldo Sarti

1. Microalgas. 2. Digestão anaeróbia. 3. Gases Purificação. 4. Soja.
5. Glicerina. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O foco desta tese foi a produção de biogás com unidade escala piloto a partir da digestão anaeróbia de dois importantes resíduos agroindustriais brasileiro, o melaço de soja e o glicerol. Além disso, processos de purificação do biogás gerado na digestão anaeróbia por meio da ação fotossintética de microalgas também foram investigados. Tais tópicos estão em conformidade com os seguintes objetivos do desenvolvimento sustentável da Organização das Nações Unidas: Água Potável e Saneamento (6), Energia Limpa e Acessível (7), Consumo e Produção Responsáveis (12), Ação contra mudança global do clima (13), Vida na água (14).

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The main objective of this thesis was the biogas production in pilot-scale from the anaerobic digestion of two important Brazilian residues: soybean molasses and glycerol. Moreover, Photosynthetic biogas upgrading is based on the use of a microalgae was also investigated. These topics are in accordance with the following United Nations sustainable development objectives: Clean water and sanitation (6), Affordable and clean energy (7), Responsible consumption and production (12), Climate action (13), Life below water (14).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Valorização de resíduos agroindustriais em reator batelada (escala piloto) para produção de biogás e sua purificação via ação fotossintética"

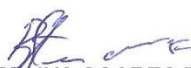
AUTORA: BRUNA SAMPAIO DE MELLO

ORIENTADOR: ARNALDO SARTI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Química, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ARNALDO SARTI (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia, Física e Matemática / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. ERICH KELLNER (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia Civil / Universidade Federal de São Carlos - UFSCar - São Carlos


Prof.ª Dr.ª BRUNA SOARES FERNANDES (Participação Presencial)
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras - UNESP - Assis


Prof. Dr. ARIOVALDO JOSÉ DA SILVA (Participação Presencial)
Departamento de Água e Solo / Faculdade de Engenharia Agrícola - UNICAMP - Campinas


Prof. Dr. PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES (Participação Presencial)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 16 de dezembro de 2024

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Bruna Sampaio de Mello

Nome em citações bibliográficas: Mello, B.S. Mello, B. Sampaio de Mello, B.

ENDEREÇO PROFISSIONAL: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP Campus de Araraquara, Instituto de Química de Araraquara: Rua Prof. Francisco Degni, n. 55, Bairro Quitandinha, CEP: 14800-060 Araraquara/ SP Brasil.

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2023-2024: *Predoctoral researcher*

Institute of Sustainable Process – Universidad de Valladolid

Título: *Influence of nanoparticles on microalgae cultivation during photosynthetic biogas upgrading*

Orientador: Prof. Dr. Raúl Muñoz

Bolsista da Programa Capes-PrInt, processo nº 88887.310463/2018-00 da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, (CAPES).

2020-2024: *Doutorado em Química*

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP Araraquara, Brasil.

Título: *Valorização de resíduos agroindustriais em reator batelada (escala piloto) para a produção de biogás e sua purificação via ação fotossintética*

Orientador: Prof. Dr. Arnaldo Sarti

Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, (CAPES).

Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN/IQA)

Grande Área: Química

Área: Bioenergia.

2018-2020: *Mestrado em Química*

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP Araraquara, Brasil.

Título: *Viabilidade do uso do melaço de soja como substrato para a digestão anaeróbia/aeróbia em reator compartimentado*

Orientador: Prof. Dr. Arnaldo Sarti

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN/IQA)

Grande Área: Química

Área: Bioenergia.

2008 – 2012: *Graduação em Engenharia Química*

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

Título: *Nature Paper – Produção de Papel Sintético*

Orientador: Prof. Dr. Pedro Arroyo.

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2016 – 2018: *Especialização em Auditoria e Perícia Ambiental*

Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, Brasil.

Título: *Programa de Coleta Seletiva no município de Penápolis – SP*

Orientador: Prof. Edgard Joseph Kiriyaama

2013 – 2015: *Especialização em Gestão Empreendedora*

Centro Universitário Senac, São Paulo, Brasil.

Título: *Brasil Papel – O papel do futuro.*

Orientadora: Profa. Cintia Akiko Assato

2011-2012 - *Iniciação Científica*

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Título: *Imobilização do Bacillus Firmus cepa 37 para a produção da enzima CGTase.*

Orientador: Prof. Dr. Flávio Faria de Moraes.

IDIOMAS:

Inglês em nível fluente.

Espanhol em nível avançado.

Francês em nível intermediário.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos Publicados:

1. **Mello, B. S.**, Rodrigues, B.C.G., Dussán, K.J., Sarti, A. Biological Degradation of Soybean Molasses by High-Rate Modified Anaerobic/Aerobic Baffled Reactor. *BioEnergy Research*, 2022.
2. Rodrigues, B. C. G., **Mello, B. S.** de, Silva, G. H. R. da, Araújo, M. L. G. da C., & Sarti, A. Utilização de melaço de soja (resíduo) da produção de proteína de soja para a geração de biometano em reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket). *Revista Tecnologia*, 41(2), 1–15, 2020.
3. Rodrigues, B.C.G., de **Mello, B.S.**, Gonsales da Costa Araujo, M.L., Ribeiro da Silva, G.H., Sarti, A. Soybean molasses as feedstock for sustainable generation of biomethane using high-rate anaerobic reactor. *J. Environ. Chem. Eng.* 9, 105226, 2021.
4. **Mello, B. S.**, Rodrigues, B. C. G., & Sarti, A. Comparative performance of high-rate anaerobic reactors for biodegradation of soybean molasses. *Environmental Technology & Innovation*, 24, 101937, 2021.
5. **Mello, B. S.**, Rodrigues, B. C. G., Duda, R. M., & Sarti, A. Uso do melaço de soja como substrato para a digestão anaeróbia/aeróbia em reator compartimentado. *Brazilian Journal of Development*, 7(10), 95432–95454, 2021.
6. Rodrigues, B. C. G., **de Mello, B. S.**, da Silva, B. F., Pozzi, E., de Lima Gomes, P. C. F., & Sarti, A. Limonene removal using a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass bioreactor. *Journal of Water Process Engineering*, 43, 102225, 2021.
7. Kitamura, S. H. P., Silva, L. M. da, Batista, F. K., **Mello, B. S.** de, Rodrigues, B. C. G., & Sarti, A. Codigestão anaeróbia de resíduos agroindustriais (melaço de soja e glicerol) em

- reator anaeróbio horizontal de leito fixo. *Brazilian Journal of Development*, 8(1), 6144–6163, 2022.
8. Costa, M., **Mello, B.**, et al. Evaluation of the dry deposition of particle emitted by biomass combustion. *Chemical Engineering & Technology*. 2023.
 9. Silva, M. A., **Mello, B. S.** de, Ribeiro, C. A., and Fertonani, I. A. P. Otimização da remoção de corante azul de metileno por meio de misturas de biocarvão de pinha e argila caulinita. *Brazilian Journal of Experimental Design, Data Analysis and Inferential Statistics*, 3(1), 41–53, 2024.
 10. **Sampaio de Mello, B.**, Pozzi, A., Clara Gomes Rodrigues, B., Martins Costa, M. A., & Sarti, A. Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel production for biogas generation: Process optimization and pilot scale operation. *Environmental Research*, 244, 2024.
 11. Rodrigues, B. C. G., de **Mello, B. S.**, Grangeiro, L. C., Dussan, K. J., & Sarti, A. The most important technologies and highlights for biogas production worldwide. *Journal of the Air & Waste Management Association*. 2024.
 12. Pozzi, E., Motteran, F., de **Mello, B.S.** B.S., Rodrigues, B.C.G. & Sarti, A. Biomass Profiling in a Horizontal-Flow Anaerobic Bioreactor Used for Limonene Degradation. *Current Microbiology* **81**, 323, 2024.
 13. Da Silva M. A., **Mello, B. S.**, et al. Combination of anaerobic digestion and sludge biochar for bioenergy conversion: Estimation and evaluation of energy production, CO₂ emission, and cost analysis. *Journal of Environmental Management*, v. 374, p. 123974, 2025.
 14. AVANCINI, M. J., **Mello, B. S.** et al. Tratamento biológico (anaeróbio e aeróbio) de glicerol bruto proveniente de planta de produção de biodiesel a partir de óleo residual de frituras. *Latin American Journal of Energy Research*, v. 11, n. 2, p. 92–101, 26 dez. 2024.

Capítulos de livro:

1. Grangeiro, Luana Cardoso, Sâmilla Gabriella Coêlho de Almeida, **Bruna Sampaio de Mello**, Lucas Tadeu Fuess, Arnaldo Sarti, and Kelly J. Dussán. “New trends in biogas production and utilization.” In *Sustainable Bioenergy*, pp. 199-223. Elsevier, 2019.
2. Silva, A. J.; **Mello, B. S.**; Sarti, A. Biological Treatment of Sulfate-Rich Wastewater In: *Contaminants and Clean Technologies*. 1 ed.: CRC Press, v.1, p. 13-23. 2020.
3. Sarti, A., **Mello, B.S. de**, Rodrigues, B.C.G., Costa, M.A.M., Oliveira, S.C. de. Estudo Experimental E Modelagem Matemática De Um Reator Anaeróbio Horizontal De Leito

Fixo (Rahlf) Para Tratamento Biológico De Efluente Sintético Contendo D-Limoneno, In: *Demandas Essenciais Para o Avanço Da Engenharia Sanitária e Ambiental* 4. 2020.

4. Rodrigues, B.C.G., de **Mello, B.S.**, Grangeiro, L.C., Sarti, A., Dussán, K.J. Microbial degradation in the biogas production of value-added compounds. In: *Recent Advances in Microbial Degradation*. 2021.
5. Grangeiro, L. C., de **Mello, B. S.**, et al. Dark Fermentation and Principal Routes to Produce Hydrogen. In *Materials for Hydrogen Production, Conversion, and Storage*, pp. 181–223. 2023.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumos expandidos)

1. Rodrigues, B. C. G.; **Mello, B. S.**; Araujo, M. L. G. C.; Silva, G. H. R.; Sarti, A. Biological treatment of soybean molasses in two different low-cost reactors. 16TH IWA WORLD CONFERENCE ON ANAEROBIC DIGESTION. Ghent – Belgium. 2019.
2. **Mello, B.**; Batista, F.; Rodrigues, B.; Medina, K.; Sarti, A. Low cost disposal of soybean molasses using anaerobic treatment. 27TH EUROPEAN BIOMASS CONFERENCE AND EXHIBITION. Lisbon – Portugal. 2019.
3. Silva, L.; Batista, F.; Rodrigues, B.; **Mello, B.**; Sarti, A. Anaerobic Co-Digestion of Soybean Molasses and Glycerol in HARS reactor. 27TH EUROPEAN BIOMASS CONFERENCE AND EXHIBITION. Lisbon – Portugal. 2019.
4. Rodrigues, B. C. G. ; Araujo, M. L. ; **Mello, B. S.** ; Sarti, Arnaldo . Uso de Reator UASB para Geração de Biogás e Tratamento de Subproduto Gerado na Produção de Proteína Concentrada de Soja (melaço de soja) de Soja d. In: XXX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL (ABES 2019), 2019, Natal - RN. XXX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES 2019), 2019.
5. Sarti, Arnaldo; Rodrigues, B. C. G. ; Costa, M. A. M. ; **Mello, B. S.** ; Oliveira, S. C. . Tratamento Biológico de D-Limoneno em Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) - Estudo Experimental e Modelagem Matemática. In: XXX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2019, Natal - RN. XXX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2019.
6. **Mello, B. S.** ; Batista, F. K. ; Rodrigues, B. C. G. ; Sarti, Arnaldo . Tratamento Biológico de Subproduto Gerado na Produção de Proteína Concentrada de Soja (melaço de soja) em Reator Compartimentado Anaeróbio/Aeróbio (RCCA). In: XXX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL (ABES 2019), 2019,

Natal - RN. XXX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES 2019), 2019.

7. **Bruna Sampaio de Mello**; Costa, Maria Angélica Martins; Rodrigues, B. C. G.; Sarti, Arnaldo. Dewatering of drinking-water treatment sludge by spray-drying technology. 2023. In: 6th International Conference WASTES: Solutions, Treatments and Opportunities.
8. **Mello, Brun Sampaio de**; Rodrigues, B. C. G.; Silva, F. R.; Sarti, Arnaldo. Produção de biogás a partir da biodigestão de melaço de soja em reator em escala piloto. 2023. Em 32º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental.
9. **Bruna Sampaio de Mello**; Pozzi, A.; Rodrigues, B. C. G.; Costa, Maria Angélica Martins; Sarti, Arnaldo. Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel production for biogas generation: Process optimization and pilot-scale biodigester operation. In: 10th International Conference on Sustainable Solid Waste Management. 2023.
10. Costa, Maria Angélica Martins; Souza, A J D; **Bruna Sampaio de Mello**; Oliveira, E. A.; Oliveira, L. F.; Albini, G.; Sarti, Arnaldo; Dussán, Kelly J. Energy crisis: the use of biomass as fuel, its emissions and CO₂ capture. In: 10th International Conference on Sustainable Solid Waste Management. 2023.
11. **Mello, B. et al.** Optimization of methane production from crude glycerol derived of biodiesel production from waste cooking oil. In: 30th European Biomass Conference & Exhibition. Online. 2022.
12. B.C.G. Rodrigues; **B.S. Mello**; M. A. M. Costa; A. Sarti. Electro-oxidation of lignin from sugarcane bagasse as a pretreatment for biogas generation. In: 26th International Congress of Chemical and Process Engineering CHISA 2022.

Ao meu esposo Gabriel, aos meus pais Eduardo e Glauciane, ao meu irmão Filipe.

A minhas avós Alice e Diva (*in memoriam*). As senhoras conseguiram uma neta doutora.

Agradecimentos

Minha lista de agradecimentos seria quase interminável de tanta gente que eu sou extremamente grata.

A primeira pessoa a quem gostaria de agradecer é o meu querido esposo Gabriel, que sem o apoio e companheirismo eu não seria capaz de concluir esse longo doutorado cheio de altos e baixos. Sou muita grata também a minha família, meu pai Eduardo e minha mãe Glauciane que finalmente entenderam e viram que apesar de tudo, eu faço as escolhas certas e espero ter os deixado orgulhosos devido as minhas conquistas.

Ao meu irmão Filipe, por ser meu grande amigo desde sempre, a quem eu posso recorrer para reclamar da vida, discutir e brigar sem nenhum receio. A sua noiva Auana, que entrou para nossa família para nos dar alegria e muito suporte.

Aos meus sogros Edna e Marcos, por me abrigarem em sua casa e em sua família, por todo suporte, entendimento e colaboração.

A minha família Sampaio e a família Mello, em especial as minhas duas avós, Alice e Diva, tias (tia Nana, Ciça, Ice, Marilza e Sílvia) e primas (Gabi, Luana, Carol e Aline), que são para mim exemplo de mulheres fortes, corajosas, trabalhadoras e centro da família.

Sou extremamente grata ao meu orientador Prof. Arnaldo. Mais do que meu orientador, meu tutor, meu companheiro, meu amigo. Obrigada por sempre estar ao meu lado, por todos os ensinamentos, por toda a ajuda, por todo o apoio até nas mais loucas incursões, por todas as risadas e conquistas. Busco me inspirar no modelo de professor que ele representa, e vou procurar desenvolver minhas futuras práticas de docente de forma a me aproximar, ao menos em parte, de sua dedicação e parceria.

Quero incluir nesses agradecimentos meu pequeno grande grupo de pesquisa. Brenda, minha companheira, amiga e meu grupo de pesquisa, que me ajudou a quebrar a cabeça e fazer desenrolar nossos experimentos. Acredito que juntas, vamos muito longe! Ao meu amigo Chico, pelo apoio e conversas. Ao meu parceiro de artigos e ideias Matheus.

Não teria conseguido desenvolver meus experimentos no biodigestor sem a ajuda do pessoal da UNIARA. Muito obrigada Alex, por não ser somente um técnico que me quebrava o galho, mas por sempre me ajudar quando eu precisei, por tomar conta do biodigestor com o mesmo

apreço que eu tinha. Obrigada Daniel por nos liberar todo o espaço, por não medir forças para nos dar as mínimas condições para trabalhar. E obrigada Arthur, por ter sido o melhor aluno de IC que eu já trabalhei.

Muito obrigada também a prof. Maria Angélica, por me permitir aprender com ela como ser uma excelente professora durante meus estágios docência. Obrigada também a professora Kelly por nos ajudar com as análises no HPLC.

Quero também agradecer ao prof. Gustavo Ribeiro. Sua indicação me ajudou a crescer muito profissionalmente e me ajudou a realizar o sonho de ter uma experiência internacional (e que experiência!).

Ahora me gustaría agradecer en español. Ha sido solo un año, pero me parece que yo ha hecho otro doctorado en el ISP. Soy muy grata a Prof. Raúl. Esta oportunidad ha sido una de las mejores cosas de mi doctorado, e a pesar de todas las dificultades, yo ha aprendido un montón de cosas (incluso español) que voy a llevar por toda mi vida. Muchas gracias los técnicos que ha me enseñado con mucha paciencia y también mis a tutores, compañeros y amigos André, Fab, Mickey, Kuri, Laura, Mihai, Elisa, Sol y Nataliia.

Um obrigado especial a Thalita. Tha, ter você por perto na Espanha foi essencial e muito importante para mim. Eu sei que nossa parceria e amizade serão para sempre.

Sou grata também:

Ao Laboratório de Processos Biológicos (LPB) da Universidade de São Paulo (USP – São Carlos) e ao Departamento de Engenharia Rural da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Jaboticabal) por me ajudarem com as análises de cromatografia.

Ao Instituto de Pesquisas em Bioenergia (IPBEN).

Ao Instituto de Química, UNESP.

A Capes, pelo auxílio financeiro durante o desenvolvimento da pesquisa.

Tudo tem o seu devido tempo. Só é preciso ter paciência e serenidade.

Resumo

Uma das principais causas das mudanças climáticas é o uso descontrolado e em larga escala de combustíveis fósseis. Esse cenário, aliado à iminente crise energética, tem exigido uma mudança nas práticas atuais de utilização e produção de energia. Portanto, o desenvolvimento de biocombustíveis renováveis e estratégias de mitigação dos gases de efeito estufa são fundamentais para reduzir os impactos ambientais causados pelos combustíveis fósseis. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo a geração de bioenergia, abrangendo, especificamente, toda a cadeia produtiva do biogás até biometano. Esta tese foi dividida em duas etapas, sendo que inicialmente, na primeira objetivou-se a produção de biogás em escala piloto (reator/biodigestor 1,2 m³) a partir da digestão anaeróbia de dois importantes resíduos agroindustriais brasileiros, o melão de soja e o glicerol e a segunda etapa explorou-se processos de purificação do biogás gerado por meio da ação fotossintética de microalgas. Embora a otimização do desempenho do reator em escala piloto tenha apresentado desafios relacionados às características do glicerol bruto, o maior rendimento de biogás obtido foi de 14,7 LCH₄ kgSV⁻¹d⁻¹, com uma produção acumulada de 1.080 L, utilizando uma relação glicerol: biomassa de 0,23 gDQO gSV⁻¹ e tempo de ciclo de 7 dias. Ao substituir o substrato do reator por melão de soja, obteve-se um rendimento de 350 L d⁻¹, com uma produção acumulativa de biogás de 3,6 m³ e uma produção específica de metano de 50,5 LCH₄ kgSV⁻¹ d⁻¹, utilizando 5 L de melão de soja e tempo de ciclo de 8 dias. Além disso, a análise microbiana indicou que os gêneros mais abundantes envolvidos na biodegradação do melão de soja no domínio bacteriano foram *Enterococcus*, *Lachnoclostridium* e *Eubacterium*, com abundâncias relativas de 17,4%, 10,9% e 9,5%, respectivamente e no domínio das arqueias, os gêneros dominantes foram *Methanosarcina* e *Methanoculleus*. Na segunda parte desta tese, foi avaliada a influência de três frações de nanopartículas de ferro zero-valente revestidas com carbono – solução bruta (nanopartículas líquidas, R-NPs), nanopartículas sólidas (S-NPs) e o sobrenadante resultante após a separação das nanopartículas sólidas (SU-NPs) – no desempenho de dois microrganismos modelos: microalga *Chlorella vulgaris* e cianobactéria *Arthrospira platensis* durante o processo de purificação do biogás. As S-NPs aumentaram significativamente o teor de carboidratos de *A. platensis* em 56%, enquanto as R-NPs obtiveram um desempenho superior, elevando a biofixação de CO₂, o rendimento da biomassa, a produtividade e a taxa de crescimento específico em 21%, 22%, 33% e 46%, respectivamente. Da mesma forma, os R-NPs aumentaram em 55% o teor de carboidratos em *C. vulgaris*. Por fim, avaliou-se os efeitos da adição de nanopartículas líquidas de ferro líquido zero-valente revestidas com carbono (L-NPs) na performance de um fotobioreator piloto de cultivo de um consórcio de microalgas e bactérias do tipo “open pond”. Observou-se que a adição de 2 mL L⁻¹ de L-NPs, combinada com a remoção intensiva de biomassa, promoveu maior produtividade da biomassa sem impactar negativamente a atividade fotossintética das algas ou o desempenho de atualização do biogás. Além disso, biometano de melhor qualidade, caracterizado por uma maior concentração de CH₄ (94,9% v/v) e menores níveis de CO₂ (2,1% v/v), O₂ (0,4% v/v) e N₂ (2,6%), foi obtido com uma relação líquido/gás de 0,7.

