

LARISSA ALMEIDA NASCIMENTO

**CO-DIGESTÃO DE BIOMASSA RESIDUAL DE MICROALGA COM
ÁGUA RESIDUÁRIA DO PROCESSAMENTO DO CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: André Pereira Rosa

Coorientadores: Alisson Carraro Borges
Marcio Arêdes Martins

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

N244c Nascimento, Larissa Almeida, 1994-
2022 Co-digestão de biomassa residual de microalga com água
residuária do processamento do café / Larissa Almeida
Nascimento. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (79 f.): il. (algumas color.).

Orientador: André Pereira Rosa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Engenharia Agrícola, 2022.
Inclui bibliografia.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.636>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Digestão anaeróbia. 2. Biogás. 3. Microalgas. 4. Águas
residuais. 5. Café - Indústria - Eliminação de resíduos. I. Rosa,
André Pereira, 1983-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Engenharia Agrícola. Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 665.776

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552


LARISSA ALMEIDA NASCIMENTO

**CO-DIGESTÃO DE BIOMASSA RESIDUAL DE MICROALGA COM
ÁGUA RESIDUÁRIA DO PROCESSAMENTO DO CAFÉ**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de junho de 2022.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 LARISSA ALMEIDA NASCIMENTO
Data: 22/10/2022 09:28:12-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Larissa Almeida Nascimento
Autora

Documento assinado digitalmente
 ANDRE PEREIRA ROSA
Data: 21/10/2022 19:01:02-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

André Pereira Rosa
Orientador

AGRADECIMENTO

Primeiramente, agradeço a Deus pela vida e força até aqui.

A toda minha família pelo incentivo e por ser a base de fortaleza e amor.

Ao meu orientador, professor André Rosa pela dedicação, compreensão e conhecimento transmitido. Aos meus coorientadores, os professores Alisson Carraro Borges e Marcio Arêdes Martins pelas contribuições e disponibilidade.

Aos integrantes do LQA, em especial à Isabelle, Raphael Rivadávia, Iacy pelo companheirismo, apoio e por todo auxílio no decorrer do trabalho. À Elisa, pela amizade, conselhos e suporte nas horas de desânimo.

Aos membros do Laboratório de Biocombustíveis, em particular ao Dilson Novais Rocha por toda paciência, colaboração e sugestões ao trabalho.

Aos membros da banca avaliadora deste trabalho, por terem aceitado o convite e pelas contribuições para o aprimoramento dessa pesquisa.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realizar este trabalho, e todos os mestres e servidores técnicos, que de alguma forma contribuíram para minha formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho ou para a minha formação, obrigada.

*“Quando tudo parecer estar contra você, lembre-se de que
o avião decola contra o vento, não a favor dele.”*

(Henry Ford)

RESUMO

NASCIMENTO, Larissa Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2022. **Co-digestão de biomassa residual de microalga com água residuária do processamento do café.** Orientador: André Pereira Rosa. Coorientadores: Alisson Carraro Borges e Marcio Arêdes Martins.

A co-digestão de microalgas brutas, bem como os resíduos e matérias-primas ricas em carbono aparenta ser interessante para melhoria do processo de digestão. Nesse sentido, este trabalho objetivou o estudo da co-digestão da ARC e a biomassa de *Scenedesmus obliquus* bruta (MB), rompida (MR) e após a extração de proteínas (MPE). Para isso, também foram feitas a caracterização dos substratos, bem como a análise sinérgica e cinética. A ARC apresentou 92% da demanda química de oxigênio (DQO) na sua forma dissolvida e pH de 4,2. Por outro lado, as biomassas detinham pH de cerca de 9,5. Para MB, 3,9% da DQO estava na forma solúvel, sendo que o rompimento permitiu um aumento de 15% do teor DQO solúvel em MR. MPE apresentou menores valores de matéria orgânica em forma de DQO, uma vez que o processo de extração de proteína removeu também outros compostos, além de proteína. A maior produção acumulada de CH₄ foi para a mono-digestão de ARC de 343,3 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹. Na co-digestão, as produções acumuladas de metano variaram entre 269,6 a 116,4 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹ (65 a 75% do biogás). O rendimento de metano decresceu à medida que a quantidade de microalgas (MB, MR e MPE) presente na mistura aumentou. Por outro lado, a adição de microalgas proporcionou uma melhora na relação AI/AP em comparação com os testes de mono-digestão. O efeito sinérgico foi observado apenas evidenciado nos tratamentos ARC:MB (50:50) e (25:75). As digestões de microalgas atingiram os menores rendimentos: 18,2 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹ para MB, 70,6 para MR e 39,6 para MPE, porém com biogás com teores de metano de 90%. No estudo cinético da digestão anaeróbia (DA), verificou-se um melhor ajuste dos resultados observados com o modelo tipo Cone. Além disso, na co-digestão com MPE não se observou efeito expressivo sobre o coeficiente cinético k_h , com resultado de 1,0 e 1,3 vezes superior que a mono-digestão da ARC e MPE, respectivamente. Nos ensaios de co-digestão da ARC com MB e MR, os resultados de k_h foram superiores, em média, 1,2 e 2,7 vezes à mono-digestão da ARC e microalgas, respectivamente. As condições alcalinas promoveram um enriquecimento do biogás. Além disso, as análises sugerem que a co-digestão contribui para a alcalinidade da DA da ARC e o aumento da biodegradabilidade das microalgas. Por outro lado, o efeito dos processamentos das microalgas foi menos evidente quando aplicadas como co-substrato do que na mono-digestão.

Palavra-chave: Extração de proteínas. Biodegradabilidade. Efluente do café.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Larissa Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2022. **Co-digestion of residual microalgae biomass with coffee processing wastewater.** Adviser: André Pereira Rosa. Co-advisers: Alisson Carraro Borges and Marcio Arêdes Martins.

The co-digestion of raw microalgae, as well as residual biomass and carbon wastes, tends to be interesting for the improvement of the anaerobic digestion (AD) process. In this sense, this work aimed to study the co-digestion of ARC and *Scenedesmus obliquus*, the raw biomass, after disruption (MR) and protein extracted biomass (MPE). To this purpose, the characterization of the substrates, as well as the synergistic and kinetic analysis were also carried out. For ARC, 92% of the Chemical Oxygen Demand (COD) is present in its dissolved form, with a pH of 4.2. On the other hand, the biomasses had a pH of about 9.5. For MB, 3.9% of the COD was in the soluble form, and the rupture allowed a 15% increase in the COD soluble content in MR. MPE showed lower values of organic matter in the form of COD, since the protein extraction process also removed other compounds, mainly protein. The highest cumulative production of CH₄ was for the ARC mono-digestion of 343.3 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹. In co-digestion, the accumulated methane productions ranged from 269.6 to 116.4 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹, with the methane content ranging from 65 to 75%. The average BMP decreased as the amount of microalgae (MB, MR and MPE) increased in mixing. On the other hand, the addition of microalgae improved the AI/AP ratio compared to mono-digestion tests. The synergistic effect was observed only in the treatments ARC:MB (50:50) and (25:75). The microalgae single digestion reached the lowest yields: 18.2 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹ for MB, 70.6 for MR and 39.6 for MPE, however with biogas with methane contents of 90%. In the kinetic study of anaerobic digestion (AD), a better fit of the results with the Cone model was observed. Furthermore, in the co-digestion with MPE, there was no expressive effect on the kinetic coefficient k_h, the result was 1.0 and 1.3 times higher than the mono-digestion of ARC and MPE, respectively. In the co-digestion assays of ARC with MB and MR, k_h results were superior, on average, 1.2 and 2.7 times to the mono-digestion of ARC and microalgae, respectively. Alkaline conditions promoted an enrichment of the biogas. In addition, analyzes suggest that co-digestion contributes to the alkalinity of ARC AD and increased microalgae biodegradability. On the other hand, the effect of microalgae processing was less evident when applied as a co-substrate than in mono-digestion.

