



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E
AMBIENTAL**

KESSIA CAROLINE DANTAS DA SILVA

**EFEITO DA RELAÇÃO INOCULO/SUBSTRATO NO POTENCIAL
BIOQUÍMICO DE PRODUÇÃO DE METANO EM BAGAÇO DA UVA**

JUAZEIRO - BA

2019

KESSIA CAROLINE DANTAS DA SILVA

**EFEITO DA RELAÇÃO INOCULO/SUBSTRATO NO POTENCIAL
BIOQUÍMICO DE PRODUÇÃO DE METANO EM BAGAÇO DA UVA**

Trabalho apresentado a Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Juazeiro, como requisito para obtenção do título de bacharel em Engenharia Agrícola e Ambiental.

Orientadora: Prof.^a DSc. Miriam Cleide Cavalcante de Amorim

JUAZEIRO - BA

2019

Silva, Kessia Caroline Dantas
S586e Efeito da relação inoculo/substrato no potencial bioquímico de produção de metano em bagaço da uva. / Kessia Caroline Dantas da Silva. – Juazeiro - BA, 2019.
xii, 43 f. : il. ; 29 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Juazeiro - BA, 2019.

Orientador (a): Prof. (a) Dra. Miriam Cleide Cavalcante de Amorim

1. Biometano. 2. Resíduo Agroindustrial. 3. Digestão anaeróbia. 4. Matéria orgânica. I. Título. II. Amorim, Miriam Cleide Cavalcante de. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 363.73874

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E
AMBIENTAL**

FOLHA DE APROVAÇÃO

KESSIA CAROLINE DANTAS DA SILVA

**EFEITO DA RELAÇÃO INOCULO/SUBSTRATO NO POTENCIAL
BIOQUÍMICO DE PRODUÇÃO DE METANO EM BAGAÇO DA UVA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrícola e Ambiental, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovado em: 01 de agosto de 2019.

Banca Examinadora



(Miriam Cleide Cavalcanti de Amorim, Doutora, UNIVASF).



(Antônio Pereira Filho, Doutor, UNIVASF).



(Paula Tereza de Souza e Silva, Doutora, EMBRAPA).

À minha família...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado força e paciência para superar as dificuldades e seguir em frente.

À minha família, a meu pai Wilson Alves, a minha mãe Neuza Dantas, e a meus irmãos, que sempre estiveram do meu lado, agradeço por todo incentivo, carinho e atenção.

À todos os amigos que fiz durante esses anos, obrigada por todas as risadas, cumplicidade, e apoio em todos os momentos que passamos.

À minha orientadora, Prof.^a Miriam Cleide, por todo suporte, atenção e orientações imprescindíveis para a concretização deste trabalho.

À Damiana, técnica do Laboratório de Engenharia Ambiental, por toda paciência, bom humor e disponibilidade em ajudar.

Ao PET Saneamento, que me proporcionou aprendizado, e ao grupo de Resíduos Sólidos pelo suporte e dedicação.

À UNIVASF, pela oportunidade, e aos professores do Colegiado de Engenharia Agrícola e Ambiental, por todo conhecimento transmitido que contribuiu para a minha formação.

À todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada!

"É ótimo celebrar o sucesso, mas mais importante ainda é assimilar as lições trazidas pelos erros que cometemos". - Bill Gates

RESUMO

O processo de industrialização da uva gera uma variedade de resíduos, e o bagaço é o principal resíduo gerado no processo de vinificação, que se manejado de forma inadequada pode resultar em poluição devido ao alto conteúdo de matéria orgânica biodegradável e sólidos. Dessa forma, faz-se necessário a utilização de tecnologias para agregar valor ao resíduo, além de diminuir o impacto ambiental. Uma delas é a digestão anaeróbia que permite obter metano por meio da ação dos microrganismos, sendo vista como uma forma adequada para o tratamento e destinação de resíduo agroindustrial. O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da relação inóculo (microrganismos)/substrato (bagaço da uva) no Potencial Bioquímico de Metano (PBM) do bagaço da uva. O experimento foi realizado em escala laboratorial através de um sistema de frascos reatores em batelada, removendo um conjunto de triplicata de frascos para amostragem e análise, a cada intervalo de 48 horas, tendo o teste duração de 12 dias. Os frascos reatores continham resíduo, inóculo e 20% de solução nutritiva, mantendo 20% de *headspace*. Foram incubados em estufa na temperatura mesófila ($35 \pm 2^\circ\text{C}$) e agitados manualmente a cada 24 horas. A quantificação do metano foi realizada por meio da coleta do biogás produzido. Foram utilizadas 3 diferentes relações inóculo/substrato (I/S) 0,75, 1,5 e 3, avaliando a biodegradabilidade e produção específica de metano do bagaço da uva, através de ensaios de PBM, determinando ainda, as remoções orgânicas relativas ao processo de digestão. Dentre as relações estudadas, a relação I/S 3 proporcionou os resultados mais promissores para carregamento de sistemas anaeróbios, indicando que o bagaço da uva apresenta potencial de tratamento biológico através da digestão anaeróbia.

Palavras-chave: Digestão anaeróbia. Resíduo agroindustrial. Biogás. Biometano. *Vitis vinifera*.

ABSTRACT

The grape industrialization process generates a variety of residues, and bagasse is the mainstay of a poorly managed vinification process that can result in large amounts of solid and biodegradable organic material. Thus, it is necessary to use technologies to add value to the waste, in addition to reducing the environmental impact. One of them is an anaerobic digestion that allows methane to be obtained through the action of microorganisms, being seen as an appropriate way for the treatment and disposal of agro-industrial waste. The objective of this work was the effect of the inoculum (microorganisms) / substrate (grape marc) relationship on the Biochemical Potential of grape marc methane (BPM). The experiment was performed on a laboratory scale using a batch reactive vial system, removing a set of vial samples for sampling and analysis, with a 48-hour interval, with a lasting test of 12 days. Reactor flasks contain residue, inoculum and 20% nutrient solution while maintaining 20% headspace. They were incubated in the mesophilic greenhouse (35 ± 2 ° C) and shaken manually every 24 hours. Methane quantification was performed by collecting biogas produced. Three different inoculum/substrate (I/S) 0.75, 1.5 and 3, were used to evaluate the biodegradability and specific methane production of grape marc through BPM assays and to determine the organic removals related to digestion process. Among the studied relationships, the I/S 3 ratio provided the most promising results for the anaerobic system making, and the grape bagasse has potential for biological treatment through anaerobic digestion.

Keywords: Anaerobic digestion. Agroindustrial waste. Biogas. Biomethane. *Vitis vinifera*.

LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1 - Remoções orgânicas nas diferentes relações I/S. (a) Remoção de SV. (b) Remoção de DQO. 25
- Figura 2 - Micrografia de amostra do inoculo I/S 0,75, mostrando predomínio de cocos agrupados (*Methanosarcinas sp*) e isolados (setas) além de bacilos curtos e bacilos com extremidades arredondadas (círculos). 30
- Figura 3 - Micrografias de amostras do inoculo I/S 0,75, mostrando bacilos longos (elipses) e curtos (círculo). 31

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 -	Condições experimentais utilizadas para os diferentes ensaios de PBM realizados.	21
Tabela 2 -	Caracterização físico-química do inóculo, substrato e relações I/S.	22
Tabela 3 -	Resultados de metanização (%M) e Biodegradabilidade (%BD).	24
Tabela 4 -	Volume de biogás, percentual e volume de metano para as relações I/S.	26
Tabela 5 -	Rendimentos de metano.	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Resíduos Agroindustriais da Uva	14
2.2 Digestão Anaeróbia de Resíduos Orgânicos.....	15
2.2.1 Potencial Bioquímico de Metano (PBM)	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	17
4. ARTIGO 1 – EFEITO DA RELAÇÃO INOCULO/SUBSTRATO NO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE PRODUÇÃO DE METANO EM BAGAÇO DA UVA	22
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAIS E MÉTODOS	25
Substrato e inoculo	25
Configuração experimental do Ensaio de PBM	26
Relações inoculo/substrato utilizadas no PBM	27
Coleta e Caracterização do Biogás	28
Morfologia da comunidade microbiana do inóculo.....	29
Análises Estatísticas	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
DQO metanizada e Biodegradação anaeróbia	29
Remoções Orgânicas.....	30
Rendimentos de Metano	32
<i>Rendimento em Relação aos Sólidos Voláteis</i>	32
<i>Rendimentos em Relação a DQO</i>	34
Morfologia da comunidade microbiana do inóculo.....	34
CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1 INTRODUÇÃO

O setor agrícola produz uma grande quantidade de subprodutos e resíduos representando um crescente interesse industrial, tanto por razões econômicas como por razões ambientais e de sustentabilidade. Isto também é verdadeiro quando estes resíduos são provenientes da vinificação (SPIGNO et al., 2008; THANARASU et al., 2018).

As vinícolas estão entre as indústrias que mais sofrem com o acúmulo de resíduos orgânicos, bem como entre as que buscam por novas tecnologias para agregar valores aos resíduos, além de diminuir o impacto ambiental. Embora as vinícolas gerem resíduos biodegradáveis, os mesmos necessitam de um tempo mínimo de degradação, constituindo uma fonte de poluentes (HUBER et al., 2012). O bagaço da uva é o principal resíduo gerado no processo de vinificação e a sua utilização tem um importante impacto na redução de resíduos, permitindo agregar valor, já que neste material, que hoje é desperdiçado e subutilizado, encontram-se várias substâncias bioativas e ricas em polifenóis (SALES et al., 2012).

Segundo Oliveira et al. (2018), o manejo inadequado de resíduos sólidos e semi-sólidos orgânicos podem resultar na poluição de águas superficiais e subterrâneas, solo e ar, devido ao alto conteúdo de matéria orgânica biodegradável. De acordo com Silva et al. (2014), atualmente os problemas que ocasionam preocupações para o setor das agroindústrias são em relação à geração de resíduos e seu destino final.

Dessa maneira, a valorização, o tratamento e descarte correto de resíduos orgânicos podem ser viabilizados através da digestão anaeróbica, degradando e estabilizando a matéria orgânica. O processo de biodigestão anaeróbia consiste na ação dos microrganismos em biodegradar os resíduos orgânicos, transformando-os em compostos orgânicos de cadeias menores (ESPOSITO et al., 2012).

