

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em Engenharia Ambiental

RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DA LARANJA
APLICADOS NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM
BIOSSISTEMAS INTEGRADOS

Bianca Calderan Tornisiello

Prof(a).Dr(a). Sandra Imaculada Maintinguer

Ana Gabriela Oliveira Ferreira Janas

Rio Claro (SP)
2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Câmpus de Rio Claro

BIANCA CALDERAN TORNISIELLO

RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DA LARANJA
APLICADOS NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM
BIOSSISTEMAS INTEGRADOS

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto
de Geociências e Ciências Exatas - Câmpus de
Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista
Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau
de Engenheiro Ambiental.

Rio Claro - SP

2026

T685r

Tornisiello, Bianca Calderan

Resíduos do processamento da laranja aplicados na produção de biogás em
biossistemas integrados / Bianca Calderan Tornisiello. -- Rio Claro, 2026
61 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Ambiental) -
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Geociências e Ciências
Exatas, Rio Claro

Orientadora: Sandra Imaculada Maintinguer

Coorientadora: Ana Gabriela Oliveira Ferreira Janas

1. Biogás. 2. Digestão anaeróbia. 3. Resíduo de citricultura. 4.
Sustentabilidade. I. Título.

BIANCA CALDERAN TORNISIELLO

RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DA LARANJA
APLICADOS NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM
BIOSSISTEMAS INTEGRADOS

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto
de Geociências e Ciências Exatas - Câmpus de
Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista
Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau
de Engenheiro Ambiental.

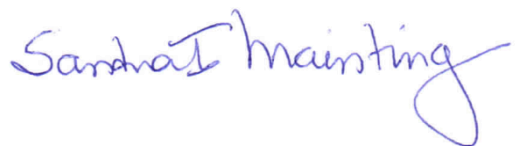
Comissão Examinadora

Sandra Imaculada Maintinguer

Marcus Cesar Avezum Alves de Castro

Vitor Alves Lourenço

Rio Claro, 23 de junho de 2026.



Assinatura do(a) aluno(a)

Assinatura do(a) orientador(a)

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de laranja, gerando grandes quantidades de resíduos agroindustriais compostos por cascas, sementes e polpa. Esses resíduos apresentam elevado potencial para a produção de biocombustíveis devido à sua alta concentração de matéria orgânica e carboidratos fermentáveis. Neste contexto, o presente trabalho avaliou a produção integrada de hidrogênio (H_2) e metano (CH_4) a partir de resíduos do processamento da laranja submetidos a diferentes condições de pré-tratamento alcalino. Os resultados demonstraram que o pré-tratamento exerceu influência significativa sobre a eficiência dos processos fermentativos. Na etapa acidogênica, a maior produção de hidrogênio foi obtida com a aplicação de 0,3% de NaOH em pH 6,5, atingindo $425,0 \text{ mL } H_2 \text{ L}^{-1}$, valor estatisticamente superior à maioria dos tratamentos avaliados, além de elevada remoção de carboidratos (92,51%). Os tratamentos submetidos a pH 11 também apresentaram elevados potenciais de produção de hidrogênio, alcançando até $385,7 \text{ mL } H_2 \text{ L}^{-1}$, porém com longos períodos de adaptação microbiana, evidenciados por tempos de latência superiores a 27 horas. Em contraste, os tratamentos conduzidos em pH 5,5 apresentaram produções intermediárias, variando entre 96,0 e $184,0 \text{ mL } H_2 \text{ L}^{-1}$. Na etapa metanogênica, os efluentes provenientes dos reatores acidogênicos foram convertidos em metano com elevadas eficiências de remoção de matéria orgânica. O melhor desempenho foi observado no tratamento contendo 0,3% de NaOH associado à adição de extrato de levedura e consórcio microbiano autóctone em pH 5,5, que apresentou produção acumulada de $1.087 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$, potencial máximo estimado de $1.012,3 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$ e remoções de DQO e carboidratos de 96,18% e 87,39%, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados para o tratamento sem pré-tratamento em pH 5,5, que alcançou $1.030 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$ e remoção de DQO de 96,07%, indicando elevada capacidade de conversão da matéria orgânica residual em metano. Por outro lado, a condição contendo 4% de NaOH em pH 6,5 apresentou o menor desempenho, com apenas $85 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$. Conclui-se que a digestão anaeróbia em duas etapas constitui uma alternativa promissora para a valorização energética de resíduos da citricultura.

Palavras-chave: Resíduo de citricultura, Digestão anaeróbia, Bioenergia, Biocombustível, Sustentabilidade.

ABSTRACT

Brazil is one of the world's largest orange producers, generating substantial amounts of agro-industrial residues composed of peels, seeds, and pulp. These residues present significant potential for biofuel production due to their high organic matter and fermentable carbohydrate contents. In this context, the present study evaluated the integrated production of hydrogen (H_2) and methane (CH_4) from orange processing residues subjected to different alkaline pretreatment conditions. The results demonstrated that pretreatment significantly influenced the efficiency of the fermentation processes. In the acidogenic stage, the highest hydrogen production was achieved with 0.3% NaOH at pH 6.5, reaching $425.0 \text{ mL } H_2 \text{ L}^{-1}$, a value significantly higher than most of the evaluated treatments, along with a high carbohydrate removal efficiency (92.51%). Treatments conducted at pH 11 also exhibited high hydrogen production potentials, reaching up to $385.7 \text{ mL } H_2 \text{ L}^{-1}$; however, they showed prolonged microbial adaptation periods, evidenced by lag phases exceeding 27 hours. In contrast, treatments performed at pH 5.5 resulted in intermediate hydrogen yields, ranging from 96.0 to $184.0 \text{ mL } H_2 \text{ L}^{-1}$. In the methanogenic stage, the effluents generated from the acidogenic reactors were successfully converted into methane with high organic matter removal efficiencies. The best performance was observed in the treatment containing 0.3% NaOH combined with yeast extract and an autochthonous microbial consortium at pH 5.5, which achieved cumulative methane production of $1,087 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$, a maximum methane production potential of $1,012.3 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$, and chemical oxygen demand (COD) and carbohydrate removals of 96.18% and 87.39%, respectively. Similar results were obtained for the untreated residue at pH 5.5, which produced $1,030 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$ and achieved a COD removal efficiency of 96.07%, indicating a high capacity for converting residual organic matter into methane. Conversely, the treatment containing 4% NaOH at pH 6.5 showed the poorest performance, producing only $85 \text{ mL } CH_4 \text{ L}^{-1}$. The findings demonstrate that two-stage anaerobic digestion is a promising strategy for the energy recovery of citrus processing residues.

Keywords: Citrus waste, Anaerobic digestion, Bioenergy, Biofuel, Sustainability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do material lignocelulósico	13
Figura 2: Efeito do pré-tratamento nos materiais lignocelulósicos	16
Figura 3: Fluxograma Experimental	20
Figura 4: Resíduo do processamento da laranja homogeneizado antes de ser congelado	21
Figura 5: Frascos com tampas na estufa para realização do pré-tratamento	24
Figura 6: Sistema de deslocamento de volume de biogás gerado durante operação dos reatores.....	26
Figura 7: Liberação de carboidratos nos reatores com pré-tratamento térmico e alcalino	29
Figura 8: Produção temporal de hidrogênio nos reatores operados com pH 5,5.....	31
Figura 9: Produção temporal de hidrogênio nos reatores operados com pH 6,5.....	32
Figura 10: Produção temporal de hidrogênio nos reatores operados a pH 11	33
Figura 11: Produção temporal de hidrogênio em todos os reatores	34
Figura 12: Remoção Carboidratos (em %) para tipos de pré-tratamento e pH.....	35
Figura 13: Concentrações de Ácido Acético no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5	40
Figura 14: Concentrações de Ácido Butírico no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5	40
Figura 15: Concentrações de Ácido Propiônico no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5	41
Figura 16: Concentrações de Etanol no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5.....	41
Figura 17: Concentrações de Ácido Acético no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5	42
Figura 18: Concentrações de Ácido Butírico no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5	43
Figura 19: Concentrações de Ácido Propiônico no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5	43
Figura 20: Concentrações de Ácido Acético no início e final da operação dos reatores operados a pH 11.....	44
Figura 21: Concentrações de Ácido Butírico no início e final da operação dos reatores operados a pH 11.....	45
Figura 22: Concentrações de Ácido Propiônico no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5	45
Figura 23: Produção temporal de Metano nos reatores alimentados com efluentes de reatores acidogênicos	47
Figura 24: Remoção de DQO e carboidratos (em %) nos reatores metanogênicos..	48
Figura 25: Perspectiva de Reuso Energético (PRE) dos reatores de Hidrogênio e Metano em KJ/Mol	51
Figura 26: Perspectiva de Reuso Energético (PRE) dos reatores de Hidrogênio e Metano em kWh.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição do esgoto doméstico sintético	22
Tabela 2: Composição do Meio PYG.....	23
Tabela 3: Composição do meio Del Nery	23
Tabela 4: Parâmetros, métodos e referências utilizadas.....	25
Tabela 5: Caracterização do Substrato.....	28
Tabela 6: Caracterização do Inóculo	28
Tabela 7: Teste de ANOVA e Tukey para a produção máxima de hidrogênio (mL H ₂ /L)	35
Tabela 8: Teste de ANOVA e Tukey para a remoção de carboidratos (%).....	36
Tabela 9: Parâmetros obtidos pelo ajuste da equação de Gompertz modificada	37
Tabela 10: Parâmetros obtidos pelo ajuste da equação de Gompertz modificada nos reatores metanogênicos alimentados com efluentes dos reatores acidogênicos	48
Tabela 11: Teste de ANOVA e Tukey para as remoções de Carboidratos, DQO e produção acumulada de Metano.....	49
Tabela 12: Cálculo do T80 para os reatores acidogênicos	50
Tabela 13: Cálculo do T80 para os reatores metanogênicos.....	51

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	9
2) OBJETIVOS	11
2.1) Geral	11
2.2) Específicos	11
3) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1) Resíduo do processamento da laranja.....	12
3.2) Resíduos lignocelulósicos	12
3.3) Digestão anaeróbia	13
3.4) Lodo granular.....	15
3.5) Biogás	15
3.6) Pré-tratamentos	16
3.6.1) Pré-tratamento térmico	17
3.6.2) Pré-tratamento ácido.....	18
3.6.3) Pré-tratamento alcalino	18
4) MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1) Substratos.....	22
4.2) Inóculo	22
4.3) Caracterização do substrato e inóculo	24
4.4) Pré-tratamento térmico com adição de hidróxido de sódio (NaOH)	24
4.5) Operação dos reatores	24
4.6) Métodos analíticos	25
4.7) Modelagem e estatística dos dados experimentais obtidos	26
4.8) Teste de ANOVA e Tukey	27
4.9) Cálculo de T80.....	27
4.10) Cálculo de Perspectiva de Reuso Energético (PRE)	27
5) RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1) Caracterização do inóculo e do substrato	28
5.2) Liberação de carboidratos com o pré-tratamento	29
5.3) Reatores acidogênicos geradores de hidrogênio.....	30
5.4) Produções de ácidos graxos voláteis e álcoois nos reatores acidogênicos ..	38
5.4.1) Ácidos orgânicos voláteis gerados nos reatores operados a pH 5,5	38
5.4.2) Ácidos orgânicos voláteis gerados nos reatores operados a pH 6,5	42
5.4.3) Ácidos orgânicos voláteis gerados nos reatores operados a pH 11	44
5.5) Reatores metanogênicos.....	46
5.6) T80 e Perspectiva de Reuso Energético	50
6) CONCLUSÕES	53
7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1) INTRODUÇÃO

A agroindústria no Brasil é um setor vital para a economia, caracterizado pela diversidade de produção, exportação significativa, uso de tecnologias modernas e desafios relacionados à sustentabilidade. Dentre as principais culturas como o algodão, soja, milho, mandioca, destaca-se, também, a produção de laranja, atingindo 20 milhões de toneladas em 2024 (IBGE, 2024). O Brasil, a China, os Estados Unidos e alguns países da Europa se enquadram como os principais produtores de laranja em escala mundial (YARA BRASIL, 2020).

Considerando-se a produção brasileira de laranja, mais de 85% da produção é utilizada pela indústria, principalmente para a produção de sucos. Após a extração do suco, cerca de 40 a 50% da fruta é descartada na forma de bagaço, casca e sementes (AGRIANUAL, 2016; NEVES et al., 2010). Isso significa que, aproximadamente, 7.650.000 toneladas de laranja se tornaram resíduo no ano de 2024.

A maior parte dos resíduos da produção de laranja são descartados em aterros sanitários, não excluindo seus impactos ao solo, ar, água e também, têm sido incorporados à ração animal, com uso limitado devido aos custos de transporte (FAZZINO et al., 2021; RICCI et al., 2019; ZEMA, 2017).

Os resíduos da produção de laranja, mais especificamente o bagaço, contém polímeros de carboidratos solúveis e insolúveis, o que o torna ideal para aplicação da digestão anaeróbia (DA) e produção de biogás. Além disso, o biogás produzido através dos resíduos da laranja podem ser produzidos e consumos no local em que o resíduo é gerado, assim, os custos com os transportes serão zerados e o digestato poderia ser utilizado como biofertilizante na própria plantação da fruta, fechando a economia circular.

A decomposição microbiana desses materiais tem início imediato assim que são expostos às condições ambientais (PEREIRA NETO et al., 2007). Tratam-se de resíduos fermentescíveis biodegradáveis com grande volume de produção, que os tornam um problema ambiental com descarte indevido. Sendo assim, podem causar graves danos como a liberação de gases poluentes, proliferação de vetores patogênicos, emissão de maus odores e a produção de chorume altamente contaminante (FAZZINO et al., 2021).

Contudo, segundo Lins et al. (2022), o uso do biogás como fonte energética está em desenvolvimento no mundo como um todo e apresenta vantagens como conservação de energia, redução da emissão de gases de efeito estufa que contribuem para o aquecimento global, além de questões sociais. Dessa forma, a utilização do biogás auxilia a atingir os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, entre eles o ODS 07 (Energia limpa e Acessível), o ODS 12 (Consumo e produção responsáveis) e o ODS 13 (Ação contra a mudança global do clima).

Em busca por soluções sustentáveis aos resíduos do processamento da laranja, surge a opção promissora da biorrefinaria por digestão anaeróbia e produção de biocombustível pela ação microbiológica. De acordo com Gao et al. (2019), os resíduos orgânicos facilmente degradáveis como os da agroindústria, principalmente do processamento de frutas, podem ser utilizados na digestão anaeróbia para produção de biogás.

Entretanto, a aplicação da DA de resíduos da produção da laranja pode enfrentar desafios. A composição rica em celulose e lignina, presentes nas cascas e bagaço, pode dificultar a liberação dos açúcares (carboidratos solúveis) e, consequentemente, a sua degradação.

De acordo com Mussnang et al. (2010) e Ras et al. (2011), pré-tratamento ácidos ou alcalinos, aplicados em diferentes biomassas, têm sido eficazes na ruptura de parede celular rígida como a lignina, que é extremamente resistente ao ataque enzimático bacteriano. Além disso, a hidrólise alcalina solubiliza os resíduos e eleva a sua porosidade, disponibilizando a ação de exoenzimas (LEITÃO et al. 2013).

Sendo assim, a estratégia de aplicar pré-tratamentos anteriormente a DA é de extrema relevância neste contexto, podendo tornar as etapas da DA mais eficazes e obter um balanço energético positivo em comparação aos resíduos brutos (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009).

Nesse sentido, o presente estudo testou o pré-tratamento alcalino nos resíduos da laranja para obter elevadas gerações de carboidratos com consequente geração de biocombustíveis gasosos como hidrogênio e metano em etapas integradas.

2) OBJETIVOS

2.1) Geral

Avaliar a geração de hidrogênio e metano a partir de resíduos do processamento da laranja submetidos a pré-tratamento térmico e alcalino, em biossistema integrado, co-digeridos em esgoto sanitário sintético e lodo granular anaeróbio.

2.2) Específicos

- Aplicar pré-tratamento alcalino à 100°C, com a adição de diferentes concentrações de Hidróxido de Sódio (NaOH), ao resíduo do processamento da laranja;
- Verificar a eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e consumo de carboidratos, nos reatores anaeróbios;
- Avaliar o efeito de diferentes valores de pH sobre o desempenho dos reatores anaeróbios na produção de hidrogênio e metano.
- Analisar a geração de biogás (hidrogênio e metano) nos reatores anaeróbios e comparar a geração entre as diferentes condições aplicadas durante o processo.

3) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1) Resíduo do processamento da laranja

A laranja é uma das frutas mais processadas e consumidas no mundo, o Brasil, por sua vez, é o maior produtor de laranjas do mundo, contribuindo fortemente para o Produto Interno Bruto (PIB) do país. Elevado percentual da produção nacional de laranja é destinado à indústria de processamento, especialmente para a produção de suco (RISSATO et al., 2021).

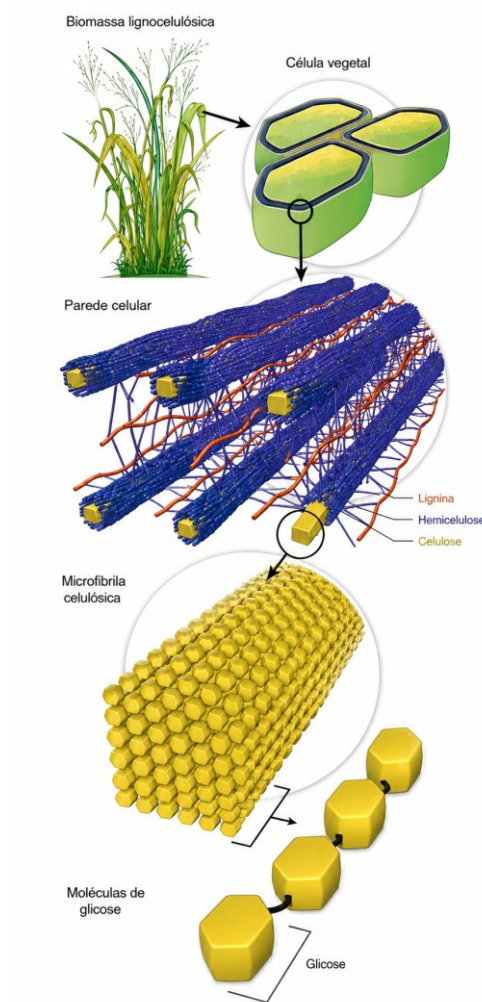
O processamento de frutas consiste em uma importante atividade econômica para o país, no entanto, a maior parte da matéria prima é transformada em resíduo. O resíduo do processamento da laranja gera cerca de 40 a 50% do total da fruta em resíduos (AGRIANUAL, 2016; NEVES et al., 2010). Por apresentar elevada carga orgânica, quando esses resíduos são descartados de forma inadequada, podem ocasionar impactos ambientais significativos.

No caso da laranja, resíduos como casca, semente e bagaço apresentam alta concentração de matéria orgânica e compostos lignocelulósicos, que quando não tratados, podem gerar passivos ambientais, sendo frequentemente destinados a aterros sanitários ou descartados de forma inadequada (DE CARVALHO JÚNIOR; MAINTINGER, 2022).

3.2) Resíduos lignocelulósicos

Os resíduos do processamento da laranja são ricos em lignina, celulose e hemicelulose, responsáveis por uma parede lignocelulósica complexa e recalcitrante. Essa estrutura dificulta o acesso aos polissacarídeos, limitando a eficiência dos processos fermentativos (Figura 1) (SUN; CHENG, 2002). Por esse motivo, podem ser aplicados pré-tratamentos na biomassa para melhorar a digestão anaeróbia e consequentemente, a geração de hidrogênio e metano (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009).

Figura 1: Estrutura do material lignocelulósico



Fonte: KONDO (1997).

3.3) Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo biológico, em que na ausência de oxigênio, a matéria orgânica é convertida em biogás por meio de diferentes etapas metabólicas, incluindo hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (TCHOBANOGLOUS et al., 1993).

Na hidrólise, etapa inicial da digestão anaeróbia, polímeros complexos são quebrados em moléculas menores e solúveis, permitindo sua assimilação pelos microrganismos fermentativos. Nesse processo, lipídios são convertidos em ácidos graxos, proteínas em aminoácidos e polissacarídeos em açúcares menores (AMANI et al., 2010). Em sistemas anaeróbios, a hidrólise ocorre de forma lenta e pode ser

considerada uma etapa limitante para o processo. Sua eficiência é influenciada por diversos fatores, como temperatura, tempo de retenção, composição do substrato, pH do meio, tamanho das partículas e concentração dos produtos gerados.

Na etapa de acidogênese, os produtos solúveis gerados na hidrólise são metabolizados pelos microrganismos e convertidos em compostos mais simples que serão liberados para o meio reacional, como ácidos graxos, álcoois, ácido láctico, dióxido de carbono, hidrogênio, amônia e sulfato de hidrogênio (VON SPERLING; CHERNICHARO, 2005).

Em seguida na fase de acetogênese, esses compostos são oxidados e transformados em moléculas mais simples, como acetato, hidrogênio e dióxido de carbono, que constituem os principais substratos utilizados pelas arqueias metanogênicas (VON SPERLING; CHERNICHARO, 2005).

Por fim, na metanogênese, os compostos orgânicos (acetato, gás carbônico e hidrogênio) são transformados em metano por ação das arqueias metanogênicas, sendo mais conhecidas as arqueias pertencentes aos gêneros *Methanosaeta* e *Methanosarcina*. As arqueias acetoclásticas, predominam nesse processo e utilizam o ácido acético como substrato para a produção de metano, são responsáveis por pelo menos 60% da produção de metano e, por isso, são consideradas as mais versáteis dentre os microrganismos metanogênicos. Ademais, arqueias hidrogenotróficas também atuam no processo, convertendo hidrogênio em metano (MAINTINGUER et al., 2008).

Uma alternativa para a redução de resíduos orgânicos agroindustriais consiste na aplicação em processos biológicos anaeróbios, visando à produção de biogás em sistemas integrados de duas etapas. Na primeira etapa os resíduos orgânicos são fermentados em reatores acidogênicos para a produção de hidrogênio, ácidos graxos voláteis e álcoois. Em seguida, na segunda etapa, o efluente desses reatores é direcionado para reatores metanogênicos em que ocorre o consumo da maior parte de matéria orgânica e a produção de metano (LIU et al., 2006; COONEY et al., 2007).

3.4) Lodo granular

Durante o processo de digestão anaeróbia, a escolha do inóculo e a quantidade a ser usada são fatores essenciais para garantir a eficiência nos consumos de substrato e gerações de biogás. Um inóculo bem adaptado favorece o funcionamento dos reatores, minimiza possíveis inibições e contribui para a estabilidade do processo (CREMONEZ et al., 2021).

O lodo granular anaeróbio proveniente de reatores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket – reator anaeróbio de manta de lodo de fluxo ascendente) apresenta grande eficiência na aplicação em tratamento de efluentes e resíduos. Após o processo de formação do grânulo, as bactérias hidrolíticas e acidófilas colonizam as camadas externas. Por sua vez, as arqueias metanogênicas se limitam à parte central dos grânulos, os quais possuem cavidades com função de canal de transporte de gases, substratos e metabólitos (LIM; KIM, 2014).

3.5) Biogás

O biogás é uma importante fonte de energia alternativa, resultado do processo de decomposição anaeróbia de materiais orgânicos na ausência de oxigênio. É composto em sua maior parte de metano (CH_4), podendo ser utilizado para geração de calor, eletricidade e como combustível (FERRAZ et al., 1980). Além disso, o biogás é gerado por fenômenos naturais em pântanos, oceanos e água doce e em atividades antropogênicas como plantações de arroz alagadas, sistemas de tratamento de efluentes e em aterros sanitários (CASSINI, 2003).

O volume total produzido de biogás está relacionado a fatores como pH, temperatura, composição do substrato e características do inóculo, por isso, condições inadequadas podem levar à inibição do processo (CHEN et al., 2008).

Ademais, diversas condições podem influenciar a composição do biogás, como o tipo de reator, a atividade metanogênica da biomassa, o tempo de residência celular, a presença de substâncias inibidoras e/ou limitantes do processo, bem como a presença de substâncias tóxicas às bactérias. Outrossim, parâmetros operacionais do reator como vazão, carga, tempo de detenção hidráulica (TDH), e a velocidade do fluxo também influenciam no desempenho do sistema (CHERNICHARO, 1997).

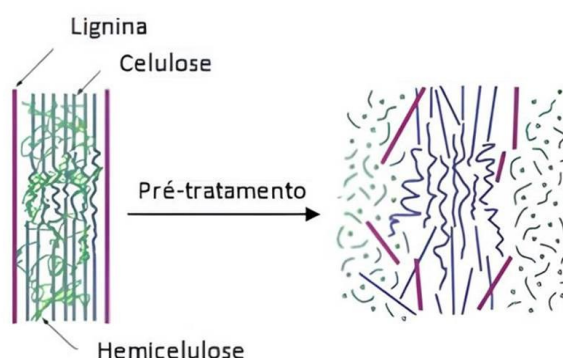
Para aumentar a eficiência da produção de biogás pode-se utilizar a codigestão anaeróbia, aliando a utilização de resíduos orgânicos, especialmente aqueles de maior biodegradabilidade, com a finalidade de diluí-lo e amenizar o efeito nocivo de seus contaminantes (MATA-ALVAREZ et al., 2014). Nesse contexto, o esgoto sanitário se destaca como um resíduo promissor, por atuar como diluente e conter nutrientes essenciais nos processos biológicos de geração de biogás como a glicose.

3.6) Pré-tratamentos

As interações complexas entre hemicelulose e celulose que se apresentam nas paredes celulares dos resíduos de origem vegetal e a interação entre os polissacarídeos e ligninas impedem a liberação de carboidratos presentes. A associação entre esses componentes dificulta o acesso de microrganismos aos polissacarídeos, limitando a eficiência dos processos de geração de biogás (HIMMEL et al., 2007; SUN; CHENG, 2002).

Nesse contexto, a aplicação de pré-tratamentos torna-se uma etapa fundamental para a produção de hidrogênio e metano, uma vez que possibilitam a separação da matriz de lignina, reduzem a cristalinidade da celulose, solubilizam a hemicelulose, fazendo a separação entre o hidrolisado e a celulose, aumentando a disponibilidade dos substratos para hidrólises biológicas e químicas (SARKAR et. al., 2012) (Figura 2).

Figura 2: Efeito do pré-tratamento nos materiais lignocelulósicos



Fonte: BALAT (2010)

Assim, a eficiência do pré-tratamento está associada à sua capacidade de reduzir o grau de polimerização das moléculas de celulose, de forma a torná-las mais

acessíveis ao processo de hidrólise. Ademais, esses processos contribuem para a aceleração da digestão anaeróbia e para o aumento da produção de biogás hidrogênio e metano, além de favorecer a operação dos reatores reduzindo problemas como flotação de material no interior do biodigestor e, conseqüentemente, ocasionando menores custos com eletricidade para equipamentos de misturas dos reatores (MONTGOMERY; BOCHMANN, 2014).

Vários pré-tratamentos têm sido aplicados em resíduos lignocelulósicos tais como os físicos que podem ser de forma mecânica ou por irradiação; Químicos: ácidos, alcalinos, oxidativos e solventes orgânicos; Físico-químicos: explosão de vapor, extrusão e hidrotérmico; Biológico: microbiológico e enzimático. Apesar da quantidade variada de métodos, o pré-tratamento a ser aplicado deve levar em consideração as características do resíduo, dependendo de sua estrutura lignocelulósica (ACHINAS et al., 2017).

Portanto, pré-tratamentos térmicos com adições de diferentes bases ou ácidos podem ser aplicados com sucesso em resíduos vegetais, apresentando elevada eficiência na liberação de carboidratos. Esses processos promovem a solubilização parcial ou total da lignina, favorecendo sua degradação, conforme descrito a seguir

3.6.1) Pré-tratamento térmico

Pré-tratamentos térmicos aplicados tanto em diferentes tipos de biomassas como em microalgas têm sido eficazes na promoção da ruptura da parede celular rígida, principalmente, de celulose, hemicelulose e biopolímeros, moléculas que são extremamente resistentes ao ataque enzimático bacteriano (MUSSGNUNG et al. 2010; RAS et al. 2011).

Etapas de pré-tratamentos aplicados em biomassa lignocelulósica tem se mostrado eficaz para aumentar a eficiência da digestão anaeróbia, gerando um balanço energético positivo quando comparado ao uso da biomassa bruta (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). O pré-tratamento térmico tem como vantagem não utilizar reagentes tóxicos, porém, sua eficiência pode aumentar quando associado à adição de ácidos ou bases (CARRERE et al., 2010).

3.6.2) Pré-tratamento ácido

O pré-tratamento ácido no material lignocelulósico é responsável por modificar a sua estrutura para melhorar a hidrólise enzimática sendo que a eficiência desse processo depende de fatores como a concentração do ácido, a temperatura e a razão entre sólido e líquido (BEHERA et al., 2014). Dentre os ácidos que são utilizados com maior frequência podemos citar os ácidos acético, fosfórico, sulfúrico e clorídrico (ASGHER et al., 2013; AGUILAR et al., 2002).

Os ácidos apresentam vantagens quando comparados a processos alcalinos por apresentarem elevada eficiência na conversão da hemicelulose em carboidratos, maior taxa de hidrólise da celulose, além do custo financeiro mais reduzido. No entanto, os processos acabam gerando subprodutos indesejáveis como componentes fenólicos e furfurais (MOSIER et al., 2005; PEREIRA Jr et al., 2008; KUMAR, et al., 2009).

Para a realização do pré-tratamento podem ser usados tanto ácidos concentrados como os diluídos. Os ácidos concentrados se demonstram eficientes para hidrólise da biomassa, porém são tóxicos, corrosivos e perigosos, tornando necessário equipamentos próprios ao manuseio, os quais elevam muito o custo financeiro (KUMAR et al., 2009). Além disso, tais concentrações elevadas são prejudiciais à digestão anaeróbia, uma vez que arqueias metanogênicas responsáveis pela geração de metano são sensíveis às condições ambientais, principalmente alterações de pH (VON SPERLING; CHERNICARO, 2005).

3.6.3) Pré-tratamento alcalino

O pré-tratamento alcalino aplicado a resíduos lignocelulósicos tem se mostrado promissor pois promovem alterações estruturais que facilitam a hidrólise da biomassa. Ele atua na solubilização da lignina, aumento da porosidade e da área superficial da biomassa tornando os polissacarídeos mais acessíveis à ação de microrganismos. A eficiência desse tipo de tratamento está diretamente relacionada a fatores como a concentração do agente alcalino, temperatura, tempo de reação e razão sólido-líquido (KUMAR et al., 2009).

Outrossim, esse pré-tratamento apresenta vantagem quando comparados a processos ácidos por gerar menos compostos inibidores como componentes fenólicos e furfurais. Entre os agentes alcalinos mais utilizados, o mais utilizado é o Hidróxido de Sódio (NaOH) devido à sua elevada eficiência na remoção de lignina (ZHENG et al., 2014).

Podem ser utilizadas diferentes concentrações de base para realizar o pré-tratamento alcalino. Em geral, pequenas concentrações de NaOH são suficientes para ocasionar a desestruturação da lignina. Porém, concentrações elevadas podem aumentar a salinidade do meio e afetar a atividade microbiana durante a digestão anaeróbia (CHEN et al., 2008).

Estudos demonstram que o pré-tratamento alcalino é eficaz para melhorar a biodegradabilidade de resíduos lignocelulósicos, favorecendo a degradação biológica, o desempenho da digestão anaeróbia e, conseqüentemente, aumentando a geração de biogás (KIM; HOLTZAPPLE, 2005).

