

AVALIAÇÃO DE UM INÓCULO ANAERÓBIO MISTO APÓS ACLIMATAÇÃO E ENRIQUECIMENTO PARA O TRATAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Carolina R. Zanata[1]; Paulo A. Cremonez[1]

[1] *Universidade Tecnológica Federal do Paraná*
carolinaracinoskizanata@gmail.com

Palavras-Chave: digestão anaeróbia, efluentes agroindustriais, biogás.

Introdução

O aproveitamento de resíduos agroindustriais para produzir energia pode contribuir para reduzir seus impactos ambientais e a dependência de combustíveis fósseis. A digestão anaeróbia reúne essas duas possibilidades ao associar o tratamento da matéria orgânica à produção de biogás (Moraes et al., 2015; Cremonez et al., 2021). A recuperação de recursos também é discutida no tratamento anaeróbio de esgotos domésticos (Foresti et al., 2006). Nesse processo, diferentes grupos de microrganismos atuam na ausência de oxigênio, em quatro etapas interdependentes: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. O biogás formado é composto principalmente por metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) (Kunz et al., 2019).

O desempenho da digestão anaeróbia depende do equilíbrio entre suas etapas (Leitão et al., 2006). Nos resíduos lignocelulósicos, a estrutura da biomassa dificulta o acesso dos microrganismos e das enzimas aos componentes degradáveis. Por isso, a hidrólise pode limitar o processo, o que motiva o uso de pré-tratamentos (Amin et al., 2017). Já nos substratos facilmente fermentáveis, a formação de ácidos pode superar seu consumo nas etapas seguintes e favorecer a acidificação (Cremonez et al., 2021). Sobrecargas orgânicas e mudanças bruscas na operação também podem levar ao acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs), à redução da alcalinidade e à queda do pH (Leitão et al., 2006). Essas alterações afetam especialmente as arqueas metanogênicas, mais sensíveis ao pH do que os microrganismos fermentativos (Kunz et al., 2019).

Manter a biomassa ativa em condições ambientais adequadas é essencial para a estabilidade do processo (Foresti, 2002). A aclimatação pode favorecer a adaptação ou a seleção de microrganismos, como descrito para a exposição à amônia (Kunz et al., 2019). Isso, porém, não significa que a simples mistura de inóculos garanta maior tolerância a compostos inibitórios. A alcalinidade também tem papel importante, pois ajuda a evitar mudanças bruscas de pH (Kunz et al., 2019). Estudos com efluentes da suinocultura e da extração de fécula de mandioca mostram que a remoção de matéria orgânica e a produção de biogás variam conforme a carga orgânica e a retenção hidráulica (Amaral et al., 2014; Kuczman et al., 2014). No caso do efluente de fecularia, o pH, a relação acidez volátil/alcalinidade total (AV/AT) e a produção de biogás foram usados para acompanhar a estabilidade do reator (Kuczman et al., 2014). A avaliação do inóculo deve, portanto, considerar tanto sua produção de gás quanto o balanço ácido-base do meio.

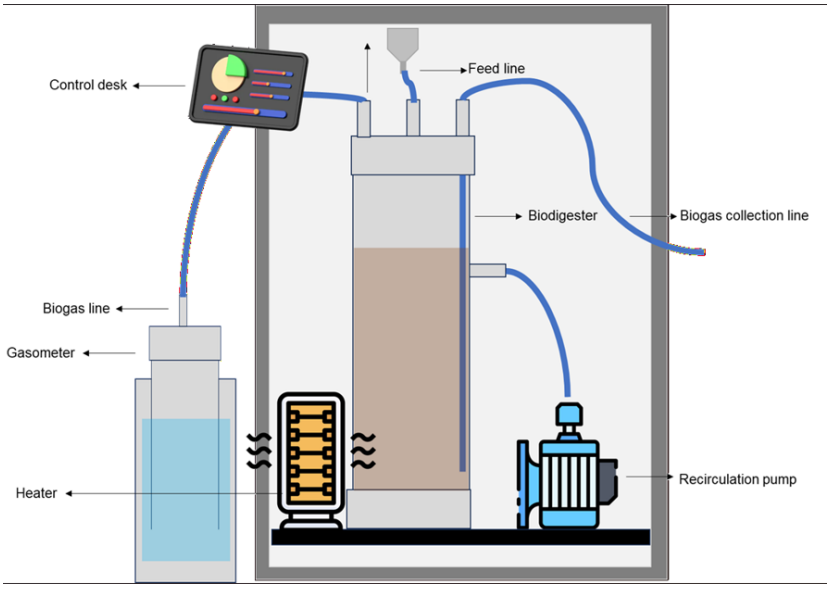
Este trabalho teve como objetivo avaliar a efetividade da otimização de um inóculo anaeróbio misto produzido em laboratório, considerando a produção e o rendimento de biogás