A recuperação de energia por meio da digestão anaeróbica de resíduos agroindústrias, pode ser investigada por meio da realização de ensaios de potencial bioquímico de metano, em que é possível determinar a biodegradabilidade e rendimento de conversão de metano em substratos (ANGELIDAKI et al., 2009), monitorando o volume do biogás gerado a partir dos substratos, avaliando o poder de

degradação biológica dos resíduos por meio da produção total de biometano (SILVA et al., 2016).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resíduos Agroindustriais da Uva

A uva (*Vitis vinifera*) é uma das culturas fruteiras mais cultivadas em todo o mundo. A produção de uvas no Brasil em 2017 foi a maior da história vitícola, com 818.783 milhões de quilos produzidos destinados ao processamento (vinho, suco e derivados) (MELLO, 2018). Dessa maneira, a atividade vitivinícola é um dos principais setores industriais no processamento de alimentos (FILHO et al., 2018a).

No processo de industrialização da uva são gerados resíduos, subprodutos da vinificação, provenientes do esmagamento e da prensagem das uvas. A recuperação destes resíduos pode representar um grande avanço na manutenção do equilíbrio ambiental, visto que, para as vinícolas esta grande quantidade de resíduos é motivo de problemas de armazenagem, transformação ou eliminação em termos ecológicos e econômicos (CZAMANSKI, 2013). Assim, a vinificação envolve todos os passos realizados durante a elaboração de vinho, gerando diferentes resíduos caracterizados por alto conteúdo de compostos biodegradáveis e sólidos suspensos (NAVARRO et al., 2005).

Segundo Zhang et al. (2017), os subprodutos sólidos orgânicos da produção de vinho incluem o bagaço da uva, engaço, borras de vinho e lodo. O bagaço de uva consiste de casca de uva, polpa e sementes coletadas após extrato de suco de uva (ACHKAR et al., 2016; BARCIA et al., 2014). É um material lignocelulósico complexo, e um dos resíduos de vinícola mais abundantes e sem valor, gerados após a processo de prensagem (DEVESA-REY, 2011).

Esses resíduos representam um risco para o meio ambiente quando liberados sem tratamento adequado (MAKADIA et al., 2016). Segundo Ros et al. (2016), o uso de resíduos vinícolas *in natura* para fins agrícolas pode ser prejudicial, pois pode alterar o consumo de oxigênio no solo devido ao alto conteúdo orgânico desses resíduos. Isso pode resultar em vários problemas ambientais e públicos (RAHMANIAN et al., 2015).

Segundo Makadia et al. (2016), as recentes restrições em padrões ambientais, avanços na química moderna e na biotecnologia, juntamente com o interesse industrial na minimização de resíduos, resultaram em um interesse crescente na exploração de resíduos da indústria de vinhos.

2.2 Digestão Anaeróbia de Resíduos Orgânicos

A digestão anaeróbia (DA) é uma abordagem promissora e potente para a valorização sustentável dos recursos de biomassa em um futuro com economia de base biológica (ACHKAR et al., 2016). A busca por fontes de energia alternativas é objeto recorrente de pesquisas (FILHO et al. 2018b).

A DA de resíduos orgânicos fornece uma variedade de benefícios para a saúde pública, e para o meio ambiente, incluindo a produção de energia, redução de gases efeito estufa, a possibilidade de reciclagem de nutrientes, redução do volume de resíduos e redução de odores (PHAM et al., 2015). Sendo uma opção interessante para recuperação de energia de resíduos vinícolas com alto conteúdo orgânico. É simples de projetar e operar, requer condições operacionais amenas e gera biogás, rico em metano, que pode ser usado para produção de eletricidade (ELEUTHERIA et al., 2016).

Dessa maneira, as frações orgânicas de resíduos agrícolas são consideradas recursos energéticos renováveis promissores e podem ser exploradas através de um processo de DA (ACHKAR et al., 2016). Para Ros et al. (2014), a digestão anaeróbica dos subprodutos da produção de vinho mostra-se um tratamento muito promissor, já que é possível usar o biogás como fonte de energia limpa. Assim, através da digestão anaeróbica, o material orgânico contido na biomassa é convertido biogás, cujos principais constituintes são o metano (CH_4) e o carbono dióxido de carbono (CO_2) (KONRAD et al., 2016; RIBEIRO et al., 2016). Além disso, outro subproduto desta tecnologia, chamado biodigerido, é um fertilizante de alto valor para o cultivo de culturas e pode substituir fertilizantes minerais comuns (ACHINAS et al., 2017).

Tendo em conta que o uso do processo de digestão anaeróbica de biomassa da indústria do vinho é uma alternativa adequada, pois não só reduz os custos em energia, como é capaz de melhorar a eficiência do tratamento (MIGUEL E VIEIRA, 2009), em que, devido à sazonalidade do fluxo de carga orgânica das biomassas

dessas indústrias torna-se favorável, uma vez que os microrganismos presentes possibilitam a interrupção na alimentação de fluxo de carga (MOLINA et al., 2007).

Segundo Chernicharo (2007), os processos realizados em tratamentos biológicos são baseados na capacidade dos microrganismos em utilizar a matéria orgânica biodegradável presente no meio como fonte de alimento, transformando-a em subprodutos que podem se apresentar na forma líquida (água), sólida (lodo) ou na forma gasosa (CO_2 , CH_4).

Durante o processo, quatro complexas etapas se desenvolvem: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, cada qual ocorre com a predominância de grupos específicos de microrganismos, onde, o sucesso do tratamento no decorrer do processo, ocorre quando os microrganismos fermentativos e metanogênicos estejam coordenados entre si (KISPERGHER, 2013). Fatores como teor de nutrientes, umidade, disponibilidade de bactérias, teor de matéria orgânica, são algumas das propriedades que devem ser consideradas no processo de biodigestão. (FILHO et al., 2018b). Como também, para uma digestão eficiente, é imprescindível determinar as melhores condições de mistura, de modo a maximizar a produção de metano e evitar a inibição do processo (ÁLVAREZ et al., 2010).

2.2.1 Potencial Bioquímico de Metano (PBM)

Diferentes tipos de substratos, fornecem uma produção diferente de metano, que pode ser avaliado usando o potencial bioquímico de metano (PBM) (DECHRUGSA et al., 2013). O ensaio PBM é uma ferramenta útil para determinar a biodegradabilidade e rendimento de conversão de metano em substratos (ANGELIDAKI et al., 2009). De acordo com Angelidaki et al. (2009), com aumento da procura por sustentabilidade energética, tem-se aplicado de forma gradativa tecnologias para a produção de bioenergia evidenciando a importância da aplicação desses ensaios.

Os ensaios PBM fornecem um método barato e repetitivo para fazer comparações relativas da digestibilidade anaeróbica e produção potencial de biogás entre vários substratos (LESTEUR et al., 2010). Simplicidade, baixo custo e rápida resposta são algumas das vantagens reportadas em relação ao método PBM. (FILHO et al., 2018b). Determina o valor experimental da produção máxima de metano que gera uma quantidade conhecida de resíduos orgânicos (GONZÁLEZ et al., 2015),

possibilitando avaliar a biodegradabilidade de materiais residuais (BILGILI et al., 2009).

O PBM é a metodologia mais utilizada por acadêmicos e técnicos praticantes para determinar a produção máxima de metano de um determinado substrato (RAPOSO et al., 2011). Registrando o metano produzido quando o substrato é misturado com um inóculo anaeróbico ativo até que somente pequeno volume de metano é produzido (ANGELIDAKI et al., 2009; HOLLIGER et al., 2016).

O PBM é usado para otimizar a digestão anaeróbica que permite encontrar qual substrato tem o maior potencial e desse modo determinar a produção de metano em função de diferentes misturas (RODRIGUEZ et al., 2017). O grau e a taxa de degradação, bem como, o rendimento do biogás, dependem das características químicas e físicas do substrato, mas também, dos parâmetros escolhidos para operação do processo, como temperatura e tempo de retenção, que moldam a composição dos diferentes grupos microbianos e comunidades ativas no processo (SCHNÜRER, 2016). Assim, a probabilidade e taxa de degradação do substrato dependem da concentração de microrganismos durante o ensaio, o pH e a temperatura do inóculo e das amostras de resíduo utilizadas (CABEZA et al., 2016).

Como também, é influenciado pela relação entre inóculo e substrato e o tipo de substrato (RAPOSO et al., 2011), que segundo Dechrugsa et al. (2013), a relação inóculo/substrato foi identificada como um parâmetro chave que afeta a eficiência da degradação anaeróbia e, mais importante, a precisão do ensaio. Dessa forma, o ensaio PBM é hoje um parâmetro chave para avaliar viabilidade de implementação de um sistema de digestão anaeróbica em larga escala.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

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

ACHKAR, J. H.; LENDORMI, T.; HOBAIKA, Z.; SALAMEH, D.; LOUKA, N.; MAROUN, R. G.; LANOISELLÉ, J. L. Anaerobic digestion of grape pomace: Biochemical characterization of the fractions and methane production in batch and continuous digesters. *Waste Management* v. 50 p. 275–282, 2016.

ÁLVAREZ, J.A. et al. A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. *Bioresource Technology*, v.101, n.4, p.1153-1158, 2010.

ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; LIER, J. B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*. Oxford, v. 59, n. 5, p. 927-934, 2009.

BARCIA, M.T.; PERTUZATTI, P.B.; GO´MEZ-ALONSO, S.; GODOY, H.T.; HERMOSINGUTIERREZ, I. Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. *Food Chem.* v. 159, p. 95–105, 2014.

BILGILI, M.S.; DEMIR, A.; VARANK, G. Evaluation and modeling of biochemical methane potential (BMP) of landfilled solid waste: A pilot scale study. *Bioresour Technol.* v. 100, p. 4976-4980, 2009.

CABEZA I.; THOMAS M.; VÁSQUEZ A.; ACEVEDO P.; HERNÁNDEZ M. Anaerobic Co digestion of Organic Residues from Different Productive Sectors in Colombia: Biomethanation Potential Assessment. *Chemical Engineering Transactions*, v. 49, p. 64-71, 2016.

CHERNICHARO, C. A. de L. *Reatores anaeróbios*. 2ª edição. Belo Horizonte, MG: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 1997.

CHERNICHARO, C.A.L. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios*. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, v.5, p. 379, 2007.

CZAMANSKI, R.T. *Prospecção de atividade antibacteriana em resíduos da viticultura na perspectiva da desinfecção e antissepsia aplicadas à saúde e à produção animal, bem como à agricultura familiar*. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – UFRG. Porto Alegre, p. 191, 2013.