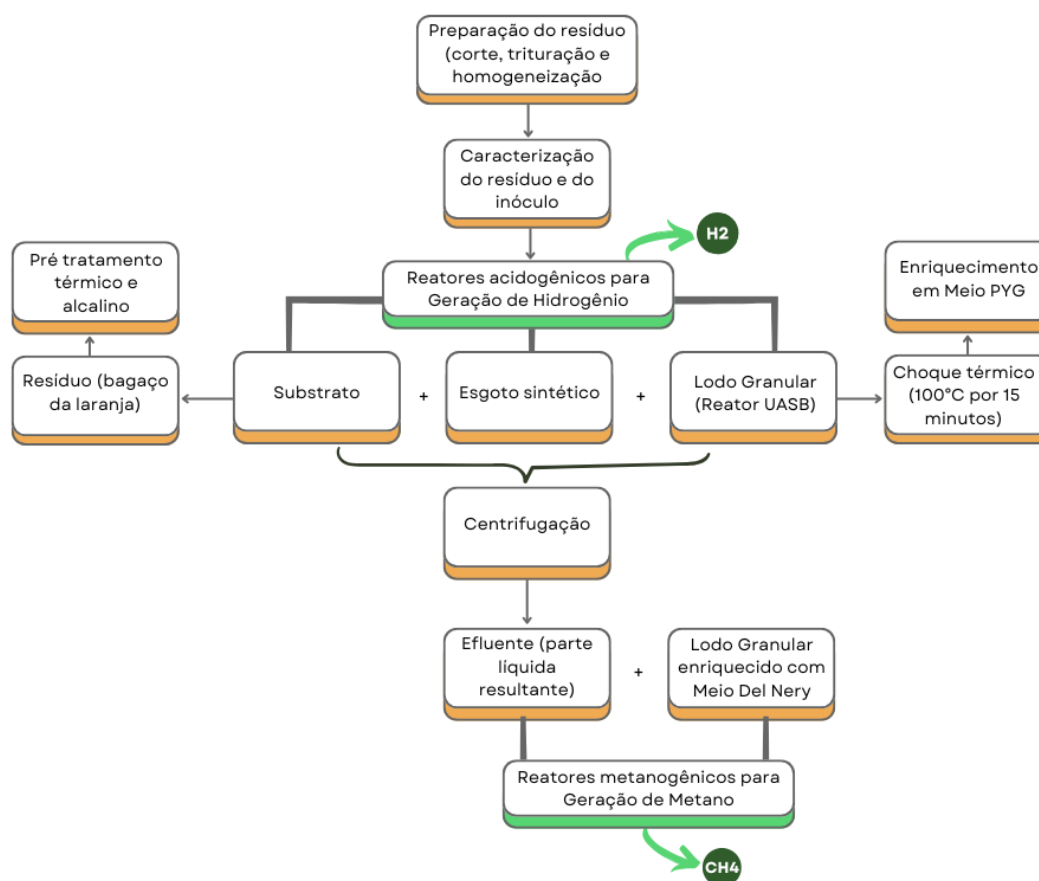
Dessa forma, o presente estudo aplicou pré-tratamentos térmicos com adições de NaOH na faixa de 0,3% e 4% no resíduo do processamento da laranja, para a liberação de carboidratos e serem usados como substrato e assim elevarem as eficiências nas gerações de hidrogênio e metano por digestão anaeróbia.

4) MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Biosistemas e Bioenergia no Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN) – Unesp de Rio Claro.

O presente estudo foi realizado de acordo com o fluxograma experimental (Figura 3).

Figura 3: Fluxograma Experimental



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Primeiramente, foi realizada a caracterização do resíduo do processamento da laranja e do inóculo utilizadas para conhecimento de suas características, em análises de carboidratos totais, demanda química de oxigênio (DQO), pH e sólidos totais, voláteis e fixos.

A etapa de pré-tratamento do lodo para a inoculação nos reatores acidogênicos foi realizada a 100°C por 15 minutos, após isso foi colocado em banho de gelo

(MAINTINGUER et al., 2008) para a inibição da metanogênese. Posteriormente, o lodo foi enriquecido em meio de cultura específico para o crescimento e estabelecimento de bactérias fermentativas.

Paralelamente, o resíduo do processamento da laranja, utilizado como substrato, foi cortado em pedaços pequenos, triturados, homogeneizados e armazenados congelados até sua utilização (Figura 4). O bagaço resultante foi pré-tratado termicamente em hidrólise alcalina com o objetivo romper a parede de lignina e liberar açúcares, conforme descrito a seguir.

Figura 4: Resíduo do processamento da laranja homogeneizado antes de ser congelado



Fonte: Autor.

Foram montados reatores anaeróbios contendo 20 g DQO Total/L de substrato pré-tratado, utilizando o lodo pré-tratado e co-digeridos em esgoto sanitário sintético, mantidos a 37°C. Reatores controle foram montados nas mesmas condições descritas anteriormente, com resíduos do processamento da laranja adicionados in natura (sem pré-tratamento).

Após a etapa de operação dos reatores acidogênicos, o efluente obtido foi submetido à centrifugação para separação do meio sólido do meio líquido, e, posteriormente a fração líquida foi empregada na montagem dos reatores

metanogênicos, os quais receberam o lodo granular previamente enriquecido em meio de cultivo específico para metanogênese, de acordo com Del Nery (1987).

4.1) Substratos

4.1.2) Resíduo de laranja: O bagaço de laranja utilizado foi obtido através da empresa “Suco Laranja Pura”, que produz suco de laranja sem adição de água, açúcar e conservantes na cidade de Piracicaba-SP.

4.1.3) Esgoto doméstico sintético: Foi adicionado como diluente em processos de codigestão na montagem dos reatores e foi preparado segundo Martín et al. (2010), sua composição está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Composição do esgoto doméstico sintético

Solução de Macronutrientes			Solução de Micronutrientes	
Composto	Fonte	(mg/L)	Composto	(mg/L)
Glicose	C-Carboidrato	200	FeCL ₃ 4H ₂ O	1000
Albumina	C-Proteína	21	CoCL ₂ 6H ₂ O	1000
Ureia	N	13,0	MnCL ₂ 4H ₂ O	250
KH ₂ PO ₄	P	5,26	CuCL ₂ 2H ₂ O	250
CaCL ₂ 2H ₂ O	Ca	22,05	ZnCL ₂	25
MgSO ₄ 7H ₂ O	Mg	0,43	H ₃ BO ₃	25
KCL	K	21,3	(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ 4H ₂ O	45
NaHCO ₃	Na	8,76	NaSeO ₃ H ₂ O	50
Extrato de Levedura		100	NiCL ₂ 6H ₂ O	35
Micronutrientes		1,0	EDTA	500
			HCL 36%	1

Fonte: Martín et al., 2010

4.2) Inóculo

4.2.1) Lodo Granular “in natura”: Proveniente de reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket – reator anaeróbio de fluxo ascendente de manta de lodo) cedido pela Avícola Pereiras, usado para tratar resíduos do abate de frangos (Pereiras - SP).

O inóculo in natura foi pré-tratado à 100°C por 15 min, depois colocado em banho de gelo e denominado lodo pré-tratado.

A seguir, o lodo pré-tratado foi enriquecido em meio de cultivo específico para a fermentação (PYG - Peptone, Yeast Extract, Glucose) para a operação dos reatores acidogênicos, conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2: Composição do Meio PYG

Composto	Quantidade (g/L)
Peptona	5g
Extrato de Carne	5g
Extrato de Levedura	5g
Glicose	10g

Fonte: Autor.

O inóculo “in natura” (sem pré-tratamento) foi enriquecido em meio de cultivo Del Nery, de acordo com Del Nery (1987), para reativação da atividade microbiana e utilizado nos reatores metanogênicos.

Tabela 3: Composição do meio Del Nery

Composição	Concentração (mg/L)
Solução A	
$\text{NiSO}_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,5
$\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,5
$\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{CoCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,04
Solução B	
$\text{CaCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,06
Solução C	
SeO_2	0,14
Solução D	
KH_2PO_4	5,36
K_2HPO_4	1,3
$\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$	2,76

Fonte: Del Nery (1987) modificado

4.3) Caracterização do substrato e inóculo

O resíduo e o inóculo foram caracterizados em parâmetros de carboidratos totais, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos voláteis totais, sólidos totais e pH (APHA, 2023).

4.4) Pré-tratamento térmico com adição de hidróxido de sódio (NaOH)

Pré-tratamentos alcalinos foram realizados em estufa à 100°C por 60 minutos, no resíduo do processamento da laranja em frascos com tampas (Figura 5) com adições de 0,3% e 4% de hidróxido de sódio, separadamente, de acordo com a quantidade de água e resíduo adicionados, conforme resultados testados com o mesmo resíduo aplicados na geração de metano durante estudo anterior de Iniciação Científica, em que foram testadas diferentes concentrações de NaOH e foi constatado que reatores com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH foram os mais promissores enquanto reatores com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH tiveram o pior desempenho. Após a etapa de pré-tratamentos no resíduo, foram montados reatores anaeróbios co-digeridos com esgoto sintético visando a geração de hidrogênio.

Figura 5: Frascos com tampas na estufa para realização do pré-tratamento



Fonte: Autor.

4.5) Operação dos reatores

Etapa 1: Reatores acidogênicos para a produção de hidrogênio

Para o ensaio da co-digestão anaeróbia foram realizadas duplicatas de reatores (1L) os quais possuíam concentrações finais de 20 g/L de DQO de resíduos do processamento da laranja pré-tratados com adição de 0,3% e 4% de NaOH e esgoto sintético, inóculo (30% v/v), relação substrato/inóculo de 0,23 (em base de sólidos voláteis) e em pH inicial 5,5, 6,5 e 11,0, separadamente, mantidos à 37°C sob modo estático.

Etapa 2: Reatores metanogênicos para a produção de metano

O efluente gerado dos reatores acidogênicos foi levado à centrífuga para ser filtrado, separando o meio sólido do meio líquido, e, o líquido, pode ser utilizado como substrato para a operação dos reatores metanogênicos. Os reatores foram montados nas mesmas condições descritas anteriormente, porém foram mantidos à 37°C e a 120 rpm.

4.6) Métodos analíticos

As análises realizadas durante a pesquisa estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4: Parâmetros, métodos e referências utilizadas.

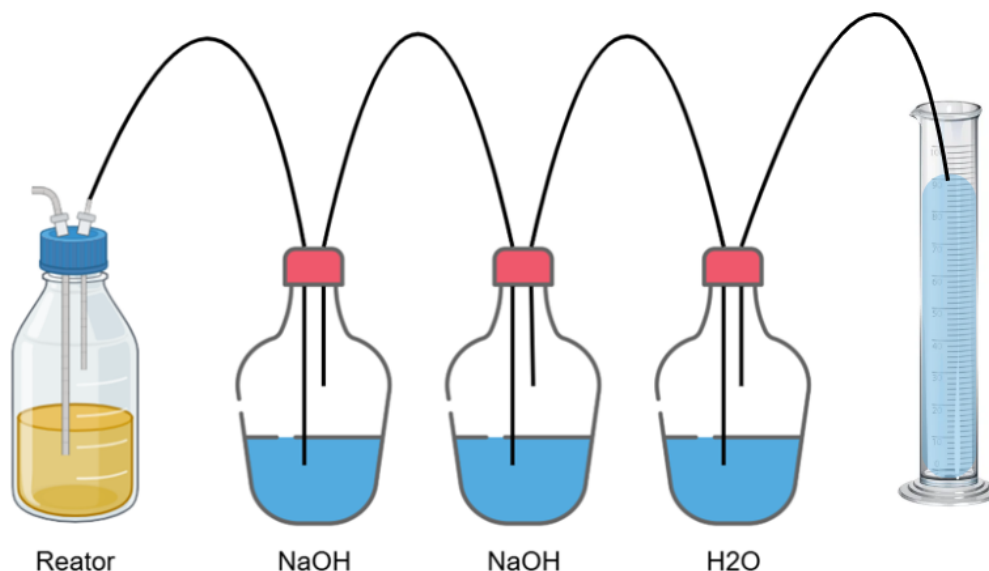
Parâmetro	Método	Referência
DQO	Colorimétrico	APHA (2023)
Carboidratos	Colorimétrico	Dubois et al. (1956)
Sólidos	Gravimétrico	APHA (2023)
pH	Potenciométrico	APHA (2023)
Composição do biogás	Cromatográfico	Maintinguer et al. (2008)
Quantificação do biogás	Deslocamento Volumétrico	Aquino et al. (2007)
Ácidos graxos voláteis e álcoois	Cromatográfico	Adorno et al. (2014)

Fonte: elaborado pelo autor (2026).

Os metabólitos solúveis (AGVs e álcoois) foram analisados usando um Shimadzu® GC-2030 equipado com um detector de ionização de chama (FID), coluna capilar HP-INNOWAX (30 m × 0,25 mm x 0,25 µm) e amostrador automático AOC 6000 Plus, seguindo os ajustes descritos por Adorno et al. (2014).

Para a quantificação temporal do biogás gerado foi realizado o deslocamento de volume adaptado de Aquino et al. (2007). Nesse método, é utilizado dois frascos de NaOH 15% para o reter o Dióxido de Carbono (CO_2), realizando uma lavagem do biogás, e um frasco de água. O volume de água deslocada é equivalente ao volume de biogás (hidrogênio e metano) gerados no período (Figura 6).

Figura 6: Sistema de deslocamento de volume de biogás gerado durante operação dos reatores



Fonte: Autor.

4.7) Modelagem e estatística dos dados experimentais obtidos

Os dados experimentais obtidos durante todos os ensaios foram ajustados para os valores médios obtidos das duplicatas dos reatores em batelada, utilizando o software Statistica® (versão 8.0). A taxa máxima de produção de biogás foi obtida por ajuste sigmoidal não linear da função Gompertz modificada (LAY; LI; NOIKE, 1998), de acordo com a equação (1).

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

Onde:

- P é o potencial de produção de biogás H₂ e CH₄ (mmol L⁻¹ cultura);
- R_m é a taxa máxima de produção de biogás H₂ e CH₄ (mmol L⁻¹ cultura h);
- λ é a duração da fase de início de produção do biogás (h);
- e vale 2,718281828.

4.8) Teste de ANOVA e Tukey

Foram realizadas análises estatísticas dos valores médios obtidos nas tabelas comparativas por meio do ANOVA e Teste de Tukey a 5%, considerando-se o delineamento inteiramente casualizado, para todos os ensaios realizados.

4.9) Cálculo de T80

Segundo Camarena-Martínez et al. (2020), o T80 é calculado como o período de operação dos reatores no qual se alcançou 80% da produção total de hidrogênio e metano. Por esse motivo, foram calculados os T80 de todos os reatores para descrever o tempo necessário para produzir 80% do hidrogênio (H₂) e do metano (CH₄) produzidos.

4.10) Cálculo de Perspectiva de Reuso Energético (PRE)

Foi avaliada a Perspectiva de Reuso Energético (PRE) dos ensaios, os valores de PRE foram calculados segundo as equações (2) e (3), considerando que o conteúdo energético de CH₄ é 882,2 kJ mol⁻¹ e de H₂ é 284 kJ mol⁻¹ (RODRIGUES et al., 2020b).

$$\text{PRE (CH}_4\text{)} = (\text{mol CH}_4 \text{ produzido} / \text{L de sustrato}) \times (882,2 \text{ kJ} / \text{mol}) \quad (2)$$

$$\text{PRE (H}_2\text{)} = (\text{mol H}_2 \text{ produzido} / \text{L de sustrato}) \times (284,0 \text{ kJ} / \text{mol}) \quad (3)$$

Para transformar kJ/Mol para kWh foi dividido o resultado por 3600 (1 kWh = 3600 kJ/Mol.)

5) RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1) Caracterização do inóculo e do substrato

Foram pesados 15 gramas de resíduo, na forma que ele foi utilizado no estudo, dos quais foram obtidas as seguintes caracterizações: 1,9673 g/L de sólidos totais (13,11%), 1,9015 g/L de sólidos voláteis (12,67%), 0,0658 g/L de sólidos fixos (0,44%) e uma umidade de 73,77%. Além disso, o resíduo do processamento da laranja continha 30 g/L de carboidratos, pH de 4,08 e uma DQO de 175,6 g/L (Tabela 5).

A baixa quantidade de sólidos fixos, a alta concentração de carboidratos totais e a elevada concentração de matéria orgânica, expressa pela DQO, confirma o alto potencial dos resíduos do processamento da laranja para a digestão anaeróbia e, consequentemente, sua viabilidade para a geração de biogás.

Tabela 5: Caracterização do Substrato

Substrato	
DQO Total	175,6 g/L
Carboidrato	30 g/L
pH	4,08
Sólidos Totais em 1g	0,131g
Sólidos Voláteis em 1g	0,126g
Sólidos Fixos em 1g	0,004g

Fonte: Autor.

Para o inóculo, foram pesados 15 g dos quais foram obtidos: 1,1285 g/L de sólidos totais (7,45%), 0,9936 g/L de sólidos voláteis (6,62%), 0,1249 g/L de sólidos fixos (0,83%) e uma umidade de 85,09% (Tabela 6).