Palavras-chave: *Arthrospira platensis*, biodigestor, biometano, *Chlorella vulgaris*, glicerol, melão de soja, nanopartículas.

Abstract

The extensive and unregulated reliance on fossil fuels represents a significant contributor to climate change. Combined with the impending energy crisis, this situation highlights the critical need for a transition in current energy production and consumption practices. Therefore, the development of renewable biofuels and implementation of greenhouse gas mitigation strategies are imperative for minimizing the environmental impacts associated with fossil fuel use. In this context, the present study focused on bioenergy generation, addressing the entire production chain from biogas to biomethane. Then, this thesis is structured in two parts. The first part concentrated on the pilot-scale production of biogas via the anaerobic digestion of two prominent Brazilian agro-industrial residues: soybean molasses and glycerol while the second part investigated the purification of biogas, derived from anaerobic digestion, through the photosynthetic activity of microalgae. Although optimizing the pilot-scale reactor posed challenges due to the characteristics of crude glycerol, the highest biogas yield achieved was $14.7 \text{ LCH}_4 \text{ kgVS}^{-1}\text{d}^{-1}$, with a cumulative production of 1080 L, using a glycerol-to-biomass ratio of $0.23 \text{ gCOD gVS}^{-1}$ and a 7-day feeding cycle. By replacing the reactor substrate with soybean molasses, a higher yield of 350 L d^{-1} was achieved, with a cumulative biogas production of 3.6 m^3 and a specific methane yield of $50.5 \text{ LCH}_4 \text{ kgVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$, using 5 L of soybean molasses over an 8-day cycle. Moreover, microbial analysis indicated that the most abundant genera involved in the biodegradation of soybean molasses within the bacterial domain were *Enterococcus*, *Lachnoclostridium*, and *Eubacterium*, with relative abundances of 17.4%, 10.9%, and 9.5%, respectively and, the dominant genera within the archaeal domain identified were *Methanosarcina* and *Methanoculleus*. In the second part of this thesis, the impact of three fractions of carbon-coated zero-valent iron nanoparticles – raw solution (liquid nanoparticles, R-NPs), solid nanoparticles (S-NPs), and the supernatant obtained after the separation of solid nanoparticles (SU-NPs) – was assessed on the performance of two model microorganisms: the microalga *Chlorella vulgaris* and the cyanobacterium *Arthrospira platensis*, devoted to biogas purification upgrading. S-NPs significantly increased the carbohydrate content of *A. platensis* by 56%, while R-NPs exhibited superior performance by enhancing CO_2 biofixation, biomass yield, productivity, and specific growth rate by 21%, 22%, 33%, and 46%, respectively. Similarly, R-NPs also boosted the carbohydrate content of *C. vulgaris* by 55%. Finally, the effects of adding carbon-coated zero-valent liquid iron nanoparticles (L-NPs) on the performance of a high-rate algal pond, dedicated to photosynthetic biogas upgrading and nutrient valorization from real digestate, were evaluated. The addition of 2 mL L^{-1} of L-NPs, combined with intensive biomass harvesting, promoted higher biomass productivity without negatively impacting algal photosynthetic activity or biogas upgrading performance. Moreover, biomethane of higher quality, characterized by a higher CH_4 concentration (94.9% v/v) and lower levels of CO_2 (2.1% v/v), O_2 (0.4% v/v), and N_2 (2.6%), was obtained at an L/G ratio of 0.7.

Keywords: *Arthrospira platensis*, biodigester, biomethane, *Chlorella vulgaris*, glycerol, soybean molasses, nanoparticles.

Índice de figuras

Figura 1. Fluxograma simplificado de produção de proteína de soja concentrada.....	33
Figura 2. Fluxograma simplificado da produção de biodiesel por meio do método de transesterificação.....	39
Figura 3. Microalgas vistas em microscópio: (a) <i>Coelastrella spp</i> (b) <i>Chlorella vulgaris</i> , (c) <i>Arthrospira platensis</i> e (d) <i>Arthrospira platensis</i> após separação do meio de cultivo.....	46
Figura 4. Fotobioreator do tipo (a) lagoa de alta taxa (HRAP) e (b) tubular vertical instalados no <i>Institute of Sustainable Process</i> da Universidad de Valladolid.	48
Figure 5. Schematic diagram and pilot-scale biodigester used in this study.	58
Figure 6. 3D response surface (a) and Contour plot (b) of the SMP from the anaerobic digestion of crude GLY.	61
Figure 7. Temporal profile of (a) GLY concentration, (b) COD and (c) VFA concentration for all cycles evaluated.	63
Figure 8. Specific methane production (SMP) according to the volume of GLY added each cycle.	66
Figure 9. S1. Specific methane production observed experimentally versus predicted using the model generated in this study (Eq. 1).	70
Figure 10. S2. Profiles for predicted values and Desirability.	71
Figure 11. Schematic diagram of the pilot-scale anaerobic semi batch reactor used in this study.	77
Figure 12. Evaluation of process stability: temporal profile of (a) BA, (b) VFA and (v) COD concentration for all phases evaluated.	81
Figure 13. (a) Average cumulative biogas production (CBP) between the cycles from phases (●), IV (▲), V (▼), VI (◆), VII (◀), VIII (▶) and (b) Specific methane production (SMP) of all cycles from phase I (■), II (▣), III (▤), IV (▥), V (▦), VI (▧), VII (▨) and VIII (▩), temperature variation (—■—) and average biomass concentration in terms of VS (g/L) (—■—).	84
Figure 14. Circus diagram summarizing the relative abundances (%) of the (a) 20 most abundant bacterial and (b) archaea genera identified in the microbial communities of initial inoculum (cycle 0) and from the best operational stage (cycle 18).	90
Figure 15. Time course of the CO ₂ consumption (a and b), O ₂ production (c and d) and biomass growth (e and f) in the assays with <i>Arthrospira platensis</i> (a, c and e) and <i>Chlorella vulgaris</i> (b,	

d and f)) with different fraction of R-NPs: 1 mL L⁻¹ R-NPs (■), 100 mg L⁻¹ S-NPs (▲), 1 mL L⁻¹ SU-NPs (●) and control (●). 100

Figure 16. Time course of the CO₂ consumption (a and b), O₂ production (c and d) and biomass growth (e and f) in the assays with *Arthrospira platensis* (a, c and e) and *Chlorella vulgaris* (b, d and f) with O-NPs at different concentration (b and d): 1 mL L⁻¹ (■), 2 mL L⁻¹ (▲), 3 mL L⁻¹ (◆) and control (●). 106

Figure 17. S1. Time course of pH in the assays conducted with *Arthrospira platensis* (a and b) and *Chlorella vulgaris* (c and d) with different fraction of R-NPs (a and c): 1 mL L⁻¹ R-NPs (■), 100 mg L⁻¹ S-NPs (▲), 1 mL L⁻¹ SU-NPs (●) and control (●); and with R-NPs different concentration (b and d): 1 mL L⁻¹ (■), 2 mL L⁻¹ (▲), 3 mL L⁻¹ (◆) and control (●). 111

Figure 18. S2. Time course of F_v/F_m in the assays conducted with *Arthrospira platensis* (a and b) and *Chlorella vulgaris* (c and d) with different fraction of R-NPs (a and c): 1 mL L⁻¹ R-NPs (■), 100 mg L⁻¹ S-NPs (▲), 1 mL L⁻¹ SU-NPs (●) and control (●); and with R-NPs different concentration (b and d): 1 mL L⁻¹ (■), 2 mL L⁻¹ (▲), 3 mL L⁻¹ (◆) and control (●). 112

Figure 19. S3. Time course of inorganic carbon (a and b) and total organic carbon (c and d) concentration in the assays with *Arthrospira platensis* (a and c) and *Chlorella vulgaris* (b and d) with different fraction of R-NPs (a and c): 1 mL L⁻¹ R-NPs (■), 100 mg L⁻¹ S-NPs (▲), 1 mL L⁻¹ SU-NPs (●) and control (●). 113

Figure 20. S4. Time course of the total nitrogen concentration in the assays with *Arthrospira platensis* (a and b) and *Chlorella vulgaris* (c and d) with different fraction of R-NPs (a and c): 1 mL L⁻¹ R-NPs (■), 100 mg L⁻¹ S-NPs (▲), 1 mL L⁻¹ SU-NPs (●) and control (●); and with R-NPs different concentration (b and d): 1 mL L⁻¹ (■), 2 mL L⁻¹ (▲), 3 mL L⁻¹ (◆) and control (●). 114

Figure 21. S5. Time course of inorganic carbon (a and b) and total organic carbon (c and d) concentration in the assays with *Arthrospira platensis* (a and c) and *Chlorella vulgaris* (b and d) with R-NPs at different concentration (b and d): 1 mL L⁻¹ (■), 2 mL L⁻¹ (▲), 3 mL L⁻¹ (◆) and control (●). 115

Figure 22. Time course of a) dissolved oxygen, b) maximum photochemical yield (F_v/F_m) of the cultivation broth of the HRAP during dark (□), illuminated (○) and illuminated period after dark adaptation (△) and c) microalgal biomass concentration in the HRAP. 124

Figure 23. Time course of a) pH of the HRAP() , AC () and digestate () , b) IC and c) TOC concentrations in the cultivation broth of the HRAP () and digestate ().....	127
Figure 24. Time course of a) TN, b) N-NH ₄ ⁺ , c) N-NO ₃ ⁻ and d) N-NO ₂ ⁻ concentrations in the cultivation broth of the HRAP () and digestate ().....	130
Figure 25. Time course of N ₂ O gas emissions during the dark () and illuminated () period.	131
Figure 26. Time course of biogas concentration at the inlet () and outlet () of the biogas absorption column in terms of a) CO ₂ , b) CH ₄ , c) O ₂ and d) N ₂ for the 6 stages evaluated. .	134
Figure 27. S1. Temporal profile of a) S-SO ₄ ²⁻ and b) P-PO ₄ ³⁻ concentrations in the cultivation broth of the HRAP() and digestate ().....	135
Figure 28. S2. Temporal profile of H ₂ S concentration on the biogas at the inlet () and outlet () of the biogas absorption column for the 6 phases evaluated.....	136

Índice de Tabelas

Tabela 1. Produtos de interesse comercial e aplicações do melaço de soja.	34
Tabela 2. Utilização do melaço de soja como substrato para produção de biogás (biometano e biohidrogênio).....	38
Tabela 3. Resumo dos processos de purificação de biogás para remoção dos principais contaminantes.	42
Table 4. Characterization of crude GLY obtained from biodiesel production.....	56
Table 5. Design matrix of the factorial experimental design (CCD) and the observed response variable.....	57
Table 6. ANOVA results for specific methane production regression model.	60
Table 7. Overall biogas production and methane composition in each cycle evaluated.....	67
Table 8. Performance results of pilot-scale studies of anaerobic digestion of glycerol.....	69
Table 9. Characterization methods and composition of soybean molasses.	76
Table 10. Operational phases evaluated through 226 days of experiment.....	78
Table 11. Cumulative and daily production during all the phases evaluated.....	86
Table 12. Biomass productivity (Px) and maximum specific growth rate (μ) of the assays with <i>Arthrospira platensis</i> (AP1 and AP2) and <i>Chlorella vulgaris</i> (CV1 and CV2).	102
Table 13. Operational conditions evaluated in the experimental system.	120
Table 14. Elemental composition of the biomass. Values are presented as the average $\pm$ standard deviation.	131
Table 15. Average environmental parameters in the HRAP along with their standard deviation during the six operational stages evaluated.	136

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

μ – *Specific growth rate*

AABR – *Anaerobic aerobic baffled reactor*

AC – *Absorption column*

AD – *Anaerobic digestion*

ANOVA – *Analysis of variance*

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

AnSBBR – Reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais contendo biomassa imobilizada ou *Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor*

AOB – *Ammonia oxidizing bacteria*

AP – *Arthospira platesins*

B2 – Adição de 2 % de biodiesel no diesel

B5 – Adição de 5 % de biodiesel no diesel

BA – *Bicarbonate alkalinity*

C – Carbono

CBP – *Cumulative biogas production*

CCD – *Central composite design*

CH₄ – Metano

CHP – *Combined heat and power*

CNPE – Conselho Nacional de Política Energética

CO – Monóxido de carbono

CO₂ – gás carbônico

CO₂-Res – Removal efficiency of CO₂

COD – *Chemical oxygen demand*

COD-RE – *Chemical oxygen demand removal*

COVa – Carga orgânica volumétrica aplicada

Cu²⁺ – Íons de cobre II

CV – *Chlorella vulgaris*

df – *degrees of freedom*

DO – *Dissolved oxygen*

DOE – *Design of experiments*

DQO – Demanda química de oxigênio

F – *F-value*

F/M – Relação substrato-microrganismo ou *food to microorganism*

Fe(OH)₃ – Hidróxido de ferro III

FeCl₂ – Cloreto ferroso

FeCl₃ – Cloreto férrico

FeSO₄ – Sulfato ferroso

F_v/F_m – *Maximum photochemical yield of photosystem II*

FW – *Food waste*

GC-TCD – *Gas chromatograph equipped with Thermal conductivity detector*

GLY – *Glycerol*

H – Hidrogênio

H₂ – Hidrogênio

H₂S – sulfeto de hidrogênio

Hac – *Acetic acid*

HRAP – Lagoa de alta taxa ou high-rate algal ponds

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – *Inorganic carbon*

IEA – Instituto de Economia Agrícola

L/G – *Liquid to biogas ratio*

LCFA – Ácidos graxos de cadeia longa ou *long-chain fatty acids*

L-NP – Nanopartícula líquida

MS – *Mean square*

N – Nitrogênio

N₂ – nitrogênio

N₂O – Óxido nitroso

Na₂CO₃ – carbonato de sódio

NaHCO₃ – Bicarbonato de sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

NH₃ – Amônia

N-NH₄⁺ – Nitrogênio amoniacal

N-NO₂⁻ – Nitrogênio na forma de nitrito

N-NO₃⁻ – Nitrogênio na forma de nitrato

NO₂⁻ – Nitrito

NO₃⁻ – Nitrato

NOB – Nitrite oxidizing bacteria

NP – Nanopartículas
O – Oxigênio
O₂ – oxigênio
OD₇₅₀ – *Optical density at 750 nm*
OLR – *Organic load rate*
OUT – *Operational taxonomic unit*
p – *p-value*
PAR – *Photosynthetic active radiation*
PBR – Fotobioreator
PIB – produto interno bruto
P-PO₄³⁻ – Fósforo na forma de fosfato
P_x – *Biomass productivity*
RCAA – Reator compartimentado anaeróbio/aeróbio
R-NPs – *Raw solution (liquid nanoparticles)*
RuBisCO – *Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase*
S – Enxofre
SM – *Soybean molasses*
SMP – *Specific methane production*
S-NPs – *Solid nanoparticles*
SS – *Sum of squares*
S-SO₄²⁻ – Enxofre na forma de sulfato
SU-NPs – *Supernatant nanoparticles*
TAG – *Triacylglycerides*
T_c – *Cycle time*
TDH – Tempo de detenção hidráulica
TiO₂ – Óxido de titânio
TN – *Total nitrogen*
TOC – *Total organic carbon*
TS – *Total solids*
TSS – *Total suspended solids*
UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Bed*
VFA – *Volatile fatty acids*
VS – *Volatile solids*
VSS – *volatile suspended solids*

WWTP – *Wastewater treatment plant*

ZnO – Óxido de zinco

Sumário

Introdução	25
1.1. Contextualização do presente trabalho	27
1.2. Principais produtos agroindustriais brasileiros	29
1.2.1. Cadeia produtiva da soja	29
1.2.2. Biodiesel	31
1.3. Reaproveitamento de resíduos agroindustriais	32
1.3.1. Melaço de soja	32
1.3.2. Glicerol	38
1.4. Tecnologias de purificação de biogás	40
1.1.1. Processos físico-químicos	43
1.1.2. Processos biológicos	44
1.1.3. Processos fotossintéticos	45
Objetivos	50
Objetivos gerais	50
Objetivos específicos	50
Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel production for biogas generation: Process optimization and pilot scale operation	52
3.1. Abstract	53
3.2. Introduction	53
3.3. Materials and Methods	55
3.4. Results and Discussion	59
3.5. Conclusions	70
Valorization of soybean molasses for biogas production in an upscale and cost-effective anaerobic reactor	72
4.1. Abstract	73
4.2. Introduction	73
4.3. Materials and methods	75
4.4. Results and discussion	80
4.5. Conclusion	91
The effects of liquid nanoparticles on biomass growth and photosynthetic biogas upgrading of <i>C. vulgaris</i> and <i>A. platensis</i>	93
5.1. Abstract	94
5.2. Introduction	94
5.3. Materials and methods	96
5.4. Results and discussion	99
5.5. Conclusion	110

Long-term effects of liquid nanoparticles on biomass growth and photosynthetic biogas upgrading.....	116
6.1. Abstract.....	117
6.2. Introduction.....	117
6.3. Materials and methods	119
6.4. Results and discussion	122
6.5. Conclusion	135
Conclusão da tese	137
Recomendações para trabalhos futuros.....	140
Referências bibliográficas	141

Introdução

Nos últimos anos, a economia brasileira ampliou e diversificou sua pauta de exportações de bens industriais; porém, dados recentes revelaram um declínio nas exportações de produtos industriais, acompanhado pelo aumento das exportações de commodities do agronegócio e da indústria extrativa mineral. O Brasil destaca-se globalmente como um importante produtor e exportador de produtos agroindustriais, abrangendo desde grãos “*in natura*” até produtos finais, como biocombustíveis (1). Nesse contexto, o país também se destaca como o maior produtor mundial de soja, além de estar também entre os maiores produtores de biodiesel. No entanto, tanto a cadeia produtiva da soja quanto a produção de biodiesel estão associadas à geração de uma ampla gama de subprodutos e resíduos que, até o momento, carecem de destinação adequada ou de valor comercial efetivo. Dentre eles, destaca-se o melaço de soja, subproduto da concentração de proteínas do farelo de soja e o glicerol, principal subproduto da produção de biodiesel.

Aliado a crescente procura por fontes energéticas renováveis e ao desenvolvimento de uma economia sustentável, o tratamento de resíduos agroindustriais via digestão anaeróbia se destaca em virtude da geração de biogás, mais especificamente o biometano. O potencial de produção de biogás a partir do glicerol tem sido amplamente investigado, sobretudo em função do aumento na geração desse resíduo devido às políticas de incentivo da adição de biodiesel no diesel de petróleo. Um dos principais desafios para a implementação em larga escala da produção de biogás, a partir do glicerol, é sua composição complexa e variável, muito dependente do tipo de matéria-prima utilizada na produção de biodiesel. Particularmente, o glicerol proveniente da produção de biodiesel a partir de óleo de cozinha usado, produzido principalmente por pequenos fabricantes, contém diversas impurezas e compostos potencialmente tóxicos para a comunidade microbiana, o que pode impactar negativamente a produção de biogás.