DECHRUGSA, S.; KANTACHOTE, D.; CHAIPRAPAT, S. Effects of inoculum to substrate ratio, substrate mix ratio and inoculum source on batch co-digestion of grass and pig manure. *Bioresource Technology* v. 146 p. 101–108, 2013.

DEVESA-REY, R.; VECINO, X.; VARELA-ALENDE, J.L.; BARRAL, M.T.; CRUZ, J.M.; MOLDES, A.B. Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. *Waste Management* v. 31 p. 2327–2335, 2011.

ELEUTHERIA N.; MARIA, I.; VASILIKI, T.; ALEXANDROS, E.; ALEXANDROS, A.; VASILEIOS, D. Energy Recovery and Treatment of Winery Wastes by a Compact Anaerobic Digester. *Waste Biomass Valor* v. 7 p. 799 – 805, 2016.

ESPOSITO, G.; FRUNZO, L.; PANICO, A.; PIROZZI, F. Bio-Methane Potential Tests To Measure The Biogas Production From The Digestion and Co-Digestion of Complex Organic Substrates. *The Open Environmental Engineering Journal*, v. 5, p. 1-8, 2012.

FILHO, D. A. S.; OLIVEIRA, L. R. G.; SCHIRMER, W. N.; SOBRINHO, M. A. M.; JUCÁ, J. F. T.; VASCONCELOS, T. L. Avaliação da produção de biogás a partir da codigestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos e glicerina residual. *Biofix Scientific Journal* v. 3 n. 2 p. 260-266, 2018b.

FILHO, M. G.; LUMI, M., HASAN, C., MARDER, M., LEITE, L. C.S.; KONRAD, O. Energy recovery from wine sector wastes: A study about the biogás generation potential in a vineyard from Rio Grande do Sul, Brazil. *Sustainable Energy Technologies and Assessments* v. 29 p. 44–49, 2018a.

GONZÁLEZ, M.; PÉREZ, S.; WONG, A.; BELLO, R.; YAÑEZ, G. Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia, *Revista Argentina de Microbiología*, v. 47, p. 229-235, 2015.

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; BOUGRIER, C.; BUFFIERE, P.; CARBALLA, M., DE WILDE, V., EBERTSEDER, F.; FERNANDEZ, B.; FICARA, E.; FOTIDIS, I.; FRIGON, J.-C.; DE LACLOS, H.F.; GHASIMI, D.S.M.; HACK, G.; HARTEL, M.; HEERENKLAGE, J.; HORVATH, I.S.; JENICEK, P.; KOCH, K.; KRAUTWALD, J.; LIZASOAIN, J.; LIU, J.; MOSBERGER, L.; NISTOR, M.; OECHSNER, H.; OLIVEIRA, J.V.; PATERSON, M.; PAUSS, A.; POMMIER, S.; PORQUEDDU, I.; RAPOSO, F.; RIBEIRO, T.; RUSCH PFUND, F.; STROMBERG, S.; TORRIJOS, M.; VAN EEKERT, M.; VAN LIER, J.; WEDWITSCHKA, H.; WIERINCK, I. Towards a Standardization of Biomethane Potential Tests. *Water Science Technol.* p. 1– 9, 2016.

HUBER K.; QUEIROZ J.H.; MOREIRA A.V.B.; RIBEIRO S.M.R. Caracterização Química Do Resíduo Agroindustrial Da Manga Ubá (*Mangifera indica L.*): Uma Perspectiva para a Obtenção de Antioxidantes naturais. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Ponta Grossa, 2012.

KISPERGHER, E. M. Digestão anaeróbia de efluentes da indústria de alimentos. *Dissertação (Mestrado) – UFPR. Curitiba*, 2013.

KONRAD, O.; AKWA, J.V.; KOCH, F.F.; LUMI, M.; TONETTO, J. Quantification and characterization of the production of biogas from blends of agro-industrial wastes in a largescale demonstration plant. *Acta Science* v. 38 n. 4, 2016.

LESTEUR, M.; BELLON-MAUREL, V.; GONZALEZ, C.; LATRILLE, E.; ROGER, J.M.; JUNQUA, G.; STEYER, J.P.; Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review. *Process Biochem.* v. 45 p.431-440, 2010.

MAKADIA, T. H.; SHAHSAVARI, E.; ADETUTU, E. M.; SHEPPARD, P. J.; BALL, A. S. Effect of anaerobic co-digestion of grape marc and winery wastewater on energy production. *Australian Journal of Crop Science* v. 10 p. 57 – 61, 2016.

MELLO, L.M.R. Panorama da produção de uvas no Brasil. Nota Técnica: Embrapa Uva e Vinho. *Campo & Negocio*, p. 75 – 78, 2018.

MOLINA, F.; RUIZ-FILIPPI, G.; GARCÍA, C.; ROCA, E.; LEMA, J.M. Winery effluent treatment at an anaerobic hybrid USBF pilot plant under normal and abnormal operation. *Water Sci Technol.* v. 56 n. 2 p. 25–31, 2007.

NAVARRO, P.; SARASA, J.; SIERRA, D.; ESTEBAN, S.; OVELLEIRO, J.L. Degradation of wine industry wastewaters by photocatalytic advanced oxidation. *Water Sci. Technol.* v. 51, p. 113–120, 2005.

OLIVEIRA, L. R. G.; FILHO, D. A. S.; VASCONCELOS, K. C.; LUCENA, T. V.; JUCÁ, J. F. T.; SANTOS, A. F. M. S. Methanization potential of anaerobic biodigestion of solid food waste. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.22, n.1, p.69-73, 2018.

PHAM, T.P.T.; KAUSHIK, R.; PARSHETTI, G.K.; MAHMOOD, R.; BALASUBRAMANIAN, R. Food-waste-to-energy conversion technologies: current status and future directions. *Waste Manage.* v. 38, p. 399–408, 2015.

RAHMANIAN, N.; BT ALI S.H.; HOMAYOONFARD, M.; ALI, N.J.; REHAN, M.; SADEF, Y.; NIZAMI, A.S. Analysis of physiochemical parameters to evaluate the drinking water quality in the state of Perak, Malaysia. *Journal of Chemistry*, 2015.

RAPOSO, F.; RUBIA, M.A.; FERNANDEZ-CERGI, V.; BORJA, R. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures, *Renewable Sustainable Energy Rev.* v. 16, p. 861–877, 2011.

RIBEIRO, E.M.; BARROS, R.M.; FILHO, T.G.L.; SANTOS, I.F.S.; SAMPAIO, L.C.; SANTOS, T.V.; Power generation potential in posture aviaries in Brazil in the context of a circular economy. *Sustain Energy Technol Assessments.* v. 18 p. 153 – 163, 2016.

RODRÍGUEZ, A.; ÁNGEL, J.; RIVERO, E.; ACEVEDO, P.; SANTIS, A.; CABEZA, I.; ACOSTA, M.; HERNÁNDEZ, M. Evaluation of the Biochemical Methane Potential of

Pig Manure, Organic Fraction of Municipal Solid Waste and Cocoa Industry Residues in Colombia. *Chemical Engineering Transactions*. v. 57, 2017.

ROS C.; CAVINATO, C.; BOLZONELLA, D.; PAVAN, P. Renewable energy from thermophilic anaerobic digestion of winery residue: Preliminary evidence from batch and continuous lab-scale trials. *Biomass and Bioenergy* v. 91 p. 150-159, 2016.

ROS, C.; CAVINATO, C.; PAVAN, P.; BOLZONELLA, D. Winery waste recycling through anaerobic co-digestion with waste activated sludge. *Waste Management* v. 34 p. 2028–2035, 2014.

SALES, N. F. F.; CRUZ A. P. G.; CABRAL L. M. C.; TORRES, A. G. Capacidade Antioxidante de Extratos Hidroalcoólicos do Bagaço De Uva Tinta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUIMICA, BUZIOS RJ, 2012.

SCHNÜRER, A. Biogas Production: Microbiology and Technology. In: Hatti-Kaul, R., Mamo, G., Mattiasson, B. (Eds.), *Anaerobes in Biotechnology*. Springer International Publishing Cham, p. 195–234, 2016.

SILVA, G. A.; MORAIS JUNIOR, J. A.; ROCHA, E. R. PROPOSTA DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA O TESTE DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DO METANO APLICADO A RESÍDUOS sólidos urbanos. Nota Técnica. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*. v. 21. n.1. p. 11-16. 2016.

SILVA, V. F.; BRITO, K. S. A.; NASCIMENTO, E. C. S.; FERREIRA, A. C.; BARACUHY, J. G. V. Qualidade de mudas oleaginosas em diversos substratos provenientes de agroindústrias. *Agropecuária Científica no Semiárido, Paraíba*, v.10, n.3, p.41-46, 2014.

SPIGNO, G.; PIZZORNO, T.; DE FAVERI, D.M. Cellulose and hemicelluloses recovery from grape stalks. *Bioresource Technology*. v. 99, 2008.

THANARASU, A.; PERIYASAMY, K.; DEVARAJ, K.; PERIYARAMAN, P.; PALANIYANDI, S.; SUBRAMANIAN, S. Tea powder waste as a potential co-substrate for enhancing the methane production in Anaerobic Digestion of carbon-rich organic waste. *Journal of Cleaner Production*, v. 199, p. 651-658, 2018.

ZHANG, N.; HOADLEY, A.; PATEL, J.; LIM, S.; LI, C. Sustainable options for the utilization of solid residues from wine production. *Waste Management* v. 60 p. 173–183, 2017.