Keywords: Protein extraction. Biodegradability. Coffee effluent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema da extração de proteína.	22
Figura 2: Esquema da digestão anaeróbia.....	24
Figura 3: Curvas de metano acumulado.	26
Figura 4: Partes constituintes do café.	32
Figura 5: Processamento do café.....	33
Figura 6: Esquema da extração de proteína.	52
Figura 7: Produção de metano ao longo do tempo para as diferentes misturas de biomassa e água residual do processamento do café (ARC): (A): microalga bruta (MB):ARC, (B): microalga rompida (MR):ARC e (C): microalga proteína-extraída (MPE):ARC.....	59
Figura 8: Produção de metano por tempo para a co-digestão de MB:ARC. Os dados medidos estão representados por pontos e estimada para o modelo de Cone, por linha nas proporções: a: 25:75, b: 50:50, c: 75:25 e d: 100:0.....	68
Figura 9: Produção de metano por tempo para a co-digestão de MR:ARC. Os dados medidos estão representados por pontos e estimada para o modelo de Cone, por linha nas proporções: a: 25:75, b: 50:50, c: 75:25 e d: 100:0.....	68
Figura 10: Produção de metano por tempo para a co-digestão de de MPE:ARC. Os dados medidos estão representados por pontos e estimada para o modelo de Cone, por linha nas proporções: a: 25:75, b: 50:50, c: 75:25 e d: 100:0.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição das microalgas.	19
Tabela 2: Modelos cinéticos aplicados na digestão anaeróbia.	27
Tabela 3: Comparação de rendimento de metano em resíduos de microalgas e sua biomassa bruta. ...	28
Tabela 4: Rendimento de metano para co-digestão de microalgas.	30
Tabela 5: Parâmetros físicos e químicos da água residuária do processamento do café.	35
Tabela 6: Descrição de estudos com o uso da digestão anaeróbia para o tratamento da água residuária do processamento do Café.	37
Tabela 7: Modelos cinéticos aplicados em digestão anaeróbia.	56
Tabela 8: Caracterização dos substratos e inóculo usados no estudo.	57
Tabela 9 Produção de metano a partir da mono-digestão (MB, MR, MPE, ARC) e da co-digestão (MB:ARC, MR:ARC, MPE:ARC– 25:75; 50:50, 75:25).....	61
Tabela 10: Caracterização mono-digestão (MB, MR, MPE, ARC) e da co-digestão (MB:ARC, MR:ARC, MPE:ARC– 25:75; 50:50, 75:25).....	63
Tabela 11: Efeito da co-digestão anaeróbia (MB:ARC, MR:ARC, MPE:ARC) nas proporções de 25:75; 50:50, 75:25.	65
Tabela 12: Parâmetros estimados a partir do ajuste das curvas de BMP para distintos modelos cinéticos.	67

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	14
1 INTRODUÇÃO GERAL	12
1.1 REFERÊNCIAS	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 MICROALGAS	18
2.1.1 Biorrefinaria	19
2.1.2 Recuperação de recursos.....	21
2.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	23
2.2.1 A microbiologia na digestão anaeróbia.....	24
2.2.2 Avaliação da biodegradabilidade	25
2.2.3 O biogás.....	27
2.2.4 Digestão anaeróbia de microalgas	27
2.3 CAFÉ	31
2.3.1 A produção do café.....	31
2.3.2 Partes constituintes do café.....	31
2.3.3 O processamento do café	32
2.3.4 Os resíduos do processamento do café	34
2.3.5 Digestão anaeróbia de ARC.....	36
2.4 REFERÊNCIAS	39
3 HIPÓTESES.....	47
4 OBJETIVOS	48
5 CO-DIGESTÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS E ÁGUA RESIDUÁRIA DO PROCESSAMENTO DO CAFÉ.....	49
5.1 INTRODUÇÃO	49
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
5.2.1 Substratos	51
5.2.2 Extração de proteínas.....	52
5.2.3 Avaliação da digestão aneróbia das microalgas e da ARC.....	52
5.2.4 Métodos analíticos.....	54
5.2.5 Análise estatística	55
5.2.6 Modelos cinéticos.....	55
5.2.7 Efeito sinérgico.....	56
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57

5.3.1	Caracterização dos substratos	57
5.3.2	Digestão anaeróbia de microalgas e ARC.....	59
5.3.3	Cinética.....	66
5.4	CONCLUSÕES.....	71
5.5	REFERÊNCIAS	72
6	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

Estima-se que em 2050, a população mundial atingirá 9,7 bilhões, um crescimento de cerca de 21% em relação ao ano de 2022 (ONU, 2022). O rápido crescimento populacional e industrialização tem sido foco de preocupação para conservação ambiental e a segurança energética (UMMALYMA; SINGH, 2022). Entre o ano de 2020 e 2021 a produção econômica apresentou um aumento de 5,9%, elevando em 6% da emissão CO₂ dos processos relacionados à energia, contabilizando uma emissão total de 36.3 gigatonnes (Gt) (IEA, 2021). A emissão de gases de efeito estufa, o aumento da demanda por energia, e a escassez prevista dos combustíveis fósseis promoveu a busca de alternativas sustentáveis de energia, incluindo biomassa (ALIYU; LEE; HARVEY, 2021). Além disso, a crescente procura por proteína animal, causa um impacto ambiental negativo em termos de efeito estufa, consumo de água e uso de terra, de modo que fontes alternativas e sustentáveis para suprir a demanda de proteínas são necessárias (HENCHION et al., 2017).

As microalgas são consideradas uma matéria-prima promissora para a produção de combustíveis valiosos e também para produtos químicos de valor agregado, devido sua composição rica em lipídios, carboidratos e proteínas (ALIYU; LEE; HARVEY, 2021). As proteínas são os principais biopolímeros presentes nas células das microalgas, representando cerca de 30 a 60% do seu peso seco (CHANDRA et al., 2019). O teor proteico, é semelhante ou superior a de fontes proteicas tradicionais, como carne, ovo, soja e leite, com um perfil de aminoácidos muito, portanto as microalgas também são consideradas uma fonte de proteínas muito interessante (MARKOU et al., 2020). Além disso, as microalgas são fototróficos/heterotróficos eucarióticos unicelulares que são capazes de se multiplicar em diversos ambientes. A partir da fotossíntese, utilizam a energia luminosa e fixam o CO₂ atmosférico para o crescimento da biomassa via. O rápido crescimento e a habilidade da síntese de biomoléculas possibilita substituição de produtos base de petróleo e uma bioeconomia circular sustentável baseada em microalgas (CHANDRASEKHAR et al., 2022).

O biogás gerado na digestão anaeróbia (DA) se destaca entre os demais biocombustíveis produzidos a partir de microalgas. O biogás contém uma mistura de gases; principalmente dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) (WU et al., 2019). No entanto, a biodegradabilidade da biomassa de microalgas é limitada, devido ao alto teor de nitrogênio na composição celular de microalgas que resulta em uma baixa relação C/N e a presença da parede celular rígida, que diminui a biodisponibilidade de compostos intracelulares (SAKARIKA; KORNAROS, 2019). Nesse sentido, pré-tratamentos podem ser aplicados visando degradar a

parede celular de microalgas, podendo ser classificados em térmico, enzimático, biológico e mecânico (GRUBER-BRUNHUMER et al., 2015). O biogás pode ser produzido pela DA de resíduos gerados da biorrefinaria e plantas de microalgas (RAMOS-SUÁREZ; ARROYO; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, 2015). A biomassa de microalgas residual obtida após a extração de produto de alto valor vem sendo estudada (BOHUTSKYI et al., 2019; EHIMEN et al., 2009; SCARCELLI et al., 2020) e apresentado uma maior biodegradabilidade quando comparada às microalgas brutas, uma vez que a etapa de extração atua como um pré-tratamento (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019). Por exemplo a DA por ser usada na para geração de biogás a partir da biomassa residual após a extração de proteínas, proporcionando a redução da relação C/N e solubilização de macromoléculas (RAMOS-SUÁREZ et al., 2014).

Outra estratégia para otimizar a DA é a co-digestão, a degradação conjunta de dois ou mais substratos (MAINARDIS; BUTTAZZONI; GOI, 2020). O melhor desempenho estão ligados ao equilíbrio da relação C/N na mistura de co-substratos, assim como no balanço de macro e micronutrientes, pH, matéria seca e diluição de compostos tóxicos (FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ et al., 2014). As microalgas vem sendo estudadas como co-substratos em diversos estudos, principalmente resíduos agroindustriais, uma vez que possuem relação C/N relativamente alta (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019), inclusive com resíduos do processamento do café (PASSOS et al., 2018). O café se destaca no Brasil, com exportação 39,6 milhões de sacas na safra 2021/22 e movimentado US\$ 8,1 bilhões (CECAFÉ, 2022). O processamento via úmida do café consome grande quantidade de água, gerando assim, um expressivo volume de efluente – denominado de água residuária do processamento café (ARC). A ARC contém açúcares, proteínas, amido, pectina, óleos e gorduras solúveis, resultando em elevadas concentrações de demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sólidos, nitrogênio, fósforo e compostos fenólicos (CAMPOS; PEREIRA; PRADO, 2010; CRUZ-SALOMÓN et al., 2018). O lançamento da ARC no meio ambiente sem tratamento adequado pode causar deterioração de corpos hídricos e solos devido a seu elevado potencial poluidor (DADI et al., 2018).