Tabela 6: Caracterização do Inóculo

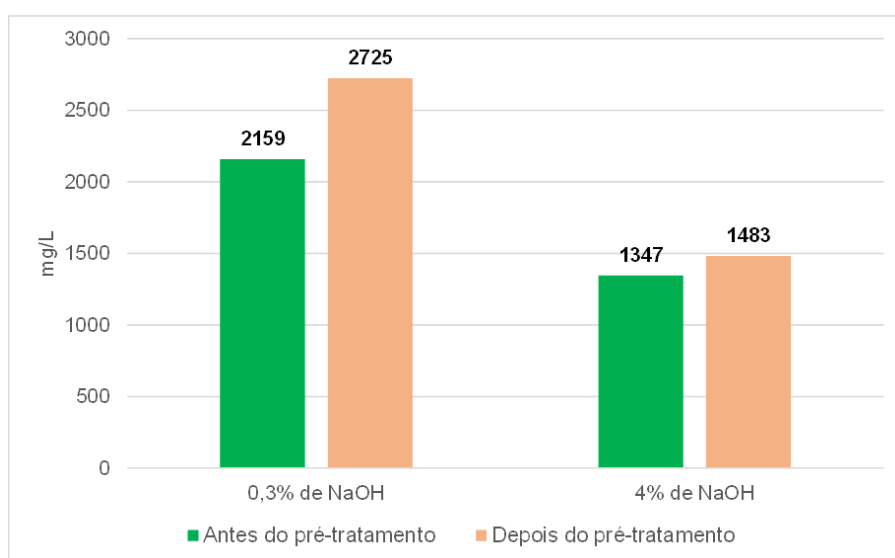
Inóculo		
Sólidos Totais em 1g 0,074g	Sólidos Voláteis em 1g 0,066g	Sólidos Fixos em 1g 0,008g

Fonte: Autor.

5.2) Liberação de carboidratos com o pré-tratamento

Após o pré-tratamento térmico e alcalino ocorreu a liberação de carboidratos. Os reatores com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH obtiveram uma liberação média de 26,23% de carboidratos em relação aos resíduos sem pré-tratamento e os com resíduos com adição de 4% de NaOH, uma liberação média de 10% de carboidratos (Figura 7).

Figura 7: Liberação de carboidratos nos reatores com pré-tratamento térmico e alcalino



Fonte: Autor.

Ou seja, os reatores alimentados com resíduos pré-tratados com 0,3% tiveram uma maior liberação de carboidratos após o pré-tratamento térmico e alcalino, indicando que adições mais brandas de base no pré-tratamento podem gerar mais carboidratos. Resultados semelhantes foram obtidos por Yamamoto et al., (2026), em que houve um aumento dos carboidratos em condições alcalinas moderadas de 59% enquanto adições mais elevadas de NaOH o aumento foi de apenas 36%.

Os resíduos advindos do processamento de frutas, como os da laranja, devido a sua composição, são ricos em lignina, hemicelulose e celulose que apresentam estrutura molecular altamente recalcitrante e se tornam empecilhos aos processos fermentativos (CANILHA et al., 2011). Segundo Kapdan e Kargi (2006), o pré-

tratamento alcalino é eficaz para a solubilização parcial da lignina e para o rompimento da parede celular, elevando a disponibilidade de carboidratos no meio.

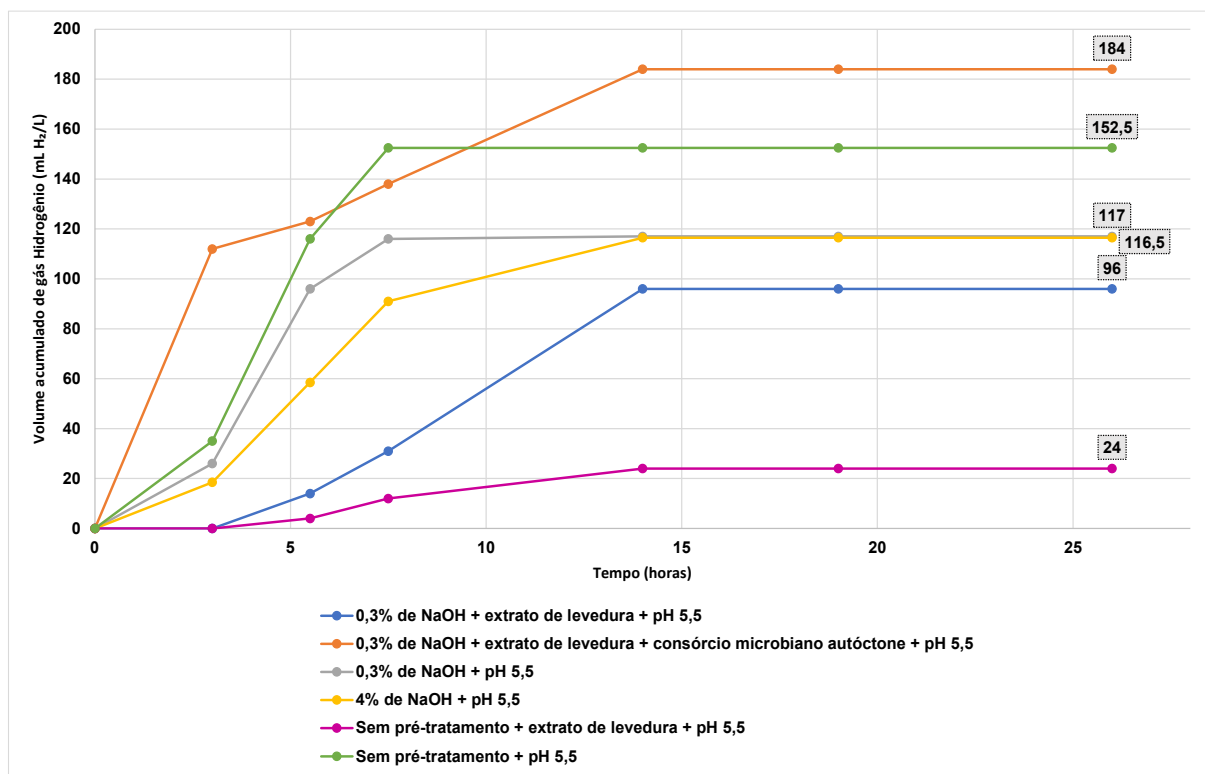
5.3) Reatores acidogênicos geradores de hidrogênio

Foram avaliados diferentes valores de pH e concentrações de NaOH, sendo observadas diferenças significativas na produção acumulada de hidrogênio entre os reatores.

Estudos demonstram que a produção de hidrogênio é influenciada pelo pH do meio, sendo o valor de 5,5 o mais promissor (Gupta et al., 2024; Mohd Yasin et al., 2011).

Nos ensaios realizados no pH 5,5, considerado ideal para a produção de hidrogênio, foram testados reatores com resíduos pré-tratados com adições de 0,3% de NaOH, 4% de NaOH e um reator controle com resíduo sem pré-tratamento. Todos apresentaram produção de hidrogênio em apenas 24 horas de operação, sendo que o reator controle obteve a melhor produção (152,5 ml H₂/L de meio reacional), demonstrando que, nesse pH, o pré-tratamento não foi eficaz para aumentar a produção de biogás (Figura 8).

Figura 8: Produção temporal de hidrogênio nos reatores operados com pH 5,5



Fonte: Autor.

Com o objetivo de aumentar a produção de hidrogênio, foram realizados novos ensaios no pH 5,5 com adição de extrato de levedura (2 g/L) sendo uma importante fonte de vitaminas e aminoácidos, favorecendo a atividade das bactérias produtoras de hidrogênio (MORIMOTO et al., 2004, MAINTINGUER et al., 2008).

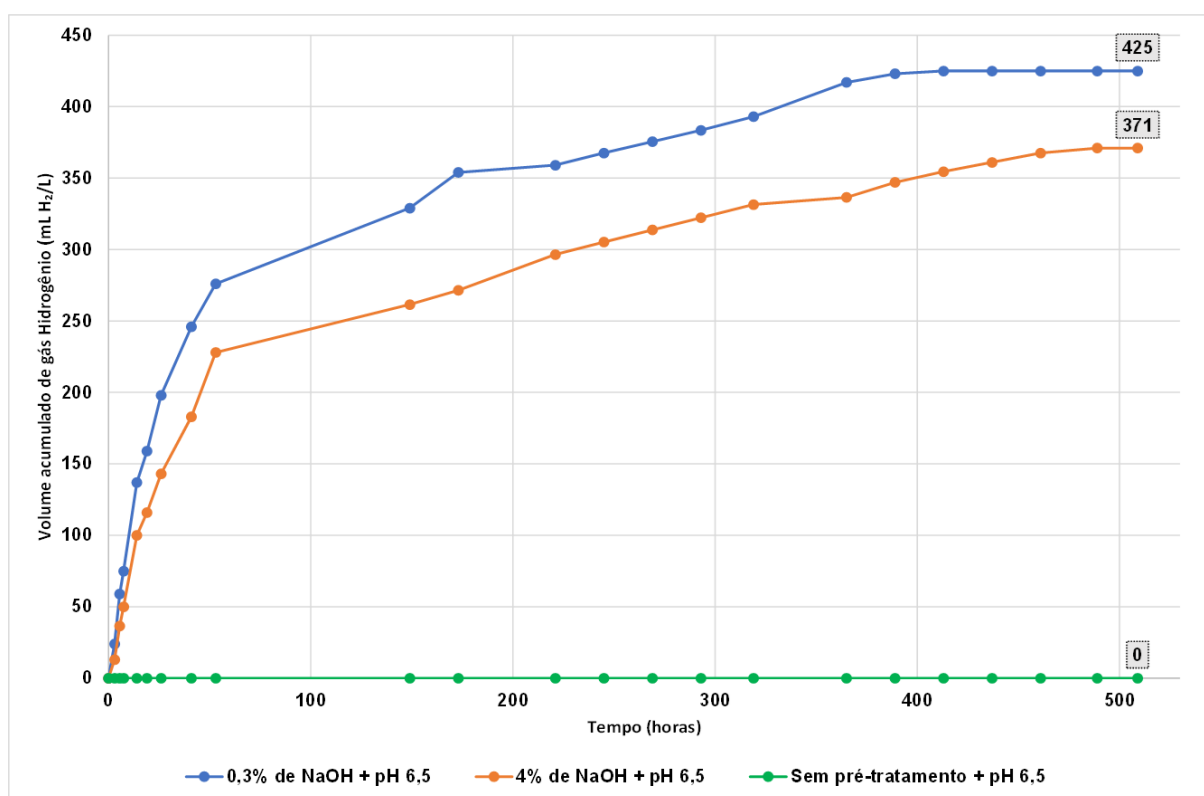
Também foi testado um reator no pH 5,5 com adição de 2 g/L de consórcio microbiano autóctone obtido diretamente do próprio resíduo do processamento da laranja. Segundo Janas et al. (2026), a bioaugmentação com consórcios autóctones não melhora apenas a diversidade microbiana, mas proporciona um ambiente mais diversificado e equilibrado, contribuindo para uma maior eficiência na produção de hidrogênio.

Os reatores montados com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone apresentaram o melhor desempenho, possuindo a mais rápida velocidade de produção e alcançando volume acumulado de 184 ml H₂/L (Figura 8).

Ademais, foram testados um pH extremo, o pH 11 e um pH intermediário, o pH 6,5. Ambos se mostraram mais promissores quando comparados aos reatores no pH 5,5.

No pH 6,5 (Figura 9), o reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH apresentou a maior produção acumulada de hidrogênio, atingindo 425 mL H₂/L. A seguir, o reator operado com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH gerou 371 mL H₂/L. Portanto, esse resultado evidencia que, nesse pH, pequenas adições de base já são suficientes para potencializar a produção de biogás sem causar efeitos inibitórios.

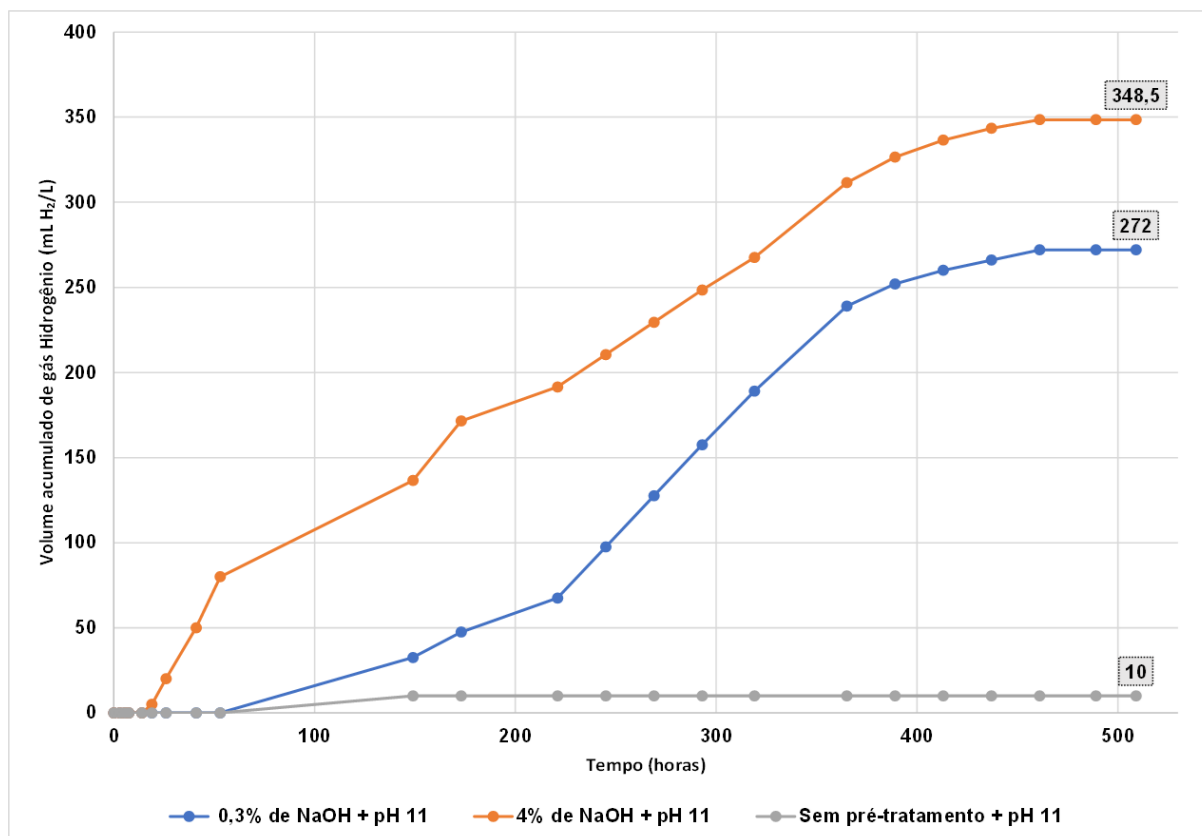
Figura 9: Produção temporal de hidrogênio nos reatores operados com pH 6,5



Fonte: Autor.

Nos ensaios operados a pH 11, o reator alimentado com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH apresentou maior produção (348,5 mL H₂/L) em relação ao reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH (272 mL H₂/L) e ao reator com resíduo sem pré-tratamento (10 mL H₂/L). Essas produções foram inferiores às produzidas nos ensaios operados a pH 6,5, indicando que condições extremamente alcalinas podem diminuir a atividade biológica (Figura 10).

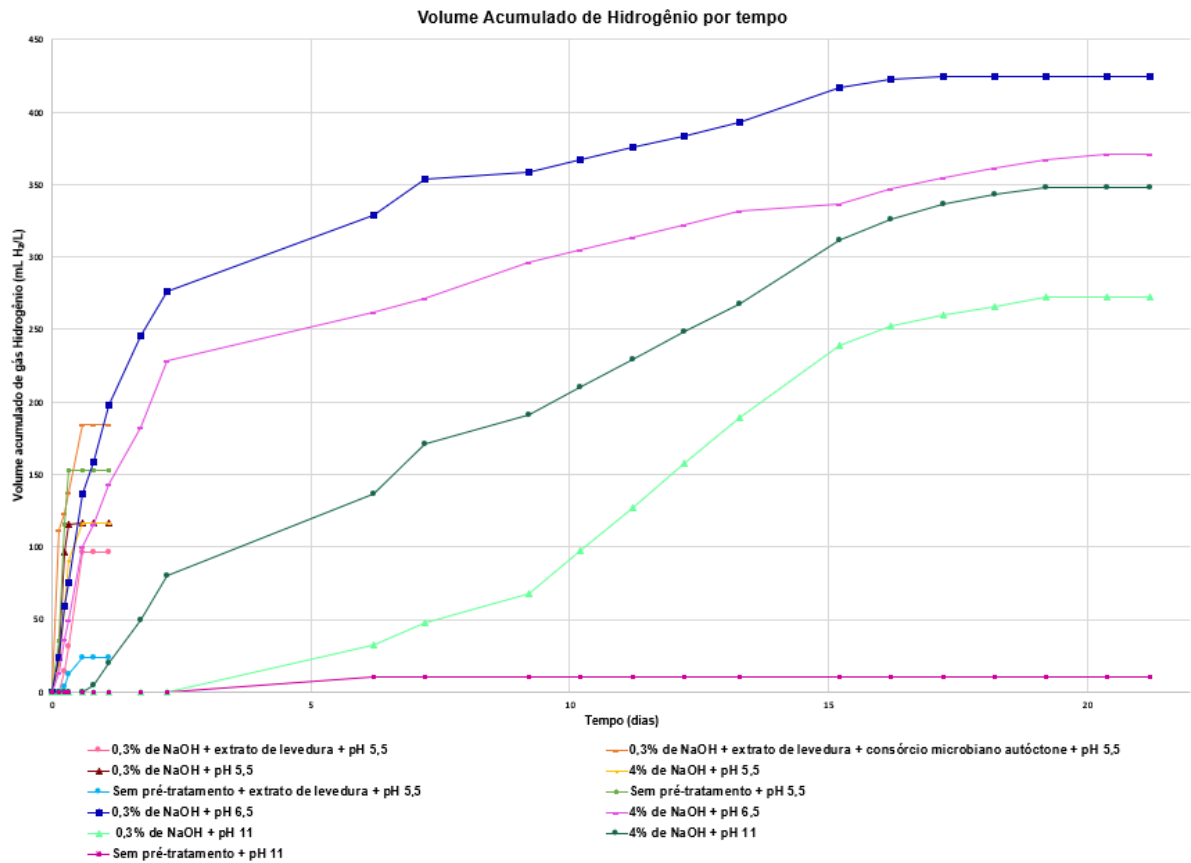
Figura 10: Produção temporal de hidrogênio nos reatores operados a pH 11



Fonte: Autor.