4. ARTIGO 1 – EFEITO DA RELAÇÃO INOCULO/SUBSTRATO NO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE PRODUÇÃO DE METANO EM BAGAÇO DA UVA

RESUMO

O processo de industrialização da uva produz grandes volumes de resíduos sólidos orgânicos, sendo o bagaço da uva o principal resíduo gerado no processo de vinificação. Esses resíduos agroindustriais, configuram uma fonte de energia disponível, que quando dispostos de forma incorreta podem causar poluição devido ao seu alto conteúdo de matéria orgânica. Os resíduos da uva podem contribuir com a geração de energia por meio da digestão anaeróbia, vista como uma forma adequada para o tratamento e destinação de resíduos de biomassa agroindustrial, gerando CO₂ e CH₄. O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da relação inóculo/substrato no Potencial Bioquímico de Metano (PBM) do bagaço da uva. O experimento foi realizado em escala laboratorial através de um sistema de frascos reatores em batelada, removendo um conjunto de triplicata de frascos para amostragem e análise, a cada 48 horas, tendo o teste duração de 12 dias. Os frascos reatores continham resíduo, inóculo e 20% de solução nutritiva, mantendo 20% de *headspace*. Os frascos reatores foram incubados em estufa na temperatura mesófila (35± 2°C) e agitados manualmente a cada 24 horas. A quantificação do metano foi realizada por meio da coleta do biogás produzido, que foi submetido a análise de cromatografia gasosa. Foram utilizadas 3 diferentes relações inóculo/substrato (I/S) 0,75, 1,5 e 3, avaliando a biodegradabilidade e produção específica de metano do substrato (bagaço da uva), através de ensaios de PBM, determinando-se a DQO metanizada, biodegradabilidade, os rendimentos de metano com relação aos sólidos voláteis e DQO, remoções orgânicas e avaliando-se ao final da degradação a morfologia da comunidade bacteriana por meio de microscopia eletrônica de varredura. A relação I/S 3 proporcionou os resultados mais promissores para carregamento de sistemas anaeróbios, indicando que o bagaço da uva apresenta potencial de tratamento biológico através da digestão anaeróbia. O bagaço da uva também apresentou potencial para produção de produtos de valor agregado como os ácidos graxos.

Palavras-chave: Digestão anaeróbia. Resíduo agroindustrial. Biogás. Biometano. *Vitis vinifera*.

ABSTRACT

The process of industrialization of grapes produces large volumes of solid organic waste, and grape marc is the main residue generated in the winemaking process. These agroindustrial residues constitute an available energy source, which when improperly disposed can cause pollution due to their high content of organic matter. Grape residues can contribute to energy generation through anaerobic digestion, seen as an appropriate way for the treatment and disposal of agroindustrial biomass residues, generating CO₂ and CH₄. The objective of this work was to evaluate the effect of inoculum/substrate relationship on the biochemical potential of grape bagasse methane (PBM). The experiment was performed on a laboratory scale using a batch reactor flask system, removing a set of triplicate flasks for sampling and analysis every 48 hours, with the test lasting 12 days. Reactor flasks contained residue, inoculum and 20% nutrient solution, maintaining 20% headspace. Reactor flasks were incubated in an greenhouse at mesophilic temperature (35 ± 2°C) and shaken by hand every 24 hours. The methane quantification was performed by collecting the biogas produced, which was submitted to gas chromatography analysis. Three different inoculum/substrate (I/S) ratios (0.75, 1.5 and 3) were used to evaluate the biodegradability and specific methane production of the substrate (grape marc) through PBM assays, determining the COD methanized, biodegradability, methane yields with respect to volatile solids and COD organic removals and the evaluation of the bacterial community morphology by scanning electron microscopy at the end of the degradation. The I/S 3 ratio provided the most promising results for loading of anaerobic systems, indicating that grape pomace has potential for biological treatment through anaerobic digestion. Grape bagasse also presented potential for the production of value added products such as fatty acids.

Keywords: Anaerobic digestion. Agroindustrial waste. Biogas. Biomethane. *Vitis vinifera*.

INTRODUÇÃO

A produção de vinho é uma atividade que se destaca em todo o mundo (DEVESA-REY et al., 2011), produzindo grandes volumes de resíduos sólidos orgânicos. De acordo com Mello (2018), a produção de uvas no Brasil destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi de 818.783 milhões de quilos em 2017, 48,74% da produção total de uvas, o restante (51,26%) destinada ao consumo *in natura*. Segundo Silva et al. (2014), atualmente a preocupação no setor das agroindústrias são em relação à geração de resíduos e seu destino final. A alta geração em termos quantitativos e lenta biodegradabilidade em certos casos, causam impactos ambientais, e, em outros, a geração de subprodutos que podem ser tóxicos, cumulativos ou de difícil degradação (IPEA, 2012). O manejo inadequado de resíduos sólidos orgânicos podem resultar na poluição de águas superficiais e subterrâneas, solo e ar, devido ao alto conteúdo de matéria orgânica biodegradável (Oliveira et al., 2018).

Alguns dos subprodutos formados durante a vinificação podem ser usados para diferentes finalidades (DEVESA-REY et al., 2011). Segundo Zhang et al. (2017), os subprodutos sólidos orgânicos da produção de vinho incluem o bagaço da uva, engaço, borras de vinho e lodo. O bagaço da uva é o principal resíduo sólido orgânico das indústrias vinícolas e os principais componentes do bagaço da uva são sementes e casca (CHRIST & BURRIT, 2013; DUBA et al., 2015).

Além disso, segundo González et al. (2015), resíduos agroindustriais, configuram uma fonte de energia disponível, pois, segundo Avaci et al. (2013), pode-se recuperar biogás através da digestão anaeróbia é vista como forma ideal de tratamento de resíduos da biomassa. A digestão anaeróbia do substrato orgânico é um processo complexo que depende da atividade coordenada de um complexo microbiano para converter substratos orgânicos em biogás (ZHANG et al., 2013). Sendo uma tecnologia promissora para gestão de materiais orgânicos e produção de energia renovável, reciclagem de nutriente e redução de fluxos de resíduos (LI et al., 2018). Durante a redução da carga orgânica presente em um resíduo, há a minimização do poder poluente e dos riscos sanitários desses dejetos e ao mesmo tempo, tem-se como subproduto o biogás, que pode ser convertido em energia térmica ou elétrica e o biofertilizante utilizado como adubo (STEIL et al., 2002).

O processo da DA é regulado por fatores ambientais sendo alguns dos principais a temperatura (regime mesófilo ou termófilo) e o pH (Sabado-Ventura et al., 2014), e também a composição do resíduo e o estado físico e estrutura do substrato e a relação inóculo/substrato (ANGELIDAKI & SANDERS, 2004; ZARKADAS et al., 2016; CÓRDOBA et al., 2018).

A relação substrato/inóculo (S/I) é um importante parâmetro na digestão anaeróbia e é um dos fatores mais importantes para o início de uma equilibrada população microbiana no sistema anaeróbico (HAIDER et al., 2015; ZHU et al., 2014). Em trabalho realizado por Latifi et al. (2019), os resultados mostraram que a diminuição da relação I/S levou ao acúmulo de ácidos graxos e altas concentrações de amônia no reator, resultando em menores rendimentos de metano. Nesse sentido, a relação entre inoculo/substrato, ou ainda substrato/inoculo, que é incubada nos reatores, influencia na produção específica de metano, tendo em conta que diferentes resíduos requerem proporções distintas devido a características intrínsecas aos seus processos geradores.

Diante da diversidade de fatores que afetam a digestão anaeróbia, ensaios de biodegradabilidade anaeróbia são utilizados para estabelecer biodegradabilidade e determinar o potencial final de metano dos resíduos, mas também são usados para determinação da taxa de a biodegradação em geral (ANGELIDAKI & SANDERS, 2004) e testes de Potencial Bioquímico de Metano (BPM) podem ser utilizados para tais fins (HOLLIGER et al., 2016).

Dessa maneira, frente a geração de resíduos que faz parte do processo de industrialização da uva, a digestão anaeróbia se torna uma alternativa viável para tratamento e destinação de tais resíduos, como também, pode-se reverter em benefícios para o próprio sistema de produção da vitivinicultura. Assim o objetivo deste estudo, foi comparar a influência da relação inoculo/substrato no potencial bioquímico de metano do bagaço da uva, avaliando-se ao final da degradação a morfologia da comunidade bacteriana por meio de microscopia eletrônica de varredura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Substrato e inoculo

Para os ensaios de Potencial Bioquímico de Metano (PBM), foi utilizado como substrato o bagaço da uva prensada, remanescente do processo de vinificação

consistindo de cascas, sementes e umidade, sem engaço. A uva utilizada nesse processo, procede do cultivo de duas cultivares, a híbrida Isabel e BRS Violeta. O resíduo foi coletado na Vitivinícola Quintas São Braz, localizada na zona rural do município de Petrolina-PE, Brasil.

O procedimento de coleta e caracterização do bagaço da uva foi realizado conforme procedimentos da German Guideline VDI 4630 (2016) e da ABNT NBR 10007, onde foram coletadas amostras simples, retirando-se quatro sub-amostras de três seções (do topo, do meio e da base da pilha de resíduos), para integralizar a amostra composta, que foi embalada, identificada e transportada sob refrigeração. Para caracterização físico-química do bagaço da uva foram realizadas em triplicata, análises de sólidos totais e sólidos totais voláteis, pH, umidade, fósforo, nitrogênio total e demanda química de oxigênio (DQO), de acordo com APHA (2012), e matéria orgânica (MO) segundo Carmo e Silva (2012). Os metais níquel, ferro, potássio, sódio, cálcio, cobre, manganês, zinco e chumbo foram determinados por meio de digestão com ácido nítrico e posterior análise em espectrofotômetro de absorção atômica com atomização por chama de ar-acetileno no comprimento de onda específica para cada elemento químico analisado conforme APHA (2012).

A origem, os critérios de qualidade e a preparação do inóculo atenderam ao preconizado pela VDI 4630 (2016), sendo utilizado lodo anaeróbio proveniente da descarga de um reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) tratando esgotos domésticos em Estação de Tratamento da Companhia Pernambucana de Saneamento, situada em Petrolina – PE, Brasil. A atividade metanogênica específica do lodo para os substratos propionato, butirato e acetato é de 0,125 L CH₄ kg STV d⁻¹ considerada uma boa atividade para lodos anaeróbios (ANGELIDAK et al., 2009).

Configuração experimental do Ensaio de PBM

O ensaio de PBM foi conduzido por adaptação da VDI 4630 (2016) à metodologia do frasco sacrifício adotada por Amorim et al. (2013). O experimento foi conduzido em um sistema de 66 frascos reatores em batelada, cada um com volume total de 115 mL (HOLLIGER et al., 2016), sendo removido um conjunto de triplicata de frascos para amostragem e análise, a cada 48 horas, tendo o teste duração de 12 dias. Os frascos reatores continham resíduo, inóculo e 20% de solução nutritiva, preenchendo um volume útil de 92 mL, para manter 20% de *headspace* (ANGELIDAKI

et al., 2009). Os frascos reatores foram incubados em estufa na temperatura mesófila ($35 \pm 2^\circ\text{C}$) e agitados manualmente a cada 24 horas (SOUTO et al., 2010). A produção de metano devido a possível presença de substrato residual no inóculo foi subtraída através da realização de controles branco.