A DA é apontada como uma alternativa viável para o tratamento de ARC (ADDIS et al., 2020; BEYENE et al., 2014). Contudo, a ARC atenção deve ser dada ao pH do efluente (ADDIS et al., 2020) e a tendência à acidificação, devido ao elevado teor de matéria orgânica facilmente fermentável, podendo acarretar no acúmulo de ácidos orgânicos voláteis (AOV) (IJANU; KAMARUDDIN; NORASHIDDIN, 2020). Nesse contexto, a digestão conjunta de microalgas (C/N<12) (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019) e ARC (C/N=29) (CHEN et al., 2019) beneficia o balanço de nutrientes, assim como o pH relativamente mais alto (6,4 a 8,2)

(JANKOWSKA; SAHU; OLESKOWICZ-POPIEL, 2017) das biomassas auxilia no controle da acidez da ARC para DA.

Diante do exposto, tem-se que a co-digestão de microalga bruta, bem como a biomassa residual e matérias-primas ricas em carbono aparenta ser interessante para melhoria do processo de digestão. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar a co-digestão de a biodegradabilidade da ARC e produção de biogás a partir de sua co-digestão com biomassa de *Scenedesmus obliquus* bruta, bem como após o rompimento celular e extração de proteínas. Este trabalho foi organizado em duas partes principais. No primeiro, o assunto é exposto em forma de revisão bibliográfica. O segundo capítulo é desenvolvido em forma de artigo. Por fim, são estabelecidas as recomendações para trabalhos futuros.

1.1 REFERÊNCIAS

ADDIS, Y. et al. Management options for coffee processing wastewater . A review. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 22, n. 2, p. 454–469, 2020.

ALIYU, A.; LEE, J. G. M.; HARVEY, A. P. Microalgae for biofuels via thermochemical conversion processes: A review of cultivation, harvesting and drying processes, and the associated opportunities for integrated production. **Bioresource Technology Reports**, v. 14, n. January, p. 100676, 2021.

BEYENE, A. et al. Experimental evaluation of anaerobic digestion for coffee wastewater treatment and its biomethane recovery potential. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 1881–1886, 2014.

BOHUTSKYI, P. et al. Production of lipid-containing algal-bacterial polyculture in wastewater and biomethanation of lipid extracted residues: Enhancing methane yield through hydrothermal pretreatment and relieving solvent toxicity through co-digestion. **Science of the Total Environment**, v. 653, p. 1377–1394, 25 fev. 2019.

CAMPOS, C. M. M.; PEREIRA, E. L.; PRADO, M. A. C. Caracterização físico-química, bioquímica e energética da água residuária do café processado por via úmida. **Biosci. J.**, v. 26, n. 4, p. 514–524, 2010.

CECAFÉ. **Relatório de exportações: junho de 2022**. Disponível em:

<<https://www.cecafe.com.br/publicacoes/relatorio-de-exportacoes/>>. Acesso em: 9 ago. 2022.

- CHANDRA, R. et al. Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. **Bioresource Technology**, v. 278, n. November 2018, p. 346–359, 2019.
- CHANDRASEKHAR, K. et al. Algae biorefinery: A promising approach to promote microalgae industry and waste utilization. **Journal of Biotechnology**, v. 345, n. July 2021, p. 1–16, 2022.
- CHEN, R. et al. Energy recovery potential of thermophilic high-solids co-digestion of coffee processing wastewater and waste activated sludge by anaerobic membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 274, p. 127–133, fev. 2019.
- CRUZ-SALOMÓN, A. et al. Evaluation of hydraulic retention time on treatment of coffee processing wastewater (CPWW) in EGSB bioreactor. **Sustainability (Switzerland)**, v. 10, n. 1, 2018.
- DADI, D. et al. Assessment of the effluent quality of wet coffee processing wastewater and its influence on downstream water quality. **Ecohydrology and Hydrobiology**, v. 18, n. 2, p. 201–211, 2018.
- EHIMEN, E. A. et al. Energy recovery from lipid extracted, transesterified and glycerol codigested microalgae biomass. **GCB Bioenergy**, v. 1, n. 6, p. 371–381, dez. 2009.
- ENERGY AGENCY, I. Global Energy Review: CO2 Emissions in 2021 Global emissions rebound sharply to highest ever level. 2021.
- FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, M. J. et al. Assessment of two-phase olive mill solid waste and microalgae co-digestion to improve methane production and process kinetics. **Bioresource Technology**, v. 157, p. 263–269, 2014.
- GRUBER-BRUNHUMER, M. R. et al. *Acutodesmus obliquus* as a benchmark strain for evaluating methane production from microalgae: Influence of different storage and pretreatment methods on biogas yield. **Algal Research**, v. 12, n. 2015, p. 230–238, 2015.
- HENCHION, M. et al. Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. **Foods 2017, Vol. 6, Page 53**, v. 6, n. 7, p. 53, 20 jul. 2017.
- IJANU, E. M.; KAMARUDDIN, M. A.; NORASHIDDIN, F. A. Coffee processing wastewater treatment: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Applied Water Science**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

- JANKOWSKA, E.; SAHU, A. K.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 75, n. December 2016, p. 692–709, 2017.
- MAINARDIS, M.; BUTTAZZONI, M.; GOI, D. Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Technology for Energy Recovery : A Review on State-of-the-Art and Recent Technological Advances. 2020.
- MARKOU, G. et al. Methane production through anaerobic digestion of residual microalgal biomass after the extraction of valuable compounds. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 31 mar. 2020.
- PASSOS, F. et al. Anaerobic co-digestion of coffee husks and microalgal biomass after thermal hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 253, n. October 2017, p. 49–54, 2018.
- RAMOS-SUÁREZ, J. L. et al. Benefits of combining anaerobic digestion and amino acid extraction from microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v. 258, p. 1–9, dez. 2014.
- RAMOS-SUÁREZ, J. L.; ARROYO, N. C.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. The Role of Anaerobic Digestion in Algal Biorefineries: Clean Energy Production, Organic Waste Treatment, and Nutrient Loop Closure. In: **Algae and Environmental Sustainability**. New Delhi: Springer India, 2015. p. 53–76.
- SAKARIKA, M.; KORNAROS, M. *Chlorella vulgaris* as a green biofuel factory: Comparison between biodiesel, biogas and combustible biomass production. **Bioresource Technology**, v. 273, n. October 2018, p. 237–243, 2019.
- SCARCELLI, P. G. et al. Evaluation of biomethanization during co-digestion of thermally pretreated microalgae and waste activated sludge, and estimation of its kinetic parameters. **Science of the Total Environment**, v. 706, p. 135745, 2020.
- SOLÉ-BUNDÓ, M. et al. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, n. June, p. 471–482, 2019.
- UMMALYMA, S. B.; SINGH, A. Biomass production and phycoremediation of microalgae cultivated in polluted river water. **Bioresource Technology**, v. 351, n. February, p. 126948, 2022.
- UNITED NATIONS DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, P. D. (2022). **World Population Prospects 2022: Summary of Results**. Disponível em:

<<https://www.un-ilibrary.org/content/books/9789210575164>>.

WU, N. et al. Techno-Economic Analysis of Biogas Production from Microalgae through Anaerobic Digestion. **Anaerobic Digestion**, 2019.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICROALGAS

Microalgas são microrganismos fotossintetizantes que crescem rapidamente e estão presentes em ecossistemas aquáticos e terrestres. Existem 50.000 espécies conhecidas de microalgas, entretanto, aproximadamente 30.000 são estudadas. Dentre elas há seres procarióticos, como as cianobactérias e eucarióticos, como as algas verdes e diatomáceas (COSTA; DE MORAIS, 2013). O tamanho das microalgas pode variar de alguns micrômetros a algumas centenas de micrômetros, de acordo com a espécie. Além disso, esses microrganismos são de extrema importância, visto que produzem cerca de metade do oxigênio atmosférico a partir da fixação do dióxido de carbono para o crescimento da biomassa (SUGANYA et al., 2016).

As microalgas são compostas de proteínas, lipídios e carboidratos (Tabela 4), além de serem ricas em vitaminas, minerais, antioxidantes e carotenoides (CHANDRA et al., 2019). A composição bioquímica da biomassa está ligada a fatores ambientais como: pH; temperatura; luz solar; nível de CO₂; disponibilidade de nutrientes; e, a presença/ausência de outros organismos (JUNEJA; CEBALLOS; MURTHY, 2013). As proteínas são os principais biopolímeros presentes nas células das microalgas, representando cerca de 30 a 60% do seu peso seco (YUKESH KANNAH et al., 2021). O teor de proteínas é relacionada com as condições de crescimento e a espécie (SOTO-SIERRA; STOYKOVA; NIKOLOV, 2018). As microalgas cultivadas em meios ricos em nitrogênio apresentam maiores acúmulos de proteínas (YUKESH KANNAH et al., 2021). As espécies que se destacam pelo alto teor de proteínas correspondem à *Scenedesmus obliquus* (50-56%), *Chlorella vulgaris* (51 –58%), *Spirulina platensis* (46-63%) e *Arthrospira maxima* (60-71%) (PHUSUNTI; CHEIRSILP, 2020).