Além disso, apenas os reatores operados a pH 11 apresentaram fase lag, demonstrando que as bactérias precisaram se adaptar ao meio alcalino. Nos outros reatores não ocorreu a fase lag porque provavelmente o enriquecimento prévio do inóculo em meio de cultivo PYG favoreceu a atividade dos microrganismos fermentativos nos reatores, demonstrada pela produção imediata de hidrogênio (DE CARVALHO JÚNIOR, 2022).

Dessa forma, a produção acumulada de hidrogênio foi mais elevada no pré-tratamento com adição de 0,3% de NaOH nos reatores operados a pH 6,5 (Figura 11).

Figura 11: Produção temporal de hidrogênio em todos os reatores

Fonte: Autor.

Foi realizado o teste de ANOVA e Tukey para o volume acumulado de hidrogênio (Tabela 7). Estatisticamente foi verificado uma diferença de produção entre todos os reatores. A melhor condição foi observada no pré-tratamento com adição de 0,3% de NaOH e pH 6,5. Contrariamente, o reator sem pré-tratamento com pH 6,5 revelou ser a pior condição para a produção de hidrogênio a partir dos resíduos do processamento da laranja.

Tabela 7: Teste de ANOVA e Tukey para a produção máxima de hidrogênio (mL H₂/L)

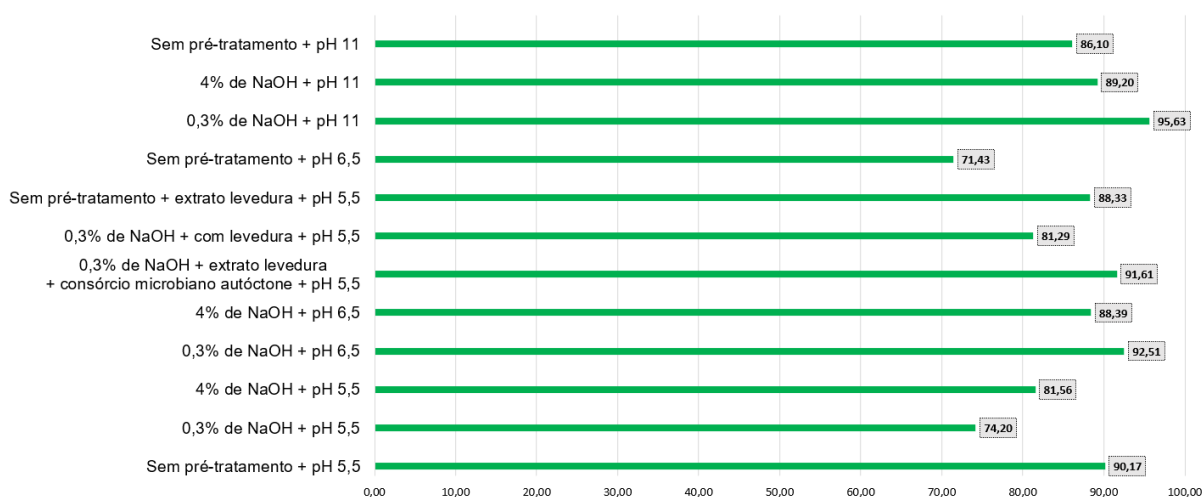
Teste de Tukey a 5%	
Sem tratamento + pH 11	10,0 h
4% de NaOH + pH 11	348,5 b
0,3% de NaOH + pH 11	272,0 bc
0,3% de NaOH + extrato de levedura + pH 5,5	96,0 fg
0,3% de NaOH + pH 6,5	425,0 a
4% de NaOH + pH 6,5	371,0 b
Sem pré-tratamento + pH 6,5	0 i
Sem tratamento + extrato de levedura + pH 5,5	24,0 gh
0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone + pH 5,5	184,0 de
4% de NaOH + pH 5,5	116,5 cd
0,3% de NaOH + pH 5,5	117,0 ef
Sem tratamento + pH 5,5	152,5 ef

Letras iguais na mesma coluna indicam que, no nível de 5% de significância, não há diferença entre as médias.

Fonte: Autor.

As proporções de remoções de carboidrato superaram 80%, com exceção dos reatores com resíduo sem pré-tratamento + pH 6,5 (71,43%) e 0,3% de NaOH sem extrato de levedura + pH 5,5 (74,20%) (Figura 12).

Figura 12: Remoção Carboidratos (em %) para tipos de pré-tratamento e pH



Fonte: Autor

Foi feito o teste de ANOVA e Tukey para as taxas de remoção de carboidratos. Em todos os reatores não foi observado diferença significativa entre si (Tabela 8).

Tabela 8: Teste de ANOVA e Tukey para a remoção de carboidratos (%)

Teste de Tukey a 5%	
Sem pré-tratamento + pH 11	86,10 a
4% de NaOH + pH 11	88,70 a
0,3% de NaOH + pH 11	95,63 a
Sem pré-tratamento + pH 6,5	71,43 a
0,3% de NaOH + pH 6,5	92,51 a
4% de NaOH + pH 6,5	88,39 a
Sem pré-tratamento + extrato de levedura + pH 5,5	88,33 a
0,3% de NaOH + extrato de levedura + pH 5,5	81,29 a
0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone + pH 5,5	91,61 a
4% de NaOH + pH 5,5	81,56 a
0,3% de NaOH + pH 5,5	74,20 a
Sem pré-tratamento + pH 5,5	90,17 a

Letras iguais na mesma coluna indicam que, no nível de 5% de significância, não há diferença entre as médias.

Fonte: Autor.

A Tabela 9 apresenta dados obtidos pelo ajuste da equação de Gompertz modificada para cada configuração avaliada: potencial de produção de hidrogênio (P), taxa máxima de produção de hidrogênio (Rm) e a duração para o início da produção de hidrogênio (λ), nos ensaios realizados.

Esse modelo permitiu avaliar não apenas o volume final produzido, mas também a velocidade do processo e o tempo necessário para adaptação microbiana ao meio (LAY et al., 1999; WANG et al., 2009).

Tabela 9: Parâmetros obtidos pelo ajuste da equação de Gompertz modificada

	Potencial de produção (ml H ₂ /Lr)	Taxa máxima de produção de biogás (ml de H ₂ Lr ⁻¹ h ⁻¹)	Início da produção de biogás (h)
	P	Rm	L
0,3% de NaOH + extrato de levedura + pH 5,5	98,35	14,59	5,13
0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone + pH 5,5	180,93	23,76	0,00
0,3% de NaOH + pH 5,5	117,58	35,79	2,30
4% de NaOH + pH 5,5	117,38	18,61	2,20
Sem pré-tratamento + extrato de levedura + pH 5,5	24,23	4,36	4,70
Sem pré-tratamento + pH 5,5	153,95	40,70	2,18
0,3% de NaOH + pH 6,5	394,31	5,90	0,00
4% de NaOH + pH 6,5	329,79	4,49	0,00
0,3% de NaOH + pH 11	301,48	1,18	155,06
4% de NaOH + pH 11	385,70	1,04	27,98
Sem pré-tratamento + pH 11	10,00	1,44	106,25

Fonte: Autor.

O pré-tratamento contendo 0,3% de NaOH no pH 6,5 apresentou o melhor desempenho entre todas as condições, com potencial de produção máximo de 394,31 ml H₂/Lr e taxa máxima de produção de 5,90 ml de H₂ Lr⁻¹ h⁻¹. Além disso, não houve fase lag, mostrando que a produção de H₂ iniciou imediatamente confirmando as condições favoráveis impostas.

Por outro lado, o pré-tratamento com adição de 4% de NaOH no pH 6,5 apresentou bom desempenho, mas inferior a adição de 0,3% de NaOH, confirmando que altas adições de base podem gerar efeitos inibitórios, como aumento da salinidade

do meio ou formação de compostos tóxicos, reduzindo a atividade microbiana (APPELS et al., 2008; CHERNICHARO, 1997).

Nos ensaios operados a pH 11, observou-se elevado potencial de produção mas baixa taxa máxima, além de alta fase lag, mostrando que apesar da produção relevante de hidrogênio, o processo foi mais lento e só ocorreu após a adaptação microbiana (Tabela 9).

Verificou-se que reatores operados a pH 5,5 apresentaram os menores potenciais de produção de H₂ entre todas as condições testadas.

5.4) Produções de ácidos graxos voláteis e álcoois nos reatores acidogênicos

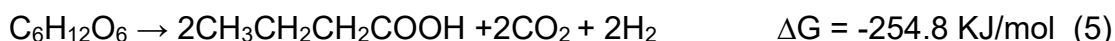
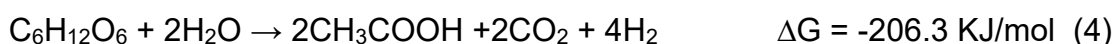
Durante a acidogênese, bactérias fermentativas convertem compostos orgânicos como açúcares e carboidratos em compostos mais simples tais como ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácido lático e etanol. Em seguida, na fase de acetogênese, tais compostos orgânicos reduzidos, como ácido propiônico, butírico e lático, são oxidados resultando em hidrogênio e dióxido de carbono, que são formados por bactérias fermentativas em hidrogênio e acetato. O gênero mais comum de bactéria presente nessa etapa é o *Clostridium* (BITTON, 2005).

A produção elevada de hidrogênio a partir de açúcares como glicose e sacarose, por exemplo, está associada com a mistura dos produtos da fermentação, tais como ácido acético e ácido butírico. Em contrapartida, a baixa produção de hidrogênio está associada à formação de ácido propiônico, álcoois e ácido lático (MAINTINGUER et al, 2008).

5.4.1) Ácidos orgânicos voláteis gerados nos reatores operados a pH 5,5

Foram verificadas produções de ácido butírico e ácido acético (Figura 13 e Figura 14), indicando que esses co-produtos estavam na rota fermentativa típica da produção de hidrogênio. Verificou-se que as produções mais elevadas de ácido acético e ácido butírico foram em reatores com resíduo sem pré-tratamento e o aumento foi de 263% e 370%, respectivamente. Por outro lado, concentrações mais reduzidas de produção de ácido acético e ácido butírico foram observadas em reatores com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH com aumento de apenas 56% e 18%, respectivamente.

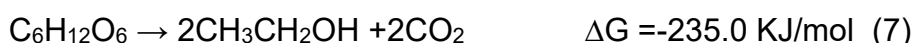
É importante salientar que as produções de ácido acético e butírico estão relacionadas às melhores eficiências de geração de hidrogênio, conforme demonstrado nas estequiometrias de geração de hidrogênio a partir de glicose, por exemplo, que é um dos carboidratos presentes nos resíduos citrícolas, de acordo com as equações 4 e 5, respectivamente (KIM et al., 2006 e THAUER et al., 1977).



Por outro lado, houve um aumento nas produções de ácido propiônico nos reatores, indicando uma competição metabólica por ser um ácido associado a baixa produção de hidrogênio (Figura 15). Pode ocorrer geração de ácido propiônico e acético, a partir de glicose, por exemplo e, com isso, as produções de hidrogênio serem mais reduzidas (Equação 6) (KIM et al., 2006 e THAUER et al., 1977).

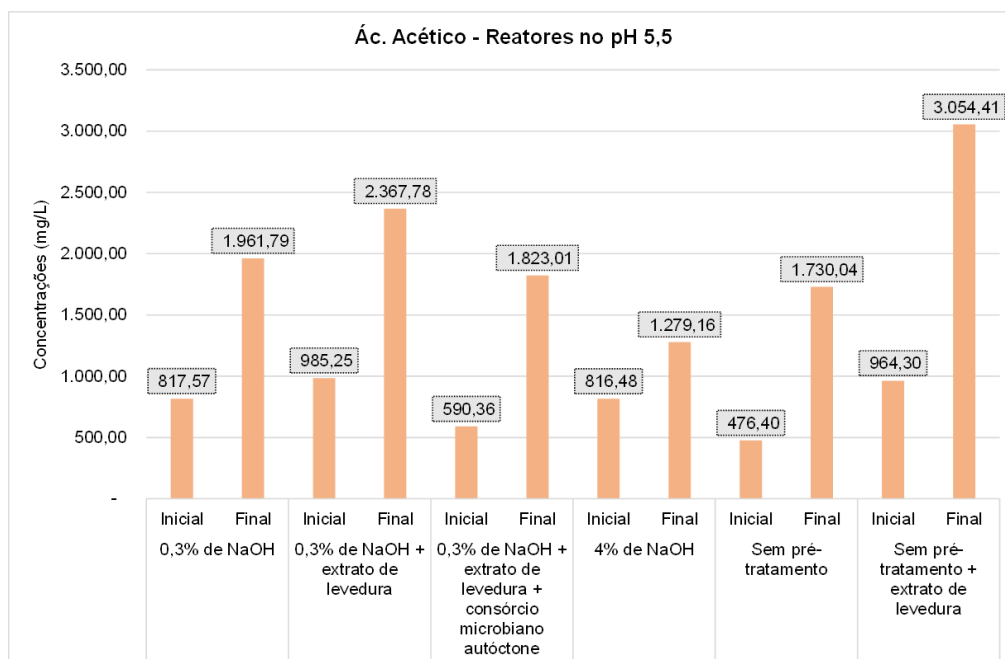


Além disso, houve uma elevada produção de etanol o que indica uma rota metabólica voltada para a esse álcool (Figura 16) que pode reduzir a produção de hidrogênio. Na geração de etanol a partir de glicose não existe produção de hidrogênio (Equação 7). (KIM et al., 2006 e THAUER et al., 1977).



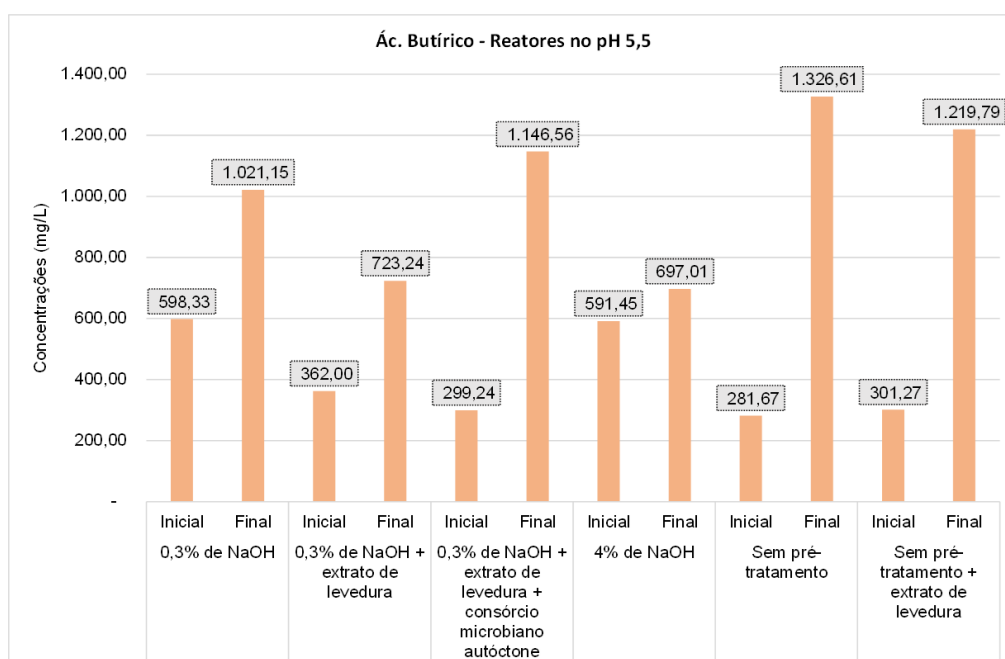
Portanto, apesar dos reatores serem operados a pH 5,5 e apresentarem uma rápida produção de hidrogênio, diferentes rotas metabólicas ocorreram conjuntamente e parte dessas podem terem sido desviadas para gerações de etanol e propiônico, além de acético e butírico, conforme verificado nos reatores acidogênicos alimentados com resíduos citrícolas.