Da mesma forma, a produção de biogás a partir da digestão anaeróbia de melaço de soja tem despertado crescente interesse recentemente, devido ao menor capital e aos custos operacionais mais baixos associados ao processo anaeróbio, em comparação com os processos de fermentação tradicionalmente investigados para o reaproveitamento do melaço de soja. Entretanto, há uma escassez de estudos que empreguem o melaço de soja em sua forma *in natura*, sem diluição ou suplementação nutricional, além de uma lacuna de pesquisas conduzidas em maior escala. Adicionalmente, por se tratar de um substrato ainda pouco

explorado, torna-se relevante investigar a comunidade microbiana envolvida em seu processo de degradação, caracterizando a composição taxonômica das espécies presentes por meio de ferramentas de biologia molecular.

Com foco na ampliação de escala, os reatores anaeróbios operados em bateladas e os biodigestores surgem como uma alternativa aos reatores contínuos, devido à sua simplicidade operacional e à flexibilidade no controle do processo. Além disso, estudos indicam que são apropriados para indústrias que geram efluentes de forma descontínua (2). Inclusive, biodigestores são amplamente empregados no tratamento de diversos tipos de resíduos, como resíduos alimentares, dejetos animais e lodo de esgoto. Além de converter esses resíduos em biogás, os biodigestores também apresentam o potencial de gerar biofertilizantes a partir do digestato resultante do processo. Logo, os biodigestores podem desempenhar um papel crucial no desenvolvimento sustentável e na conservação de recursos. Ademais, a otimização da operação de biodigestores pode potencializar ainda mais sua eficiência e os benefícios ambientais associados.

De fato, a produção e consumo de biogás estão de acordo com o conceito de economia circular, ao transformar resíduos em recursos de maior valor agregado, além dos benefícios ambientais que incluem a redução da poluição atmosférica (emissão de gases do efeito estufa) e das águas (eliminação da disposição de resíduos sem tratamento, redução da eutrofização) (3). Nesse sentido, o biogás gerado pode ser utilizado para operar turbinas a gás combinadas com geradores elétricos, substituir parte do combustível usado nos setores industriais, no aquecimento de boilers para gerar vapor, como fonte de energia, gerando calor e eletricidade, entre outros processos (4). Segundo dados da Panorama do Biogás no Brasil 2023, há cerca de 1365 plantas de biogás no Brasil, e somente em 2023, foram produzidos cerca de 4,15 bilhões Nm^3 de biogás para geração de energia elétrica, calor e energia mecânica (5).

No entanto, o grau de pureza e a concentração de metano no biogás são determinantes quanto ao seu reaproveitamento energético. Os principais contaminantes que limitam a utilização do biogás são o sulfeto de hidrogênio (H_2S), devido principalmente ao seu poder corrosivo e toxicidade, e gás carbônico (CO_2) que interfere diretamente no potencial energético do biogás por ser inerte em termos de combustão e ocupar volume (6). Outros compostos indesejados dependentes do tipo de resíduo tratado que também podem estar presentes no biogás incluem água (umidade), amônia, nitrogênio (N_2), oxigênio (O_2), siloxanos, compostos halogenados, compostos orgânicos voláteis (7).

As principais tecnologias de tratamento de biogás disponíveis atualmente são processos físico/químicos tais como separação criogênica, membranas, lavagem do gás, adsorção e

absorção, fortemente baseados em técnicas de tratamento de gás natural (8). Porém, esses processos envolvem elevada demanda energética e custo, além de reduzirem a pegada ecológica associada ao biogás. Logo, tecnologias envolvendo processos biológicos, tais como o uso de microalgas, se tornam atraentes em virtude do menor custo envolvido, além da possibilidade da geração de produtos comercializáveis tais como proteínas, lipídios, biocombustíveis e fármacos a partir da biomassa de microalgas (9).

A purificação de biogás por meio da ação fotossintética de culturas de microalgas é baseada na fixação de CO₂ na presença de luz, e produção O₂ e compostos orgânicos além de biomassa (10). Um dos maiores desafios deste processo é a baixa transferência de massa de CO₂ ao meio de cultura e diversos estudos voltados a superar esse desafio incluem o uso de materiais nanoporosos e mesoporosos, como nanopartículas de óxido metálico, a base de ferro e produzidas a partir de resíduos carbonáceos (11,12).

1.1. Contextualização do presente trabalho

O presente estudo concentrou-se na geração de bioenergia, abordando integralmente a cadeia produtiva, iniciando pela caracterização dos resíduos utilizados na produção de biogás por meio da digestão anaeróbia, seguida da otimização do processo em escala laboratorial utilizando design de experimentos, da operação de biodigestor em escala piloto e, finalmente, da purificação do biogás gerado por meio da ação fotossintética de microalgas.

Logo, esta tese foi dividida em duas etapas. A primeira etapa, dividida em dois capítulos, foi dedicada a explorar o potencial de produção de biogás a partir de dois resíduos agroindustriais, glicerol bruto e melaço de soja. Os dois estudos desta primeira parte foram realizados no Instituto de Química e no Instituto de Biotecnologia da Universidade de Araraquara. Particularmente, o primeiro capítulo (Capítulo 3) apresenta os resultados da otimização do processo de produção de biogás, a partir do glicerol bruto obtido a partir da transesterificação de óleo de fritura usado para a geração de biodiesel. O estudo foi dividido em duas fases: a primeira fase consistiu em um delineamento experimental baseado no desenho composto central com duas variáveis em cinco níveis com foco na otimização da produção de biogás, a partir de glicerol bruto em reatores bateladas em escala de laboratório. A segunda fase foi realizada no biodigestor em escala piloto aplicando-se as variáveis otimizadas obtidas no planejamento experimental.

O segundo capítulo (Capítulo 4) apresenta o estudo da valorização de um resíduo ainda pouco explorado, o melaço de soja. Este resíduo, cuja geração está cada vez maior devido ao crescimento de dietas vegetarianas e veganas baseada em alimentos de origem vegetal como a

soja, apresenta grande potencial como substrato para geração de biogás. Com base em estudos prévios em escala de laboratório, o presente trabalho concentrou-se na ampliação da produção de biogás a partir de melaço, utilizando um reator anaeróbio em escala piloto. O estudo teve como objetivo desenvolver um processo economicamente viável para aplicação em indústrias processadoras de soja, variando o volume de substrato adicionado ao reator e a duração de cada ciclo de alimentação. Além disso, para apoiar os resultados do desempenho do reator, a comunidade microbiana, em termos de abundância relativa ao nível do gênero, foi avaliada ao longo dos ciclos estudados.

A segunda parte desta tese foi dedicada à investigação de processos de purificação de biogás utilizando a ação fotossintética de microalgas. Ambos os estudos desta segunda parte foram realizados no *Institute of Sustainable Process* da Universidade de Valladolid, Espanha. O primeiro capítulo (Capítulo 5), avaliou a influência da adição de nanopartículas líquidas de óxido metálico, a base de ferro e produzidas a partir de resíduos carbonáceos, em culturas puras de algas e cianobactérias. Especificamente, o presente estudo avaliou os efeitos de três frações de nanopartículas de ferro líquido zero-valente revestidas com carbono (sólida, líquida e o sobrenadante obtido a partir da produção da fração sólida) sobre *Chlorella vulgaris* e *Arthrospira platensis* dedicadas à purificação de biogás em fotobioreatores em escala de laboratório.

O segundo capítulo (Capítulo 6) apresenta os resultados dos efeitos da adição de nanopartículas líquidas de ferro líquido zero-valente revestidas com carbono na performance de um fotobioreator piloto de cultivo de um consórcio de microalgas e bactérias do tipo “open pond”. De modo geral, o desempenho do fotobioreator quanto à purificação fotossintética do biogás e da valorização dos nutrientes a partir de efluente do tratamento de esgoto doméstico suplementados com nanopartículas líquidas foi avaliado. Adicionalmente, foi avaliada a influência da taxa de fluxo de biogás no desempenho de purificação do biogás.

Por fim, este trabalho se insere no contexto geral da grande área da engenharia química na área ambiental, contemplando tópicos como valorização de resíduos agroindustriais, digestão anaeróbia, produção de biogás em escala piloto, purificação de biogás por meio da ação fotossintética de algas e otimização do processo de purificação biológica de biogás por meio da adição de nanopartículas.

1.2. Principais produtos agroindustriais brasileiros

A economia brasileira é fortemente baseada no agronegócio, em grande parte devido às suas dimensões continentais e ao clima tropical, favorável ao desenvolvimento da agricultura e pecuária. O Brasil se destaca como o maior produtor mundial de soja, café, suco de laranja, açúcar, carne de frango e carne bovina, responsável por aproximadamente 58 %, 31 %, 76 %, 48 %, 36 % e 25 % do mercado global, respectivamente (13).

O agronegócio movimentou, em 2023, aproximadamente 2,6 bilhões de reais, ou cerca de 25 %, do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro, dos quais o setor agrícola contribuiu com cerca de 1,9 bilhões de reais (14). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a soja lidera o ranking dos produtos com maior valor de produção da agricultura brasileira, seguida pela cana-de-açúcar, milho, café, algodão e laranja (15). Na safra 2022/2023, o volume de produção de grãos alcançou mais de 297 milhões de toneladas, ocupando uma área de 79 milhões de hectares distribuída por todas as regiões do país (16). Ao mesmo tempo, o valor bruto da produção agropecuária alcançou, na última safra, cerca de 1,2 trilhão de reais. No quadro geral da agropecuária, a soja se destaca como carro-chefe da produção, seguida pela pecuária de corte, milho, cana-de-açúcar e a pecuária de leite (13,15).

Além disso, o Brasil se destaca na produção de biocombustíveis. Segundo dados da ANP, a produção de biocombustíveis atingiu um recorde histórico em 2023, com mais de 42 bilhões de litros produzidos (17). Impulsionada pelo aumento do percentual obrigatório de mistura ao diesel, a produção de biodiesel alcançou 7,5 bilhões de litros. No entanto, a maior parcela da produção de biocombustíveis corresponde ao etanol (anidro e hidratado), totalizando 35,4 bilhões de litros. Por fim, com um crescimento significativo de aproximadamente 12% em relação a 2022, a produção de biometano atingiu quase 75 milhões de metros cúbicos (17).

1.2.1. Cadeia produtiva da soja

Apesar dos grandes desafios impostos pela pandemia entre 2020 e 2022 e das adversidades climáticas que impactaram fortemente as lavouras, o Brasil superou os Estados Unidos, tornando-se o maior produtor, processador e exportador de soja. Na safra de 2023/24, o país alcançou um volume recorde de produção de 147,4 milhões de toneladas, representando 39% da produção mundial e ocupando uma área de 46,03 milhões de hectares (16). Estima-se que aproximadamente 54,5 milhões de toneladas do grão serão consumidas no mercado interno, sendo que 41,7 milhões de toneladas serão destinadas à produção de farelo de soja e 11 milhões de toneladas à produção de óleo, enquanto 97,8, 1,15 e 22 milhões de toneladas de

soja em grão, óleo e farelo serão destinados ao mercado externo (18). Além disso, do total exportado, estima-se uma receita de mais de 52 bilhões de dólares (19). De acordo com dados do Instituto de Economia Agrícola (IEA), a soja e seus derivados representam a maior participação em valores nas exportações do agronegócio brasileiro (37,6 %) (20).

Em termos gerais, o processamento da soja para obtenção de óleo e outros produtos de interesse comercial envolve múltiplas operações unitárias, estruturadas em etapas principais e subdivisões específicas. Resumidamente, o processo inicia-se com a preparação dos grãos, envolvendo limpeza, secagem e descascamento, produzindo cascas (cerca de 5-10% do peso do grão), que podem ser utilizadas como suplemento para ração animal (21). Após o descascamento, os grãos são aquecidos e triturados para extração do óleo bruto, que é obtido com solvente, geralmente hexano, e posteriormente refinado para remoção de impurezas indesejáveis, a fim de melhorar suas características sensoriais (22).

Outros produtos importantes da cadeia da soja são a lecitina, a farinha de soja, farelo de soja, proteína texturizada, concentrada e isolada de soja. A lecitina, rica em fosfolipídios e glicolipídios, é obtida na etapa de degomagem do óleo bruto e amplamente utilizada como emulsificante e estabilizante em alimentos e outros produtos (23,24). A farinha desengordurada passa por processos para obtenção de proteínas texturizada, concentrada e isolada, resultando em subprodutos como okara e melaço de soja, dependendo do solvente usado (etanol ou solução alcalina) (25). Além disso, o farelo de soja, obtido pela secagem da farinha, é utilizado como uma fonte proteica para a nutrição animal (26).

Especificamente, a produção de proteína concentrada de soja tem apresentado um crescimento significativo, impulsionada pelo aumento da demanda decorrente da popularização de dietas veganas e vegetarianas. O processo de produção envolve a dissolução do farelo desengordurado em uma solução hidroalcoólica contendo 60% etanol e 40% água. Como produtos da extração, são obtidas duas frações: uma fração sólida, composta por um concentrado alcoólico insolúvel com 66-70% de proteína, e uma fração líquida, rica em açúcares (27). A proteína concentrada em pó é obtida após a secagem do concentrado alcoólico, enquanto a fração líquida é destilada para a recuperação do etanol, gerando o melaço de soja, que constitui o único subproduto da extração proteica (28). De acordo com Siqueira et al., (29), a cada tonelada de soja processada, obtém-se 716 kg de farelo, utilizado na produção de concentrados proteicos, resultando na geração de 190 kg de melaço de soja.

1.2.2. Biodiesel

O Brasil é pioneiro na América Latina na produção e uso de biocombustíveis. As primeiras tentativas de uso de biodiesel no Brasil começaram na década de 1970, motivadas pela busca por autossuficiência energética e pela superação de crises econômicas (30). Após diversas tentativas de implementação do uso de biodiesel, somente em 2004 foi instituído o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel, por meio do qual a ANP determinou a especificação do biodiesel com uma mistura inicial obrigatória de 2% (B2) no diesel. Em 2005, a Lei 11.097 estabeleceu a adição obrigatória de biodiesel, definindo B2 a partir de 2008 e B5 para 2013. Em 2008, o Conselho Nacional de Política Energética antecipou o teor obrigatório de biodiesel para 3%, e o governo federal, por razões macroeconômicas, antecipou o uso de B5 para 2010 (31). Recentemente, entrou em vigor o aumento do percentual de mistura de biodiesel ao diesel para 14 % (32). Impulsionada por políticas públicas de incentivo e investimentos em pesquisa e produção, a expansão da produção de biodiesel posicionou o Brasil entre os principais produtores mundiais desse biocombustível (33).

O uso do biodiesel está associado a diversos benefícios ambientais, especialmente por poder ser produzido a partir de fontes renováveis como óleo vegetal ou gordura animal (34). Além disso, a combustão do biodiesel, em comparação com o diesel de petróleo, é mais ambientalmente amigável quanto às emissões, ao emitir menores quantidades de monóxido de carbono, material particulado e hidrocarbonetos (35). Outras vantagens desse biocombustível em relação ao diesel incluem renovabilidade, biodegradabilidade, toxicidade insignificante, maior eficiência de combustão, maior número de cetano, maior ponto de fulgor e melhor lubrificação (36,34,33).

No entanto, a principal desvantagem econômica do processo de produção de biodiesel, que também impacta negativamente sua pegada ecológica e limita a sua ampla comercialização, está no uso de óleos vegetais como soja, palma e girassol como matérias-primas (37). Nesse contexto, a busca por fontes alternativas de matéria-prima, como o óleo de cozinha usado, tornou-se essencial para a redução de custos (38). O uso de óleo de cozinha usado é uma alternativa que combina aspectos econômicos, por se tratar de um resíduo com baixo custo de aquisição, com a preservação ambiental, ao evitar a contaminação de águas e solos, promovendo, de modo geral, práticas sustentáveis (37). No Brasil, aproximadamente 18% do total da matéria-prima utilizada para a produção de biodiesel é composta por óleo de cozinha usado (17).

O método mais empregado para sua geração de biodiesel é pelo processo de transesterificação, no qual convencionalmente empregam-se triglicerídeos (óleos vegetais ou gorduras animais) e álcool (metanol ou etanol) na presença de um catalisador, geralmente hidróxido de sódio ou metilato de sódio (30). Resumidamente, o processo se inicia com a transferência do óleo ao reator, juntamente com o catalisador e o álcool, e essa mistura permanece sob agitação controlada durante aproximadamente duas horas (35,31). Uma reação eficiente produz duas fases líquidas visualmente distintas: a fase do éster, que é o biodiesel, e a fase inferior que corresponde ao glicerol bruto contendo álcool que não reagiu, sais e substâncias sólidas presentes nas matérias-primas (39).

1.3. Reaproveitamento de resíduos agroindustriais

O aumento no consumo global de bens agrícolas e industriais está relacionado a uma crescente geração de subprodutos e resíduos agroindustriais sem valor agregado ou destinação sustentável, se tornando um fator preocupante para o setor agroindustrial. Desta forma, a produção de bioenergia por meio da digestão anaeróbia desses resíduos é uma opção mais vantajosa quando comparada a outros processos de tratamento de resíduos e/o e produção de bioenergia, pois ao mesmo tempo que produz energia relativamente mais limpa (que a queima direta da biomassa, por exemplo), o excesso de lodo gerado pode ser empregado como um biofertilizante passível de ser aplicado nas lavouras (40). Um dos subprodutos mais abundantes da cadeia produtiva da soja é o melaço, enquanto o glicerol se destaca como o principal resíduo da produção de biodiesel.

1.3.1. Melaço de soja

O melaço de soja é um exemplo significativo de subproduto da indústria de processamento de soja, devido à sua grande produção (Figura 1). Além de apresentar baixo valor agregado em seu estado “*in natura*”, carece de tratamento adequado e consolidado para sua destinação final. Atualmente, o melaço é muito pouco aproveitado industrialmente, sendo utilizado nas unidades processadoras de soja como combustível de caldeira industrial (41,42).

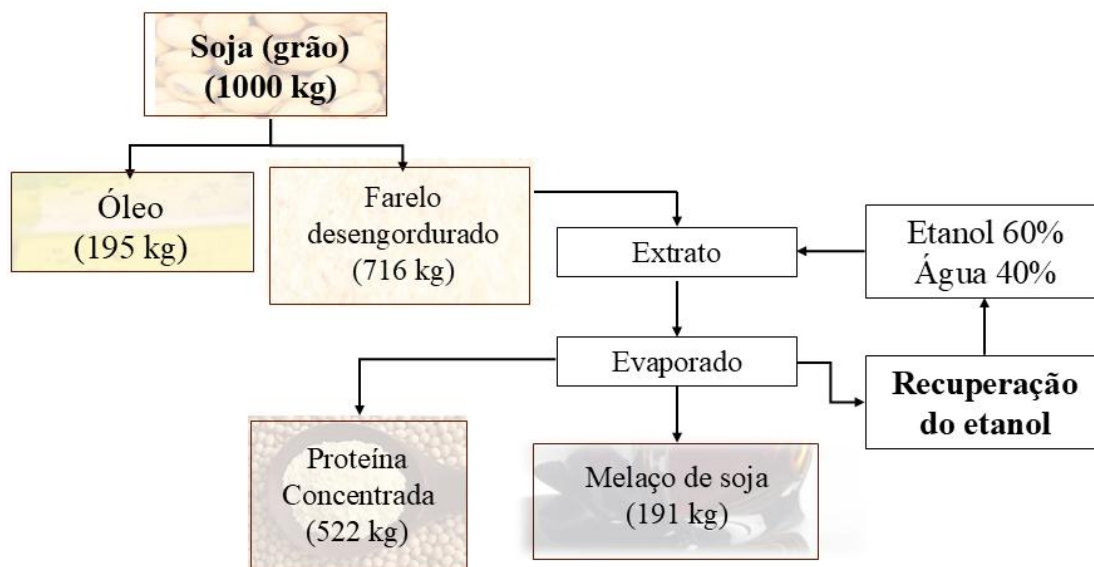


Figura 1. Fluxograma simplificado de produção de proteína de soja concentrada.

Fonte: Adaptado de Rodrigues et al, (41).

Em relação à sua composição, cerca de 60% dos sólidos solúveis presentes no melaço são carboidratos, incluindo açúcares digeríveis como sacarose, glicose, frutose, dextrose, lactose e galactose, bem como açúcares de cadeia longa como rafinose, estaquiose e verbascose (43,44). Além da alta concentração de carboidratos, o melaço contém nitrogênio orgânico na forma de proteína residual, lipídeos, flavonoides e outros macro e micronutrientes que favorecem o crescimento de microrganismos e a síntese de bioprodutos (45,46,43).

A Tabela 1 apresenta, de forma resumida, diversos estudos realizados por pesquisadores sobre a utilização do melaço de soja como matéria-prima principal ou co-substrato para a produção de produtos de interesse comercial.