Relações inoculo/substrato utilizadas no PBM

Foram testadas três relações inoculo/substrato (I/S) 0,75, 1,5 e 3,0, que foram alcançadas mantendo-se uma concentração fixa de inoculo (15 gSV L^{-1}) e variando-se a concentração do substrato, de 5 a 20 gSV L^{-1} (Tabela 1).

Tabela 1 - Condições experimentais utilizadas para os diferentes ensaios de PBM realizados.

Relações (I/S)	Inoculo		Substrato	
	Volume (L)	Concentração (g SV L^{-1})	Volume (L)	Concentração (g SV L^{-1})
0,75	0,015	15	0,007	20
1,50	0,015	15	0,004	10
3,00	0,015	15	0,002	5

Previamente à montagem do experimento, 24 horas antes, foi realizada a aclimatização da biomassa microbiana nos frascos reatores, colocando-se apenas o lodo anaeróbico e a solução nutritiva, enriquecendo-os para posteriormente receberem o bagaço da uva. Após a mistura e homogeneização do inoculo e bagaço, foi aferido o pH do conteúdo dos frascos utilizando-se bicarbonato de sódio, deixando-os próximos da neutralidade. Por conseguinte, os frascos foram vedados com tampas de borracha nitrílica e lacres de alumínio, com auxílio de alicate recravador, onde, na borracha foi inserida uma agulha acoplada a uma seringa de 10 mL para coleta e medição do biogás realizadas diariamente.

A avaliação do efeito da relação I/S no PBM foi determinada pelo cálculo da DQO efetivamente transformada em metano (%M), da percentagem de biodegradação anaeróbia (%BD), pela percentagem de remoção de sólidos voláteis e DQO, e pelos rendimentos de metano por massa de sólidos voláteis adicionados ($\text{L CH}_4/\text{kg-SV}$) e por grama de DQO removida ($\text{L CH}_4/\text{kg-DQO}$).

O rendimento de metano (%R) foi calculado com relação ao metano teórico (V_{CH_4}) obtido segundo Chenicharo (2007) (Tabela 2). As características do substrato, do inoculo anaeróbio e das relações I/S estão dispostas na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização físico-química do inóculo, substrato e relações I/S.

Parâmetros	Unidades	Inóculo	Bagaço da uva	I/S		
				0,75	1,5	3,0
pH	-	8,15	3,72	7,23	7,40	7,53
Umidade	%	51,75	68,37	-	-	-
ST	g kg ⁻¹	90,73	473,34	217,25	125,78	172,29
STV	g kg ⁻¹	44,04	409,20	197,54	107,72	148,97
DQO	g L ⁻¹	-	36,30	4,88	3,39	2,71
MO	%	-	98	-	-	-
NT	%	0,89	1,31	-	-	-
NH ₃	g kg ⁻¹	1,82	0,02	-	-	-
P	mg L ⁻¹	90,14	542,98	-	-	-
K	g kg ⁻¹	5,80	0,14	-	-	-
Na	g kg ⁻¹	6,50	0,0022	-	-	-
Mg	g kg ⁻¹	1,50	0,0167	-	-	-
Ca	g kg ⁻¹	1,60	0,0024	-	-	-
Nitrato	g kg ⁻¹	0,11	0,062	-	-	-
Zn	mg kg ⁻¹	-	0,000	-	-	-
Cu	mg kg ⁻¹	-	0,034	-	-	-
Mn	mg kg ⁻¹	-	0,099	-	-	-
Fe	mg kg ⁻¹	-	1,648	-	-	-
Ni	mg kg ⁻¹	-	0,054	-	-	-
Pb	mg kg ⁻¹	-	0,000	-	-	-
AGV	mg HAc L ⁻¹	-	-	612,39	528,41	538,90
AT	mg HAc L ⁻¹	-	-	22,67	9,33	12,00
Volume teórico de CH ₄ (VT _{CH4})	(NL CH ₄ kg ⁻¹ SV _{adicionado})	-	-	45,51	68,49	136,79
AME	L CH ₄ kg STV d ⁻¹ .	0,125	-	-	-	-

*AME: Atividade Metanogênica Específica

Coleta e Caracterização do Biogás

A coleta do biogás foi realizada no período de 24 e 48 horas de experimento, tempo em que ocorreram picos de produção. Assim, a caracterização do biogás procedeu-se quanto à composição de metano e gás carbônico, no qual, uma parcela do biogás foi transferida para seringas plásticas de 10 mL com auxílio de válvulas de 3 vias que permitiam a conexão entre as seringas, e destas para frascos coletores de gás com borracha nitrílica.

O biogás foi caracterizado em cromatógrafo gasoso Agilent modelo 7890 A com detector do tipo FID equipado com metanador. A coluna utilizada foi a agilentHayesep Q 80/100. Foi utilizado o N₂ com fluxo de 25 mL min⁻¹ como gás de arraste. A temperatura do detector foi de 300°C, a do forno da coluna foi de 60°C e o tempo de

corrida de 11 min. Para os cálculos das concentrações foram construídas duas curvas de calibração, uma para o CO₂ (250, 500 e 1000 ppm) e CH₄ (0,5, 1 e 3 ppm).

O volume de metano produzido (V_{CH_4}) foi obtido por meio da composição e do volume do biogás, a taxa de produção de metano foi determinada em relação à DQO e aos SV adicionados. Os valores foram normalizados para a temperatura padrão e pressão (VDI 4630, 2016).

Morfologia da comunidade microbiana do inóculo

Ao final dos ensaios de PBM foram retiradas amostras da biomassa contida nos frascos reatores (inoculo) para caracterização por meio de exames em microscópio eletrônico de varredura (MEV), com a finalidade de distinguirem-se as principais morfologias celulares presentes na biomassa.

Adaptando-se a metodologia de Araújo et al. (2003), amostras de 0,5 mL de lodo foram fixadas com tampão fosfato (pH 7,3) contendo glutaraldeído 25%, por 2 h a 4 °C. Após a fixação, fez-se a desidratação com soluções de etanol lavando-se as amostras 6 vezes, em intervalos de 10 min, com concentrações crescentes (45, 70, 80, 95 e 100% v/v). Essas amostras foram fixadas em suportes de alumínio (*stubs*) com fita de carbono dupla face e secas a 30 °C em estufa, por 2 horas. Em seguida, as amostras foram cobertas com uma camada de ouro de 20 nm de espessura, no Sputter Quorum Modelo Q 150R ES, com corrente de 15 mA e tempo de metalização de 90 segundos. As observações foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura VEGA3 TESCAN.

Analises Estatísticas

Os resultados foram avaliados estatisticamente no software Sisvar® (versão 5.6), através de estatística descritiva e análise de variância (ANOVA) aplicando o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

DQO metanizada e Biodegradação anaeróbia

A DQO metanizada ou metanização (%M) e a biodegradabilidade (%BD) são apresentadas na tabela 3. Houve diferença significativa entre as relações I/S estudadas para a metanização, em que, a relação I/S 3 foi superior estatisticamente

às demais. Não houve diferenças significativas entre as relações I/S para a %BD, embora, numericamente a maior biodegradabilidade (16,50%) tenha sido observada na relação I/S 3.

Segundo Elbeshbishy e Nakhla (2012), valores muito próximos de metanização e biodegradabilidade enfatizam que não houve inibição da metanogênese, em que apresentem diferença percentual menor que 5%.

Em contrapartida, os valores obtidos alcançaram diferenças percentuais, entre a metanização e biodegradabilidade, de 70 – 74%, indicando que ao fim do tempo de digestão houve acúmulo de ácidos graxos voláteis, causando possível inibição. No entanto, tais dados expõem a aptidão do substrato em produzir ácidos graxos voláteis (AGV), que segundo Dahiya et al. (2015) devido a seus grupos funcionais, os AGVs são extremamente úteis para a indústria química. E, além disso, também são substratos para a produção hidrogênio, bem como biopolímeros, como polihidroxicarboxilatos (PHAs) (RAGANATI et al., 2014; DOMINGOS et al., 2017). Como foram produzidos em estudos realizados por Zhang e Angelidaki (2015), Liu et al. (2016), Garcia-Aguirre et al. (2017) e Cho et al. (2017).

Tabela 3 - Resultados de metanização (%M) e Biodegradabilidade (%BD).

Relação I/S	Metanização	Biodegradabilidade
	%	%
0,75	51,87b	14,52a
1,5	53,21b	15,72a
3,0	63,12a	16,50a
%CV	5,31	5,24

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si segundo teste de Tuckey a 5% de significância.

Remoções Orgânicas

Neste estudo a eficiência na remoção dos compostos orgânicos foi quantificada através do monitoramento das concentrações de sólidos voláteis e DQO de entrada e saída dos frascos reatores. A Figuras 1 apresenta as comparações entre as relações I/S estudadas.

A Figura 1a mostra a remoção de sólidos voláteis ao fim do tempo de digestão em função das relações I/S estudadas. Não houve diferença significativa segundo o teste de Tukey a 5% de significância, entre as relações de 0,75 e 3,0, que proporcionaram as maiores reduções, 59,22 e 59,24%, respectivamente. A relação de 1,5 obteve o menor percentual de redução em torno de 56,73%.