Figura 13: Concentrações de Ácido Acético no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5



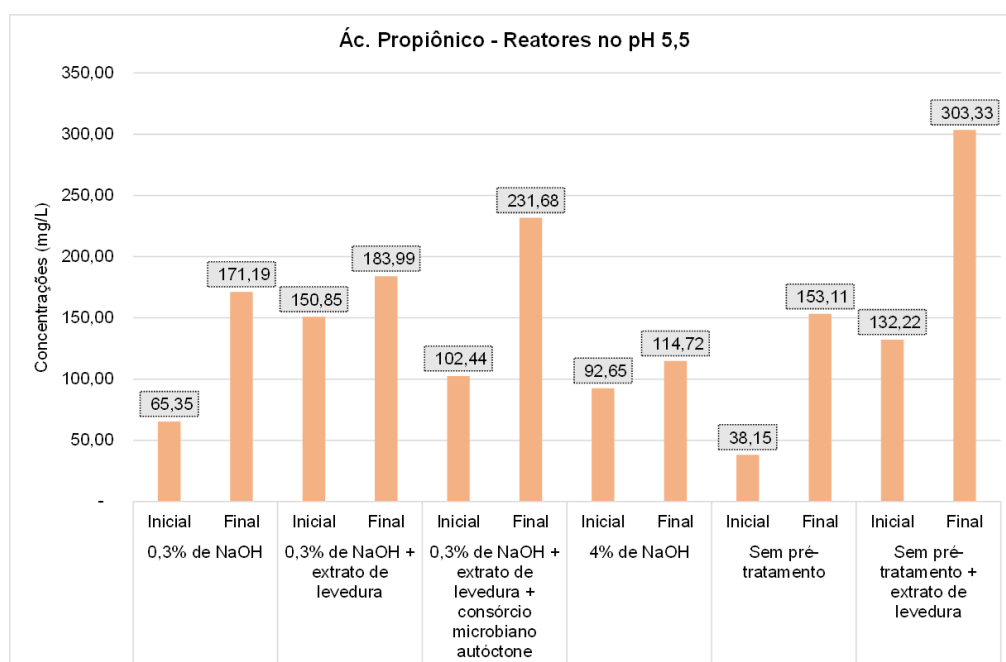
Fonte: Autor.

Figura 14: Concentrações de Ácido Butírico no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5



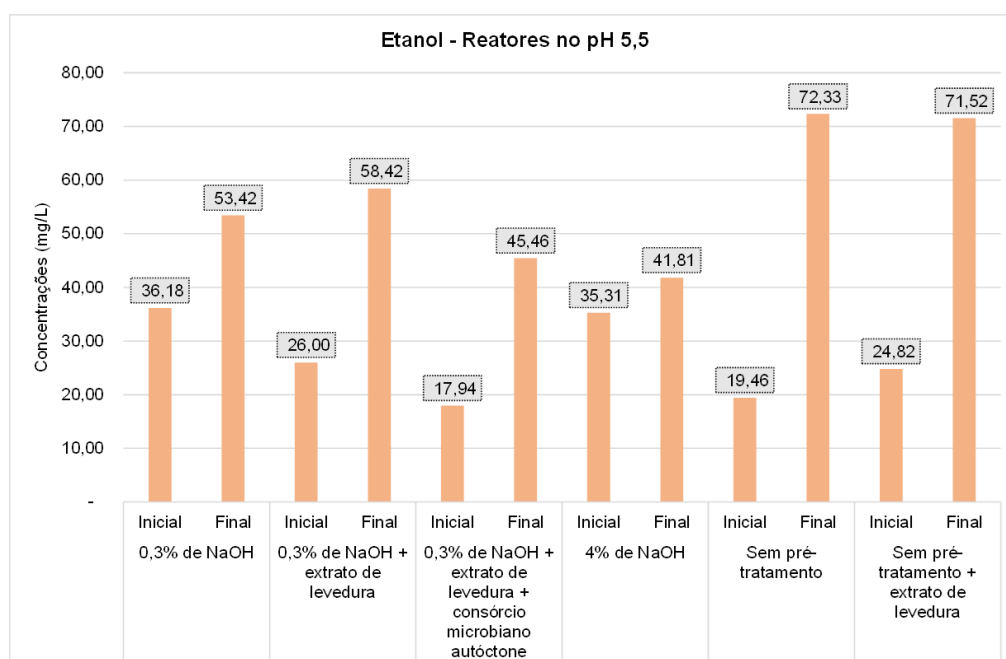
Fonte: Autor.

Figura 15: Concentrações de Ácido Propiônico no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5



Fonte: Autor.

Figura 16: Concentrações de Etanol no início e final da operação dos reatores operados a pH 5,5



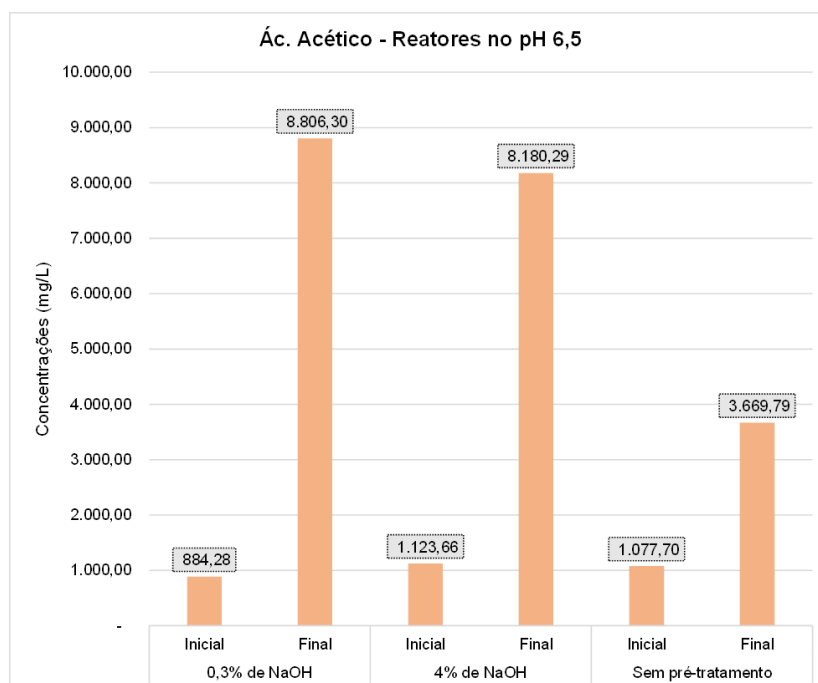
Fonte: Autor.

5.4.2) Ácidos orgânicos voláteis gerados nos reatores operados a pH 6,5

Nos ensaios realizados em pH 6,5, verificou-se aumento de ácido butírico e ácido acético (Figura 17 e Figura 18) que são favoráveis a produção de hidrogênio, além de menor produção de ácido propiônico (Figura 19) quando comparado aos outros ácidos e aos reatores nos demais valores de pH, conforme descrito anteriormente.

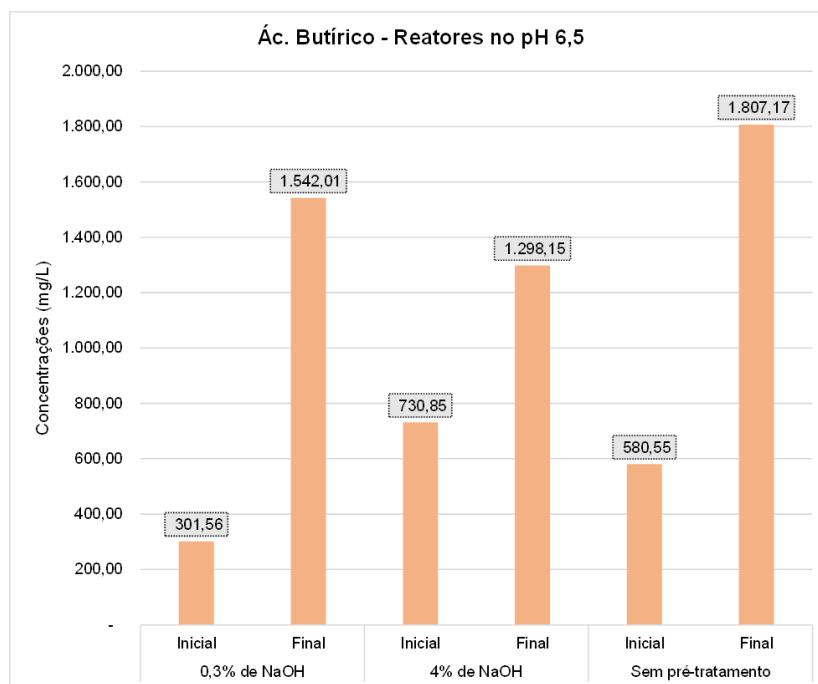
Isso explicou os maiores volumes acumulados de hidrogênio observados nessa condição, com destaque no reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH, demonstrando que o pH 6,5 proporcionou um ambiente adequado para os microrganismos advindos do lodo pré-tratado.

Figura 17: Concentrações de Ácido Acético no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5



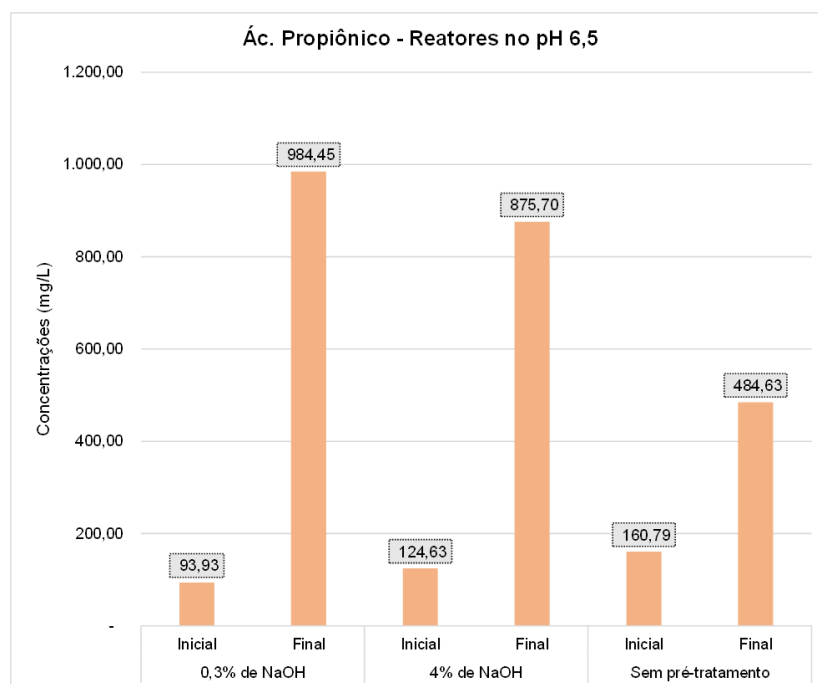
Fonte: Autor.

Figura 18: Concentrações de Ácido Butírico no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5



Fonte: Autor.

Figura 19: Concentrações de Ácido Propiônico no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5

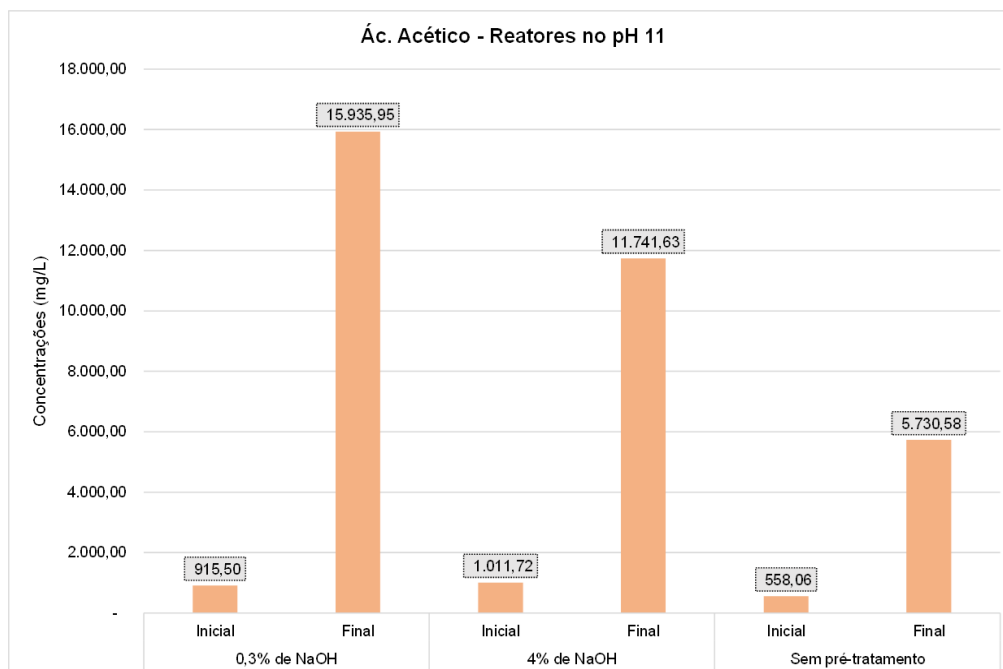


Fonte: Autor.

5.4.3) Ácidos orgânicos voláteis gerados nos reatores operados a pH 11

Nos reatores operados a pH 11 houve produção de ácido acético, o que explica a produção de hidrogênio após a fase de adaptação, especialmente no reator com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH (Figura 20).

Figura 20: Concentrações de Ácido Acético no início e final da operação dos reatores operados a pH 11

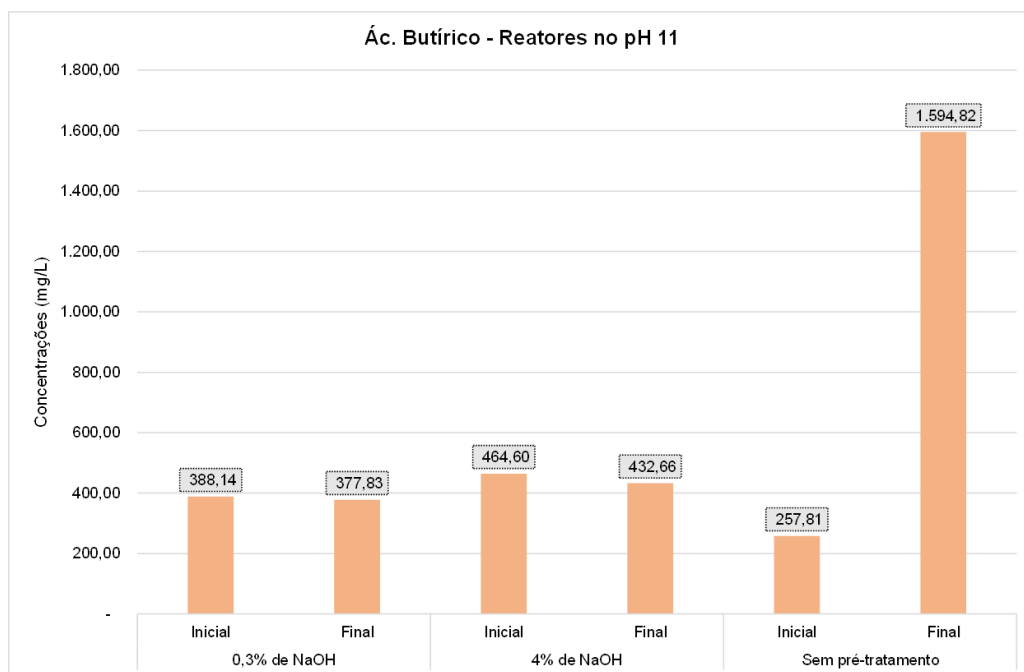


Fonte: Autor.