nos ensaios com dejetos bovinos sob diferentes relações inóculo/substrato. Para isso, o consórcio foi inicialmente aclimatado e enriquecido em um biodigestor de bancada de 24 L, no Laboratório de Bioprocessos da UTFPR – Campus Toledo, a partir de digestato suíno, digestato de laticínios e efluente bovino. O biodigestor matriz foi acompanhado por medições de pH, relação AV/AT e composição do biogás. Após essa etapa, o inóculo foi usado nos ensaios com dejetos bovinos. A avaliação incluiu o pH, a relação AV/AT, o nitrogênio total Kjeldahl (NTK), a série de sólidos e a composição do biogás, buscando relacionar as condições do meio ao desempenho da biomassa.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Bioprocessos da UTFPR – Campus Toledo. A Figura 1 apresenta o biodigestor de bancada utilizado no estudo.

Figura 1. Desenho esquemático do biodigestor e seus componentes.



Fonte: autoria própria (2026).

O biodigestor de bancada, construído em poli(cloreto de vinila) (PVC), tinha volume total de 24 L e foi mantido a 37 °C, com recirculação durante 5 min a cada 2 h. O reator recebeu volumes iguais de digestato suíno, digestato de laticínios e efluente bovino. A aclimatação durou 70 dias e foi seguida por 30 dias de otimização. Nessa última etapa, foram adicionados diariamente óleo de girassol, palha de capim, leite em pó e flocão de milho, para enriquecer o consórcio com diferentes tipos de substrato.

A estabilidade do biodigestor matriz foi acompanhada semanalmente. Ao longo das fases experimentais, foram determinados o pH por potenciometria, a acidez volátil (AV), a alcalinidade total (AT), a série de sólidos e o NTK, com base nas referências de métodos analíticos (APHA, 2023). A relação AV/AT foi calculada para acompanhar o balanço ácido-base, como no monitoramento descrito por Kuczman et al. (2014). A composição do biogás foi

analisada por cromatografia gasosa.

Após a otimização, o inóculo foi avaliado em um ensaio em batelada de 23 dias, com esterco de gado leiteiro como substrato e frascos de 200 mL de volume útil. O planejamento dos ensaios teve como referência as recomendações de Holliger et al. (2016), com as relações inóculo/substrato calculadas em base de sólidos voláteis (SV). Foram testadas as relações 0,55; 1; 2 e 3 g SV de inóculo por g SV de substrato, além de um Branco contendo apenas inóculo, sem adição de substrato. Todas as condições foram avaliadas em triplicata, totalizando 15 unidades experimentais. Foram avaliados a fração de SV removidos, o volume acumulado de biogás e o rendimento de biogás por massa de SV de substrato adicionada.

A análise estatística foi realizada no software R. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator, com nível de significância de 5% (α = 0,05). A normalidade dos resíduos foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade das variâncias, pelo teste de Levene. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Os resultados são apresentados como média ± desvio-padrão (n = 3).

Resultados e Discussão

Ao final da otimização, o biodigestor matriz apresentou relação AV/AT máxima de 0,14 e pH de 8,0. O pH ficou dentro do intervalo indicado por Holliger et al. (2016, p. 2518) para avaliar a qualidade do inóculo: entre 7,0 e 8,5. A relação AV/AT foi menor que 0,5, valor usado por Kuczman et al. (2014) no acompanhamento de um reator com efluente de fecularia.