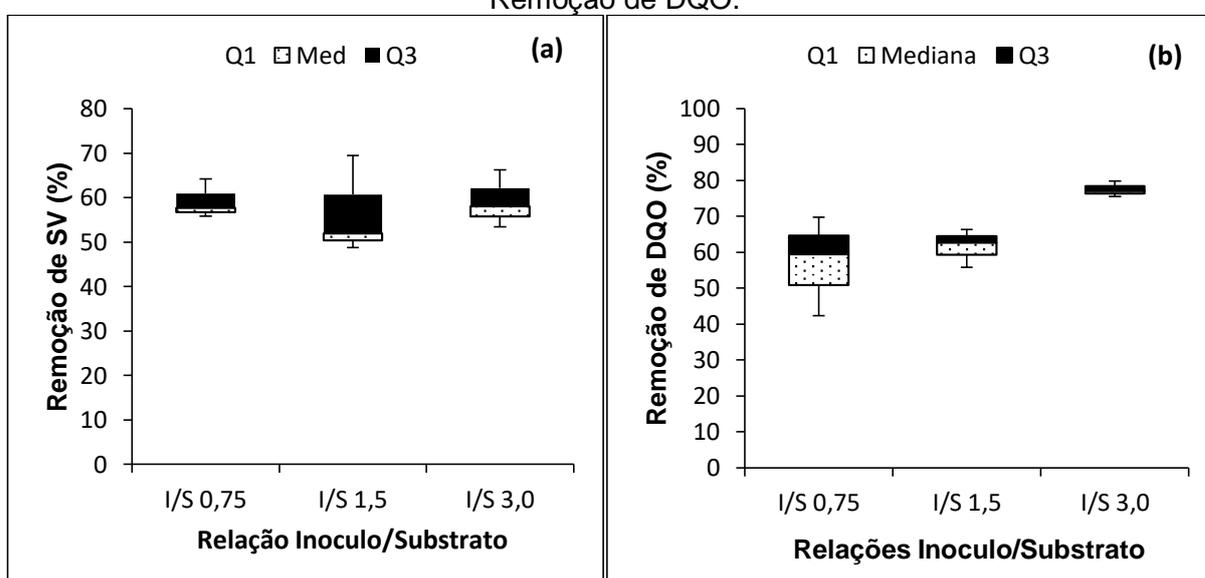
Em trabalhos realizados por Zhu et al. (2010), Brown e Li (2013), Shi et al. (2014), Li et al. (2016) e Li et al. (2018) as maiores reduções de SV foram obtidas nos reatores com os maiores rendimentos de metano, diferente do presente estudo, em que pode-se observar que as maiores remoções foram obtidas nas relações com extremos de carregamentos distintos, mostrando uma tendência incerta quanto a remoção de matéria orgânica e as relações inoculo/substrato, assim como em Córdoba et al. (2018). Ros et al. (2016) obtiveram percentuais de remoção de SV, também estudando resíduo de bagaço da uva de 12 – 35%.

A Figura 1b mostra a remoção de DQO ao fim do tempo de digestão em função das relações I/S estudadas. A relação I/S 3,0 obteve o melhor desempenho em percentual de remoção (77,5%), relação esta, que também obteve a melhor produção específica de metano em relação aos sólidos voláteis. Enquanto as relações de 1,5 e 0,75 obtiveram 61,7% e 57,2%, respectivamente.

Em estudo realizado por Leite et al. (2014), com resíduos tipicamente vegetais, além de lodo de esgoto sanitário, foi obtida uma remoção de 51% da DQO. Já Gueri et al. (2018) obtiveram uma redução de 80,98 - 81,63 %, utilizando resíduo alimentar e lodo anaeróbico em reatores de bancada. Talha et al. (2016) trabalhando com bagaço de cana, obtiveram uma remoção de DQO de 69,64%.

A remoção orgânica de DQO se mostra mais coesa em relação a de sólidos voláteis, apresentando maiores remoções conforme as relações I/S aumentam.

Figura 1 – Remoções orgânicas nas diferentes relações I/S. (a) Remoção de SV. (b) Remoção de DQO.



Rendimentos de Metano

Para os cálculos dos rendimentos de metano, foram utilizados os valores obtidos de volume de biogás, percentagem de metano e volume de metano, apresentados na Tabela 4, nos quais, houve diferença significativa entre as relações I/S aplicadas. Pode-se observar que a relação I/S 3, apesar de possuir o menor volume de biogás produzido, obteve o melhor percentual de metano. Em contrapartida, a relação I/S 0,75 obteve o menor percentual de metano, mesmo gerando a maior quantidade de biogás.

Tabela 4 - Volume de biogás, percentual e volume de metano para as relações I/S.

Relação I/S	$V_{\text{biogás}}$	CH_4	V_{CH_4}
	(mL)	%	(mL)
0,75	136,76 ^a	26,20 ^b	35,93 ^{ab}
1,5	133,60 ^a	31,64 ^a	42,27 ^a
3,0	87,40 ^b	33,80 ^a	29,54 ^b
%CV	8,30	6,74	12,41

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si segundo teste de Tuckey a 5% de significância.

Rendimento em Relação aos Sólidos Voláteis

A relação I/S 3 foi superior estatisticamente segundo o teste de Tukey a 5% de significância (Tabela 5), proporcionando os melhores resultados para a produção cumulativa de metano em relação a quantidade de SV adicionados em função do tempo, com 64,22 NL $\text{CH}_4\text{Kg}^{-1}\text{SV}_{\text{adicionado}}$, seguida pela relação I/S1,5 (45,96 NL $\text{CH}_4\text{Kg}^{-1}\text{SV}_{\text{adicionado}}$) e I/S 0,75 (19,42 NL $\text{CH}_4\text{Kg}^{-1}\text{SV}_{\text{adicionado}}$).

Evidenciando que quanto maior foi concentração de inoculo adicionada, em relação a de substrato, maior foi a produção de metano por grama de sólidos voláteis, com um aumento de 70% quando a relação I/S variou de 0,75 para 3. Raposo et al. (2008) também obtiveram os melhores resultados na mesma relação I/S de 3 utilizando resíduo proveniente do processamento de sementes de girassol.

Gunaseelan (2004) utilizando o bagaço e engaço da uva obtiveram um rendimento de 283 e 180 NL $\text{CH}_4\text{Kg}^{-1}\text{SV}_{\text{adicionado}}$, porém em 100 dias. Já Dinuccio et al. (2010) utilizando o bagaço e engaço da uva, com uma proporção substrato/inoculo de 1:2 durante 40 dias, obtiveram rendimentos de 98 e de 116 NL $\text{CH}_4\text{Kg}^{-1}\text{SV}_{\text{adicionado}}$, respectivamente. Diferentemente do obtido por Colussi et al. (2009) e Ros et al. (2016)

para o bagaço da uva, durante 40 dias, que obtiveram 150 e 360 NL CH₄Kg⁻¹SV_{adicionado}, respectivamente. Fabbri et al. (2015) utilizando também bagaço da uva, obtiveram 145-254 NL CH₄ Kg⁻¹SV_{adicionado}. Salienta-se que tal diferença nos rendimentos pode estar associada ao fato de que os estudos acima tiveram duração média de 60 dias, recomendando-se assim, que para ensaios de PBM sejam adotados como critério para finalização do experimento quando a taxa diária de biogás for equivalente a apenas 1% do volume de biogás produzido até aquele tempo de acordo com a VDI 4630 (2016).

Já em estudos utilizando lodo anaeróbico e sementes de uva, Caramiello et al. (2013) com uma relação I/S de 1, durante 38 dias e Carchesio et al. (2014) com uma relação I/S de 0,5 durante 54 dias, obtiveram 118,6 e 155,2 N L CH₄ Kg⁻¹SV_{adicionado}, respectivamente.

Moset et al. (2015) variando relação I/S de 0,5 – 2, constataram que uma relação mais alta fornece um PBM mais elevado para o milho (397,5 NL CH₄ Kg⁻¹SV_{adicionado}). Kawai et al. (2014) utilizando relações I/S de 0,25 – 3, também obtiveram os melhores resultados na relação mais alta (435 NL CH₄ Kg⁻¹SV) para resíduos alimentares. Já Pellerá e Gidaracos (2016) utilizaram relações I/S 0,5, 1, 2 e 4, obtiveram os melhores rendimentos na relação I/S 4 para resíduos de descaroçamento de algodão e na relação 2 para resíduos de uva (pele, semente e engaço). Rouches et al. (2019) avaliando o impacto das relações I/S (0,9, 0,5, 0,3, 0,1) na digestão anaeróbica de palha de trigo, observaram uma queda drástica na produção de metano nas menores relações.

Dessa maneira, o teste de potencial bioquímico de metano é uma técnica essencial para avaliar a implementação e otimização de biotecnologias anaeróbicas (SILVA et al., 2018). Embora essa técnica seja caracterizada por longos períodos de digestão, de 20 a mais de 100 dias (RAPOSO et al., 2012), o que não se adequa a necessidade de rápidas tomadas de decisão (SILVA et al., 2018), como no caso em questão de agroindustrias. Assim, levando em consideração que o período experimental do presente estudo, 12 dias, comparado a outros diversos estudos com resíduos orgânicos supracitados, sejam eles provenientes do processo de vinificação ou não, revela o potencial do bagaço da uva para produção específica de metano.

O rendimento de metano (%R) mostra que a produção de metano experimental foi acima de 40% para as relações I/S 0,75 e 3 do volume teórico de metano (VT_{CH₄}),

enquanto a relação I/S 1,5 obteve 67% de rendimento a partir do VT_{CH_4} (Tabela 5). Indicando que a fração orgânica removida anaerobiamente convertida em metano, a partir do tratamento do bagaço da uva, é uma alternativa viável para o aproveitamento dos resíduos do processamento da uva, frente a seu potencial poluidor se disposto *in natura* no meio ambiente, visto que, apresentou bons percentuais experimentais em relação aos teóricos.

Rendimentos em Relação a DQO

Segundo Jingura e Kamusoko (2017), o potencial de metano calculado em relação a DQO é uma metodologia destinada a economizar custos e tempo, utilizando o potencial teórico final de metano de um substrato a partir da concentração de DQO. O rendimento específico de metano variou entre 134 - 223 N LCH₄ Kg⁻¹ DQO_{removida}, a relação I/S 1,5 apresentou resultado estatisticamente superior as demais relações, que não diferiram entre si estatisticamente (Tabela 5).

Ros et al. (2016), realizaram ensaios com o bagaço da uva e obteve rendimentos de 136 – 402 N L CH₄ Kg⁻¹ DQO_{removida}. Enquanto, em ensaio realizado por Achkar et al. (2016) obtiveram-se rendimentos de 125 – 170 N L CH₄ Kg⁻¹ DQO_{adicionada}, em batelada. Observa-se que o maior rendimento em relação a DQO removida foi de 218 N L CH₄kg⁻¹DQO_{removida}, na relação I/S 1,5. Entretanto, a maior remoção de DQO ocorreu no I/S 3,0 (77,51%). Tendo em vista que recebeu a menor concentração de substrato em relação a de inoculo (15 g SV L⁻¹ / 5 g SV L⁻¹).

Tabela 5 - Rendimentos de metano.

Relações I/S	%R	L CH ₄ Kg ⁻¹ SV adicionados	L CH ₄ Kg ⁻¹ DQO _{removida}
0,75	42,80b	19,42c	134b
1,5	67,00a	45,96b	223a
3,0	47,00b	64,22a	153b
%CV	7,89	9,63	15,82

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si segundo teste de Tuckey a 5% de significância.

Morfologia da comunidade microbiana do inoculo

Em ordem de se investigar por qual motivo a relação I/S 0,75 obteve o menor percentual de metano entre as relações estudadas, foi realizado para tal relação, o estudo da morfologia da comunidade microbiana do inoculo de seus frascos reatores.