Tabela 1: Composição das microalgas.

Espécie	Proteína (%)	Carboidrato (%)	Lipídeos (%)	Referência
<i>Scenedesmus sp.</i>	33	35	22	
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	65	23	13	Wu et al. (2019)
<i>Chlorella vulgaris</i>	64	18	10	
<i>Nannochloropsis salina</i>	19	45	36	
<i>Scenedesmus sp.</i>	42,5	12,3	16,9	Ramos-Suárez & Carreras (2014)
<i>Chlorella sp.</i>	41,3	3,2	49,3	Li et al. (2017)
<i>Chlorella sp.</i>	50,3	23,1	8,3	Scarcelli et al. (2020)
Maioria <i>Scenedesmus almeriensis</i>	56,6	17,3	9,1	Hernández et al. (2018)
<i>Chlorella vulgaris</i>	49,8	11,05	5,12	Markou et al. (2020)

Dessa forma, as microalgas podem ser matéria-prima ideal para produtos de valor agregado usados em alimentos, nutracêuticos, cosméticos e compostos farmacêuticos (CHANDRA et al., 2019). Além disso, as microalgas são uma matéria-prima renovável propícia para diferentes tecnologias de conversão, devido à elevada composição de lipídios, amido, e proteínas com baixa concentração de lignina (WU et al., 2019).

A utilização de microalga tem benefícios como: a não competição por terras e culturas alimentares, pois podem crescer em terras degradadas. Além disso, as microalgas possuem alta eficiência fotossintética e se associadas a produção de bioenergia, tornam-se uma alternativa de energia renovável para o futuro (CHEW et al., 2017). Outra vantagem é a capacidade atuarem alternativa ao tratamento de efluentes convencionais, promovendo o sequestro de CO₂ e remoção de nutrientes (MOHSENPOUR et al., 2021). Por outro lado, a quantidade de energia utilizada em todo o processo e os custos de investimento na produção de microalgas são elevados. No entanto, com o aproveitamento máximo da biomassa, muitos produtos podem ser obtidos simultaneamente e o valor de mercado será superior aos custos de produção (VANTHOOR-KOOPMANS et al., 2013).

2.1.1 Biorrefinaria

As microalgas possuem capacidade metabólica para acumular componentes valiosos, como proteínas, pigmentos, lipídios e carboidratos. Esses compostos podem ser transformados em diferentes produtos na perspectiva da biorrefinaria (CHEIRSILP; MANEECHOTE, 2022). Uma biorrefinaria envolve uma sucessão de processos para maximizar o uso todos os componentes da matéria-prima, diminuindo perdas ou danos a quaisquer produtos. A extração

desses compostos de forma sustentável é um desafio na biorrefinaria à base de algas (CHANDRA et al., 2019). Dentre as etapas envolvidas no processo de biorrefinaria de microalgas estão: o cultivo e colheita de microalgas, ruptura celular e extração de compostos da biomassa (SIDDIKI et al., 2022).

O cultivo de microalgas pode acontecer de duas maneiras diferentes: por meio de sistemas de cultivo abertos, como lagoas e lagos ou sistemas fechados, como fotobiorreatores (SIDDIKI et al., 2022). Os sistemas abertos, de modo geral, possuem menor custo de instalação e manutenção; menor consumo de energia; maior capacidade de produção, além de serem mais robustos e mais facilmente escaláveis em relação aos sistemas fechados (COSTA; DE MORAIS, 2013). O crescimento das microalgas é influenciado por fatores como: disponibilidade e qualidade dos nutrientes, concentração de CO₂, abastecimento de água, temperatura, exposição à luz, pH, densidade de cultura, salinidade, mistura, presença de compostos tóxicos, metais pesados e organismos, bem como condições de operação do biorreator (JANKOWSKA; SAHU; OLESKOWICZ-POPIEL, 2017). Por exemplo, de modo geral, as microalgas produzem mais biomassa quando cultivadas em condições alcalinas, pois permitem uma captura mais fácil de CO₂ atmosférico (KHOO et al., 2020). O aumento do pH do meio se deve ao hidróxido formado na redução do oxigênio produzidas pela fotossíntese e pelo consumo de CO₂ e HCO₃⁻ – produção (UMMALYMA; SINGH, 2022).

A colheita tem como métodos mais comuns a filtração, centrifugação, flotação, floculação, eletrofloculação, sedimentação por gravidade, processo eletrolítico, eletroforese e separação magnética (MORAIS JUNIOR et al., 2020). Além disso, a recuperação da biomassa pode ser associada a uma etapa de coagulação/ floculação (SIDDIKI et al., 2022). Nesse processo, o floculante neutraliza a carga negativa da superfície das microalgas e permite que as células se aglomerem, facilitando e melhorando o desempenho dos processos subsequentes (MORAIS JUNIOR et al., 2020). A floculação seguida de sedimentação é o método mais acessível para a colheita, podendo remover quase dois terços ou mais da água. Os floculantes utilizados englobam sais de íons metálicos multivalentes como sulfato de alumínio e cloreto férrico (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016), bem como polímeros catiônicos ou substâncias alcalinas para elevar o pH (SIDDIKI et al., 2022).

Após a separação da biomassa do meio de suporte por meio da colheita, a pasta obtida é seca para estabilidade, uso final, extração ou outro processamento adicional (SHOW et al., 2015). Na secagem, a biomassa é concentrada e pode atingir 90-95 % da matéria sólida total. Contudo, essa etapa demanda muita energia, o que dificulta sua rentabilidade para alguns casos, como o cultivo para recuperar energia (SIDDIKI et al., 2022). Os métodos de secagem mais

utilizados são a secagem por pulverização, a liofilização, a secagem em tambor e a secagem ao sol (MORAIS JUNIOR et al., 2020). A liofilização é largamente empregada na indústria alimentícia e em pesquisas, porque no processo os componentes celulares são preservados, por exemplo, com perda de proteína abaixo de 10% (CHEN; CHANG; LEE, 2015).

As microalgas são organismos unicelulares que possuem uma parede celular complexa que protege a membrana plasmática (LEE et al., 2017). A rigidez da parede celular dificulta a extração de componentes intracelulares específicos. Uma operação de ruptura celular é, portanto, necessária para permitir disponibilidade dos componentes internos e facilitar o processo de extração (CHIONG et al., 2016). Os métodos de ruptura podem ser divididos em mecânico (ex.: moinho de esferas, ultrassom) e não-mecânico (ex.: fluidos supercríticos, enzimático, choque osmose). O processo mecânico geralmente é mais indicado, uma vez que diminui a contaminação química e conservam a funcionalidade dos produtos em relação aos métodos químicos e enzimáticos (SHOW et al., 2015).

2.1.2 Recuperação de recursos

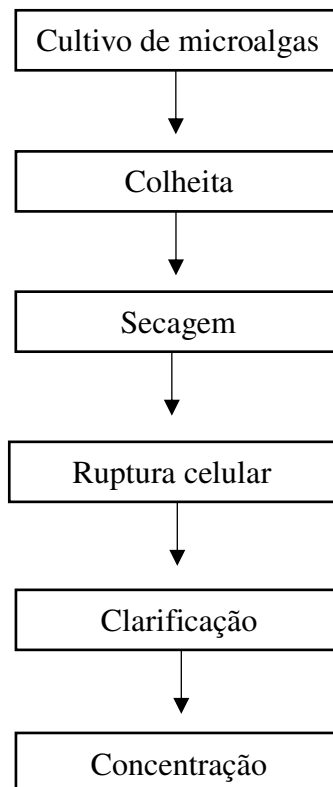
Os carboidratos presentes na biomassa de microalgas como amido ou glicogênio (citoplasma) e celulose (parede celular interna) são excelentes componentes para a produção de etanol e produtos químicos (VANTHOOR-KOOPMANS et al., 2013). Os pigmentos podem ser usados em produtos farmacêuticos: a clorofila, devido sua propriedade anti-inflamatória e cicatrizante, os carotenóides protegem contra o câncer e a astaxantina é um poderoso antioxidante (VANTHOOR-KOOPMANS et al., 2013). As propriedades funcionais das proteínas de microalgas indicam um potencial como aditivos em diversos produtos como alimentos e cosméticos, assim como emulsificantes em produtos de cuidados pessoais como hidratante e shampoo (MATOS, 2019). Além disso, em função de suas propriedades hipoalérgicas e nutricionais, os produtos derivados de microalgas são uma alternativa vantajosa em comparação a alimentos proteicos como a soja (37% de proteína PS), leite (26% de proteína PS) e carne (43% de proteína PS) (SOTO-SIERRA; STOYKOVA; NIKOLOV, 2018).