O inóculo apresentou concentração inicial de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) de 1792 mg L^{-1}, parâmetro que engloba as frações orgânica e amoniacal. Segundo Holliger et al. (2016), concentrações de nitrogênio na forma de amônio inferiores a 2500 mg N-NH_4 L^{-1} são um dos indicativos de qualidade do inóculo. Considerando ambos os parâmetros expressos em massa de nitrogênio, a fração amoniacal não pode superar o NTK. Nessa base de comparação, o resultado da amostra inicial é compatível com o critério indicado pelos autores. Em ensaios com dejetos suínos, Hansen et al. (1998) relacionaram a inibição à amônia livre e às condições de operação. Para avaliar esse risco, é necessário distinguir as formas de nitrogênio e considerar também o pH e a temperatura (Kunz et al., 2019).

As análises cromatográficas mostraram fração normalizada máxima de CH_4 de 95,27% e mínima de CO_2 de 4,72%. Além da atividade microbiana, o pH influencia o equilíbrio entre CO_2 dissolvido, bicarbonato e carbonato, alterando a participação do CO_2 na fase gasosa (Kunz et al., 2019). Por isso, a interpretação desses resultados deve considerar o volume produzido e a base de normalização da análise, sem atribuir a composição apenas ao desempenho das arqueas metanogênicas.

A Tabela 1 reúne as características do inóculo e do substrato, além dos parâmetros físico-químicos medidos ao final dos ensaios com dejetos bovinos.



Tabela 1. Parâmetros físico-químicos do inóculo, do substrato (dejeto bovino) e dos reatores ao final dos ensaios em batelada para os diferentes tratamentos.

	Amostras		**Tratamentos**				
Parâmetro	**Inóculo**	**Substrato**	**Branco**	**0,55**	**1**	**2**	**3**
SV (g L^{-1})	5,228	6,818	52,09	16,18	24,34	53,21	62,841
AcT (mg L^{-1})	4125	1966	1650	2829,6	2299,8	1974,4	1866,3
AI (mg $CaCO_3$ L^{-1})	675	716,6	270	700	507,8	388,2	348,8
AP (mg $CaCO_3$ L^{-1})	3450	1250	1380	2130	1793,1	1586,3	1517,5
AT (mg $CaCO_3$ L^{-1})	1950	4125	780	3255	2143,3	1460,6	1233,8
AV/AT	0,09	0,32	0,036	0,228	0,142	0,089	0,071
pH	8	7,73	6,78	8,14	7,68	7,95	7,67

Fonte: autoria própria (2026).

Conforme a Tabela 1, ao final do ensaio, o pH dos reatores com inóculo e substrato variou de 7,67 a 8,14, enquanto o Branco apresentou pH de 6,78. Nos tratamentos com inóculo e substrato, a relação AV/AT ficou entre 0,071 e 0,228, sem indicação de acidificação acentuada nessa avaliação. O Branco, composto apenas por inóculo, apresentou relação AV/AT de 0,036. Sua produção de biogás representa a contribuição do próprio inóculo, e não a degradação do substrato adicionado. A relação AV/AT deve ser analisada junto com o pH e a produção de gás, e não como um indicador isolado de desempenho (Kuczman et al., 2014; Leitão et al., 2006). Como essas medições representam o final do ensaio, elas não permitem descartar oscilações durante os 23 dias.

A Tabela 2 apresenta as médias, os desvios-padrão e os resultados dos testes estatísticos. A ANOVA indicou diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) para as três variáveis avaliadas.

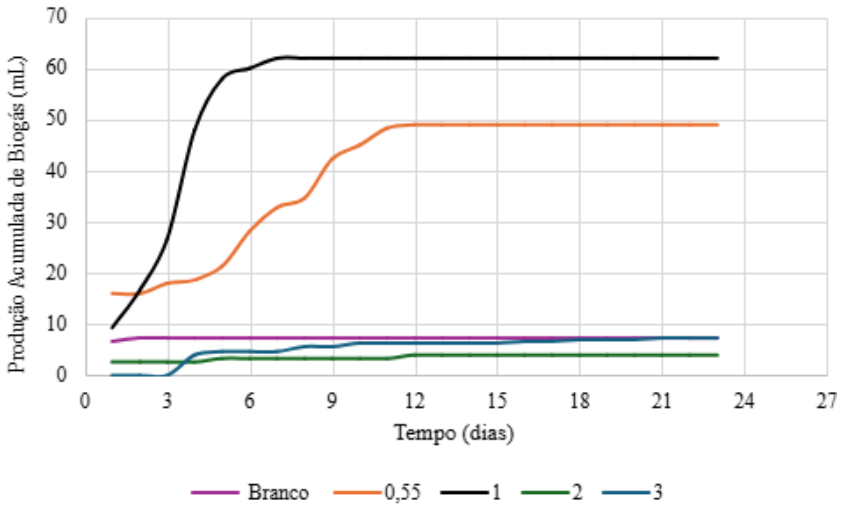
Tabela 2. Desempenho produtivo dos ensaios em batelada e resumo estatístico (ANOVA e Tukey) para as variáveis-resposta avaliadas.