Assim, nas micrografias em MEV do inoculo I/S 0,75 (Figuras 2 e 3) percebe-se que houve predominância de morfologias de bactérias na forma de cocos semelhantes à *Methanosarcinas sp* (cocos aderidos ao grânulo setas) pertencentes ao domínio das *archeas*, além de bacilos longos (elipses) e curtos (círculo).

As *Methanosarcinas sp* são o único grupo juntamente com a *Methanosaeta sp* a metabolizarem o acetato para produção de metano. A *Methanosarcina* é capaz de crescer em outros substratos além do acetato tal como o hidrogênio e predominam em ambientes com alta concentração de acetato e pH entre 5,9 e 6,4. A relação I/S 0,75 apresentou o valor de 4872 mg H Ac./L e pH de 6,86.

Observa-se ainda que encontraram-se também bacilos curtos e bacilos com extremidades arredondadas (círculos) que indicam bactérias pertencentes a ordem dos *Methanobacteriales*, que segundo Geradi (2006) os dois principais gêneros são *Methanobacterium* e *Methanobrevibacter*. A presença desses grupos de bactérias e de *archeas* demonstram uma biomassa diversificada sugerindo haver um equilíbrio entre as comunidades de microrganismos metanogênicos acetotróficos (cocos e filamentosas) e hidrogenotróficos (bacilos).

Não foram visualizadas estruturas que se assemelham as formas das *Methanosaetas* (filamentos delgados), embora possam estar presentes, porém não visualizadas.

Figura 2 - Micrografia de amostra do inoculo I/S 0,75, mostrando predomínio de cocos agrupados (*Methanosarcinas sp*) e isolados (setas) além de bacilos curtos e bacilos com extremidades arredondadas (círculos).

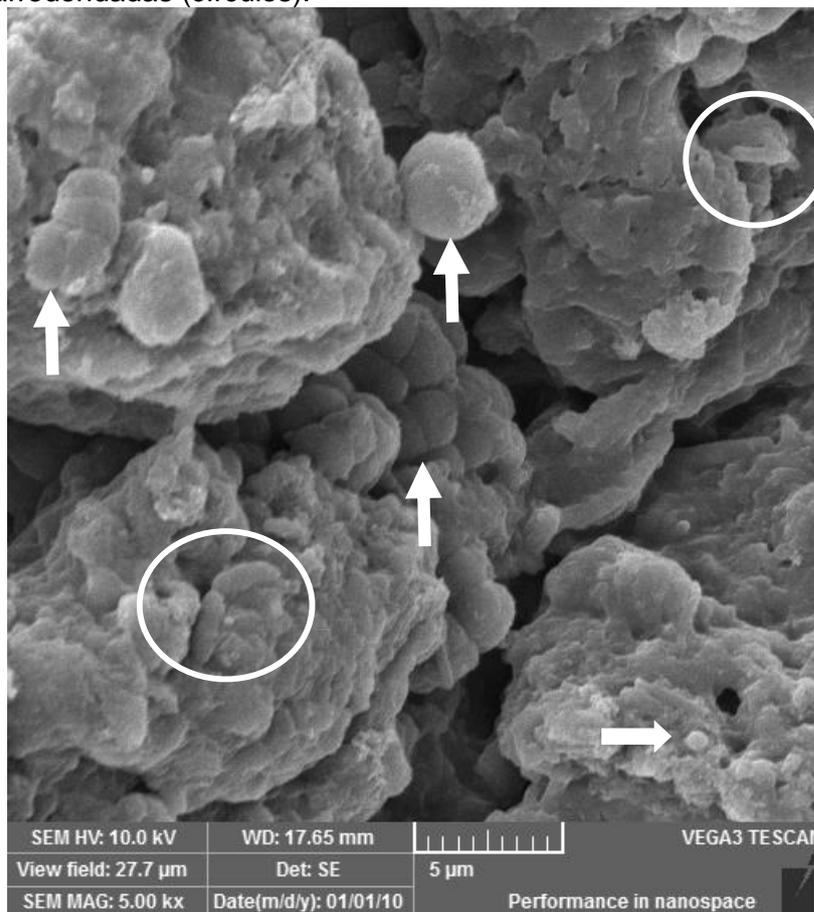


Figura 3 - Micrografias de amostras do inoculo I/S 0,75, mostrando bacilos longos (elipses) e curtos (círculo).



CONCLUSÃO

Os resultados experimentais indicaram que o bagaço da uva apresenta potencial de tratamento biológico através da digestão anaeróbia. Podendo oferecer produções volumétricas de metano em apenas 12 dias, evidenciando a funcionalidade do ensaio de PBM em identificar o potencial do bagaço da uva e estabelecer bases para a sua utilização como substrato na implementação de biotecnologias anaeróbias.

A relação I/S 3,0 obteve o melhor desempenho, proporcionando o melhor rendimento de metano em relação aos SV adicionados, metanização e eficiência na remoção de DQO, destacando-se assim, como a relação mais promissora para carregamento dos sistemas de digestão anaeróbia para o resíduo de bagaço da uva em escala real.

A análise microscópica da morfologia dos microrganismos do inóculo evidenciou grupos microbianos metanogênicos como a *Methanosarcina sp.* e bacilos

com morfologia de *Methanobacteriales*, mesmo sendo este o tratamento com menor rendimento de metano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHKAR, J. H.; LENDORMI, T.; HOBAIKA, Z.; SALAMEH, D.; LOUKA, N.; MAROUN, R. G.; LANOISELLÉ, J. L. Anaerobic digestion of grape pomace: Biochemical characterization of the fractions and methane production in batch and continuous digesters. *Waste Management* v. 50 p. 275–282, 2016.

AMORIM, S. M.; KATO, M. T.; FLORENCIO, L.; GAVAZZA, S. Influence of Redox Mediators and Electron Donors on the Anaerobic Removal of Color and Chemical Oxygen Demand from Textile Effluent. *Clean (Weinheim. Internet)*, v. 41, p. 928-933, 2013.

ANGELIDAKI, I. & SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, v. 3, n. 2, p. 117, 2004.

ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; LIER, J. B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*. Oxford, v. 59, n. 5, p. 927-934, 2009.

APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23th edition, 2012.

ARAÚJO, J. C.; TÉRAN, F. C.; OLIVEIRA, R. A.; NOUR, E. A. A.; MONTENEGRO, A. P.; CAMPOS, J. R.; VAZOLLER, R. F. Comparison of hexamethyldisilazane and critical point drying treatments for SEM analysis of anaerobic biofilms and granular sludge. *Journal of Electron Microscopy*, v. 52, n. 4, p. 429-433, 2003.

AVACI, A. B.; SOUZA, S. N. M. DE; CHAVES, L. I.; NOGUEIRA, C. E. C.; NIEDZIALKOSKI, R. K.; SECCO, D. Avaliação econômico-financeira da microgeração de energia elétrica proveniente de biogás da suinocultura. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 17, p. 456-462, 2013.

BROWN, D.; LI, Y. Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas yield. *Bioresour. Technol.* v. 127, p. 275–280, 2013.

CARAMIELLO, C.; LANCELLOTTI, I.; RIGHI, F.; TATÀNO, F.; TAURINO, R.; BARBIERI, L. Anaerobic digestion of selected Italian agricultural and industrial residues (grape seeds and leather dust): combined methane production and digestate characterization, *Environmental Technology*, v. 34, p. 1225-1237, 2013.

CARCHESIO, M.; TATÀNO, F.; LANCELLOTTI, I.; TAURINO, R.; COLOMBO, E.; BARBIERI, L. Comparison of biomethane production and digestate characterization for selected agricultural substrates in Italy, *Environmental Technology*, v. 35, p. 2212-2226, 2014.

CARMO, D. L.; SILVA, C. A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36, n. 4, p. 1211-1220, 2012.

CHO, H. U.; KIM, H. G.; KIM, Y. M.; PARK, J. M. Volatile fatty acid recovery by anaerobic fermentation from blue-green algae: Effect of pretreatment. *Bioresource Technology* v. 244, p. 1433–1438, 2017.

CHRIST, K.L.; BURRIT, R.L. Critical environmental concerns in wine production: an integrative review. *J. Clean. Prod.* v. 53, p. 232–242, 2013.

COLUSSI, I.; CORTESI, A.; GALLO, V.; STEFANI, R.; VITANZA, N. Anaerobic treatment of winery wastes in suspended and attached growth biomass reactors, in: *Proc. 5th Int. Spec. Conf. Sustain. Vitic.Winer. Waste Ecol. Impacts Manag.*, p. 325-331, 2009.

CÓRDOBA, V.; FERNÁNDEZ, M.; SANTALLA, E. The effect of substrate/inoculum ratio on the kinetics of methane production in swine wastewater anaerobic digestion. *Environ Sci Pollut Res* v. 25, p. 21308–21317, 2018.

DAHIYA, S.; SARKAR, O.; SWAMY, Y.V.; MOHAN, S.V. Acidogenic fermentation of food waste for volatile fatty acid production with co-generation of biohydrogen. *Bioresour. Technol.* v. 182, p. 103–113, 2015.

DEVESA-REY, R.; VECINO, X.; VARELA-ALENDE, J.L.; BARRAL, M.T.; CRUZ, J.M.; MOLDES, A.B. Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. *Waste Management* v. 31 p. 2327–2335, 2011.

DINUCCIO, E.; BALSARI, P.; GIOELLI, F.; MENARDO, S. Evaluation of the biogas productivity potential of some Italian agro-industrial biomasses. *Bioresour. Technol.* v. 101, p. 3780–3783, 2010.

DOMINGOS, J.M.B.; MARTINEZ, G.A.; SCOMA, A.; FRARACCIO, S.; KERCKHOF, F.M.; BOON, N.; REIS, M.A.M.; FAVA, F.; BERTIN, L. Effect of operational parameters in the continuous anaerobic fermentation of cheese whey on titers, yields, productivities, and microbial community structures. *ACS Sustain. Chem. Eng.* v. 5, p. 1400–1407, 2017.

DUBA, K.S.; CASAZZA, A.A.; MOHAMED, H.B.; PEREGO, P.; FIORI, L. Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using subcritical water: Experiments and modeling. *Food Bioprod.Process.* v. 94, p. 29–38, 2015.

ELBESHISHY, E.; NAKHLA, G.; HAFEZ, H. Biochemical methane potential (BMP) of food waste and primary sludge: Influence of inoculum pre-incubation and inoculum source. *BioresourceTechnology*, v. 110, p. 18, 2012.