Por outro lado, ocorreu consumo de ácido butírico nos reatores com resíduos pré-tratados com 0,3% e 4% de NaOH. Esse consumo pode estar associado à mudança nas rotas metabólicas para rotas alternativas à produção de hidrogênio (ZHANG, Z. et al., 2016) (Figura 21).

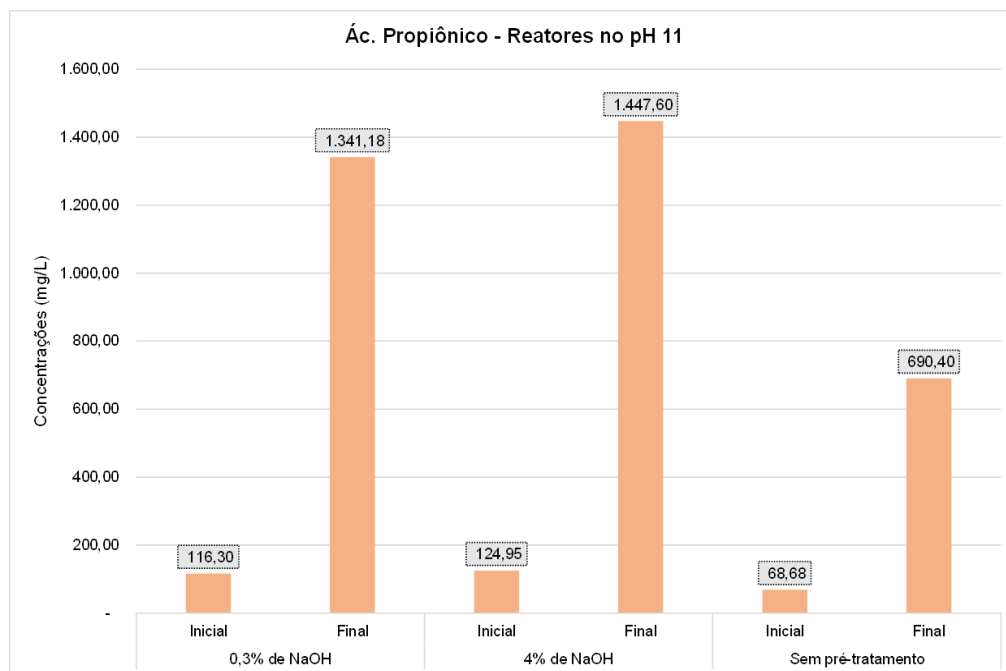
Foi verificado uma grande produção de ácido propiônico, indicando que o pH altamente alcalino promoveu um estresse microbiano e um desvio metabólico, exigindo uma adaptação dos microrganismos e favorecendo rotas alternativas para a geração de ácido propiônico com produções reduzidas de hidrogênio, conforme descrito anteriormente. Assim, se justificou a presença da fase lag de produção de H₂ nos reatores (Figura 22).

Figura 21: Concentrações de Ácido Butírico no início e final da operação dos reatores operados a pH 11



Fonte: Autor.

Figura 22: Concentrações de Ácido Propiônico no início e final da operação dos reatores operados a pH 6,5



Fonte: Autor.

Pode-se inferir que a análise dos co-produtos líquidos gerados no início e no final dos ensaios permitiu identificar as principais rotas fermentativas ocorridas nos diferentes tratamentos avaliados. Em suma, a composição dos ácidos variou significativamente com o pré-tratamento e o pH, demonstrando que esses parâmetros influenciam na produção de hidrogênio.

5.5) Reatores metanogênicos

Para a segunda etapa, foram escolhidas as duas melhores condições e as duas condições mais rápidas de produção de hidrogênio. Dessa forma, os reatores que foram montados para a produção de metano foram:

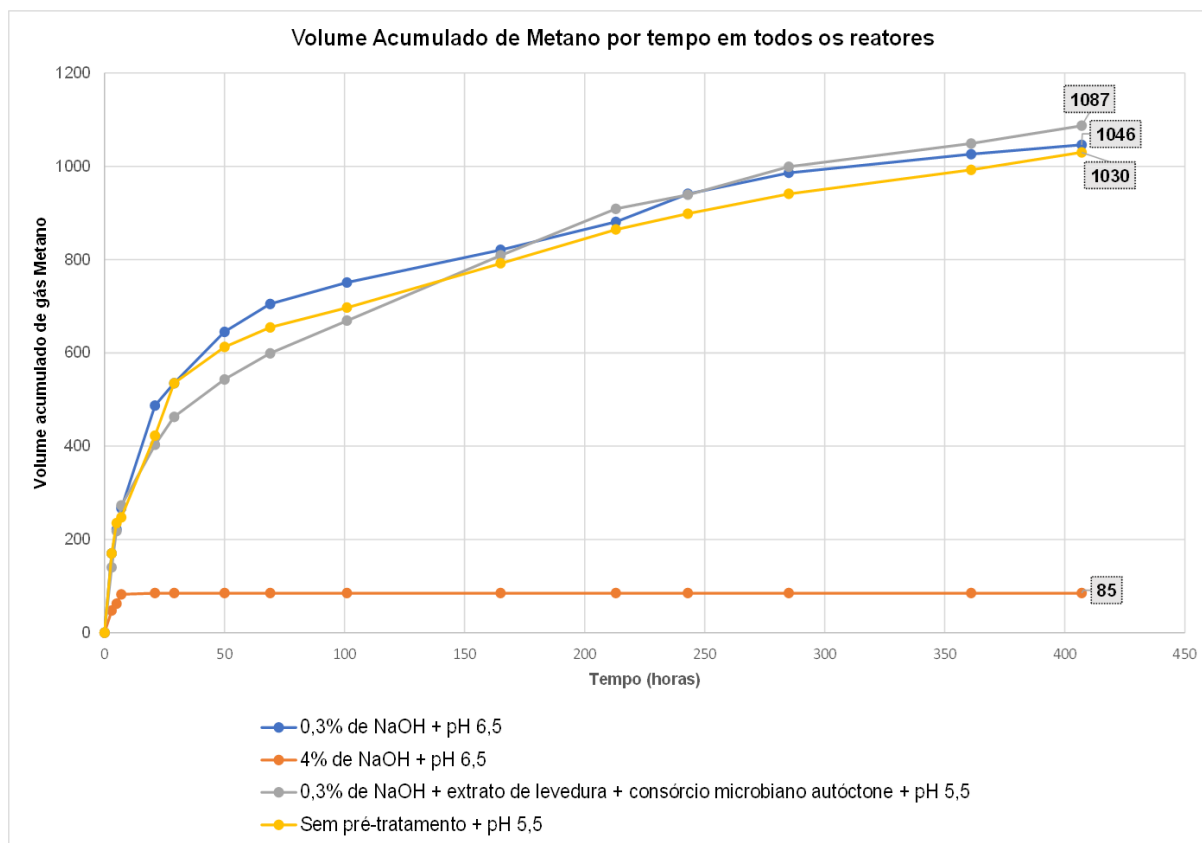
- Reatores com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH no pH 6,5;
- Reatores com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH no pH 6,5;
- Reatores com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH + extrato de leveduras + consórcio microbiano autóctone no pH 5,5;
- Reatores com resíduo sem pré-tratamento no pH 5,5.

Em todos os reatores a produção de biogás foi imediata. Provavelmente o enriquecimento prévio do inóculo em meio de cultivo Del Nery favoreceu a atividade dos microrganismos metanogênicos presentes nos reatores, demonstrada pela produção imediata de CH_4 (DE CARVALHO JÚNIOR, 2022). Além disso, a presença dos ácidos produzidos na etapa dos reatores acidogênicos também auxiliou a produção imediata.

Os reatores metanogênicos apresentaram uma diferença significativa na produção acumulada de metano entre os efluentes dos reatores com resíduos pré-tratados com 0,3% e 4% de NaOH. O reator com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH encerrou sua produção ainda no primeiro dia de operação, indicando que altas concentrações de base podem ter causado efeitos inibitórios.

Por outro lado, efluentes advindos de reatores acidogênicos sem pré-tratamento e com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH apresentaram maiores produções acumuladas. O reator com efluente advindos de reatores acidogênicos com resíduos pré-tratados com adição de 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone foi o mais promissor, com produção de 1087 mL CH_4 /L (Figura 23).

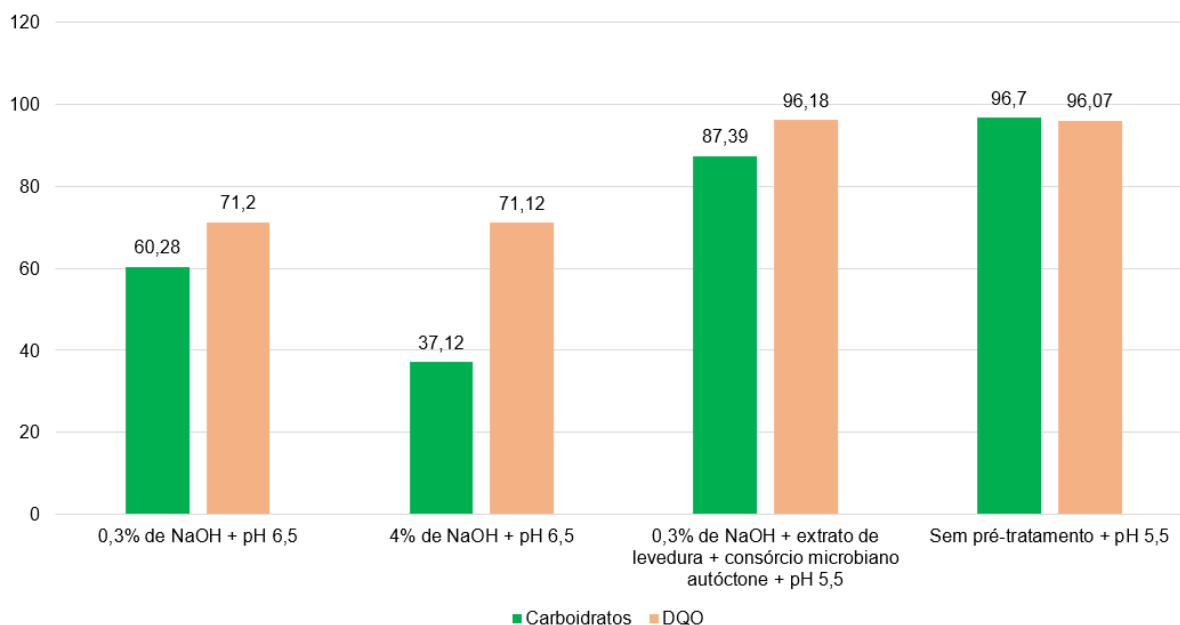
Figura 23: Produção temporal de Metano nos reatores alimentados com efluentes de reatores acidogênicos



Fonte: Autor.

As proporções das remoções de carboidratos, foram de 60,28%, 37,12%, 87,39%, 96,70%, respectivamente nos reatores que receberam efluentes dos reatores acidogênicos com: resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH, resíduo pré-tratado com 4% de NaOH, resíduo pré-tratado 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone e controle (sem pré-tratamento) (Figura 24).

Foram verificados os consumos de DQO em todos os reatores operados e as proporções das remoções foram de 71,2%, 71,12%, 96,18%, 96,07%, respectivamente nos reatores alimentados com efluentes de reatores acidogênicos com: resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH, resíduo pré-tratado com 4% de NaOH, resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone e controle (sem pré-tratamento) (Figura 24).

Figura 24: Remoção de DQO e carboidratos (em %) nos reatores metanogênicos**Fonte:** Autor.

A Tabela 10 apresenta dados obtidos pelo ajuste da equação de Gompertz modificada para cada configuração avaliada.

Tabela 10: Parâmetros obtidos pelo ajuste da equação de Gompertz modificada nos reatores metanogênicos alimentados com efluentes dos reatores acidogênicos

	Potencial de produção (ml CH ₄ /Lr)	Taxa máxima de produção de biogás (ml de CH ₄ Lr ⁻¹ h ⁻¹)	Início da produção de biogás (h)
	P	Rm	L
0,3% de NaOH + pH 6,5	938,04	10,37	0
4% de NaOH + pH 6,5	85,03	17,04	0,38
0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone + pH 5,5	1012,30	5,78	0
Sem pré-tratamento + pH 5,5	915,27	8,68	0

Fonte: Autor.

A análise de Gompertz demonstra que a condição no reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone no pH 5,5 apresentou o melhor desempenho geral, com ausência de fase lag e o maior potencial de produção. Em seguida o reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de

NaOH no pH 6,5. Essa condição afirma que menores condições de base são melhores para a produção de metano.

Por outro lado, o reator alimentado com efluente com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH apresentou fase lag e menor potencial de produção, o que indica efeitos inibitórios com altas concentrações de base. De acordo com Chen et al. (2008), o excesso de base pode causar inibição do processo anaeróbio, justificando a menor produção de metano.

Por fim, foi realizado o teste de ANOVA e Tukey. Para a produção acumulada de metano, apenas o reator alimentado com efluente com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH foi diferente estatisticamente dos demais. Reatores com efluente de reatores acidogênicos com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone e reatores com resíduo sem pré-tratamento apresentaram remoções de DQO mais elevadas, não diferindo entre si. Na remoção de carboidratos a melhor condição foi nos efluentes acidogênicos de reatores sem pré-tratamento. Entretanto, foi verificada remoções reduzidas de carboidratos nos reatores com efluente com resíduo pré-tratado com 4% de NaOH no pH 6,5 (Tabela 11).

Tabela 11: Teste de ANOVA e Tukey para as remoções de Carboidratos, DQO e produção acumulada de Metano

Teste de Tukey a 5%			
Reator	Produção de Metano	Remoção de Carboidratos	Remoção de DQO
0,3% de NaOH + pH 6,5	1046 a	60,28 bc	71,20 b
4% de NaOH + pH 6,5	85 b	37,12 c	71,12 b
0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone + pH 5,5	1087 a	87,39 ab	96,18 a
Sem pré-tratamento + pH 5,5	1030 a	96,70 a	96,07 a

Letras iguais na mesma coluna indicam que, no nível de 5% de significância, não há diferença entre as médias.

Fonte: Autor.

5.6) T80 e Perspectiva de Reuso Energético

O T80 é um parâmetro utilizado para descrever o tempo necessário para produzir 80% do metano (CH_4) e hidrogênio (H_2) durante o período de incubação em reatores de digestão anaeróbia, além de avaliar a eficiência e o desempenho dos processos (CAMARENA-MARTINEZ et al., 2020). Ademais, este indicador permite avaliar a velocidade de produção de biogás e comparar os diferentes pré-tratamentos.

Os resultados do T80 dos reatores acidogênicos geradores de hidrogênio (Tabela 12) indicam que quanto mais baixo o pH mais acelerada é a digestão anaeróbia. Assim, reatores operados no pH 5,5 apresentaram os menores T80. Por outro lado, reatores com pré-tratamentos no pH 11 apresentaram os maiores T80, indicando um processo de digestão mais lento, devido a necessidade de adaptação das bactérias ao meio alcalino.

Tabela 12: Cálculo do T80 para os reatores acidogênicos

Reator	T80 Hidrogênio
0,3% de NaOH + extrato de levedura + pH 5,5	14 horas (0,5 dias)
0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone + pH 5,5	7,5 horas (0,3 dias)
0,3% de NaOH + pH 5,5	5,5 horas (0,2 dias)
4% de NaOH + pH 5,5	7,5 horas (0,3 dias)
Sem pré-tratamento + extrato de levedura + pH 5,5	14 horas (0,5 dias)
Sem pré-tratamento + pH 5,5	5,5 horas (0,2 dias)
0,3% de NaOH + pH 6,5	173 horas (7,2 dias)
4% de NaOH + pH 6,5	221 horas (9,2 dias)
Sem pré-tratamento + pH 6,5	0 horas (0 dias)
0,3% de NaOH + pH 11	365 horas (15,2 dias)
4% de NaOH + pH 11	319 horas (13,3 dias)
Sem pré-tratamento + pH 11	149 horas (6,2 dias)

Fonte: Autor.

É notável uma diferença significativa entre o T80 da produção de Metano, indicando que os efluentes que continham maior adição de base tiveram o menor o tempo de produção desse biogás (Tabela 13).