Neste contexto, visando a valorização desse subproduto, diversos estudos acadêmicos investigaram o potencial do melaço de soja como matéria-prima para a produção de bioprodutos e produtos químicos industriais, explorando suas propriedades nutricionais, composição de açúcares fermentáveis e componentes bioativos. Esses estudos focam na utilização do melaço de soja em processos biotecnológicos, como fermentação, produção de biocombustíveis, enzimas e ácidos orgânicos, além da extração de compostos de interesse presentes nesse resíduo.

Tabela 1. Produtos de interesse comercial e aplicações do melaço de soja.

(continua)

<i>Produto</i>	<i>Processo utilizado/ Microorganismo</i>	<i>Referência</i>
<i>Ácidos orgânicos</i>		
Ácido lático	Fermentação / <i>Lactobacillus salivarius</i>	(47)
Málico	Fermentação em batelada via ácido polimálico / <i>Aureobasidium pullulans</i>	(48)
Propiônico	Fermentação em batelada sequencial / <i>Propionibacterium acidipropionici</i>	(49)
Acético (Vinagre)	Fermentação alcoólica em bateladas/ Cultura mista de bactérias do ácido acético	(50)
Glucônico	Fermentação, como fonte de glicose/ <i>Aspergillus niger</i>	(51)
<i>Biocombustíveis</i>		
Butanol	Fermentação usando melaço de soja seco pulverizado/ <i>Clostridium beijerinckii</i>	(52)
Butanol	Fermentação ABE (acetona, butanol, etanol)/ <i>Clostridium</i> sp.	(53)
Etanol	Fermentação em escala de laboratório, piloto e industrial/ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(28)
Etanol	Hidrólise ácida seguida de fermentação submersa/ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(54)
Etanol	Fermentação em batelada / Comparação entre <i>Zymomonas mobilis</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(55)
Etanol anidro	Cinética da produção de etanol/ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(56)
Etanol	Otimização da produção usando três cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(57)
<i>Bioprodutos</i>		
Soporolipídeos	Fermentação (melaço como co-substrato de ácido oleico) / <i>Candida bombicola</i>	(58)
Polihidroxialcanoato	Fermentação / <i>Pseudomonas corrugata</i>	(59)
Poli- β -hidroxialcanoato	Fermentação utilizando rafinose como principal fonte de carbono/ <i>Bacillus megaterium</i>	(60)
Bioemulsificantes	Bioconversão (fonte de carbono) / <i>Acinetobacter venetianus</i>	(61)
Celulose bacteriana	Melaço de soja como fonte de carbono / <i>Gluconacetobacter xylinus</i>	(62)

Tabela 1. Produtos de interesse comercial e aplicações do melaço de soja.

(conclusão)

<i>Produto</i>	<i>Processo utilizado/ Microorganismo</i>	<i>Referência</i>
<i>Bioprodutos</i>		
EPS (substâncias poliméricas extracelular)	Melaço como fonte de carbono/ bactérias diazotróficas	(63)
Isoflavonas	Extração com metanol a 80%, etanol a 80%, e álcool de cereais a 50 e 80 %.	(64)
β -glucanas	Fermentação / <i>Lasioidiplodia theobromae</i>	(44)
Rafinose	Bio-purificação/ Levedura cepa YA176	(65)

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Dentre estes estudos, destacam-se a síntese de ácidos orgânicos como ácido lático (47), ácido acético (50), ácido propiônico (49) e ácido málico (48). Devido a sua composição rica em carboidratos, estudos avaliaram seu uso como fonte de carbono para a fermentação e produção de enzimas (66). Além disso, diversos estudos avaliaram o seu uso como suplementação de rações animais tais como bovinos (67,68), peixes e camarão (69,70), caprinos (71,72).

Além da produção de bioprodutos, outros estudos analisaram o potencial de produção de biocombustíveis como o etanol (55,73,54,74,57) e butanol (53,52). Além disso, (29) expandiram o processo de produção de etanol a partir do melaço para uma escala industrial, alcançando uma produção de 162,7 L de etanol absoluto por tonelada de melaço seco. No entanto, segundo os autores, foi necessário realizar um pré-tratamento do melaço para a liberação dos açúcares facilmente fermentescíveis. Além disso, foram empregados antibióticos para o controle da contaminação do fermento e um dispersante para o controle de espuma, o que tornou o processo mais dispendioso e ainda mais complexo.

Como opção de uma alternativa sustentável, a produção de biogás (biometano e biohidrogênio) por meio da digestão anaeróbia (Tabela 2) tornou-se atraente, uma vez que recentemente se verificou potencial energético do melaço de soja por meio de testes de atividade metanogênica (75) e em reatores de escala de laboratório (41,76,77,78,79). Desta forma, este resíduo agroindustrial, além de ser um subproduto com alta concentração de açúcares, contém nitrogênio, e outros macros e micronutrientes como o potássio, fósforo, magnésio, essenciais para a digestão anaeróbia.

Rodrigues et al., (41) realizaram uma avaliação preliminar do potencial do melaço de soja como substrato para digestão anaeróbia em um reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Bed) em escala laboratorial (12 L). O estudo utilizou o melaço diluído em água, variando as concentrações de matéria orgânica em termos de demanda química de oxigênio DQO (500 a 4000 mg L⁻¹), com cargas orgânicas volumétricas aplicadas (COVa) entre 0,28 e 7,82 kgDQO m⁻³ dia⁻¹ dividida em seis diferentes condições operacionais. Após uma breve fase de aclimatação, foram obtidos resultados satisfatórios na remoção de DQO, com eficiências variando entre 70% e 83% ao longo da operação. Os resultados indicaram uma produção máxima de biogás de 1,5 L dia⁻¹, alcançada com uma carga orgânica volumétrica aplicada (COVa) de 3,91 kgDQO m⁻³ dia⁻¹, apresentando alta concentração de metano, variando entre 72,5% e 82,1%. No entanto, o aumento da COVa para 6,98 kg m³ d⁻¹, aliado a redução do tempo de detenção hidráulica (TDH) para 12 horas, com uma concentração de DQO de 4000 mg L⁻¹ na alimentação, resultou em menores rendimentos de geração de biometano.

Mello et al., (76) conduziram um estudo avaliando o desempenho de um reator compartimentado anaeróbio/aeróbio (RCAA) de 20 L e 4 câmaras (três anaeróbias e uma aeróbia) no tratamento do melaço de soja diluído em água. O estudo foi realizado sob duas condições distintas: com e sem recirculação do efluente aeróbio. Os resultados demonstraram eficiências de remoção de DQO superiores a 95% nas duas condições experimentais. A COVa variou entre 0,3 e 3,9 kgDQO m⁻³ dia⁻¹, o que permitiu a avaliação do impacto dessa variável no desempenho do sistema, destacando a capacidade do reator de absorver diferentes taxas de carregamento de matéria orgânica. Além disso, foi avaliada a recirculação do efluente aeróbio para a entrada da segunda câmara do reator, com o objetivo de investigar o comportamento do sistema na ausência de implementação externa de produto alcalinizante na alimentação da unidade. Tal estratégia resultou em uma performance satisfatória, com eficiências médias de remoção de DQO de 74,2 a 92,2 %.

Paulinetti et al., (78) avaliaram a produção de metano a partir do melaço de soja em um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais contendo biomassa imobilizada (AnSBBR). Especificamente, os autores investigaram a influência de diversos parâmetros operacionais como estratégia de alimentação (batelada e batelada alimentada), tempo de enchimento, COVa (6 a 20 gDQO L⁻¹d⁻¹), temperatura (25, 30 e 35 °C) e co-digestão com okara sobre a estabilidade e desempenho do reator. Os melhores resultados em termos de remoção de matéria orgânica (86%) e produtividade (140,9 molCH₄ m⁻³ d⁻¹) foram alcançados com a carga orgânica volumétrica (COVa) de 14,9 gDQO L⁻¹ d⁻¹, utilizando um tempo de ciclo de 6 horas e operando o reator em regime de batelada alimentada.

Recentemente, Augusto et al., (79) avaliaram o potencial de produção de biohidrogênio a partir do melaço de soja em AnSBBR operado a 30 °C e com recirculação da fase líquida. Apesar das dificuldades em manter uma produção estável de biohidrogênio, os autores relataram uma produtividade de 14,3 mmol H₂ m⁻³ d⁻¹ e um rendimento de 0,93 mmol H₂ gCarb⁻¹. Esses resultados foram alcançados ao aplicar uma carga orgânica volumétrica de 26 kgDQO m⁻³ d⁻¹, utilizando glicose como substrato inicial para adaptação da biomassa.

Em tais estudos, sempre envolvendo o melaço de soja diluído em água, os sistemas demonstraram estabilidade operacional dentro de uma faixa específica de concentração de melaço no substrato de alimentação, correspondendo a valores de DQO entre 6.000 e 8.000 mgO₂ L⁻¹. Contudo, em concentrações superiores, ou seja, aplicando-se maiores quantidades de melaço no substrato de alimentação, tem sido reportada nos estudos a diminuição na eficiência de remoção de matéria orgânica e consequentemente redução na produção de biogás, sendo atribuída principalmente ao acúmulo de ácidos voláteis, que resulta no arraste da biomassa e possível inviabilidade operacional da unidade biológica. Desta forma tornou-se necessária a suplementação progressiva de alcalinidade, utilizando bicarbonato de sódio ou outros produtos no substrato de alimentação, com o objetivo de mitigar a inibição do consórcio microbiano causada pelo acúmulo/excesso de ácidos.

Nesse contexto, devido à elevada concentração de açúcares e ao pH reduzido (~5,3) característicos do melaço de soja “*in natura*”, a adição de alcalinizantes revelou-se indispensável. Essa suplementação torna-se essencial para evitar o acúmulo de ácidos e, portanto, prevenir a inibição dos microrganismos anaeróbios durante o processo de conversão da matéria orgânica. Além disso, não há na literatura especializada estudos que explorem o uso do melaço de soja em sua forma “*in natura*”, sem diluição prévia, suplementação nutricional ou adição de alcalinidade, para aplicação direta na digestão anaeróbia ou outros processos de valorização desse resíduo. Além da falta de trabalhos em escala piloto e/ou industrial, que comprovem o potencial desse resíduo como fonte de bioenergia.

Tabela 2. Utilização do melaço de soja como substrato para produção de biogás (biometano e biohidrogênio)

Reator	Volume (L)	COV (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	Resultados		Referências
			Remoção de DQO (%)	Produção de biogás	
UASB	12	0,28 – 6,98	75 – 88	12 – 1519 mL d ⁻¹	(41)
RCAA	20	0,43 – 3,86	73 – 98	NM ¹	(76)
AnSBBR	4,65 ² / 2,0 ³	6 – 20	81 – 91	26 – 140 molCH ₄ m ⁻³ d ⁻¹	(78)
AnSBBR ⁴	4,6 ² / 3 ³	3.0 – 5.7	19 – 41	73 – 940 NmLH ₂ ciclo ⁻¹	(79)
AnSBBR	6.0 ² / 5.6 ³	7.2 – 14.8	75 – 92	71 – 151 molCH ₄ m ⁻³ d ⁻¹	(77)

¹não mencionado; ²volume total; ³volume de trabalho; ⁴Com recirculação da fase líquida.

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

1.3.2. Glicerol

A crescente demanda de biodiesel tem ocasionado uma elevação na produção de glicerol, devido principalmente a obrigatoriedade da adição de 14 % de biodiesel no diesel comercializado no país, de acordo com a Resolução nº3, de 2023, do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE). Inclusive, o Governo Federal planeja aumentar o percentual de mistura para até 20 %, caso seja comprovada sua viabilidade técnica (80). Logo, muito se tem discutido sobre a elevada produção de glicerol, criando desafios para seu uso sustentável e valorização.

O glicerol (ou glicerina) é o principal resíduo da produção de biodiesel a partir da reação de transesterificação (Figura 2), sendo gerados 10 kg de glicerol bruto para cada 100 kg de biodiesel produzido (81). Atualmente, a produção anual de glicerol é 644 mil metros cúbicos somente em 2023 de acordo com dados da ANP.

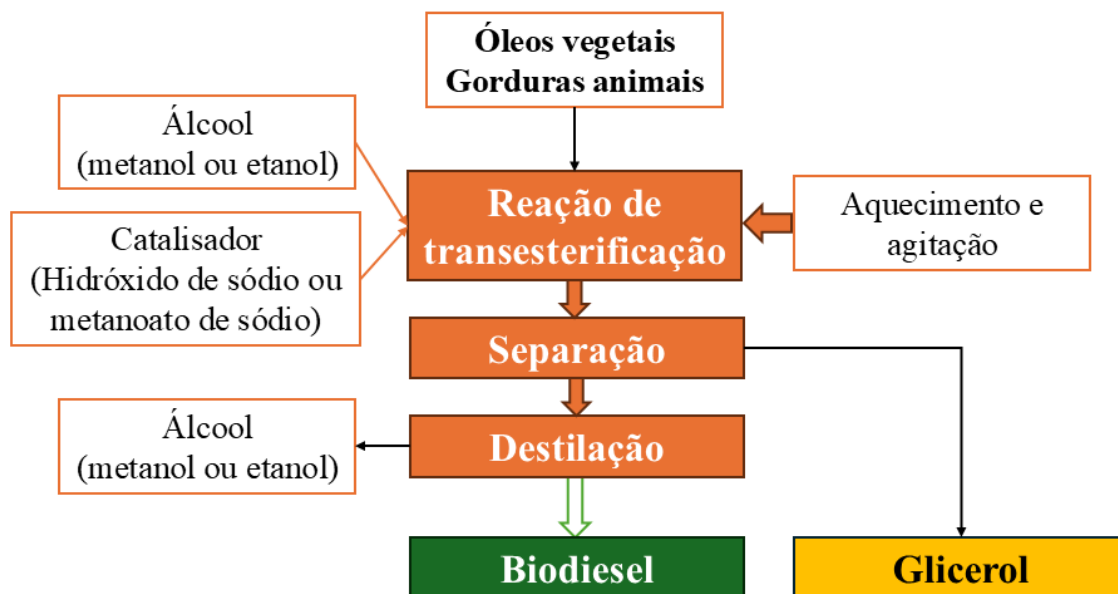


Figura 2. Fluxograma simplificado da produção de biodiesel por meio do método de transesterificação.

Fonte: Adaptado de Rodrigues (33).

Particularmente, o glicerol oriundo de biodiesel produzido de fontes recicláveis (óleo usado de frituras) apresenta um elevado teor de impurezas que limita e encarece o seu processamento industrial para a sua recuperação/purificação. Dentre as principais impurezas, destacam-se: sabão, metanol residual, umidade, catalisador residual, ácidos graxos livres, cinzas, triglicerídeos que não reagiram, monoglicerídeos e diglicerídeos (38,81,82). Para ser utilizado nas indústrias alimentícias, farmacêuticas ou de cosméticos, são necessários diversos processos de purificação, o que torna sua comercialização inviável e onerosa, sendo desta forma estocado em grandes volumes nas próprias unidades produtoras (83).

Logo, tornou-se necessário o desenvolvimento de processos que transformem o glicerol em produtos de maior valor agregado, promovendo sua integração em cadeias produtivas diversas e contribuindo para a sustentabilidade econômica e ambiental dos processos industriais (84). Nesse sentido, pesquisadores e indústrias têm buscado o desenvolvimento de rotas químicas e biológicas para transformar o glicerol em produtos, visando sua aplicação em diferentes processos industriais (85). Destaca-se a produção de 1,3- propanediol, um composto de grande relevância como intermediário na fabricação de poliésteres e poliuretanos (86,87,88,89). Além disso, diversos estudos investigaram o aproveitamento do glicerol como substrato para a síntese de uma ampla gama de bioprodutos, incluindo ácidos orgânicos como ácido propiônico, acético, succínico e butírico, além de compostos alcoólicos como etanol e butanol (90,91,92).

Entre as alternativas para o reaproveitamento do glicerol, a produção de biogás por meio da digestão anaeróbia destaca-se por oferecer diversas vantagens (93,94). Além de possibilitar a geração de bioenergia, esse processo apresenta baixo requerimento de nutrientes, menor consumo energético e a produção de lodo estabilizado, que pode ser utilizado como biofertilizante (95,96). Essas características tornam a digestão anaeróbia uma abordagem atrativa e sustentável para a valorização do glicerol residual (93).

Neste contexto, a fim de agregar valor a esse subproduto, diversos pesquisadores avaliaram a produção de biogás a partir do glicerol, tanto por meio da sua simples digestão (97,98,99,100), quanto a co-digestão com diferentes substratos orgânicos, tais como esterco suíno, lodo de esgoto, silagem de milho (101,102,103,104,105). Além disso, diversos estudos investigaram o potencial do glicerol como substrato para a produção de hidrogênio por meio da digestão anaeróbia; entretanto, a utilização do glicerol bruto geralmente requer pré-tratamentos para melhorar a eficiência do processo e minimizar possíveis inibições (106,107,108,109,38).

Esses estudos evidenciam o potencial do glicerol como um recurso valioso para a geração de bioenergia em sistemas anaeróbios. No entanto, diversos fatores podem influenciar significativamente o desempenho do processo de digestão e/ou co-digestão anaeróbia do glicerol. Os principais parâmetros incluem a sua composição química, a relação substrato-microrganismo (F/M), a taxa de carga orgânica aplicada (COVa), o tempo de detenção hidráulico (TDH) ou o tempo de ciclo de alimentação se foram unidades em batelada (93).

Logo, a otimização do processo de digestão anaeróbia torna-se essencial para maximizar o rendimento de biogás, além de permitir a investigação dos principais fatores que influenciam o desempenho do sistema. Paralelamente, é crucial implementar estratégias eficazes para mitigar os efeitos de inibição causados pelas impurezas presentes no glicerol bruto, especialmente devido ao acúmulo de intermediários, como ácidos graxos de cadeia longa (LCFA), e à presença de outros compostos potencialmente tóxicos que podem comprometer a estabilidade e eficiência do consórcio microbiano, principalmente na fase de hidrólise.

1.4. Tecnologias de purificação de biogás

A produção de biogás por meio da digestão anaeróbia é amplamente reconhecida como uma tecnologia consolidada e bem estabelecida, utilizada para a conversão de resíduos e efluentes em energia renovável, ao mesmo tempo contribuindo para a mitigação de impactos ambientais (110). O elevado potencial do biogás como fonte de energia renovável decorre principalmente da alta concentração de metano em sua composição (111).

De fato, a composição do biogás é influenciada, tanto pela natureza e características do substrato utilizado, quanto pelas condições e parâmetros do processo de produção, particularmente o pH e a COVa (112). Por exemplo, o biogás produzido pela digestão anaeróbia do melaço de soja em um reator UASB apresentou, em média, 80% de metano, 20% de dióxido de carbono e ausência de sulfeto de hidrogênio (41). Por outro lado, o biogás gerado pela co-digestão de glicerol e lodo proveniente do tratamento de esgoto municipal, em um reator anaeróbio em escala piloto, apresentou uma concentração de metano variando entre 56% e 66%, dependendo da COVa aplicada (113).

A presença de CO₂ no biogás diminui seu poder calorífico, reduzindo sua eficiência energética e restringindo sua aplicabilidade em determinadas condições (114). Além do CO₂, outros contaminantes presentes no biogás que limitam sua utilização incluem H₂S, NH₃, vapor de água, monóxido de carbono (CO), O₂, N₂ compostos orgânicos voláteis, compostos halogenados e siloxanos (8). Portanto, dependendo da aplicação final, é imprescindível a remoção desses contaminantes para maximizar o potencial do biogás, seja como fonte de energia renovável ou como substituto viável do gás natural. Portanto, torna-se imprescindível a implementação de processos de purificação do biogás para aumentar a concentração de CH₄, convertendo-o em biometano com maior poder calorífico para aplicações comerciais e industriais.

No Brasil, a comercialização do biometano oriundo de aterros sanitários e de estações de tratamento de esgoto, bem como da digestão de resíduos agroindustriais está regulamentada pelas Resoluções ANP n° 886, de 29 de setembro de 2022 e n° 906, de 18 de novembro de 2022, respectivamente. Essas resoluções definem os critérios para a composição do biometano, exigindo CH₄ superior a 90%, CO₂ abaixo de 3%, H₂S limitado a 10 mg·m⁻³, oxigênio (O₂) inferior a 0,8%, teor de siloxanos menor que 0,3 mgSi·m⁻³, compostos clorados abaixo de 5 mgCl·m⁻³ e compostos fluorados inferiores a 5 mgF·m⁻³ (115,116).