2.1.2.1 Extração de proteína

As proteínas de microalgas são pouco disponíveis na biomassa bruta (não processada), portanto são necessário métodos efetivos para extração de proteínas de microalgas com o objetivo de melhorar sua biodisponibilidade (MATOS, 2019). Os métodos de extração comumente aplicados são a extração aquosa, ácida e alcalina ou hidrólise enzimática (BLEAKLEY; HAYES, 2017).

Nesse processo, após a ruptura celular, é feita a separação dos sólidos e da fase líquida rica em proteínas (clarificação). Para melhorar a eficiência da extração, a ruptura celular pode acontecer em condições alcalina ou as microalgas rompidas podem ser imersas em $\text{pH} > 10$ antes da clarificação (SOTO-SIERRA; STOYKOVA; NIKOLOV, 2018). O ajuste do pH faz com que os agregados de proteína solubilizem, resultando em um maior rendimento de extração de proteína (SOTO-SIERRA; STOYKOVA; NIKOLOV, 2018). As proteínas então são recuperadas por ultrafiltração, precipitação isoeletrica ou técnicas cromatográficas (BLEAKLEY; HAYES, 2017) (Figura 5).

Figura 1: Esquema da extração de proteína.



Fonte: Adaptado de Soto-Sierra et al. (2018).

2.1.2.2 Biocombustíveis

Os principais biocombustíveis produzidos a partir de microalgas são o biodiesel, bioetanol, biogás e bio-hidrogênio. O biogás é produzido pela conversão de resíduos orgânicos por meio da digestão anaeróbica (DA), contendo, principalmente gás carbono e metano (CHANDRA et al., 2019). A DA é vantajosa devido elevada relação entre a energia de saída e a energia de entrada, bem como a simplicidade do processo em comparação com os processos de bioetanol/biodiesel. Além disso, o metano tem um poder calorífico maior por massa quando comparado aos combustíveis líquidos (biodiesel e bioetanol) (Wu et al., 2019). A DA também possibilita a co-digestão com outros tipos de biomassa ou resíduos (SAKARIKA; KORNAROS, 2019).

2.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia (DA) é um processo bioquímico que converte compostos orgânicos complexos em biogás por meio da ação sinérgica e combinada de microrganismos, sob ausência de oxigênio (WU et al., 2019). Diversas matérias-primas podem ser usadas na DA, de acordo com a disponibilidade e abundância, como efluentes municipais, resíduos agrícolas, dejetos de animais, resíduos orgânicos em aterros e resíduos alimentares (CHERNICHARO, 2007).

A composição dos resíduos pode influenciar na produção volumétrica do biogás, assim como na composição de metano; por exemplo gorduras e proteínas tem mais propensão a produzir maior volume de biogás. De fato, gorduras, proteínas e carboidratos podem produzir, teoricamente, $1014 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kg}_{\text{SV}}^{-1}$, $740 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kg}_{\text{SV}}^{-1}$ e $370 \text{ NL}_{\text{CH}_4} \text{ kg}_{\text{SV}}^{-1}$ de metano, respectivamente (ATELGE et al., 2020).

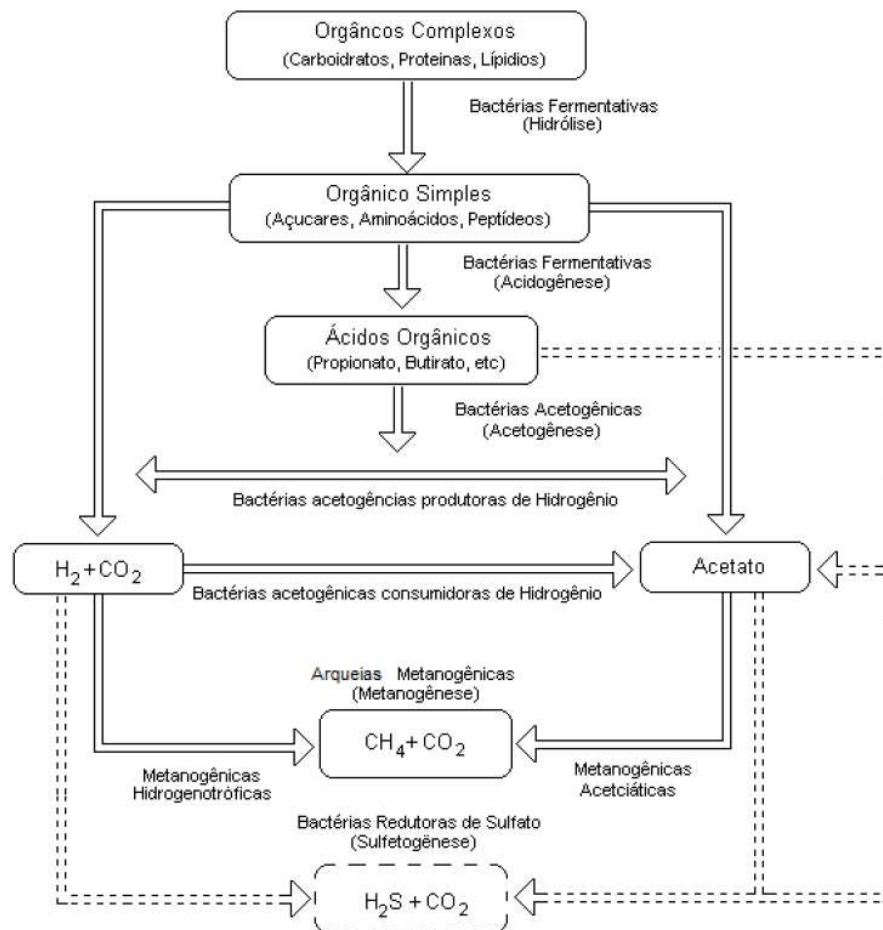
A DA possui características favoráveis como baixo consumo de energia, baixo custo de implantação e operação, baixa produção de lodo, tolerância a elevadas cargas orgânicas e a produção do biogás, subproduto de interesse econômico (CHERNICHARO, 2007). A recuperação energética do biogás a partir da degradação de resíduos orgânicos pode contribuir para que o Brasil atinja as metas propostas no Acordo de Paris, a partir da redução das emissões de gases de efeito estufa (37% até 2025 e 43% até 2030 em relação aos níveis de 2005), assim

como pelo aumento na participação de outras fontes de energia renovável na matriz energética (PIN et al., 2020).

2.2.1 A microbiologia na digestão anaeróbia

A DA contempla quatro processos biológicos: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Primeiramente, a quebra da matéria orgânica complexa é realizada por enzimas extracelulares produzidas a partir de diferentes bactérias durante a hidrólise. Dessa forma, moléculas mais complexas como carboidratos, proteínas e lipídios são hidrolisadas a aminoácidos, açúcares, ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) e álcoois (GONZALEZ-FERNANDEZ; SIALVE; MOLINUEVO-SALCES, 2015) (Figura 3).

Figura 2: Esquema da digestão anaeróbia.



Fonte: Chernicharo, 2007.

A partir disto, os microrganismos acidogênicos fermentam os produtos resultantes da hidrólise em ácidos orgânicos (ex.: acético e butírico), álcoois, ácido láctico, dióxido de carbono, hidrogênio, amônia e sulfeto de hidrogênio (NÁTHIA-NEVES et al., 2018). A partir desses compostos intermediários, as bactérias acetogênicas geram os principais substratos da

metanogênese: acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (CHERNICHARO, 2007). Os microrganismos acetogênicos tem menores taxas de crescimentos e são sensíveis a mudanças ambientais como a carga orgânica. Além disso, a produção de ácidos orgânicos pode causar a diminuição do pH do meio, o que beneficia os microrganismos acidogênicos e acetogênicos, mais propensos a se reproduzirem em pH levemente ácido (4,5–5,5) (NÁTHIA-NEVES et al., 2018).