Tabela 13: Cálculo do T80 para os reatores metanogênicos

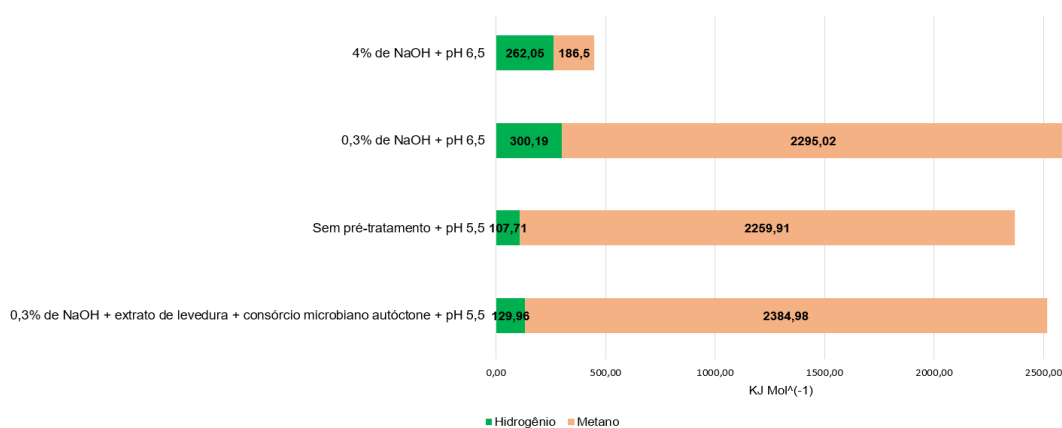
Reator	T80 Metano
0,3% de NaOH + pH 6,5	165 horas (6,8 dias)
4% de NaOH + pH 6,5	5 horas (0,2 dias)
0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone + pH 5,5	213 horas (8,9 dias)
Sem pré-tratamento + pH 5,5	165 horas (6,8 dias)

Fonte: Autor.

A Perspectiva de Reuso Energético (PRE) busca adotar fontes renováveis e tecnologias sustentáveis para a produção de energia reduzindo o uso de combustíveis fósseis e os impactos ambientais (ELSEVIER, 2019). Com isso, a PRE avalia o potencial de converter matéria orgânica em energia útil de diferentes pré-tratamentos.

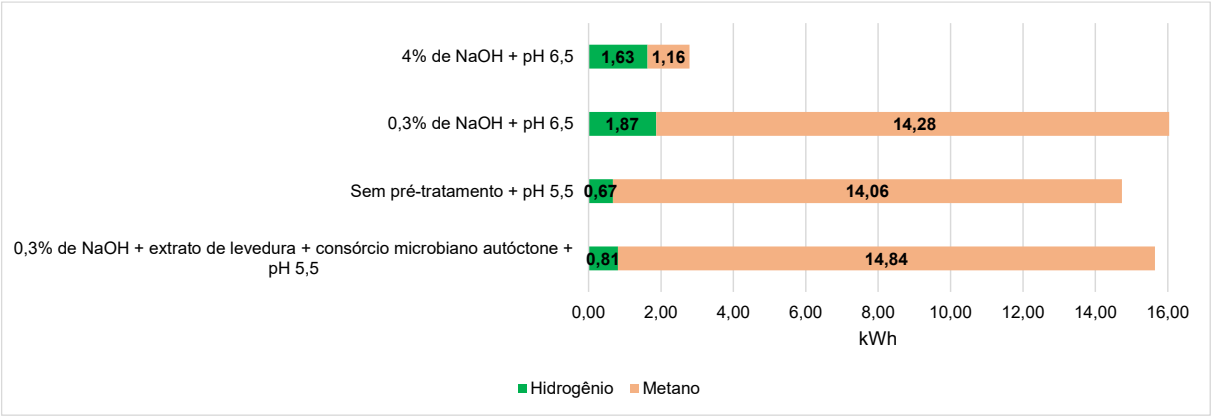
Foi verificado que a Perspectiva de Reuso Energético foi relativamente proporcional a produção acumulada tanto de gás hidrogênio quanto de gás metano. Dessa forma, para hidrogênio o reator que apresentou a melhor eficiência energética foi o reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH no pH 6,5 (300,19 kJ/Mol ou 1,87 kWh) enquanto para metano o mais promissor foi o reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone no pH 5,5 (2384,98 kJ/Mol ou 14,84 kWh). Considerando a produção de hidrogênio e metano, o reator mais promissor foi o reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH no pH 6,5 com 2.595,21 kJ/Mol ou 16,15 kWh no total (Figura 25 e Figura 26).

Figura 25: Perspectiva de Reuso Energético (PRE) dos reatores de Hidrogênio e Metano em kJ/Mol



Fonte: Autor.

Figura 26: Perspectiva de Reuso Energético (PRE) dos reatores de Hidrogênio e Metano em kWh



Fonte: Autor.

6) CONCLUSÕES

O pré-tratamento térmico e alcalino se mostrou eficiente para aumentar a disponibilidade de carboidratos e, conseqüentemente, a produção de hidrogênio e metano. Porém, o pH e a concentração de NaOH influenciam significativamente na produção de biogás.

A presença de ácidos como acético e butírico reforça como condições adequadas podem favorecer a produção de hidrogênio e metano enquanto a presença de ácido propiônico e etanol podem inibir a geração de H_2 , indicando um estresse metabólico.

Para a produção de hidrogênio, a condição do reator operado com resíduo pré-tratado com adição de 0,3% de NaOH no pH 6,5 se mostrou a mais promissora, apresentando o maior volume acumulado desse biocombustível gasoso. Essa condição possui rotas fermentativas relacionadas a produção de H_2 com a formação de ácido butírico e ácido acético.

Para a produção de metano, a condição com melhor resultado foi o efluente do reator com resíduo pré-tratado com 0,3% de NaOH + extrato de levedura + consórcio microbiano autóctone no pH 5,5, apresentando o maior volume acumulado de biogás e ausência de fase lag.

Reatores com pH extremo (pH 11), apresentaram fase lag, indicando que em pH mais elevado se faz necessário a adaptação microbiana. Também foi observado que pré-tratamentos do resíduo em concentrações mais elevadas de NaOH, como 4%, podem diminuir a produção de biogás quando comparadas com adições menores como 0,3% de NaOH.

Portanto, condições moderadas de pH e baixas adições de base são mais adequadas para maximizar a produção de biogás para o resíduo do processamento da laranja.

7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHINAS, S.; ACHINAS, V.; EUVERINK, G.J.W. A Technological Overview of Biogas Production from Biowaste. *Engineering*, v. 3, p. 299-307, 2017.

AGRIANUAL. *Anuário da Agricultura Brasileira*. 2016. Informa Economics FNP, São Paulo, SP, Brasil.

AGUILAR, R., RAMIREZ, J.A., GARROTE, G., & VAZQUEZ, M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *Journal of Food Engineering*, 55 (4), p. 309–318, 2002.

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

ANGELA, M., Adorno, T., Hirasawa, J.S., Bernadete, M., Varesche, 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). *Am. J. Analyt. Chem.* 05, 406–414 (2014). <https://doi.org/10.4236/AJAC.2014.57049>

APHA; AWWA; WEF. *Standard Methods for Examination of Water & Wastewater*. 21st ed. Washington, DC, USA: American Public Health Association, 2023.

APPELS, Lise; BAEYENS, Jan; DEGRÈVE, Jan; DEWIL, Raf. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 34, n. 6, p. 755–781, 2008.

AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007.

ASGHER, M., AHMAD, Z. IQBAL, H. M. N. Alkali and enzymatic delignification of sugarcane bagasse to expose cellulose polymers for saccharification and bio-ethanol production. *Industrial Crops and Products*, v 44, p. 488-495, 2013.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*, p. 858-875, 2010.

BEHERA, S., ARORA, R., NANDHAGOPAL, N., KUMAR, S. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v 36, p. 91-106, 2014.

BITTON, G. *Wastewater microbiology*. 3. ed. Hoboken: Wiley-Liss, 2005.

CAMARENA-MARTÍNEZ, M. E. et al. Performance Evaluation of Anaerobic Digestion of Agricultural Waste for Biogas Production: The Influence of Temperature and Organic Loading Rate. *Renewable Energy*, v. 145, p. 1517-1526, 2020.

CANILHA, L. et al. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 38(9), p. 1467-1475, 2011.

CARRERE, H. et al. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. *Journal of Hazardous Materials*, v. 183, p. 1–15, 2010.

CASSINI, S. T. (Coord.). *Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás*. Rio de Janeiro: ABES/Rima, 2003. 210 p. (Projeto PROSAB).

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

CHERNICHARO, C. A. de L. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios*. Belo Horizonte: Segrac, 1997, v. 5. 245 p.

COONEY, Michael; MAYNARD, Nathan; CANNIZZARO, Christopher; BENEMANN, John. Two-phase anaerobic digestion for production of hydrogen-methane mixtures. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 14, p. 2641–2651, 2007.

CREMONEZ, P. A. et al. Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: a review. *Journal of Environmental Management*, v. 281, p. 111854, 2021.

DE CARVALHO JÚNIOR, R. P. *Aplicação de resíduo do processamento industrial da goiaba em reatores anaeróbios para produção de bioprodutos de valor agregado*. Orientadora: Profa. Dra. Sandra Imaculada Maintinguer. 2021. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista – UNESP, 2022.

DEL NERY, V. Utilização do lodo anaeróbio imobilizado em gel no estudo da partida de reatores de fluxo ascendente com manta de lodo. São Carlos. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1987.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

ELSEVIER. Renewable Energy: Sources and Methods. 2019.

FAZZINO, F.; MAURIELLO, F.; PAONE, E.; SIDARI, R.; CALABRÒ, P. S. Integral valorization of orange peel waste through optimized ensiling: Lactic acid and bioethanol production. *Chemosphere*, v. 271, p. 129602, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129602>

FERRAZ, J. M. G.; MARRIEL, I. E. *Biogás: uma fonte alternativa de energia*. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1980.

GAO, M. et al. Opportunities and Challenges for Biogas Development: a Review in 2013–2018. *Current Pollution Reports*, 2019.

GUPTA, S. et al. Microbes and parameters influencing dark fermentation for hydrogen production. *Applied Sciences*, v. 14, n. 23, 10789, 2024.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 1, p. 10-18, 2009.

HIMMEL, Michael E.; DING, Shi-You; JOHNSON, David K.; ADNEY, William S.; NIMLOS, Mark R.; BRIGGS, Michael R.; BROWN, Daniel C. *Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production*. *Science*, v. 315, n. 5813, p. 804–807, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Produção Agrícola Municipal*. 2024. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html>. Acesso em: 28 abr. 2026.

Janas, A., et al. (2026). Anaerobic co-digestion of citrus wastewater and chicken manure for renewable biohydrogen production: the role of microbial functional balance.

https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=6551825

KAPDAN, I. K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 38, n. 5, p. 569–582, 2006.

Kim, S.H., Han, S.K. and Shin, H.S., 2006. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. *Process Biochemistry*, 41(1), pp.199-207.

KIM, S.; HOLTZAPPLE, M. T. Effect of structural features on enzyme digestibility of corn stover. *Bioresource Technology*, v. 96, p. 583–591, 2005.

KONDO, T. The relationship between intramolecular hydrogen bonds and certain physical properties of regioselectively substituted cellulose derivatives. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, v. 35, p. 717, 1997.

KUMAR, P.; BARRETT, D. M.; DELWICHE, M. J.; STROEVE, P. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 48, n. 8, p. 3713–3729, 2009.

LAY, J. J.; LEE, Y. J.; NOIKE, T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. *Water Research*, 1999.

LAY, J.-J.; LI, Y.-Y.; NOIKE, T. Developments of Bacterial Population and Methanogenic Activity in a Laboratory-Scale Landfill Bioreactor. *Water Research*, v. 32, n. 12, p. 3673–3679, 1998.

LEITÃO R.C. et al. Biodegradabilidade Anaerobia dos Resíduos Provenientes das Cadeias Produtivas dos Biocombustíveis: bagaço de Cana-de-açúcar. 2013. Embrapa Agroindústria Tropical 1e41, 1980-6841.

LIM, S. J.; KIM, T. ScienceDirect Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. *Biomass and Bioenergy*, v. 60, p. 189–202, 2014.

LINS, L. P. et al. *O aproveitamento energético do biogás como ferramenta para os objetivos do desenvolvimento sustentável*. Interações, Campo Grande, v. 23, n. 4, p. 1275-1286, 2022.

LIU, Dawei; LIU, Dapeng; ZENG, Raymond Jianxiong; ANGELIDAKI, Irini. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. *Water Research*, v. 40, n. 11, p. 2230–2236, 2006.

MAINTINGUER S, FERNANDES B, DUARTE I, SAAVEDRA N, ADORNO M, VARESCHE M. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. *International Journal of Hydrogen Energy* 2008;33. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.053>.

MARTÍN, M. A. et al. Kinetic evaluation of the psychrophilic anaerobic digestion of synthetic domestic sewage using an upflow filter. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 1, p. 131–137, 2010.

MATA-ALVAREZ, Joan; DOSTA, Joan; MACÉ, Sergio; ASTALS, Sergi. Codigestion of solid wastes: a review of its uses and perspectives including modeling. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 34, n. 2, p. 99–111, 2014.

MIRAHMADI, K.; KABIR, M. M.; JEIHANIPOUR, A.; KARIMI, K.; TAHERZADEH, M. J. Alkaline pretreatment of spruce and birch to improve bioethanol and biogas production. *Bioresources*, v. 5, n. 2, p. 928–938, 2010.

MOHD YASIN, N. H.; ABD RAHMAN, N. A.; CHE MAN, H.; MOHD YUSOFF, M. Z.; MOHD ALI HASSAN, M. Microbial characterization of hydrogen-producing bacteria in fermented food waste at different pH values. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 36, n. 16, p. 9571–9580, 2011.

MONTGOMERY, L. F. R.; BOCHMANN, G. *Pretreatment of feedstock for enhanced biogas production*. Paris: IEA Bioenergy, 2014. ISBN 978-1-910154-05-2.

Morimoto M, Atsuko M, Atif AAY, Ngan MA, Fakhru'IRazi A, Iyuke SE, et al. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. *Int J Hydrogen Energy* 2004;29:709–13.

MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y.Y., HOLTZAPPLE, M. e LADISCH, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v. 96, p. 673-686, 2005.

MUSSGNUG, J. H. et al. Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*, v. 150, n. 1, p. 51-56, 2010.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; FRANCISCO, C.; KALAKI, R. *O retrato da citricultura brasileira*. Ribeirão Preto: Markestrat, 2010.

PEREIRA Jr., N.; COUTO, M.A.P.G.; SANTA ANNA, L.M.M. (2008). Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. In *Series on Biotechnology*, Ed. Amiga Digital UFRJ, Rio de Janeiro, v.2, 45 p.

PEREIRA NETO, J. T. *Manual de compostagem: processo de baixo custo*. Viçosa-MG: Editora UFV, 2007. 81 p.

RAS, M. et al. Experimental study on a coupled process of production and anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 1, p. 200-206, 2011.

RICCI, A.; DIAZ, A. B.; CARO, I.; BERNINI, V.; GALAVERNA, G.; LAZZI, C.; BLANDINO, A. Orange peels: from by-product to resource through lactic acid fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 99, n. 15, p. 6761–6767, 2019. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9958>

RISSATO, A. B.; COQUEIRO, M.; SANTANA, N.; ALVARES, V. Exportação de suco de laranja concentrado brasileiro. *Anais do Simpósio Sul-Mato-Grossense de Administração*, 2021. Disponível em: <https://periodicos.ufms.br/index.php/SIMSAD/article/view/13399>.

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, 2020b.

SARKAR, N. et al. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, p. 19-27, 2012.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, v. 83, n. 1, p. 1–11, 2002.

TCHOBANOGLIOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S. Integrated solid waste management: engineering principles and management issues. New York: McGraw-Hill, 1993. 978 p.

Thauer, R.K., Jungermann, K. and Decker, K., 1977. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological reviews*, 41(1), pp.100-180.

VON SPERLING, M.; CHERNICARO, C. A. L. *Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions*. London: IWA Publishing, 2005.

WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 34, p. 799–811, 2009.

Yamamoto, L.A.; Janas, A.G.O.F.; Maintinguer, S.I. Agroindustrial Banana Wastes Applied in Biogas Production: Evaluation of Thermal Pretreatment on Alkaline Hydrolysis. *Bioenerg. Res.* 19, 89 (2026). <https://doi.org/10.1007/s12155-026-11024-0>

YARA BRASIL S.A. Produção mundial de citros. 2020. Disponível em: <http://pre.yarabrasil.com.br/conteudo-agronomico/blog/producao-mundial-de-citros/>. Acesso em: 28 abr. 2026.

ZEMA, D. A. Planning the optimal site, size, and feed of biogas plants in agricultural districts. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, v. 11, n. 3, p. 454–471, 2017. <https://doi.org/10.1002/bbb.1757>

ZHANG, Z.; et al. Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2016.

ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 42, p. 35–53, 2014.