Atualmente, uma variedade de processos de purificação de biogás está comercialmente disponível, sendo sua seleção dependente dos contaminantes presentes e do uso final pretendido para o biogás (Tabela 3). Os tratamentos aplicados ao biogás fundamentam-se em premissas que visam ajustar seu poder calorífico, remover contaminantes que comprometem sua qualidade e a durabilidade dos componentes do sistema, além de purificá-lo e concentrá-lo a biometano, tornando-o adequado para inserção em redes de distribuição e transporte como substituto do gás natural (6).

Tabela 3. Resumo dos processos de purificação de biogás para remoção dos principais contaminantes.

Processo	Possui a capacidade de remoção					
	CO ₂	H ₂ S	H ₂ O	O ₂ e N ₂	Halogenados	Siloxanos
<i>Físico-químicos</i>						
Absorção em meio aquoso (<i>water scrubbing</i>)	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não
Absorção com solventes orgânicos (etileno glicol, selexol, sais higroscópicos)	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não
Absorção química usando aminas (mono, di ou tri-etanolaminas)	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não
Adsorção sob pressão (<i>Pressure swing adsorption</i>) usando zeólitas, peneira molecular, carvão ativado	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Separação por membranas	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
Separação criogênica	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Hidrogenação química (reação de Sabatier)	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
Precipitação química in-situ (FeCl ₃ , FeSO ₄)	Não	Sim	Não	Não	Não	Não
<i>Biológicos</i>						
Métodos quimioautotróficos	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
<i>In-situ</i> (Conversão via arqueas metanogênicas autóctones; microaeração e conversão via bactérias oxidantes de sulfeto)	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não
Fotossintético (consórcio microalgas-bactérias)	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim
Fermentação acetogênica (bioconversão de CO ₂ a etanol)	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
Biofiltração (Filtro biotrickling) via bactérias oxidantes de sulfeto, integrado com carvão ativado, em condições anóxicas.	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim
Métodos bioeletroquímicos (célula de eletrólise microbiana)	Sim	Não	Não	Não	Não	Não

Fonte: (6,7,8,120,121,119,114,122,123,124,125).

1.1.1. Processos físico-químicos

Entre os processos de remoção de CO_2 , destacam-se tecnologias físico-químicas já disponíveis comercialmente, que englobam métodos baseados em absorção, adsorção e separação por membranas. Já os processos de dessulfurização do biogás podem ser implementados, antes ou após a digestão anaeróbia (6). No primeiro caso, ou seja, antes da digestão, destacam-se os seguintes métodos: microaeração e a dosagem de sais de ferro, incluindo cloreto férrico (FeCl_3), cloreto ferroso (FeCl_2) e sulfato ferroso (FeSO_4) (6). Já no segundo caso, após a digestão, os tratamentos incluem tecnologias baseadas em adsorção, utilizando óxidos férricos ou carvão ativado, absorção com reagentes como água ou hidróxido de sódio (NaOH), e separação por membranas (117).

O processo de absorção em meio aquoso é o método mais comumente utilizado para a purificação de biogás. Esta tecnologia se baseia na separação de CO_2 e H_2S do biogás, explorando sua maior solubilidade em água em comparação ao CH_4 , pois de acordo com a Lei de Henry, a solubilidade do CO_2 e do H_2S em água a 25°C é cerca de 26 e 52 vezes maior do que a do metano, respectivamente, o que possibilita uma remoção eficiente desses contaminantes (118). Outros processos de absorção incluem a utilização de solventes orgânicos, como polietileno glicol (Selexol[®]) e o glicol dimetil éter (Genosorb[®]), e solventes químicos como soluções aquosas de aminas, soluções de sais higroscópicos ou soluções contendo ferro (119).

Os processos de adsorção são baseados no uso de materiais adsorventes como zeólitas, carvão ativado, biocarvão, gel de sílica, alumina para a remoção não somente de CO_2 e H_2S , mas também de NH_3 , N_2 e água (126). A remoção de H_2S por adsorção é realizada com o uso de óxidos metálicos ou hidróxidos, como Fe_2O_3 , ZnO e $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (127). Particularmente, o processo “*Pressure Swing Adsorption*” (PSA) se destaca por sua capacidade de selecionar o CO_2 devido ao tamanho menor das moléculas e sua maior afinidade com determinados adsorventes em comparação com o CH_4 (128). Isso permite a retenção seletiva do CO_2 por uma fase sólida, enquanto as moléculas de CH_4 passam pelos espaços intersticiais da unidade adsorvente (129).

A aplicação de processos de separação por membranas envolve a separação do CH_4 dos demais contaminantes por meio de difusão e o tratamento envolve a separação por alta pressão ou por absorção biogás-líquido (130). De modo geral, o processo emprega membranas semipermeáveis para a separação dos componentes do biogás, com base em seu tamanho

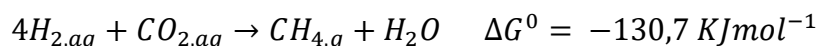
molecular efetivo (130). Os principais materiais empregados na fabricação das membranas são de natureza polimérica ou inorgânica, como a poliimida e o acetato de celulose (6).

Essas tecnologias físico-químicas demonstram uma eficiência de recuperação de metano superior a 96% (7). No entanto, embora esses processos sejam amplamente consolidados comercialmente e apresentem alta eficiência na remoção de contaminantes, eles possuem a desvantagem significativa de demandarem elevados custos energéticos, de implementação ou de operação, o que compromete a sustentabilidade do biogás (114). Neste contexto, as tecnologias biológicas se tornam uma alternativa de baixo custo e ambientalmente sustentável em relação aos métodos físico-químicos, devido ao seu menor consumo de produtos químicos e energia, resultando em uma pegada de CO₂ significativamente reduzida (120).

1.1.2. Processos biológicos

De modo geral, as tecnologias de purificação de biogás biológico podem ser geralmente classificadas em quimioautotróficas e fotossintéticas (7). Particularmente, os processos biológicos são baseados na bioconversão do CO₂ a produtos de alto valor agregado sob condições operacionais amenas (ou seja, pressão atmosférica e temperaturas moderadas), contribuindo de forma significativa para uma economia sustentável (128). Ao passo que o processo biológico de remoção de sulfeto é mediado por bactérias capazes de oxidar H₂S a sulfato e/ou enxofre elementar na presença de oxigênio ou nitrato como aceptores de elétrons (6). Além disso, muitas dessas tecnologias estão atualmente sendo otimizadas em escala piloto, e algumas delas, como o processo fotossintético, têm o potencial de realizar a remoção simultânea de CO₂ e H₂S (119).

Dentre os principais processos de remoção biológica de CO₂, destaca-se a metanização biológica ou purificação hidrogenotrófica, baseada na habilidade de arqueas metanogênicas hidrogenotróficas de converter CO₂ a CH₄ usando H₂ como doador de elétrons, conforme a seguinte equação (131):



Os principais sistemas de remoção de sulfeto incluem biofiltros, reatores preenchidos com materiais porosos de alta área superficial, que favorecem a fixação de microrganismos e a formação de biofilme, além da recirculação da fase aquosa contendo nutrientes essenciais para o crescimento microbiano (6). Além disso, a remoção de sulfeto pode ser realizada dentro do reator anaeróbio por meio da microaeração ou injeção direta de ar, para estimular o crescimento de bactérias que oxidam sulfeto em enxofre elementar (117).

1.1.3. Processos fotossintéticos

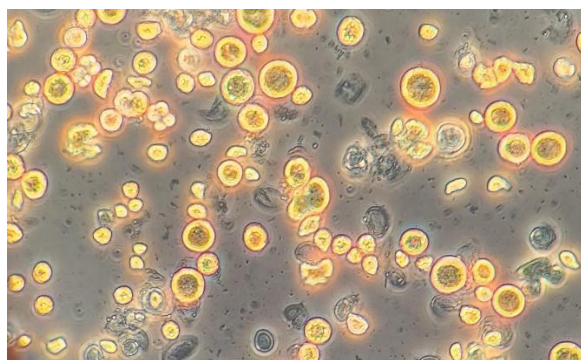
Dentre os processos biológicos de purificação de biogás, o processo fotossintético se destaca por ter o potencial de remover CO₂ e H₂S. Esta tecnologia se baseia na biofixação do CO₂ presente no biogás por microalgas eucarióticas e cianobactérias procarióticas, que utilizam a energia solar para gerar uma biomassa de microalgas de alto valor por meio da fotossíntese (132). Além de seu potencial na remoção de CO₂, as microalgas podem ser empregadas no tratamento de efluentes, contribuindo para a redução de poluentes e a recuperação de nutrientes (133). Adicionalmente, a oxidação concomitante de H₂S em sulfato ou enxofre elementar, mediada por bactérias oxidantes de sulfeto aeróbias, é promovida por meio da utilização do oxigênio fotossinteticamente produzido pelas microalgas (6).

De modo geral, as microalgas constituem um grupo de microrganismos autotróficos que realizam fotossíntese e apresentam a capacidade de se desenvolver em uma ampla variedade de ambientes, incluindo rios, mares, oceanos, áreas vulcânicas, solo e águas residuais (Figura 3 a e b) (134). Devido à sua capacidade de realizar fotossíntese, as microalgas desempenham um papel fundamental no ciclo global do carbono (135). Além disso, esses microrganismos têm sido amplamente empregadas em diversas aplicações, incluindo a produção de biocombustíveis, alimentos, rações e compostos bioativos (136).

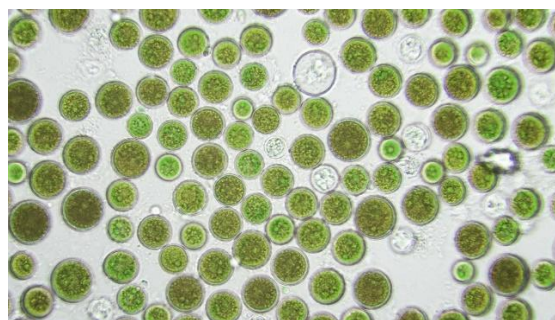
As cianobactérias são microrganismos procariontes que compartilham diversas características com as microalgas, sendo considerados como os seres vivos mais antigos do planeta (138). Esses microrganismos são conhecidos por sua capacidade de produzir compostos bioativos, incluindo vitaminas, proteínas e vários metabólitos secundários com propriedades antivirais, antibacterianas e antitumorais (139). Além disso, desempenham um papel crucial em processos ecológicos, como a fixação de nitrogênio, e são amplamente utilizadas em aplicações biotecnológicas, incluindo a produção de biocombustíveis e outros produtos químicos de alto valor agregado (140). Inclusive, *Arthrospira platensis* (Figura 3 c e d), comercialmente conhecida como Spirulina, é uma importante cianobactéria reconhecida pela Organização Mundial da Saúde como um dos principais superalimentos, devido ao seu elevado teor de proteínas e à presença de aminoácidos essenciais (141).

Diferentes espécies de microalgas e cianobactérias são consideradas adequadas para a purificação fotossintética do biogás, com destaque para os gêneros *Chlorella*, *Arthrospira*, e *Scenedesmus*, que estão entre as mais frequentemente relatadas na literatura (119). As microalgas do gênero *Chlorella* destacam-se pelo potencial de mitigação de CO₂, graças ao desempenho superior de crescimento e à elevada adaptabilidade a diversas condições

ambientais em comparação com microalgas de outros gêneros (142). Entre elas, a *Chlorella vulgaris* figura como uma das espécies mais estudadas e comercialmente produzidas, amplamente reconhecida por suas aplicações nas indústrias terapêutica, farmacêutica, cosmética, alimentícia, além de sua relevância na produção de biocombustíveis (143).



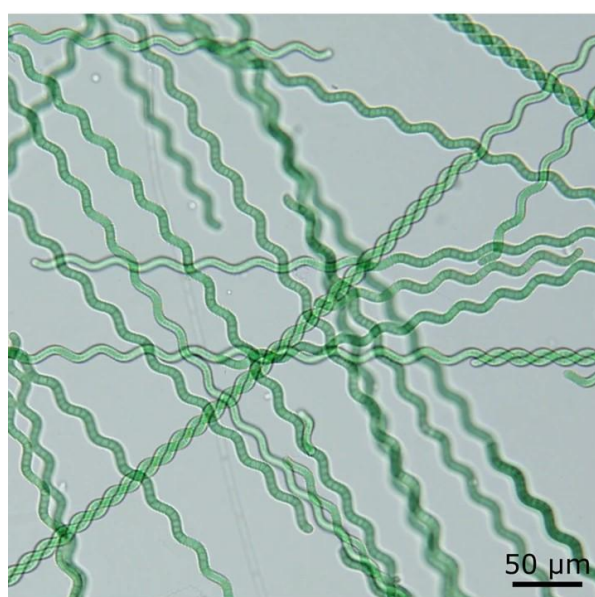
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 3. Microalgas vistas em microscópio: (a) *Coelastrella spp* (b) *Chlorella vulgaris*, (c) *Arthrospira platensis* e (d) *Arthrospira platensis* após separação do meio de cultivo.

Fonte: a, b e c elaborado pela autora, 2024; d adaptado de Nowicka-Krawczyk, et al. (137).

O cultivo de microalgas é tradicionalmente conduzido em sistemas abertos, divididos em águas naturais (lagos ou lagoas) ou tanques artificiais ou lagoas de alta taxa (HRAPs ou do tipo *raceway* (Figura 4 a), e em fotobioreatores (PBRs) fechados, sistemas tubulares verticais (Figura 4 b).

Diversos critérios devem ser considerados no projeto e operação de fotobiorreatores, incluindo ampla área de superfície, relação superfície-volume, fornecimento eficiente de luz, inclinação, sistema de mistura e controle de temperatura (144). No entanto, um fator crucial no design de fotobiorreatores é a superfície de exposição à luz por unidade de volume, visando maximizar o potencial fotossintético das microalgas (145). A seleção do fotobiorreator depende de sua capacidade de maximizar a produtividade e eficiência, considerando que cada tipo apresenta vantagens e desvantagens em relação ao potencial de utilização da luz, transferência eficaz de massa de O_2 e CO_2 , além de remoção de biomassa, limpeza e escalabilidade (146). As configurações mais comuns para a purificação do biogás incluem lagoas de alta taxa (HRAPs) e fotobiorreatores fechados, como colunas de bolhas e fotobiorreatores tubulares horizontais (119).

De maneira geral, o HRAP consiste em um tanque aberto com canais que possibilitam a recirculação do meio de cultivo, normalmente realizada por um motor com pás rotativas, além de apresenta elevada área superficial e pequena profundidade, o que favorece uma maior incidência de luz (147). Essa configuração é considerada uma das mais vantajosas para a produção de biomassa algal a baixo custo, devido aos menores requisitos de investimento de capital e custos operacionais, em comparação aos fotobiorreatores fechados (148). No entanto, os HRAPs apresentam baixas concentrações de biomassa e produtividade devido à sua eficiência fotossintética limitada, o que resulta na necessidade de áreas de implementação maiores (119).

Os HRAPs também são considerados sistemas promissores para o tratamento de efluentes com alta carga orgânica, efluentes industriais, esgoto doméstico e como uma alternativa de tratamento terciário para a remoção de nutrientes, como fósforo e nitrogênio (149). Uma das principais vantagens desse sistema é a capacidade de realizar o tratamento simultâneo de biogás e efluentes. Nesse sentido, o biogás pode ser inserido diretamente no fotobiorreator, onde é disperso, ou em uma coluna de absorção externa, na qual o meio de cultivo contendo CO_2 é recirculado para o fotobiorreator (119).

Especificamente, a configuração de HRAPs conectada a uma coluna de absorção externa permite o tratamento simultâneo de efluentes e biogás, promovendo o desenvolvimento de um consórcio simbiótico de microalgas e bactérias (oxidantes de enxofre, nitrificantes e heterotróficas) (150). Esse consórcio fixa o CO_2 do biogás, assimila nitrogênio e fósforo dos efluentes, e oxida H_2S e NH_4^+ de forma integrada e eficiente (150).

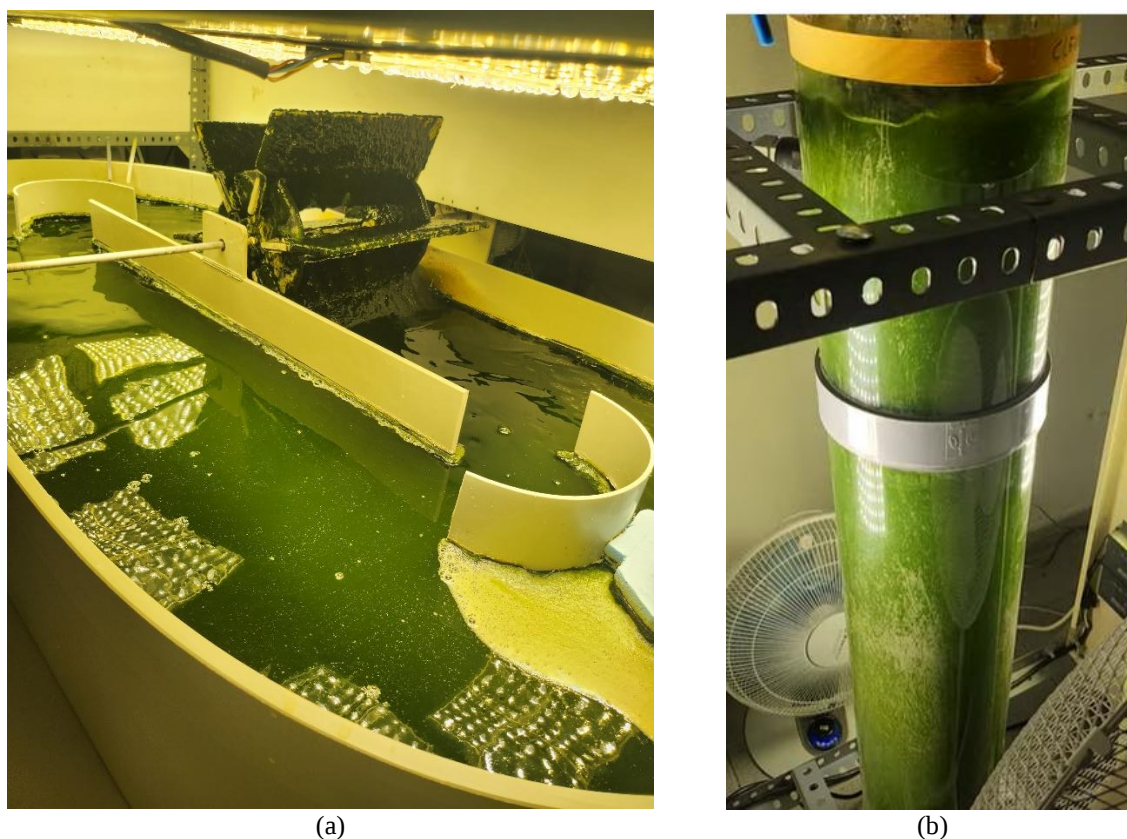


Figura 4. Fotobioreator do tipo (a) lagoa de alta taxa (HRAP) e (b) tubular vertical instalados no *Institute of Sustainable Process* da Universidad de Valladolid.

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Diversos estudos avaliaram o potencial do HRAPs no tratamento do biogás em escala de laboratório “*indoor*” (151,152,153), em escala piloto “*outdoor*” (154,155), em escala semi-industrial (156,155). De acordo com os esses estudos, esse processo sustentável, quando operando sob condições de alta alcalinidade, é capaz de produzir biometano com características que atendem à maioria das regulamentações internacionais, apresentando composição típica de $> 90\% \text{ CH}_4$, $2 - 4\% \text{ CO}_2$, $< 1\% \text{ O}_2$ e concentrações insignificantes de H_2S . Esse biometano pode ser injetado em redes de gás natural ou utilizado como combustível veicular.

Embora HRAPs tenham demonstrado eficiências de remoção de CO_2 de até 98% e 100% de H_2S , o processo ainda apresenta algumas limitações significativas. Uma das principais limitações desse sistema é o elevado custo associado ao cultivo de microalgas, decorrente da eficiência fotossintética limitada e do custo elevado da transferência de massa de CO_2 (6). Para alcançar uma eficiência satisfatória na transferência de massa gás-líquido de CO_2 ($> 90\%$), são necessários valores de pH superiores a 9 e alcalinidade acima de $1000 \text{ mg IC L}^{-1}$, o que demanda um consumo significativo de produtos químicos (6).