Por fim, ocorre a metanogênese, realizada por arqueias metanogênicas. Esses microrganismos são estritamente anaeróbios e são divididos em dois grupos: os que utilizam acetato e os que usam hidrogênio e dióxido de carbono como substrato para produção de metano (WEILAND, 2010). A via metabólica preferencial é a acetoclástica, representando 70% do metano produzido. Por outro lado, a quantidade de microrganismos hidrogenotróficos cresce em condições estressantes (aumento da carga orgânica, variações de temperatura, acúmulo de amônio ou AGCL) (GONZALEZ-FERNANDEZ; SIALVE; MOLINUEVO-SALCES, 2015) (Figura 3). Diferentemente dos demais microrganismos, as arqueias metanogênicas se beneficiam em condições levemente alcalinas em torno de 6,5–8,0 (NÁTHIA-NEVES et al., 2018).

A atividade biológica dos microrganismos envolvidos na DA é fortemente afetada por fatores operacionais e ambientais, como pH, temperatura e tempo de retenção hidráulica (CHERNICHARO, 2007). O pH, por exemplo, pode afetar a atividade de enzimas e influencia a toxicidade de alguns compostos. A faixa de pH ótima depende do microrganismo e substrato envolvido no processo, porém valores abaixo de 6 e maiores que 8 podem inibir os produtores de metano (CHERNICHARO, 2007).

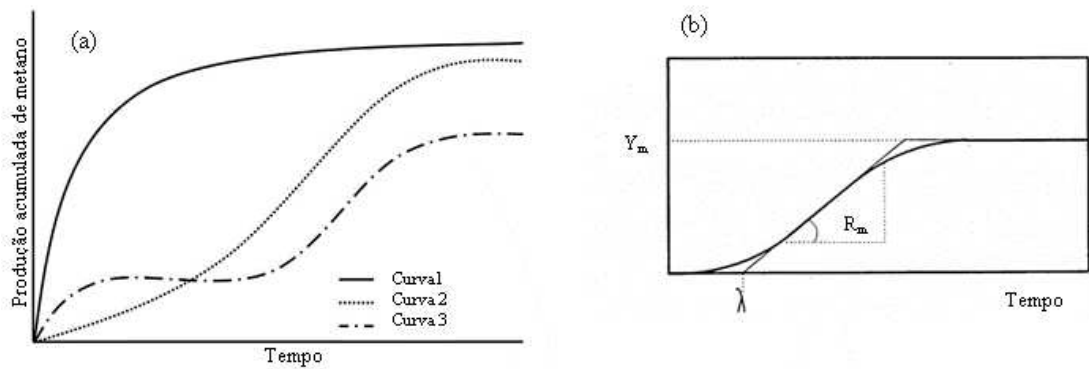
2.2.2 Avaliação da biodegradabilidade

Na análise de viabilidade de um resíduo como matéria-prima para DA, é necessário entender a cinética e a dimensão da produção de CH₄ (MORAIS et al., 2021). O teste de potencial de biometano (BMP) é um método estabelecido e acessível para mensurar os rendimentos de metano de novas matérias-primas, para avaliar pré-tratamentos de biomassa ou a co-digestão com outros substratos (BOHUTSKYI et al., 2019). No teste BMP, a produção de metano é quantificada e o potencial de metano do substrato que é expresso por massa de sólidos voláteis (SV) ou demanda química de oxigênio (DQO) (FILER; DING; CHANG, 2019).

Dessa forma, um dos resultados do teste BMP é a curva de produção cumulativa de metano (Figura 4a), nas quais observa-se três fases: i) fase lag, com uma produção lenta de gás,

ii) fase exponencial, com uma taxa de produção de gás acelerada e iii) fase estacionária, na qual a produção cai e chega a zero (Figura 4b) (WARE; POWER, 2017). Substratos mais simples apresentam curva em forma de L, enquanto a digestão de substratos mais complexos resulta em curvas mais alongada em forma de S ou a curva escalonada (WARE; POWER, 2017).

Figura 3: Curvas de metano acumulado.



Legenda: a) típicas curvas de produção acumulada de metano (CPCM). Curva 1: reverso em forma de L ou exponencial, Curva 2: forma em S alongada e Curva 3: curva escalonada. b) fases da (CPCM) e os parâmetros cinéticos. Fonte: Adaptado de Ware e Power (2017).

A utilização de modelagem para descrever a cinética da produção de metano de diferentes substratos auxilia na análise do efeito de parâmetros na eficiência da DA, bem como fornece bases para construção e melhoramento de reatores (NGUYEN et al., 2019). Alguns dos modelos disponíveis estão apresentados na Tabela 2. A partir de modelos como primeira ordem ou modelo de Cone é possível obter a taxa de hidrólise (k_h) de matéria orgânica particulada e o rendimento cumulativo de metano (Y_m). Além desses parâmetros, com o modelo Gompertz modificado pode-se estimar a duração da fase lag (λ), que também é importante indicador da eficiência da digestão anaeróbia (ZHEN et al., 2016) (Figura 4b).

Tabela 2: Modelos cinéticos aplicados na digestão anaeróbia.

Equação	Modelo	Equação	Observações
(1)	1ª ordem	$Y_i = Y_m(1 - e^{-k_h t_i})$	<p>Y_i = é o rendimento específico de metano no tempo i ($\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{SV}}^{-1}$);</p> <p>$Y_m$ = rendimento máximo de metano ($\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{SV}}^{-1}$);</p> <p>$k_h$ = taxa de hidrólise (d^{-1});</p> <p>t_i = tempo de digestão (d).</p>
(2)	Gompertz Modificado	$Y_i = Y_m \exp(-\exp(\frac{R_m e(\lambda - t_i)}{Y_m}) + 1)$	<p>λ = fase lag (d^{-1});</p> <p>R_m = taxa máxima de produção de metano ($\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{SV}}^{-1} \text{d}^{-1}$).</p>
(3)	Cone	$Y_i = \frac{Y_m}{1 + (k_h t_i)^{-n}}$	n = fator de forma.

Fonte: Adaptado de Hu et al. (2021) e Zhen et al. (2016)

2.2.3 O biogás

O biogás é um dos subprodutos do processo anaeróbio. É composto principalmente de metano (50–75%) e dióxido de carbono (25–50%). Além disso, é geralmente saturado com água (H_2O) e pode conter alguns elementos traços como sulfeto de hidrogênio (H_2S), amônia (NH_3), siloxanos e oxigênio (O_2) e nitrogênio (N_2), de acordo com o substrato utilizado. O poder calorífico depende da concentração de CH_4 no biogás, variando entre 19,7 e 23,3 MJ m^{-3} , o que compreende de 50 a 70% do poder calorífico do gás natural comercial de 31,6–39,0 MJ m^{-3} (WELLINGER; MURPHY; BAXTER, 2013).

O metano é um gás com potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o CO_2 . O aproveitamento energético do biogás ocorre pela oxidação do CH_4 a CO_2 e liberação de energia que pode ser convertida em eletricidade e calor, assim como combustível veicular e gás substituto ao gás natural (PIN et al., 2020).

2.2.4 Digestão anaeróbia de microalgas

As microalgas contêm três componentes principais como biomassa, ou seja, proteínas, carboidratos e lipídios, que são prontamente consumidos e tratados através de processos de digestão anaeróbica (DA) como quaisquer outros resíduos orgânicos (YUKESH KANNAH et al., 2021). Entretanto, a DA de microalgas apresenta limitações, por apresentar baixa relação C/N da biomassa, em razão da grande quantidade de proteína presente na sua composição,

componente que libera amônia em sua decomposição, podendo inibir a DA (RAMOS-SUÁREZ et al., 2014). Outro fator de destaque é a recalcitrância e biodegradabilidade da parede celular das microalgas, a qual possui uma estrutura celular rígida e complexa, composta por proteínas, carboidratos, celulose e hemicelulose. Dessa forma, a ação de enzimas é dificultada, limitando a DA (YUKESH KANNAH et al., 2021). Dessa forma, pré-tratamentos são usados para romper a parede celular das microalgas em processos com ou sem extração de coprodutos. O rompimento aumenta a disponibilidade do conteúdo intracelular e melhora a biodegradabilidade anaeróbia das microalgas (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019).

O biogás pode ser o principal produto das microalgas, produzido a partir da DA direta de toda a biomassa ou pode ser gerado como subproduto de tratamento de resíduos orgânicos em biorrefinarias ou na planta de microalgas para diversos fins (RAMOS-SUÁREZ; ARROYO; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, 2015). Nesse sentido, alguns estudos analisaram a DA da fração residual de microalgas (BOHUTSKYI et al., 2019; EHIMEN et al., 2009; SCARCELLI et al., 2020). A biomassa de microalgas residual obtida após a extração do subproduto tem mostrado uma maior biodegradabilidade quando comparada às microalgas brutas, visto que a etapa de extração atua como um pré-tratamento (Tabela 5) (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019). Em seus estudos com a biomassa de *Scenedesmus* spp., Ramos-Suárez & Carreras (2014) relataram um aumento de 1,94 vez na produção de metano e 2,26 vezes na produção de biogás após a extração de aminoácidos em relação a biomassa bruta.