Tratamento	**SV removidos** (%)	**Biogás acumulado** (mL)	**Rendimento** (mL g^{-1} de SV)
Branco	26,13 ± 13,50^{b}	7,33 ± 1,15^{b}	0,00 ± 0,00^{c}
0,55	70,17 ± 1,61^{a}	49,00 ± 9,64^{a}	59,89 ± 11,79^{b}
1	57,86 ± 12,49^{a}	62,00 ± 10,58^{a}	137,56 ± 23,48^{a}
2	43,27 ± 16,78^{ab}	4,00 ± 4,00^{b}	17,78 ± 17,78^{bc}
3	14,69 ± 1,96^{b}	7,33 ± 5,69^{b}	48,89 ± 37,91^{b}
F	12,24	44,26	17,29
p (ANOVA)	0,000724	0,0000025	0,000173
Normalidade (*p*)	0,7767	0,9975	0,7963
Homocedasticidade (*p*)	0,6447	0,6831	0,465

Médias ± desvio-padrão (n = 3). Letras em comum na coluna: sem diferença pelo teste de Tukey a 5%.
Fonte: autoria própria (2026).

Conforme a Tabela 2, o Tratamento 1 apresentou o maior rendimento médio de biogás, de 137,56 ± 23,48 mL g^{-1} de SV, e volume acumulado de 62,00 ± 10,58 mL. Pelo teste de Tukey, seu rendimento foi superior ao dos demais tratamentos, mas o volume acumulado não diferiu significativamente do Tratamento 0,55. Portanto, a principal vantagem do Tratamento 1 foi o rendimento por massa de SV de substrato adicionada. A Figura 2 mostra a evolução da produção acumulada ao longo dos 23 dias.

Figura 2. Cinética de produção acumulada de biogás nos tratamentos com dejetos bovinos sob diferentes relações inóculo/substrato e no Branco contendo apenas inóculo.



Fonte: autoria própria (2026).

A Figura 2 mostra que, a partir do 12º dia, as curvas permanecem praticamente constantes, sem incrementos expressivos na produção acumulada de biogás em nenhum dos tratamentos. Essa observação visual indica uma estabilização da produção até o encerramento do ensaio. A comparação apresentada na Tabela 2 também mostra que os tratamentos com relações inóculo/substrato de 2 e 3 apresentaram baixos volumes acumulados, sem diferença significativa em relação ao Branco. Nas condições deste ensaio, portanto, aumentar a proporção de inóculo não trouxe ganho de produção. Esse resultado reforça a importância de ajustar a relação inóculo/substrato ao material avaliado.

A literatura também mostra que a escolha dessa relação depende do substrato. Holliger et al. (2016) recomendam valores entre 2 e 4 para muitas aplicações, mas admitem relações menores ou iguais a 1 para materiais de degradação mais lenta, como os lignocelulósicos. Essa orientação ajuda a contextualizar o desempenho do Tratamento 1, sem explicar, por si só, sua causa. Em outro estudo, Lallement et al. (2021) observaram que a origem do inóculo não alterou significativamente o rendimento de metano do esterco bovino, embora tenha influenciado o da palha. A resposta varia, assim, conforme a combinação de inóculo, substrato e condições do ensaio.