Neste contexto, diversos nanomateriais e nanopartículas (NPs) têm sido amplamente empregados para potencializar a captura de CO₂, ao mesmo tempo em que promovem o crescimento das microalgas, aumentam a produtividade da biomassa e favorecem a acumulação de produtos bioquímicos de alto valor agregado (157,158,159). Particularmente, a adição de nanopartículas metálicas às culturas de microalgas tem demonstrado resultados promissores na melhoria da biofixação de CO₂ (157,160,161).

Embora alguns estudos indiquem efeitos tóxicos dos NPs metálicos sobre as microalgas (162,163,164), também foram relatados benefícios significativos, como a melhoria na captura de CO₂, o aumento do acúmulo de lipídios para produção de biodiesel (165,166), aumento da produtividade (167) e na remoção de contaminantes em processos de biorremediação (159). Da mesma forma, a adição de nanopartículas de ferro revestido com carbono zero-valente demonstrou um aumento significativo no crescimento de ambas as culturas algal-bacterianas e de *Chlorella sorokiniana* (11,12) além de aprimorar o desempenho da purificação do biogás em um HRAP (168,169).

Conclusão da tese

Esta tese se concentrou na produção de biogás a partir da digestão anaeróbia de dois resíduos agroindustriais amplamente disponíveis no Brasil: o melaço de soja e o glicerol. Utilizando um reator batelada em escala piloto, foi possível investigar a viabilidade e a eficiência desses resíduos como fontes sustentáveis para a geração de biogás. Além disso, o processo de purificação do biogás gerado foi aprimorado por meio da ação fotossintética de microalgas, que contribuem para a remoção de contaminantes e melhoram a qualidade do gás. A combinação dessas tecnologias não só pode oferecer uma solução para a valorização de resíduos agroindustriais, mas também representou uma abordagem inovadora e ambientalmente responsável para o tratamento e a purificação do biogás, promovendo, de forma geral, uma produção de energia mais limpa e sustentável.

Logo, baseando-se nos objetivos inicialmente propostos, juntamente com resultados obtidos, as principais conclusões oriundas do presente trabalho incluem:

- No *capítulo três*, investigou-se a otimização da operação do biodigestor em escala piloto alimentado com glicerol bruto obtido do processamento de biodiesel a partir de óleo de cozinha usado. As condições otimizadas obtidas nos experimentos de Design de Experimentos indicaram uma relação glicerol: biomassa ideal de 2,0 gCOD gVS⁻¹ e um ciclo de tempo de 6 dias. No entanto, aplicar tais condições otimizadas no biodigestor piloto revelou-se desafiadora, especialmente devido à elevada variabilidade dos processos biológicos e às características intrínsecas do substrato utilizado. A maior produção específica e acumulada de biogás obtida durante a operação em escala piloto foi de 14,7 LCH₄ kgSV⁻¹ d⁻¹ e 1080 L, respectivamente, para um ciclo de tempo de 7 dias e uma relação glicerol: biomassa de 0,23 gDQO gSV⁻¹, equivalente a 0,15 L de glicerol por metro por dia. Portanto, com base nos resultados obtidos na operação do biodigestor em escala piloto, foi evidenciada a viabilidade do uso do glicerol bruto sem a necessidade de pré-tratamento ou suplementação de nutrientes, utilizando dosagens lentas e intermitentes (1 L a cada 7 dias).
- No *capítulo quatro*, o melaço de soja demonstrou ser um substrato adequado para a digestão anaeróbia voltada à produção de biogás em um estudo de ampliação de escala. Ao utilizar esse resíduo como única fonte orgânica, a maior produção específica e acumulada de biogás obtida durante a operação em escala piloto foi de 50,5 LCH₄ kgSV⁻¹ d⁻¹ e 3.600 L, respectivamente, para um ciclo de 8 dias e

uma alimentação de 5 litros de melaço de soja. Além disso, a análise do rRNA 16S revelou a presença de 22 OTUs (com 97% de identidade de sequência), distribuídos em 10 filos, 18 classes, 30 ordens, 39 famílias e 47 gêneros. Observou-se uma predominância de bactérias dos gêneros *Enterococcus* (17,4%), *Lachnoclostridium* (10,9%), *Eubacterium* (9,5%) e *Klebsiella* (6,9%), enquanto, no domínio *Archaea*, as classes mais abundantes foram *Methanosarcina* (33,5%) e *Methanoculleus* (28,1%). Dessa forma, a escalabilidade da produção de biogás a partir do melaço de soja em um sistema anaeróbio de semi alimentado demonstrou ser uma alternativa viável, sustentável e econômica para a utilização desse subproduto do processamento de proteína de soja.

- No *capítulo cinco*, as três frações de nanopartículas líquidas de ferro zero-valente revestidas com carbono – solução bruta (nanopartículas líquidas, R-NPs), nanopartículas sólidas (S-NPs) e o sobrenadante resultante após a separação das nanopartículas sólidas (SU-NPs) demonstraram efeitos positivos sobre o crescimento de *Arthrospira platensis* e *Chlorella vulgaris*, além de promoverem aumentos na produtividade celular e na biofixação de CO₂. De modo geral, a adição de 1 mL L⁻¹ de R-NPs resultou em melhorias de 21%, 22%, 33% e 46% na remoção de CO₂, rendimento de biomassa, produtividade e taxa de crescimento específico de *Arthrospira platensis*, respectivamente. Por outro lado, a adição de 100 mg L⁻¹ de S-NPs promoveu um aumento significativo no acúmulo de carboidratos da biomassa de *A. platensis*. De maneira similar, a adição de R-NPs resultou em um aumento significativo no teor de carboidratos, além de reduzir a fase de crescimento de *Chlorella vulgaris*. Os resultados obtidos indicam que compostos orgânicos carbonatados presentes na suspensão de NPs favoreceram o crescimento mixotrófico de *C. vulgaris*, enquanto a adição de S-NPs influenciou o metabolismo primário de *A. platensis*. Por fim, este estudo demonstrou que a adição de nanopartículas líquidas de ferro zero-valente revestidas com carbono, produzidas a partir de resíduos orgânicos, pode influenciar positivamente o metabolismo de microalgas e cianobactérias.
- No *capítulo seis*, avaliou-se a influência da adição de nanopartículas líquidas de ferro líquido zero-valente revestidas com carbono (L-NPs) na performance de um fotobioreator piloto de cultivo de um consórcio de microalgas e bactérias do tipo “open pond”. Especificamente, foram avaliados os impactos da suplementação contínua de L-NPs no processo de purificação do biogás sintético (simulando o

biogás gerado pela digestão anaeróbia) e no tratamento de digestato real. Nesse contexto, a adição das NPs, juntamente com o controle da concentração de biomassa no fotobioreator por meio da remoção constante de biomassa por centrifugação, resultou em uma maior produtividade do sistema, sem comprometer a atividade fotossintética das microalgas ou prejudicar o processo de purificação do biogás. Além disso, a presença de carbono orgânico solúvel nas L-NPs sugere que as condições mixotróficas estimularam o crescimento da cultura de microalgas. Por fim, embora tenha sido alcançada uma eficiência de remoção de CO₂ de 95,4% com uma relação L/G de 1,0, o biometano de melhor qualidade, em termos de concentração de CH₄ (94,9 % v/v) e menores níveis de O₂ (0,4 % v/v) e N₂ (2,6 %), foi obtido com uma relação L/G de 0,7.

Referências bibliográficas

- (1) BUAINAI, A. M. et al. **O mundo rural no Brasil do século 21**: a formação de um novo padrão agrário e agrícola. 1. ed. Brasília: Embrapa; 2014.1182p.
- (2) ZAIAT, M. et al. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: A developing technology. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.55, p. 29–35. 2001.
- (3) AHMAD, T. et al. Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. **Trends Food Science Technology**, v.88, p. 361–72. 2019
- (4) FREITAS, F.F. et al. The Brazilian market of distributed biogas generation: Overview, technological development and case study. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.101, p.146–57. 2019.
- (5) Centro Internacional de energias renováveis – Biogás. **Panorama do Biogás no Brasil em 2023**. Relatório Técnico nº 001/2024. Foz Do Iguaçu, CIBiogás, 2024. 22p.
- (6) KUNZ, A. et al. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. 2.ed. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 2022. 211p.
- (7) ANGELIDAKI, I. et al. Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. **Biotechnology Advances**, v.36, p. 452–66. 2018.
- (8) MUÑOZ, R. et al. A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v.14, p. 727–59. 2015.
- (9) BOSE, A. et al. How to optimise photosynthetic biogas upgrading: a perspective on system design and microalgae selection. **Biotechnology Advances**, v.37. p. 107444. 2019
- (10) RODERO M.R. et al. Biogas Purification and Upgrading Technologies. Em: TABATABAEI, M.; GHANAVATI, H. (eds). **Biogas: Fundamentals, Process, and Operation**. v.6. Cham: Springer International Publishing, 2018, chap. 10, p. 239–76.

- (11) VARGAS-ESTRADA, L. et al. Influence of mesoporous iron based nanoparticles on *Chlorella sorokiniana* metabolism during photosynthetic biogas upgrading. **Fuel**, v.333. p.126362. 2023.
- (12) VARGAS-ESTRADA, L. et al. Elucidating the role of nanoparticles on photosynthetic biogas upgrading: Influence of biogas type, nanoparticle concentration and light source. **Algal Research**, v. 68, p.102899. 2022.
- (13) CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). **Panorama do Agro**. Panorama Do Agro: 2023. 2024. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/cna/panorama-do-agro>. Acesso em 12 nov. 2024.
- (14) CASTRO, N.; MACHADO, G.; ALMEIDA, F.; SILVA, A.F.; FACHINELLO, A. **PIB do agronegócio**. Piracicaba: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. 2024. 21p.
- (15) INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agropecuária**: Brasil. Produção Agropecuária 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria>. Acesso em 12 nov. 2024.
- (16) COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Soja. **Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos**, v. 7, n. 4, p. 20-21, dez. 2024.
- (17) AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2024**. Dados de Desempenho Da Indústria de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis e Do Sistema de Abastecimento Nacionais No Período 2014-2023 2024:4. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/anuario-estatistico-brasileiro-do-petroleo-gas-natural-e-biocombustiveis-2024#Secao4>. Acesso em 10 nov. 2024.
- (18) ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Projeções para o ciclo 2024 da soja**. Disponível em: <https://AbioveOrgBr/Projecoes-Para-o-Ciclo-2024-Da-Soja-Seguem-Sem-Grandes-Alteracoes> . Acesso em 10 nov. 2024.

- (19) ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Cadeia da soja**. Levantamento Da Cadeia Da Soja 2024. Disponível em <https://abiove.org.br/estatisticas>. Acesso em 10 nov. 2024.
- (20) OLIVEIRA, M.D.M.; GHOBIL, C.N.; ANGELO, J.A. **Balança Comercial dos Agronegócios Paulista e Brasileiro**, janeiro a setembro de 2024. Disponível em: <http://www.iaa.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=16239>. Acesso em 12 nov. 2024.
- (21) SNYDER, H. E.; KWON, T. W. **Soybean utilization**. 1.ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1987.
- (22) WOERFEL, J. B. Extraction. Em: ERICKSON, D. R. (ed). **Practical handbook of soybean processing and utilization**. Urbana: AOCS Press, 1995. Chap. 6, p. 65–92.
- (23) ERICKSON, D. R. Degumming and Lecithin Processing and Utilization. Em: ERICKSON, D. R. (ed). **Practical handbook of soybean processing and utilization**. Urbana: AOCS Press, 1995. Chap. 10, p. 174–183.
- (24) WITTE, N.H. Soybean Meal Processing and Utilization. Em: ERICKSON, D. R. (ed). **Practical handbook of soybean processing and utilization**. Urbana: AOCS Press, 1995. Chap.7, p. 93–116.
- (25) LOMAN, A. Al; JU, L. K. Soybean carbohydrate as fermentation feedstock for production of biofuels and value-added chemicals. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 8, p. 1046–1057, 2016.
- (26) GAONKAR, V.; ROSENTRATER, K.A. Soybean. Em: PAN, Z.; ZHANG, R; ZICARI, S (eds). **Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products**. Elsevier Inc, 2019. Chap. 4, p. 73–104.
- (27) YANG, S. T.; YU, M. Integrated biorefinery for sustainable production of fuels, chemicals, and polymers. Em: YANG, S. T.; EL ENSHASY, H.; THONGCHUL, N. (ed.). **Bioprocessing technologies in biorefinery for sustainable production of fuels, chemicals and polymers**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2013. Chap. 1, p. 1-26.

- (28) SIQUEIRA, P. F. **Production of bio-ethanol from soybean molasse by *Saccharomyces cerevisiae***. 2007. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007
- (29) SIQUEIRA, P. F. et al. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at laboratory, pilot and industrial scales. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8156–8163, 2008.
- (30) SEQUINEL R. **Caracterização físico-química da glicerina proveniente de usinas de biodiesel e determinação de metanol residual por CG com amostragem por Headspace estático**. 2013. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.
- (31) RAMOS, L.P. et al. Tecnologias de produção de biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v.3, p.385–405. 2011.
- (32) BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Mistura de 14% de Biodiesel No Diesel Começa a Valer Nesta Sexta-Feira**. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/noticias/mistura-de-14-de-biodiesel-no-diesel-comeca-a-valer-nesta-sexta-feira#:~:text=Em%20dezembro%20de%202023%2C%20o,1%C2%BA%20de%20mar%C3%A7o%20de%202025>. Acesso em 12 nov. 2024.
- (33) RODRIGUES, C.V. **Produção biotecnológica de hidrogênio a partir do glicerol, bioproduto da produção do biodiesel**. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.
- (34) MA, F.; HANNA, M.A. Biodiesel production: A review. **Bioresource Technology**, v.70, p.1–15. 1999.
- (35) ZHANG, Y et al. Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. **Bioresource Technology**, v.89, p.1–16. 2003.
- (36) KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. 2nd ed. Champaign: AOCS Press; 2005. p.501
- (37) MANDOLESI DE ARAÚJO, C.D. et al. Biodiesel production from used cooking oil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 445–52. 2013.

- (38) RODRIGUES, C.V. et al. Crude glycerol by transesterification process from used cooking oils: Characterization and potentialities on hydrogen bioproduction. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, p. 14641–51. 2016.
- (39) MOTA, C.J.A.; PESTANA, C.F.M. Co-products from biodiesel production. **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 416–25. 2011.
- (40) BIJARCHIYAN, M.; SAHEBI, H.; MIRZAMOHAMMADI, S. A sustainable biomass network design model for bioenergy production by anaerobic digestion technology: Using agricultural residues and livestock manure. **Energy, Sustainability and Society**, v.10, p. 19. 2020.
- (41) RODRIGUES, B.C.G.; et al. Soybean molasses as feedstock for sustainable generation of biomethane using high-rate anaerobic reactor. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, p. 105226. 2021.
- (42) SCHOPF, N.; ERBINO, P.; PUVOGEL, A. Alternative Fuels: Energetic Use of Liquid By-products from Sugar and Soy Processing. **Sugar Tech**, v. 16, p. 333–8. 2014.
- (43) ZHONG, Y.; ZHAO, Y. Chemical composition and functional properties of three soy processing by-products (soy hull, okara and molasses). **Quality Assurance and Safety of Crops and Foods**, v. 7, p. 651–60. 2015.
- (44) ACOSTA, S.B.P. et al. Valorization of Soybean Molasses as Fermentation Substrate for the Production of Microbial Exocellular β -Glucan. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, p. 2149–60. 2020.
- (45) HOSNY, M.; ROSAZZA, J.P.N. Novel isoflavone, cinnamic acid, and triterpenoid glycosides in soybean molasses. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 853–8. 1999.
- (46) GASPARETTO, J.C. et al. Development and validation of an HPLC-DAD method for analysis of the six major isoflavones in extracts from soybean processing. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p.1211–22. 2012.
- (47) MONTELONGO, J. L.; CHASSY, B. M.; MCCORD, J. D. Lactobacillus salivarius for Conversion into Lactic Acid of Soy Molasses. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 4, p. 863–866, 1993.

- (48) MIRANDA, L.C.R. et al. Acetic acid fermentation of soybean molasses and characterisation of the produced vinegar. **Food Technology & Biotechnology**, v. 58, p. 84–90. 2020.
- (49) YANG, H. et al. Propionic acid production from soy molasses by *Propionibacterium acidipropionici*: Fermentation kinetics and economic analysis. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 1–9. 2018.
- (50) CHENG, C. et al. Polymalic acid fermentation by *Aureobasidium pullulans* for malic acid production from soybean hull and soy molasses: Fermentation kinetics and economic analysis. **Bioresource Technology**, v. 223, p. 166–74. 2017.
- (51) SANCHETI, A.; THOMPSON, E.R.; JU, L.K. Factors influencing the enzymatic hydrolysis of soy molasses into fermentation feedstock. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 170, p. 110302. 2023.
- (52) SCHOENHOLZ, C.K. et al. Soy molasses as a feed ingredient for finishing cattle. **Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports**, v. 0, p. 89–92. 1999.
- (53) MILETIĆ A. et al. The soybean molasses in diets for dairy cows. **Mljekarstv**, v. 67, p. 217–25. 2017.
- (54) DO ESPÍRITO SANTO, C.M. et al. Soybean molasses as an organic carbon source in the farming of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a biofloc system. **Aquatic Research**, v. 48, p. 1827–35. 2017.
- (55) KROGDAHL, Å. et al. Feeding Atlantic salmon *Salmo salar* L. soybean products: Effects on disease resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa. **Aquaculture Nutrition**, v. 6, p. 77–84. 2000.
- (56) VAN CLEEF F. et al. In vitro digestibility and gas production of diets containing different levels of soybean molasses for feedlot sheep. **Journal of Animal Science**, v. 96, p. 63. 2018.
- (57) RODRIGUES, J.L. et al. Effects of elevated concentrations of soybean molasses on feedlot performance and meat quality of lambs. **Livestock Science**, v. 240, p.104155. 2020.

- (58) LETTI, L.A.J et al. Ethanol production from soybean molasses by *Zymomonas mobilis*. **Biomass Bioenergy**, v. 44, p. 80–6. 2012.
- (59) DA SILVA, F.B. et al. Production of ethanol from enzymatically hydrolyzed soybean molasses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 69, p; 61–8. 2012.
- (60) ROMÃO, B.B. et al. Ethanol production from hydrolyzed soybean molasses. **Energy and Fuels**, v. 26, p. 2310–6. 2012.
- (61) KARP, S.G. et al. Bioethanol from soybean molasses. Em: SOCCOL, C.; BRAR, S.; FAULDS, C.; RAMOS, L. (eds). **Green Energy and Technology**. Springer Cham 2016. p. 241–54.
- (62) RONČEVIĆ, Z. et al. Optimization of bioethanol production from soybean molasses using different strains of *Saccharomyces cerevisiae*. **Hemijska industrija**, v.73, p. 1–12. 2019.
- (63) DONG, J. **Butanol production from lignocellulosic biomass and agriculture residues by acetone-butanol-ethanol fermentation**. 2014. Dissertation (Doctor of Philosophy) - Ohio State University, Columbus, 2014.
- (64) QURESHI, N.; LOLAS, A.; BLASCHEK, H. P. Soy molasses as fermentation substrate for production of butanol using *Clostridium beijerinckii* BA101. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 26, p. 290–295, 2001.
- (65) FERNANDES, S. et al. Soybean molasses as a new and low-cost substrate for gluconic acid production by *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, v. 146, p. 241–9. 2024.
- (66) CALDEIRÃO, L. et al. Modeling and kinetic study of bio-ethanol production from soy protein concentrate by-product. **Food Science and Technology**, v. 36, p. 369–74. 2016.
- (67) SOLAIMAN, D.K.Y. et al. Production of sophorolipids by *Candida bombicola* grown on soy molasses as substrate. **Biotechnology Letters**, v. 26, p. 1241–5. 2004.
- (68) SOLAIMAN, D.K.Y. et al; Biosynthesis of medium-chain-length Poly(hydroxyalkanoates) from soy molasses. **Biotechnology Letters**, v. 28, p. 157–62. 2006.