Tabela 3: Comparação de rendimento de metano em resíduos de microalgas e sua biomassa bruta.

Microalga	Temp. (°C)	Pré-processamento	Relação C/N	Rendimento de metano (mL _{CH₄} (gsv) ⁻¹)	Aumento (%)	Referência
<i>Scenedesmus</i> sp.	37	Bruta	5,9	140,3	-	Ramos-Suárez e Carreras (2014)
		Extração de proteína	7,2	272,8	1,94 x	
		Extração de lipídeos	6,1	212,3	1,51 x	
<i>Scenedesmus</i> sp.	37	Bruta	-	163	-	Astals et al. (2015)
		Extração de proteína	-	222	36	
		Extração de lipídeos	-	223	37	
Policultura algal-bacteriana	-	Bruta	5,9	304	-	Bohutskyi et al. (2019)
		Extração de lipídeos	4,6	296	0	

A extração de proteínas anteriormente à DA da biomassa microalgal promove benefícios, dentre os quais a solubilização de macromoléculas (carboidratos e lipídios),

aumento da biodegradabilidade, melhoria na relação de C:N (HERNÁNDEZ et al., 2018) e redução na inibição de microrganismos importantes na digestão pela amônia, devido à grande quantidade de proteína presente na biomassa microalgal (RAMOS-SUÁREZ et al., 2014). Entretanto, a maior parte dos estudos de microalgas está concentrada na extração de lipídios para a produção de biodiesel (PASSOS et al., 2014; PHONG et al., 2018), de forma que o estudo da DA do resíduo da biomassa microalgal após a extração de proteínas ainda foi pouco estudado (HERNÁNDEZ et al., 2018; MARKOU et al., 2020).

2.2.4.1 Co-digestão de microalgas e água residuária do processamento de café

A digestão anaeróbia de um único substrato pode acarretar em fenômenos inibitórios provocados, por exemplo, pelo excesso de amônia na matéria-prima ou falta de alcalinidade. Dessa forma, a DA simultânea de múltiplos substratos, conhecida como co-digestão, é reconhecida como favorável à estabilidade do processo e uma maior geração de biogás (MAINARDIS; BUTTAZZONI; GOI, 2020). A maior produção do subproduto está relacionada ao aumento da carga orgânica e balanceamento dos nutrientes de nutrientes para os microrganismos, bem como a diluição de compostos tóxicos (KUNATSA; XIA, 2022). A co-digestão de resíduos de microalgas após a extração tem sido usada como estratégia para melhoria do rendimento do biogás (Tabela 6) (ASTALS et al., 2015; RAMOS-SUÁREZ et al., 2014). Em seu estudo, Bohutskyi et al. (2019) relataram um aumento de 3 vezes na produção de metano em relação à mono-digestão da biomassa residual após a extração de lipídeos, bem como a diminuição da fase lag de 17 dias para 1,09 dia.

A maioria dos estudos é focado no aprimoramento da DA pelo balanço da relação C/N até próximo da faixa ótima de 10 e 30 (RAMOS-SUÁREZ; ARROYO; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, 2015). Em seu estudo, Passos et al. (2018) encontraram um efeito sinérgico entre a casca de café e microalgas, com um aumento de 17% no rendimento de metano na co-digestão em relação à produção de metano teórica da mistura baseada nos valores individuais dos substratos. De modo geral, a co-digestão de substratos ricos em nitrogênio como microalgas (C/N<12) (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019) com substratos ricos em carbono (C/N=29) (CHEN et al., 2019) promover uma melhoria em termos de nutrientes.

Tabela 4: Rendimento de metano para co-digestão de microalgas.

Microalga	Co-substrato	Temp. (°C)	Proporção de mistura otimizada	Pré-processamento	Rendimento de metano (mL _{CH₄} (g _{SV}) ⁻¹)	Aumento (%) ^a	Referência
<i>Chlorella</i> sp.	Estrume de galinha	35	8:2 (SV)	-	169	-	Li et al. (2017)
<i>Chlorella</i> sp.	Lodo ativado	30	40:60(SV)	térmico 65° C	338	-	Scarcelli et al. (2020)
<i>Chlorella</i> sp.	Casca do café	35	14:86 (SV)	térmico 120° C	196	87	Passos et al. (2018)
<i>Scenedesmus</i> sp.	Glicerol	37	89:11 (SV)	Extração de lipídeos	255	-	Ramos-Suárez; Carreras (2014)
<i>Scenedesmus</i> sp.	LP	37	74:26 (SV)	Extração de proteína	173	35	
<i>Scenedesmus</i> sp.	Esterco suíno	37	15:85 (SV)	-	319	5	Astals et al. (2015)

Fonte: Adaptado de Solé-Bundó et al., (2019); LP: Lodo de indústria de papel; ^aA melhoria do rendimento de metano é calculada como a soma do produto do rendimento de metano de cada substrato, considerando a proporção de co-substratos e seu rendimento de metano experimental em mono-digestão.

2.3 CAFÉ

2.3.1 A produção do café

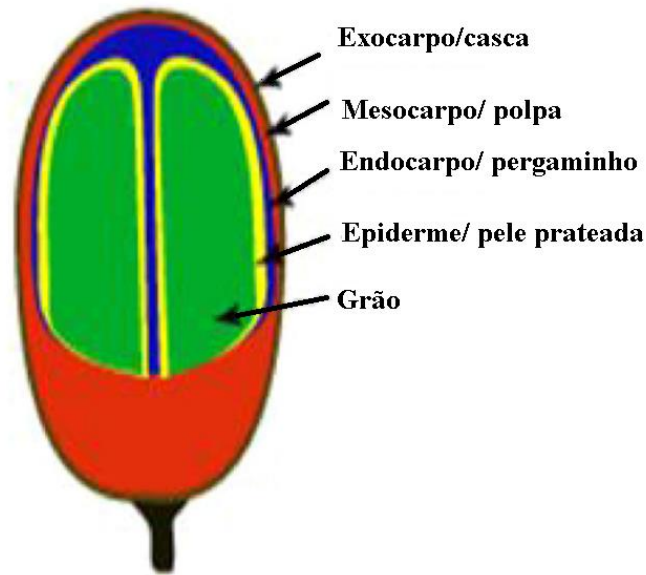
O café é uma planta pertencente à família *Rubiaceae*, do gênero *Coffeae*. A cultura é originária da Etiópia, habitat natural do café arábica e da África Central, local de origem do café robusta (MURTHY; MADHAVA NAIDU, 2012). Os holandeses foram os primeiros a cultivar o produto na Europa no século XVII, e a partir daí o café se espalhou pelo mundo. Em 1727 as primeiras mudas de café chegavam ao Brasil e no início do século XIX o país já produzia para exportação (OLIVEIRA; OLIVEIRA; MOURA, 2012).

O café é uma das commodities agrícolas mais valiosas. Segundo a Organização Internacional do Café (OIC) (ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ, 2022), só no ano cafeeiro de 2020/2021, o consumo mundial de café foi de 164,9 milhões, com expectativas de aumento 3,3% para o próximo ano. O Brasil é o maior produtor de café do mundo, responsável por 33,6% da produção mundial na safra atual, seguido por Vietnã, 18,6% e Colômbia com 8% (CONAB, 2022). No cenário nacional, Minas Gerais é o estado com a maior produção de café (22.142 mil sacas), seguido por Espírito Santo, com produção de 14.166 mil sacas e São Paulo com 4.007 mil sacas (CONAB, 2022).

2.3.2 Partes constituintes do café

O café é formado por seis camadas distintas. Na porção mais externa tem-se uma fina camada (~0,5mm), denominada exocarpo, a qual apresenta uma superfície dura e lisa. Mais internamente ao fruto, encontra-se o mesocarpo (ou polpa) de cor branca amarelada e de caráter adocicado. Essas camadas são compostas de carboidratos (35-85%), fibras solúveis (30,8%), minerais (3-11%) e proteínas (5-11%). Posteriormente, há a mucilagem que une as sementes, composta principalmente por água, proteína, açúcar, pectico e cinzas (ROTTA et al., 2021). Em uma camada inferior, encontra-se o endocarpo (pergaminho) que é uma espécie de casca fibrosa composta de (α -)celulose, hemicelulose, lignina e cinzas. A epiderme (pele prateada) refere-se a uma fina camada com alto teor de fibras e também polissacarídeos, proteínas, gorduras e cinzas. Por fim, o endosperma, comumente conhecido como café verde, o produto comercial (IRIONDO-DEHOND et al., 2019) (Figura 1).