Uma distinção importante para comparar esses resultados com a literatura é que o rendimento aqui apresentado se refere ao biogás. Já o potencial bioquímico de metano (PBM) considera o volume de metano seco, em condições padronizadas, por massa de SV de substrato adicionada, com desconto da contribuição do inóculo (Holliger et al., 2016). O Branco deste estudo continha apenas inóculo, sem adição de substrato, permitindo estimar sua contribuição à produção de gás. A correção dos volumes requer descontar essa contribuição, considerando a quantidade de inóculo presente em cada unidade experimental. Além disso, a estabilização visual das curvas não substitui o critério de encerramento recomendado: produção diária de metano inferior a 1% do volume acumulado por três dias consecutivos (Holliger et al., 2016). Os dados permitem, portanto, comparar os tratamentos avaliados, mas não afirmar que o ensaio atende a todos os critérios de validação de um teste de PBM.

Conclusões

Após a aclimatação e a otimização, o consórcio anaeróbio misto produziu biogás nos ensaios com dejetos bovinos. A relação inóculo/substrato influenciou a fração de SV removidos, o volume acumulado e o rendimento de biogás. Entre as condições testadas, a relação 1 apresentou o maior rendimento por massa de SV de substrato adicionada, enquanto seu volume acumulado não diferiu significativamente do obtido na relação 0,55. As relações 2 e 3 não trouxeram ganho de produção. Os reatores com inóculo e substrato mantiveram pH final entre 7,67 e 8,14, sem indicação de acidificação acentuada nessa avaliação. Esses resultados destacam a importância do ajuste da relação inóculo/substrato no aproveitamento energético de dejetos bovinos.



Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, aos meus amigos, à minha família, à UTFPR, campus Toledo, e à UFPR, campus Palotina, pelo apoio.

Referências

AMARAL, A. C. do; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; CANTELLI, F.; SCUSSIATO, L. A.; JUSTI, K. C. Swine effluent treatment using anaerobic digestion at different loading rates. *Engenharia Agrícola*, 34(3), 567–576, 2014. DOI: 10.1590/S0100-69162014000300019.

AMIN, F. R.; KHALID, H.; ZHANG, H.; RAHMAN, S. U.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. *AMB Express*, 7, 72, 2017. DOI: 10.1186/s13568-017-0375-4.

APHA; AWWA; WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 24. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2023.

CREMONEZ, P. A.; TELEKEN, J. G.; MEIER, T. R. W.; ALVES, H. J. Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. *Journal of Environmental Management*, 281, 111854, 2021. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111854.

FORESTI, E. Anaerobic treatment of domestic sewage: established technologies and perspectives. *Water Science and Technology*, 45(10), 181–186, 2002. DOI: 10.2166/wst.2002.0324.

FORESTI, E.; ZAIAT, M.; VALLERO, M. V. G. Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: consolidated applications, new trends, perspectives, and challenges. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 5(1), 3–19, 2006. DOI: 10.1007/s11157-005-4630-9.

HANSEN, K. H.; ANGELIDAKI, I.; AHRING, B. K. Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia. *Water Research*, 32(1), 5–12, 1998. DOI: 10.1016/S0043-1354(97)00201-7.

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D. et al. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science & Technology*, 74(11), 2515–2522, 2016. DOI: 10.2166/wst.2016.336.

KUCZMAN, O.; TAVARES, M. H. F.; GOMES, S. D.; GUEDES, L. P. C.; GRISOTTI, G. Cassava starch extraction effluent treatment in a one phase tubular horizontal pilot reactor with support medium. *Engenharia Agrícola*, 34(6), 1270–1282, 2014. DOI: 10.1590/S0100-69162014000600021.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. do (ed. téc.). *Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato*. Concórdia: Sbera; Embrapa Suínos e Aves, 2019. 209 p. ISBN 978-85-93823-01-5.

LALLEMENT, A.; SIAUD, A.; PEYRELASSE, C.; KAPARAJU, P.; SCHRAAUWERS, B.; MAUNAS, S.; MONLAU, F. Impact of operational factors, inoculum origin, and feedstock preservation on the biochemical methane potential. *Bioengineering*, 8(11), 176, 2021. DOI: 10.3390/bioengineering8110176.

LEITÃO, R. C.; VAN HAANDEL, A. C.; ZEEMAN, G.; LETTINGA, G. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. *Bioresource Technology*, 97(9), 1105–1118, 2006. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.12.007.

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44, 888–903, 2015. DOI: 10.1016/j.rser.2015.01.023.