- (69) FULL, T.D.; JUNG, D.O.; MADIGAN, M.T. Production of poly- β -hydroxyalkanoates from soy molasses oligosaccharides by new, rapidly growing *Bacillus* species. **Letters Applied Microbiology**, v. 43, p. 377–84. 2006.
- (70) PANILAITIS, B. et al. Biosynthesis of emulsan biopolymers from agro-based feedstocks. **Journal of Applied Microbiology** v. 102, p. 531–7. 2007.
- (71) SOUZA, E.F. et al. Production and characterization of *Gluconacetobacter xylinus* bacterial cellulose using cashew apple juice and soybean molasses. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 146, p. 285–9. 2020.
- (72) OLIVEIRA, J.M. DE; MICHELON, M.; BURKERT, C.A.V. Biotechnological potential of soybean molasses for the production of extracellular polymers by diazotrophic bacteria. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, p. 101609. 2020.
- (73) BATISTA, V.S.F. et al. Extraction, characterization and microencapsulation of isoflavones from soybean molasses. **Ciencia Rural**, v. 50, p. 1–7. 2020.
- (74) FU, Z. et al. Identification of Yeast Strain YA176 for Bio-Purification of Soy Molasses to Produce Raffinose Family Oligosaccharides and Optimization of Fermentation Conditions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 2024.
- (75) CITELLI, I. R. et al. Avaliação da geração de metano por diferentes inóculos utilizando glicerol e melaço de soja como substrato. Em: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2017, São Carlos. **Anais [...]** São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2017. p. 1503–1508.
- (76) MELLO, B. S. et al. Biological Degradation of Soybean Molasses by Modified Anaerobic–Aerobic Baffled Reactor. **BioEnergy Research**, v. 16, n. 1, p. 673–682, 2023.
- (77) PAULINETTI, A. P. et al. Thermophilic and mesophilic anaerobic digestion of soybean molasses: A performance vs. stability trade-off. **Journal of Environmental Management**, v. 370, 2024.

- (78) PAULINETTI, A. P. et al. Treatment of soybean processing residues for energy recovery and environmental compliance: Technical and economic feasibility. **Energy**, v. 279, 2023.
- (79) AUGUSTO, I. M. G. et al. H₂ production via dark fermentation of soybean molasses: Elucidating the role of homoacetogenesis and endogenous substrate microorganisms by kinetic and microbial analysis. **Energy**, v. 298, p. 131301, 1 2024.
- (80) BRASIL. Resolução nº 3, de 20 de março de 2023. **Diário Oficial da União**. Brasília: DOU, 2023. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/despacho-do-presidente-da-republica-473383252>. Acesso em 19 nov. 2024.
- (81) SARMA, S. J. et al. Hydrogen production from meat processing and restaurant waste derived crude glycerol by anaerobic fermentation and utilization of the spent broth. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 88, n. 12, p. 2264–2271, 2013.
- (82) KUMAR, L. R. et al. A review on variation in crude glycerol composition, biovalorization of crude and purified glycerol as carbon source for lipid production. **Bioresource Technology**, v. 293, p. 122155, 2019.
- (83) SANTIBÁÑEZ, C.; VARNERO, M. T.; BUSTAMANTE, M. Residual glycerol from biodiesel Manufacturing, waste or potential source of Bioenergy: A review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 71, n. 3, p. 469–475, 2011.
- (84) ARDI, M. S.; AROUA, M. K.; HASHIM, N. A. Progress, prospect and challenges in glycerol purification process: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 1164–1173, 2015.
- (85) MONTEIRO, M. R. et al. Glycerol from biodiesel production: Technological paths for sustainability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 88, p. 109–122, 2018.

- (86) WISCHRAL, D. et al. Production of 1,3-propanediol by *Clostridium beijerinckii* DSM 791 from crude glycerol and corn steep liquor: Process optimization and metabolic engineering. **Bioresource Technology**, v. 212, p. 100–110, 2016.
- (87) VIVEK, N.; PANDEY, A.; BINOD, P. Biological valorization of pure and crude glycerol into 1,3-propanediol using a novel isolate *Lactobacillus brevis* N1E9.3.3. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 222–230, 2016.
- (88) VIVEK, N. et al. Self-cycling fermentation for 1,3-propanediol production: Comparative evaluation of metabolite flux in cell recycling, simple batch and continuous processes using *Lactobacillus brevis* N1E9.3.3 strain. **Journal of Biotechnology**, v. 259, p. 110–119, 2017.
- (89) FOKUM, E. et al. Co-fermentation of glycerol and sugars by *Clostridium beijerinckii*: Enhancing the biosynthesis of 1,3-propanediol. **Food Bioscience**, v. 41, p. 101028, 2021.
- (90) ALMEIDA, E. L.; OLIVO, J. E.; ANDRADE, C. M. G. Production of Biofuels from Glycerol from the Biodiesel Production Process—A Brief Review. **Fermentation**, v. 9, n. 10, p. 869, 2023.
- (91) CHILAKAMARRY, C. R. et al. Glycerol waste to value added products and its potential applications. **Systems Microbiology and Biomanufacturing**, v. 1, n. 4, p. 378–396, 2021.
- (92) MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A. D.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: Novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 639–648, 2009.
- (93) VIANA, M. B. et al. Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. **Environmental Technology Reviews**, v. 1, n. 1, p. 81–92, 2012.

- (94) YAZDANI, S. S.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 3, p. 213–219, 2007.
- (95) MAO, C. et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540–555, 2015.
- (96) RODRIGUES, B. C. G. et al. Microbial Degradation in the Biogas Production of Value-Added Compounds. Em: INAMUDDIN; AHAMED, M.; PRASAD, R. (Eds.). **Recent Advances in Microbial Degradation**. Springer Nature, 2021. p. 47–90.
- (97) SILES LÓPEZ, J. Á. et al. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5609–5615, 2009.
- (98) HUTŇAN, M. et al. Long-term monodigestion of crude glycerol in a UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 88–96, 2013.
- (99) KOLESÁROVÁ, N. et al. Anaerobic treatment of biodiesel by-products in a pilot scale reactor. **Chemical Papers**, v. 65, n. 4, p. 447–453, 2011.
- (100) VIANA, M. B. et al. Biodegradability and methane production potential of glycerol generated by biodiesel industry. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 10, p. 2217–2222, 2012.
- (101) FERREIRA, J. S.; VOLSCHAN, I.; CAMMAROTA, M. C. Enhanced Biogas Production in Pilot Digesters Treating a Mixture of Sewage Sludge, Glycerol, and Food Waste. **Energy and Fuels**, v. 32, n. 6, p. 6839–6846, 2018.
- (102) JENSEN, P. D. et al. Anaerobic codigestion of sewage sludge and glycerol, focusing on process kinetics, microbial dynamics and sludge dewaterability. **Water Research**, v. 67, p. 355–366, 2014.

- (103) RIVERO, M.; SOLERA, R.; PEREZ, M. Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge with glycerol: Enhanced biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 6, p. 2481–2488, 2014.
- (104) NUCHDANG, S.; PHALAKORNKULE, C. Anaerobic digestion of glycerol and co-digestion of glycerol and pig manure. **Journal of Environmental Management**, v. 101, p. 164–172, 2012.
- (105) AGUILAR-AGUILAR, F. et al. Anaerobic co-digestion of raw glycerol and swine manure: microbial communities. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 13, n. 8, p. 7127–7138, 2023.
- (106) SARMA, S. J. et al. Microbial hydrogen production by bioconversion of crude glycerol: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 8, p. 6473–6490, 2012.
- (107) MIRZOYAN, S.; TRCHOUNIAN, A.; TRCHOUNIAN, K. Hydrogen production by *Escherichia coli* during anaerobic utilization of mixture of lactose and glycerol: Enhanced rate and yield, prolonged production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 18, p. 9272–9281, 2019.
- (108) RODRIGUES, C. V. et al. Biohydrogen production in an integrated biosystem using crude glycerol from waste cooking oils. **Renewable Energy**, v. 162, p. 701–711, 2020.
- (109) RODRIGUES, C. V. et al. Energy valorization of crude glycerol and sanitary sewage in hydrogen generation by biological processes. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 21, p. 11943–11953, 2020.
- (110) GRANGEIRO, L. C. et al. New trends in biogas production and utilization. Em: RAI, M.; INGLE, A. P. (Eds.). **Sustainable Bioenergy**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 199–223.
- (111) KOUGIAS, P. G.; ANGELIDAKI, I. Biogas and its opportunities — A review. **Frontiers in Environmental Science**, v. 12, n. June 2018, p. 1–22, 2018.

- (112) LI, Y.; CHEN, Y.; WU, J. Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. **Applied Energy**, v. 240, n. January, p. 120–137, 2019.
- (113) RAZAVIARANI, V. et al. Pilot scale anaerobic co-digestion of municipal wastewater sludge with biodiesel waste glycerin. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 206–212, 2013.
- (114) WU, L. et al. Upgrading biogas produced in anaerobic digestion: Biological removal and bioconversion of CO₂ in biogas. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 150, p. 111448, 2021.
- (115) AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Resolução ANP nº 906, de 18 de novembro de 2022**. Disponível em: <<https://atosoficiais.com.br/anp/resolucao-n-906-2022-dispoe-sobre-as-especificacoes-do-biometano-oriundo-de-produtos-e-residuos-organicos-agrossilvopastoris-e-comerciais-destinado-ao-uso-veicular-e-as-instalacoes-residenciais-e-comerciais-a-ser-comercializado-em-todo-o-territorio-nacional?origin=instituicao>>. Acesso em: 19 nov. 2024.
- (116) AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS **Resolução ANP nº 886, de 29 de setembro de 2022** . Disponível em: <<https://atosoficiais.com.br/anp/resolucao-n-906-2022-dispoe-sobre-as-especificacoes-do-biometano-oriundo-de-produtos-e-residuos-organicos-agrossilvopastoris-e-comerciais-destinado-ao-uso-veicular-e-as-instalacoes-residenciais-e-comerciais-a-ser-comercializado-em-todo-o-territorio-nacional?origin=instituicao>>. Acesso em: 19 nov. 2024.
- (117) BRAGANÇA, I. et al. Impurities in biogas: Analytical strategies, occurrence, effects and removal technologies. **Biomass and Bioenergy**, v. 143, p. 105878, 1 dez. 2020.
- (118) SANTOS-CLOTAS, E. et al. Efficient removal of siloxanes and volatile organic compounds from sewage biogas by an anoxic biotrickling filter supplemented with activated carbon. **Bioresource Technology**, v. 294, 1 dez. 2019.

- (119) RODERO, M. R. et al. Biogas Purification and Upgrading Technologies. Em: TABATABAEI, M.; GHANAVATI, H. (Eds.). **Biogas: Fundamentals, Process, and Operation**. [s.l.] Springer Nature, 2018. v. 6p. 239–276.
- (120) TOLEDO-CERVANTES, A. et al. A comparative analysis of biogas upgrading technologies: Photosynthetic vs physical/chemical processes. **Algal Research**, v. 25, p. 237–243, 1 jul. 2017.
- (121) BAUER, F. et al. Biogas upgrading - technology overview, comparison and perspectives for the future. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 7, n. 5, p. 499–511, set. 2013.
- (122) SUN, Q. et al. Selection of appropriate biogas upgrading technology-a review of biogas cleaning, upgrading and utilisation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 521–532, 6 nov. 2015.
- (123) GHIMIRE, A. et al. Chapter 11 - Technologies for removal of hydrogen sulfide (H_2S) from biogas. Em: ARYAL, N. et al. (Eds.). **Emerging Technologies and Biological Systems for Biogas Upgrading**. [s.l.] Academic Press, 2021. p. 295–320.
- (124) ZULKEFLI, N. N. et al. Overview of H_2S Removal Technologies from Biogas Production. **International Journal of Applied Engineering Research**, v. 11, n. 20, p. 10060–10066, 2016.
- (125) KOSCHEL, D.; COXAM, J.-Y.; MAJER, V. Enthalpy and Solubility Data of H_2S in Water at Conditions of Interest for Geological Sequestration. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 46, p. 1421–1430, 2007.
- (126) AHMED, S. F. et al. Biogas upgrading, economy and utilization: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 6, p. 4137–4164, 2021.
- (127) MAMUN, M. R. AL; TORII, S. Removal of Hydrogen Sulfide (H_2S) from Biogas Using Zero-Valent Iron. **Journal of Clean Energy Technologies**, v. 3, n. 6, p. 428–432, 2015.

- (128) KAPOOR, R. et al. Evaluation of biogas upgrading technologies and future perspectives: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 12, p. 11631–11661, 2019.
- (129) KHAN, M. U. et al. Current status of biogas upgrading for direct biomethane use: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 149, p. 111343, 2021.
- (130) GKOTSIS, P. et al. Biogas upgrading technologies – Recent advances in membrane-based processes. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 48, n. 10, p. 3965–3993, 2023.
- (131) ZABRANSKA, J.; POKORNA, D. Bioconversion of carbon dioxide to methane using hydrogen and hydrogenotrophic methanogens. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 3, p. 707–720, 2018.
- (132) ÁNGELES, R. et al. Potential of Microalgae for Wastewater Treatment and Its Valorization into Added Value Products. Em: GUPTA, S. K.; BUX, F. (Eds.). **Application of Microalgae in Wastewater Treatment**. 1. ed. Cham: Springer International Publishing, 2019. v. 2p. 281–315.
- (133) MAGALHÃES, I. B. et al. Advancements in high-rate algal pond technology for enhanced wastewater treatment and biomass production: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 66, 2024.
- (134) PATEL, A. et al. A perspective on biotechnological applications of thermophilic microalgae and cyanobacteria. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 424–434, 1 abr. 2019.
- (135) BOROWITZKA, M. A. Biology of Microalgae. Em: LEVINE, I. A.; FLEURENCE, J. (Eds.). **Microalgae in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 23–72.

- (136) SINGH, S.; KATE, B. N.; BANERJEE, U. C. Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae: An Overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 73–95, 2005.
- (137) NOWICKA-KRAWCZYK, P.; MÜHLSTEINOVÁ, R.; HAUER, T. Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria). **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019.
- (138) XUE, Y.; HE, Q. Cyanobacteria as cell factories to produce plant secondary metabolites. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 3, 2015.
- (139) NOREÑA-CARO, D.; BENTON, M. G. Cyanobacteria as photoautotrophic biofactories of high-value chemicals. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 28, p. 335–366, 2018.
- (140) SILI, C.; TORZILLO, G.; VONSHAK, A. *Arthrospira* (Spirulina). Em: WHITTON, B. A. (Ed.). **Ecology of Cyanobacteria II**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012. p. 677–705.
- (141) MORAIS JUNIOR, W. G. et al. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, 2020.
- (142) SAFI, C. et al. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265–278, 2014.
- (143) RU, I. T. K. et al. *Chlorella vulgaris* : a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. **Applied Phycology**, v. 1, n. 1, p. 2–11, 2020.
- (144) ABDUR RAZZAK, S. et al. Microalgae cultivation in photobioreactors: sustainable solutions for a greener future. **Green Chemical Engineering**, v. 5, n. 4, p. 418–439, 2024.
- (145) ACIÉN, F. G. et al. Photobioreactors for the production of microalgae. Em: GONZALEZ-FERNANDEZ, C.; MUÑOZ, R. (Eds.). **Microalgae-Based Biofuels and**

Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. p. 1–44.

- (146) HENRARD, A. S. A. **Produção e purificação de biogás utilizando microalga *Spirulina* sp. LEB-18.** 2013. Tese (Doutorado em Engenharia e ciência de alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Rio Grande, 2013.
- (147) YOUNG, P.; TAYLOR, M.; FALLOWFIELD, H. J. Mini-review: high rate algal ponds, flexible systems for sustainable wastewater treatment. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 6, p. 117, 2017.
- (148) ARASHIRO, L. T. et al. Life cycle assessment of high rate algal ponds for wastewater treatment and resource recovery. **Science of the Total Environment**, v. 622–623, p. 1118–1130, 2018.
- (149) TORRES-FRANCO, A. et al. Current advances in microalgae-based treatment of high-strength wastewaters: challenges and opportunities to enhance wastewater treatment performance. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 20, n. 1, p. 209–235, 2021.
- (150) CANTERA, S. et al. Impact of the algal-bacterial community structure, physio-types and biological and environmental interactions on the performance of a high rate algal pond treating biogas and wastewater. **Fuel**, v. 302, 2021.
- (151) FRANCO-MORGADO, M. et al. A study of photosynthetic biogas upgrading based on a high rate algal pond under alkaline conditions: Influence of the illumination regime. **Science of the Total Environment**, v. 592, p. 419–425, 2017.
- (152) RODERO, M. DEL R. et al. Long-term influence of high alkalinity on the performance of photosynthetic biogas upgrading. **Fuel**, v. 281, 2020.
- (153) POSADAS, E. et al. Minimization of biomethane oxygen concentration during biogas upgrading in algal-bacterial photobioreactors. **Algal Research**, v. 12, p. 221–229, 2015.

- (154) TORO-HUERTAS, E. I. et al. Photorespiration in an outdoor alkaline open-photobioreactor used for biogas upgrading. **Science of the Total Environment**, v. 667, p. 613–621, 2019.
- (155) MARÍN, D. et al. Influence of liquid-to-biogas ratio and alkalinity on the biogas upgrading performance in a demo scale algal-bacterial photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 112–117, 2019.
- (156) RODERO, M. DEL R. et al. Technology validation of photosynthetic biogas upgrading in a semi-industrial scale algal-bacterial photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 279, p. 43–49, 2019.
- (157) VARGAS-ESTRADA, L. et al. Role of nanoparticles on microalgal cultivation: A review. **Fuel**, v. 280, 2020.
- (158) VAZ, B. DA S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. DE. Innovative nanofiber technology to improve carbon dioxide biofixation in microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 592–598, 2019.
- (159) KUMAR, P. et al. Nano-enabled microalgae bioremediation: Advances in sustainable pollutant removal and value-addition. **Environmental Research**, v. 263, p. 120011, 2024.
- (160) DA SILVA VAZ, B.; ALBERTO VIEIRA COSTA, J.; GREQUE DE MORAIS, M. Physical and biological fixation of CO₂ with polymeric nanofibers in outdoor cultivations of *Chlorella fusca* LEB 111. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 1332–1339, 2020.
- (161) VAZ, B. DA S. et al. Green alga cultivation with nanofibers as physical adsorbents of carbon dioxide: Evaluation of gas biofixation and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 287, 2019.

- (162) LAU, Z. L. et al. A review on the diverse interactions between microalgae and nanomaterials: Growth variation, photosynthetic performance and toxicity. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 127048, 2022.
- (163) SENDRA, M. et al. Direct and indirect effects of silver nanoparticles on freshwater and marine microalgae (*Chlamydomonas reinhardtii* and *Phaeodactylum tricornutum*). **Chemosphere**, v. 179, p. 279–289, 2017.
- (164) THENARASU, A. et al. Effect of Titanium, Silver and Zinc Nanoparticles on Microalgae in the Aquatic Environment. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 10, n. 4, p. 767–772, 2022.
- (165) FARIED, M. et al. Biostimulation of green microalgae *Chlorella sorokiniana* using nanoparticles of MgO, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, and ZnO for increasing biodiesel production. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 2023.
- (166) RANA, M. S.; BHUSHAN, S.; PRAJAPATI, S. K. New insights on improved growth and biogas production potential of *Chlorella pyrenoidosa* through intermittent iron oxide nanoparticle supplementation. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.
- (167) PÁDROVÁ, K. et al. Trace concentrations of iron nanoparticles cause overproduction of biomass and lipids during cultivation of cyanobacteria and microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 4, p. 1443–1451, 2015.
- (168) VARGAS-ESTRADA, L. et al. Boosting photosynthetic biogas upgrading via carbon-coated zero-valent iron nanoparticle addition: A pilot proof of concept study. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 31, 2023.
- (169) HOYOS, E. G. et al. Influence of carbon-coated zero-valent iron-based nanoparticle concentration on continuous photosynthetic biogas upgrading. **Fuel**, v. 356, 2024.
- (170) GALLI, F.; PATIENCE, N. A.; BOFFITO, D. C. High-temperature conversion of fats: Cracking, gasification, esterification, and transesterification. Em: SARANGI, P. K.;

NANDA, S.; MOHANTY, P. (Eds.). **Recent Advancements in Biofuels and Bioenergy Utilization**. Singapore: Springer Singapore, 2018. p. 225–505.