FABBRI, A.; BONIFAZI, G.; SERRANTI, S. Micro-scale energy valorization of grape marcs in winery production plants, *Waste Manag.* v. 36, p. 156-165, 2015.

GARCIA-AGUIRRE J.; AYMERICH, E.; GONZÁLEZ-MTNEZ, J.G.; ESTEBAN-GUTIÉRREZ, M. Selective VFA production potential from organic waste streams: Assessing temperature and pH influence. *Bioresource Technology* v. 244, p. 1081–1088, 2017.

GERARDI, M. H. *Wastewater Bacteria*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey, 255p., 2006.

GONZÁLEZ, M.; PÉREZ, S.; WONG, A.; BELLO, R.; YAÑEZ, G. Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia, *Revista Argentina de Microbiología*, v. 47, p. 229-235, 2015.

GUERI, M. V. D.; SOUZA, S. N. M.; KUCZMAN, O.; SCHIRMER, W. N.; BURATTO, W. G.; RIBEIRO, C. B.; BESINELLA, G. B. Digestão anaeróbia de resíduos alimentares utilizando ensaios BMP. *BIOFIX Scientific Jornal*, v.3, p.08-16, 2018.

GUNASEELAN, V. N. Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. *Biomass and Bioenergy* v. 26, p. 389 – 399, 2004.

HAIDER, M. R.; ZESHAN.; YOUSAF, S.; MALIK, R. N.; VISVANATHAN, C. Effect of mixing ratio of food waste and rice husk co-digestion and substrate to inoculum ratio on biogas production. *Bioresource Technology*, v. 190, p. 451–457, 2015.

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; BOUGRIER, C.; BUFFIERE, P.; CARBALLA, M.; DE WILDE, V.; EBERTSEDER, F.; FERNANDEZ, B.; FICARA, E.; FOTIDIS, I.; FRIGON, J.-C.; DE LACLOS, H.F.; GHASIMI, D.S.M.; HACK, G.; HARTEL, M.; HEERENKLAGE, J.; HORVATH, I.S.; JENICEK, P.; KOCH, K.; KRAUTWALD, J.; LIZASOAIN, J.; LIU, J.; MOSBERGER, L.; NISTOR, M.; OECHSNER, H.; OLIVEIRA, J.V.; PATERSON, M.; PAUSS, A.; POMMIER, S.; PORQUEDDU, I.; RAPOSO, F.; RIBEIRO, T.; RUSCH PFUND, F.; STROMBERG, S.; TORRIJOS, M.; VAN EEKERT, M.; VAN LIER, J.; WEDWITSCHKA, H.; WIERINCK, I. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science Technol.* p. 1– 9, 2016.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA – IPEA 2012. Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas. Brasília, 2012.

JINGURA, R.M. AND KAMUSOKO, R. Methods for Determination of Biomethane Potential of Feedstocks: A Review. *Biofuel Research Journal*, v. 4, p. 573-586, 2017.

KAWAI, M.; NAGAO N.; TAJIMA, N.; NIWA, C.; MATSUYAMA, T.; TODA, T. The effect of the labile organic fraction in food waste and the substrate/inoculum ratio on anaerobic digestion for a reliable methane yield, *Bioresource Technology*, v. 157, p. 174–180, 2014.

LATIFI, P.; KARRABI, M.; DANESH, S. Anaerobic co-digestion of poultry slaughterhouse wastes with sewage sludge in batch-mode bioreactors (effect of inoculum-substrate ratio and total solids). *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 107, p. 288–296, 2019.

LEITE, V. D.; SOUSA, J. T.; LOPES, W. S.; HENRIQUE, I. N.; BARROS, A. J. M. Bioestabilização anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos: aspectos quantitativos. *Revista Tecno-lógica*, Santa Cruz do Sul, v. 18, n. 2, p. 90-96, 2014.

LI, Y.; LI, Y.; ZHANG, D.; LI, G.; LU, J.; LI, S. Solid state anaerobic co-digestion of tomato residues with dairy manure and corn stover for biogas production. *Bioresource Technology*, v. 217, p. 50–55, 2016.

LI, Y.; WANG, Y.; YU, Z.; LU, J.; LI, D.; WANG, G.; LI, Y.; WU, Y.; LI, S.; XU, F.; LI, G.; GONG, X. Effect of inoculum and substrate/inoculum ratio on the performance and methanogenic archaeal community structure in solid state anaerobic co-digestion of tomato residues with dairy manure and corn stover. *Waste Management*, v. 81, p. 117–127, 2018.

LIU, H.; XIAO, H.; YIN, B.; ZU, Y.; LIU, H.; FU, B.; MA, H. Enhanced volatile fatty acid production by a modified biological pretreatment in anaerobic fermentation of waste activated sludge. *Chemical Engineering Journal* v. 284, p. 194–201, 2016.

MELLO, L.M.R. Panorama da produção de uvas no Brasil. Nota Técnica: Embrapa Uva e Vinho. *Campo & Negocio*, p. 75 – 78, 2018.

MOSET, V.; AL-ZOHAIRI, N.; MØLLER, H. B. The impact of inoculum source, inoculum to substrate ratio and sample preservation on methane potential from different substrates. *Biomass and Bioenergy*, v. 83, p. 474-482, 2015.

OLIVEIRA, L. R. G.; FILHO, D. A. S.; VASCONCELOS, K. C.; LUCENA, T. V.; JUCÁ, J. F. T.; SANTOS, A. F. M. S. Methanization potential of anaerobic biodigestion of solid food waste. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.22, n.1, p.69-73, 2018.

PELLERA, F.; GIDARAKOS, E. Effect of substrate to inoculum ratio and inoculum type on the biochemical methane potential of solid agroindustrial waste. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 4, p. 3217–3229, 2016.

RAGANATI, F.; PROCENTESE, A.; OLIVIERI, G.; RUSSO, M.E.; SALATINO, P.; MARZOCHELLA, A. MFA of *Clostridium acetobutylicum* pathway: the role of glucose and xylose on the acid formation/uptake. *Chem. Eng. Trans.* v. 38, p. 337–342, 2014.

RAPOSO F.; RUBIA M.A.; FERNÁNDEZ-CEGRÍ, V.; BORJA, R. Anaerobic digestion of solidorganic substrates in batch mode: an overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renew Sust Energy Rev*, v. 16, n. 1, p. 861–77, 2012.

RAPOSO, F.; BORJA, R.; RINCON, B.; JIMENEZ, A. M. Assessment of process control parameters in the biochemical methane potential of sunflower oil cake. *Biomass and Bioenergy*, v. 32, p. 1235-1244, 2008.

ROS C.; CAVINATO, C.; BOLZONELLA, D.; PAVAN, P. Renewable energy from thermophilic anaerobic digestion of winery residue: Preliminary evidence from batch and continuous lab-scale trials. *Biomass and Bioenergy* v. 91 p. 150-159, 2016.

ROUCHES, E.; ESCUDIÉ, R.; LATRILLE, E.; CARRÈRE, H. Solid-state anaerobic digestion of wheat straw: Impact of S/l ratio and pilot-scale fungal pretreatment. *Waste Management*, v. 85, p. 464–476, 2019.

SABADO-VENTURA J.; LEE, J.; JAHNG, D. A comparative study on the alternating mesophilic and thermophilic two-stage anaerobic digestion of food waste. *J Environ Sci.* v. 26, p. 1274-1283, 2014.

SHI, J.; XU, F.; WANG, Z.; STIVERSON, J.; YU, Z.; LI, Y. Effects of microbial and nonmicrobial factors of liquid anaerobic digestion effluent as inoculum on solidstate anaerobic digestion of corn stover. *Bioresour. Technol.* v. 157, p. 188–196, 2014.

SILVA, C.; ASTALS, S.; PECES, M.; CAMPOS, J.L.; GUERRERO, L. Biochemical methane potential (BMP) tests: Reducing test time by early parameter estimation. *Waste Management*, v. 71, p. 19–24, 2018.

SILVA, V. F.; BRITO, K. S. A.; NASCIMENTO, E. C. S.; FERREIRA, A. C.; BARACUHY, J. G. V. Qualidade de mudas oleaginosas em diversos substratos

provenientes de agroindustrias. *Agropecuária Científica no Semiárido, Paraíba*, v.10, n.3, p.41-46, 2014.

SOUTO, T.F.; AQUINO, S.F.; SILVA, S.Q.; CHERNICHARO, C.A.L. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation*. v. 21, n. 3, p. 411-24, 2010.

STEIL, L.; LUCAS J.; OLIVEIRA, R.A. Avaliação do uso de inóculos na digestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frango de corte e suínos. *Journal of the Brazilian society of Agricultural Engineering, Jaboticabal*, v.22, n.2, p. 146-149, 2002.

TALHA, Z.; DING, W.; MEHRYAR, E.; HASSAN, M.; BI, J. Alkaline Pretreatment of Sugarcane Bagasse and Filter Mud Codigested to Improve Biomethane Production. Hindawi Publishing Corporation: BioMed Research International, 2016.

VDI 4630. Fermentation of organic materials. Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. p. 92. Germany: Verein Deutscher Ingenieure – VDI, 2016.

ZARKADAS, I.; DONTIS, G.; PILIDIS, G.; SARIGIANNIS, D.A. Exploring the potential of fur farming wastes and byproducts as substrates to anaerobic digestion process. *Renewable Energy* v. 96, p. 1063-1070, 2016.

ZHANG Y. and ANGELIDAKI, I. Bioelectrochemical recovery of waste-derived volatile fatty acids and production of hydrogen and alkali. *Water Research*. v. 81, p. 188-195, 2015.

ZHANG, C.; SU, H.; TAN, T. Batch and semi-continuous anaerobic digestion of food waste in a dual solid–liquid system. *Bioresource Technology*. v. 145, p. 10–16, 2013.

ZHANG, N.; HOADLEY, A.; PATEL, J.; LIM, S.; LI, C. Sustainable options for the utilization of solid residues from wine production. *Waste Management* v. 60 p. 173–183, 2017.

Zhu, J.; Wan, C.; Li, Y. Enhanced solid-state anaerobic digestion of corn stover by alkaline pretreatment. *Bioresour. Technol.* v. 101, p. 7523–7528, 2010.

Zhu, J.; Zheng, Y.; Xu, F.; Li, Y. Solid-state anaerobic co-digestion of hay and soybean processing waste for biogas production. *Bioresour. Technol.* v. 154, p. 240–247, 2014.