- (171) OIL WORLD. **Latest Statistics on Major Commodities**. Disponível em: <https://www.oilworld.biz/t/statistics/commodities>. Acesso em 23 out. 2023.
- (172) MANSIR, N. et al. Effective biodiesel synthesis from waste cooking oil and biomass residue solid green catalyst. **Chemical Engineering Journal**, v. 347, p. 137–144, 2018.
- (173) AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2023**. Disponível em <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/anuario-estatistico-2023>. Acesso em 20 nov. 2024.
- (174) QUISPE, C. A. G.; CORONADO, C. J. R.; CARVALHO, J. A. Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 475–493, 2013.
- (175) HU, S. et al. Characterization of crude glycerol from biodiesel plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5915–5921, 2012.
- (176) BORGES, A. DO V. et al. Co-digesting sugarcane vinasse and distilled glycerol to enhance bioenergy generation in biofuel-producing plants. **Energy Conversion and Management**, v. 250, n. August, p. 1081–1099, 2021.
- (177) ALMEIDA, P. DE S. et al. Thermophilic anaerobic co-digestion of glycerol and cheese whey – Effect of increasing organic loading rate. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 165, p. 895–907, 2022.
- (178) JENSANI, M. K. N. et al. Anaerobic co-digestion of food waste with crude glycerol for biogas production. **Chemical Engineering Transactions**, v. 83, p. 577–582, 2021.

- (179) MA, J. et al. Improvement of the anaerobic treatment of potato processing wastewater in a UASB reactor by co-digestion with glycerol. **Biotechnology Letters**, v. 30, n. 5, p. 861–867, 2008.
- (180) WANG, J.; WAN, W. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 1, p. 235–244, 2009.
- (181) MONTGOMERY, D. **Design and Analysis of Experiments**. 8th. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, 2017.
- (182) CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. 1. ed. [s.l.] Editora E-papers, 2003.
- (183) GHANBARI, M. et al. Modeling and optimization of compressive strength and bulk density of metakaolin-based geopolymer using central composite design: A numerical and experimental study. **Ceramics International**, v. 43, n. 1, p. 324–335, 2017.
- (184) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington, DC, USA.: American Public Health Association, Washington, DC, USA., 2005.
- (185) VALDEZ, H. D. C. et al. Determinação de glicerol livre e total em amostras de biodiesel por método enzimático com detecção colorimétrica. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 601–607, 2012.
- (186) BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução de trabalho. **Determinação de Sabões em Óleos Vegetais**, 2012. Disponível em:
<https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=643062246>. Acesso em: 14 ago. 2022.

- (187) RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos**. [s.l.] Casa do Pão Editora, 2005.
- (188) AQUINO, S. F. et al. Methodologies for determining the specific methanogenic activity (SMA) in anaerobic sludges. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007.
- (189) RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406–411, 1986.
- (190) DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile Acids By Direct Titration. **Water Pollution Control Federation**, v. 33, n. 4, p. 356–365, 1961.
- (191) ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and Validation of Two Methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 05, n. 07, p. 406–414, 2014.
- 9192) VILLA MONTOYA, A. C. et al. Hydrogen, alcohols and volatile fatty acids from the co-digestion of coffee waste (coffee pulp, husk, and processing wastewater) by applying autochthonous microorganisms. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 39, p. 21434–21450, 2019.
- (193) ZOU, S. et al. Application of experimental design techniques in the optimization of the ultrasonic pretreatment time and enhancement of methane production in anaerobic co-digestion. **Applied Energy**, v. 179, p. 191–202, 2016.
- (194) FERREIRA, J. DOS S.; CAMMAROTA, M. C.; VOLSCHAN, I. Optimization of Methane Production Based on Mixture Content of Sewage Sludge, Food Waste, and Glycerol. **Journal of Energy and Power Engineering**, v. 11, n. 9, 2017.

- (195) VIKROMVARASIRI, N. et al. Enhancing methane recovery by intermittent substrate feeding and microbial community response in anaerobic digestion of glycerol. **Renewable Energy**, v. 204, p. 106–113, 2023.
- (196) BABA, Y. et al. Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel manufacturing using a large-scale pilot plant: Methane production and application of digested sludge as fertilizer. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 342–348, 2013.
- (197) CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4044–4064, 2008.
- (198) ANDRIAMANOHIAISOAMANANA, F. J. et al. Farm-scale thermophilic co-digestion of dairy manure with a biodiesel byproduct in cold regions. **Energy Conversion and Management**, v. 128, p. 273–280, 2016.
- (199) DOS SANTOS FERREIRA, J.; VOLSCHAN, I.; CAMMAROTA, M. C. Co-digestion of sewage sludge with crude or pretreated glycerol to increase biogas production. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 22, p. 21811–21821, 2018.
- (200) MARAGKAKI, A. E. et al. Pilot-scale anaerobic co-digestion of sewage sludge with agro-industrial by-products for increased biogas production of existing digesters at wastewater treatment plants. **Waste Management**, v. 59, p. 362–370, 2017.
- (201) RIZZO, G.; BARONI, L. Soy, Soy Foods and Their Role in Vegetarian Diets. **Nutrients**, v. 10, n. 1, p. 43, 2018.
- (202) QIN, P.; WANG, T.; LUO, Y. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 7, 2022.
- (203) SELLA, S. R. B. R. et al. Soybean molasses-based bioindicator system for monitoring sterilization process: Designing and performance evaluation. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 18, n. 1, p. 75–87, 2013.

- (204) ELHUSSINY, N. I. et al. Aspergillus flavus biomass catalytic lipid modification: optimization of cultivation conditions. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2023.
- (205) DONG, J. et al. Butanol production from soybean hull and soy molasses by acetone-butanol-ethanol fermentation. **ACS Symposium Series**, v. 1178, p. 25–41, 2014.
- (206) RAKITA, S. et al. Soybean molasses in animal nutrition. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 1–15, 2021.
- (207) ARRUDA, M. C. G. et al. Soybean molasses to replace corn for feedlot lambs on growth performance, carcass characteristics, and meat quality. **Translational Animal Science**, v. 5, n. 1, p. 1–15, 2021.
- (208) PEREIRA-JUNIOR, S. A. G. et al. The replacement of corn by soybean molasses improves ruminal environment of feedlot sheep. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. Supplement_3, p. 396–396, 5 2019.
- (209) SHOEMAKER, D. P.; GARLAND, C. W.; STEINFELD, J. I. **Experiments in physical chemistry**. 9. ed. New York: McGraw-Hill, 2018.
- (210) SOUZA, J. P. et al. Fermentation of Sugarcane Biomass Hemicellulosic Hydrolysate by Yeast-Producer of Xylitol and Ethanol Isolated from the Atlantic Forest and the Brazilian Amazon Forest. **Waste and Biomass Valorization**, 2024.
- (211) MELLO, B. S. et al. Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel production for biogas generation: Process optimization and pilot scale operation. **Environmental Research**, v. 244, 2024.
- (212) MELLO, B. S. DE et al. Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel production for biogas generation: Process optimization and pilot scale operation. **Environmental Research**, v. 244, p. 117938, 2024.

- (213) MELLO, B. S.; RODRIGUES, B. C. G.; SARTI, A. Comparative performance of high-rate anaerobic reactors for biodegradation of soybean molasses. **Environmental Technology and Innovation**, v. 24, p. 101937, 2021.
- (214) ELMI, A.; AL-KHALDY, A.; ALOLAYAN, M. Sewage sludge land application: Balancing act between agronomic benefits and environmental concerns. **Journal of Cleaner Production**, v. 250, p. 119512, 2020.
- (215) BALMANT, W. et al. Optimal operating conditions for maximum biogas production in anaerobic bioreactors. **Applied Thermal Engineering**, v. 62, n. 1, p. 197–206, 2014.
- (216) UGWOKÉ, D. U.; EKPE, E. O. Fixed-Dome Biodigester Construction and Determination of Effects of Temperature on the Performance. **Global Journal of Science Frontier Research**, v. 10, n. 2, p. 33–40, 2010.
- (217) TAVARES, S. G. et al. Influência das Variações Térmicas e Climáticas na Produção de Biogás. **Nativa**, v. 4, n. 5, p. 287–295, 2016.
- (218) ARIDI, R.; YEHYA, A. Anaerobic biodigesters heating sources: Analysis and recommendations. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 202, p. 114700, 2024.
- (219) RIBEIRO, A. R. et al. Evaluation of the effect of increasing the organic load in the thermophilic co-fermentation of sugarcane industry by-products on hydrogen, ethanol and lactic acid generation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 57, p. 549–561, 2024.
- (220) NAKASAKI, K. et al. Characterizing the microbial community involved in anaerobic digestion of lipid-rich wastewater to produce methane gas. **Anaerobe**, v. 61, 2020.
- (221) CHEN, S.; DONG, X. *Proteiniphilum acetatigenes* gen. nov., sp. nov., from a UASB reactor treating brewery wastewater. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 2257–2261, 2005.

- (222) XIN, X.; HONG, J.; LIU, Y. Insights into microbial community profiles associated with electric energy production in microbial fuel cells fed with food waste hydrolysate. **Science of the Total Environment**, v. 670, p. 50–58, 2019.
- (223) ITO, T. et al. Identification of a novel acetate-utilizing bacterium belonging to *Synergistes* group 4 in anaerobic digester sludge. **ISME Journal**, v. 5, n. 12, p. 1844–1856, 2011.
- (224) MUGNAI, G. et al. Dynamics of bacterial communities and substrate conversion during olive-mill waste dark fermentation: Prediction of the metabolic routes for hydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 319, 2021.
- (225) CHEN, L. et al. Effect of soybean molasses-adsorbents on in vitro ruminal fermentation characteristics, milk production performance in lactating dairy cows. **bioRxiv**, v. 100, p. 1–15, 2018.
- (226) LONG, C. C.; GIBBONS, W. R. Conversion of soy molasses, soy solubles, and dried soybean carbohydrates into ethanol. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 6, n. 1, p. 62–68, 2013.
- (227) SCHULTZ, E. B. et al. Soybean molasses: an alternative to sheep's supplementation. **Bull. Anim. Husb.**, v. 77, p. 1–8, 2020.
- (228) ESTEVAM, A. et al. Production of biohydrogen from brewery wastewater using *Klebsiella pneumoniae* isolated from the environment. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 9, p. 4276–4283, 2018.
- (229) CABROL, L. et al. Microbial ecology of fermentative hydrogen producing bioprocesses: useful insights for driving the ecosystem function. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 2, p. 158–181, 2017.
- (230) DEVENS, K. U. et al. Unlocking potential: Exploring the methane production potential in anaerobic co-digestion of cassava wastewater and glycerol. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 3, p. 113043, 2024.

- (231) ENZMANN, F. et al. Methanogens: biochemical background and biotechnological applications. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 1, 2018.
- (232) LINS, P.; REITSCHULER, C.; ILLMER, P. Methanosarcina spp., the key to relieve the start-up of a thermophilic anaerobic digestion suffering from high acetic acid loads. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 347–354, 2014.
- (233) KABEYI, M. J. B.; OLANREWAJU, O. A. Biogas Production and Applications in the Sustainable Energy Transition. **Journal of Energy**, v. 2022, p. 1–43, 2022.
- (234) VARGAS-ESTRADA, L.; DOMÍNGUEZ-ESPÍNDOLA, R. B.; SEBASTIAN, P. J. The Influence of Fe₂O₃ Nanoparticles on Chlorella spp. Growth and Biochemicals Accumulation. **Waste and Biomass Valorization**, v. 15, n. 6, p. 3281–3295, 2024.
- (235) RANA, M. S.; ARIYADASA, T. U.; PRAJAPATI, S. K. Effect of iron oxide nanoparticles on mixotrophic cultivation of *Chlorella* spp. for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 410, p. 131241, 2024.
- (236) SILVA, M. R. O. B. DA et al. Bioactive Compounds of *Arthrospira* spp. (Spirulina) with Potential Anticancer Activities: A Systematic Review. **ACS Chemical Biology**, v. 16, n. 11, p. 2057–2067, 2021.
- (237) MÉNDEZ, L.; MUÑOZ, R. Enhancing microalgae-based bioremediation technologies with carbon-coated zero valent iron nanoparticles. **Algal Research**, v. 79, 2024.
- (238) WANG, W. et al. Medium screening and optimization for photoautotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* with high lipid productivity indoors and outdoors. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 395–403, 2014.
- (239) RAOOF, B.; KAUSHIK, B. D.; PRASANNA, R. Formulation of a low-cost medium for mass production of Spirulina. **Biomass and Bioenergy**, v. 30, n. 6, p. 537–542, 2006.

- (240) ÁNGELES, R. et al. Influence of biogas supply regime on photosynthetic biogas upgrading performance in an enclosed algal-bacterial photobioreactor. **Algal Research**, v. 57, p. 102350, 2021.
- (241) MUNOZ, M. et al. Carbon-encapsulated iron nanoparticles as reusable adsorbents for micropollutants removal from water. **Separation and Purification Technology**, v. 257, 2021.
- (242) VARGAS-ESTRADA, L. et al. Elucidating the role of nanoparticles on photosynthetic biogas upgrading: Influence of biogas type, nanoparticle concentration and light source. **Algal Research**, v. 68, 2022.
- (243) MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLEAERT, K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. **Water Research**, v. 65, p. 186–202, 15 nov. 2014.
- (244) CHOI, W.; KIM, G.; LEE, K. Influence of the CO₂ absorbent monoethanolamine on growth and carbon fixation by the green alga *Scenedesmus* sp. **Bioresource Technology**, v. 120, p. 295–299, 2012.
- (245) SFORZA, E. et al. Adjusted Light and Dark Cycles Can Optimize Photosynthetic Efficiency in Algae Growing in Photobioreactors. **PLOS ONE**, v. 7, n. 6, p. e38975-, 2012.
- (246) VONSHAKL, A.; TORZILLO, G.; TOMASELI, L. Use of chlorophyll fluorescence to estimate the effect of photoinhibition in outdoor cultures of *Spirulina platensis* t. **Journal of Applied Phycology**, v. 6, p. 31, 1994.
- (247) COGNE, G.; GROS, J. B.; DUSSAP, C. G. Identification of a Metabolic Network Structure Representative of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* Metabolism. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 84, n. 6, p. 667–676, 2003.
- (248) COSTA, J. A. V. et al. Microalgal biorefinery from CO₂ and the effects under the Blue Economy. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 99, p. 58–65, 2019.

- (249) ZHAN, J.; RONG, J.; WANG, Q. Mixotrophic cultivation, a preferable microalgae cultivation mode for biomass/bioenergy production, and bioremediation, advances and prospect. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 12, p. 8505–8517, 2017.
- (250) HEREDIA-ARROYO, T. et al. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* and its potential application for the oil accumulation from non-sugar materials. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 5, p. 2245–2253, 2011.
- (251) ABREU, A. P. et al. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 61–66, 2012.
- (252) SCHAGERL, M. et al. Estimating Biomass and Vitality of Microalgae for Monitoring Cultures: A Roadmap for Reliable Measurements. **Cells**, v. 11, n. 15, 1 ago. 2022.
- (253) PENHAUL SMITH, J. K. et al. Tailoring of the biochemical profiles of microalgae by employing mixotrophic cultivation. **Bioresource Technology Reports**, v. 9, 2020.
- (254) HOLM-NIELSEN, J. B.; AL SEADI, T.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p. 5478–5484, 2009.
- (255) SCARLAT, N.; DALLEMAND, J.-F.; FAHL, F. Biogas: Developments and perspectives in Europe. **Renewable Energy**, v. 129, p. 457–472, 2018.
- (256) VELASCO, A. et al. Organic Leachate and Biogas Utilization in Outdoor Microalgae Cultivation Under Alkaline Conditions at Pilot-Scale. **Waste and Biomass Valorization**, v. 15, n. 7, p. 4265–4277, 2024.
- (257) MÉNDEZ, L. et al. Photosynthetic upgrading of biogas from anaerobic digestion of mixed sludge in an outdoors algal-bacterial photobioreactor at pilot scale. **Journal of Water Process Engineering**, v. 48, 2022.

- (258) HOYOS, E. G. et al. Innovative design and operational strategies to improve CO₂ mass transfer during photosynthetic biogas upgrading. **Bioresource Technology**, v. 391, p. 129955, 2024.
- (259) MARÍN, D. et al. Seasonal variation of biogas upgrading coupled with digestate treatment in an outdoors pilot scale algal-bacterial photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 58–66, 2018.
- (260) JO, Y. et al. Assessing nitrous oxide emissions from algal-bacterial photobioreactors devoted to biogas upgrading and digestate treatment. **Chemosphere**, v. 361, 2024.
- (261) FRUTOS, O. D. et al. Continuous nitrous oxide abatement in a novel denitrifying off-gas bioscrubber. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 8, p. 3695–3706, 2015.
- (262) SEREJO, M. L. et al. Influence of biogas flow rate on biomass composition during the optimization of biogas upgrading in microalgal-bacterial processes. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 5, p. 3228–3236, 2015.
- (263) VESELÁ, V.; MALAVASI, V.; ŠKALoud, P. A synopsis of green-algal lichen symbionts with an emphasis on their free-living lifestyle. **Phycologia**, v. 63, n. 3, p. 317–338, 2024.
- (264) DARIENKO, T. et al. Chloroidium, a common terrestrial coccoid green alga previously assigned to Chlorella (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). **European Journal of Phycology**, v. 45, n. 1, p. 79–95, 2010.
- (265) FAWZY, M. A. et al. Bioremediation potential of microalgae for copper ion from wastewater and its impact on growth and biochemical contents: equilibrium isotherm studies. **Materials Research Express**, v. 11, n. 5, 2024.
- (266) MATOUKE, M. M.; MUSTAPHA, M. K. Antagonistic effects of binary mixture of titanium dioxide nanoparticles and lead on biomass and oxidative stress in exposed

Chloroidium Ellipsoideum (Gerneck). **Polish Journal of Natural Sciences**, v. 34, n. 3, p. 367–382, 2019.

- (267) RODERO, M. DEL R. et al. Influence of alkalinity and temperature on photosynthetic biogas upgrading efficiency in high rate algal ponds. **Algal Research**, v. 33, p. 284–290, 2018.
- (268) MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659–668, 2000.
- (269) GONZÁLEZ-CAMEJO, J. et al. Effect of light intensity, light duration and photoperiods in the performance of an outdoor photobioreactor for urban wastewater treatment. **Algal Research**, v. 40, 2019.
- (270) UDAYAN, A. et al. Mass cultivation and harvesting of microalgal biomass: Current trends and future perspectives. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126406, 2022.
- (271) ABO MARKEB, A. et al. The use of magnetic iron oxide based nanoparticles to improve microalgae harvesting in real wastewater. **Water Research**, v. 159, p. 490–500, 2019.
- (272) POSADAS, E. et al. Feasibility study of biogas upgrading coupled with nutrient removal from anaerobic effluents using microalgae-based processes. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 4, p. 2147–2157, 2016.
- (273) PIASECKA, A.; BAIER, A. Metabolic and Proteomic Analysis of *Chlorella sorokiniana*, *Chloroidium saccharofilum*, and *Chlorella vulgaris* Cells Cultured in Autotrophic, Photoheterotrophic, and Mixotrophic Cultivation Modes. **Molecules**, v. 27, n. 15, 2022.
- (274) AKIZUKI, S. et al. Application of nitrifying granular sludge for stable ammonium oxidation under intensive light. **Biochemical Engineering Journal**, v. 160, 2020.

- (275) PLOUVIEZ, M. et al. Nitrous oxide emissions from microalgae: potential pathways and significance. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 1–8, 2019.
- (276) PLOUVIEZ, M. et al. Nitrous oxide (N₂O) emissions during real domestic wastewater treatment in an outdoor pilot-scale high rate algae pond. **Algal Research**, v. 44, 2019.
- (277) ALCÁNTARA, C. et al. Nitrous oxide emissions from high rate algal ponds treating domestic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 177, p. 110–117, 2015.
- (278) TOLEDO-CERVANTES, A. et al. Influence of the gas-liquid flow configuration in the absorption column on photosynthetic biogas upgrading in algal-bacterial photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 225, p. 336–342, 2017.
- (279) TOLEDO-CERVANTES, A. et al. Photosynthetic biogas upgrading to bio-methane: Boosting nutrient recovery via biomass productivity control. **Algal Research**, v. 17, p. 46–52, 2016.
- (280) MARÍN, D. et al. Influence of the diffuser type and liquid-to-biogas ratio on biogas upgrading performance in an outdoor pilot scale high rate algal pond. **Fuel**, v. 275, 2020.

A jornada foi longa, desafiadora e nada fácil. Mas ao final, valeu a pena.