Figura 4: Partes constituintes do café.



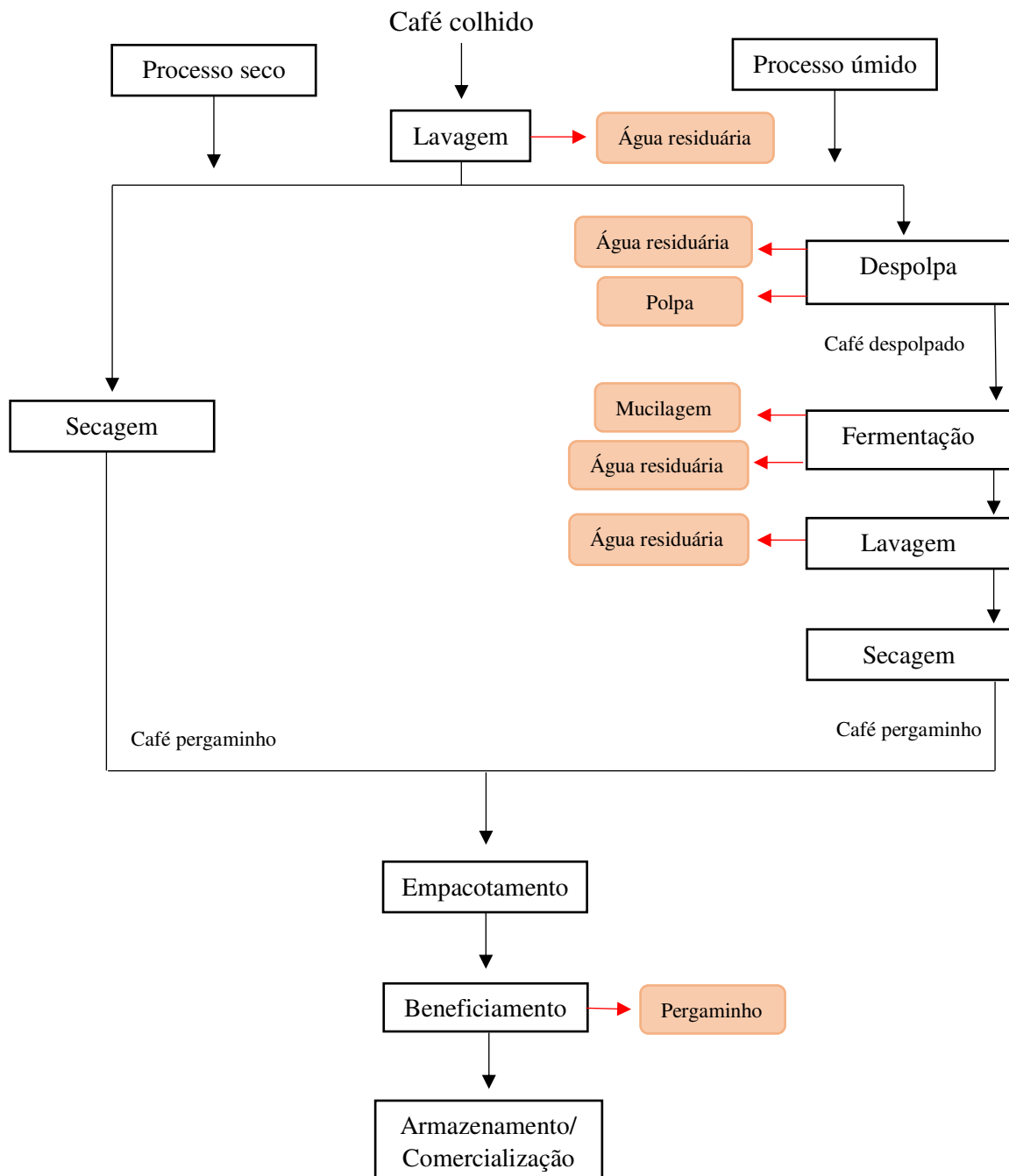
Fonte: Adaptado de Murthy e Naidu, (2012)

2.3.3 O processamento do café

Dois métodos podem ser usados para o processamento do café: a via úmida e via seca. Para a escolha do método alguns fatores devem ser levados em consideração, dentre os quais: condições climáticas da região, disponibilidade de recurso financeiro e de equipamentos, exigência do consumidor com relação à qualidade do produto, atendimento a requisitos ambientais, como outorga para uso de água, e acesso de tecnologia para o tratamento da água residuária gerada (BOREM, 2008).

O processamento por via seca é a técnica mais simples e antiga para o beneficiamento do café. Após colheita, o café passa por uma limpeza, geralmente com o uso de lavadores pré-fabricados. Essa etapa visa retirar impurezas como folhas, paus, pedras, terra e selecionar os grãos nos seus diversos estágios de maturação (verde, cereja, coco e passa). Em seguida, o café é seco em terreiros ou secadores. Nesse caso, a qualidade do produto final pode variar em função da heterogeneidade da secagem (Figura 2) (CAMPOS; PEREIRA; PRADO, 2010).

Figura 5: Processamento do café.



Fonte: Adaptado de Cássia et al. (2021).

No processamento via úmida, primeiramente os grãos de café passam por uma triagem a partir de sua imersão em água. Dessa forma, os grãos defeituosos flutuam e são removidos, assim como outras impurezas. Em seguida, ocorre a despolpa, na qual as camadas externas do grão – exocarpo e mesocarpo – são removidas, permanecendo uma camada viscosa de

mucilagem ao redor do grão (IJANU; KAMARUDDIN; NORASHIDDIN, 2020). Após essa etapa, acontece a fermentação da mucilagem, que é decomposta por microrganismos. Após a completa fermentação do material, ocorre a lavagem, até sua completa remoção. Por fim, os grãos são submetidos à secagem, na qual a umidade é reduzida para 10-12%. O processo de secagem pode ocorrer pelo uso de energia solar, assim como de secadores mecânicos, elétricos ou a gás. A remoção da umidade favorece a inibição do crescimento de fungos na semente, influenciando na qualidade e valor do produto (Figura 2) (IJANU; KAMARUDDIN; NORASHIDDIN, 2020).

A via seca produz poucos resíduos e não resulta em efluentes com elevada carga orgânica, de forma que é o processo com impactos ambientais negativos de menor magnitude (BOREM, 2008). Esse método é mais utilizado em regiões onde a secagem ao sol é viável e/ou em regiões semi-áridas como Brasil e Etiópia (ROTTA et al., 2021). Por outro lado, na via úmida, a seleção criteriosa dos frutos maduros na colheita, a remoção da casca e da mucilagem, o controle da fermentação e a secagem nesse tipo de processamento tendem a produzir bebidas de maior qualidade (BOREM, 2008). Além da melhor qualidade e preço, o processamento úmido reduz o custo da secagem, uma vez que a secagem do café descascado é mais rápida, assim gastando menos energia (MORELI et al., 2015), por isso tem ganhado destaque no Brasil (OLIVEIRA; BRUNO, 2013).

2.3.4 Os resíduos do processamento do café

O objetivo do processamento do café é produzir o pó do café, após a remoção da casca e da parte mucilaginoso (MURTHY; MADHAVA NAIDU, 2012). Dentre as etapas do beneficiamento do café, destacam-se a lavagem e seleção dos grãos, remoção da casca e/ou despulpa; fermentação e a lavagem da mucilagem residual com sendo as etapas onde se geram as maiores quantidades de resíduos (CÁSSIA et al., 2021). A casca e a polpa do café são os principais resíduos sólidos gerados nesse processamento, representando 45% do fruto (MURTHY; MADHAVA NAIDU, 2012).

Além disso, o consumo de água no processamento úmido do café pode variar de 5-15L por kg de café verde lavado, dependendo da metodologia adotada (HUE; BITTENBENDER, 2006). Na lavagem e separação pode ser gasto de 0,1 a 0,3 L de água por litro de fruta, enquanto no descascamento e/ou despulpa, o consumo é de 3 a 5 L de água por litro de fruta. Esse consumo pode variar em função do método de colheita, maturação dos frutos,

tipos de operações de processamento e equipamentos que forem usados na unidade (BOREM, 2008).

Nesse sentido, o processamento via úmida gera uma significativa quantidade de efluente, podendo variar entre 15-20 L (IJANU; KAMARUDDIN; NORASHIDDIN, 2020) até 40-45 L por quilograma de grão verde processado (ADDIS et al., 2020). A água residuária do processamento do café (ARC), além da elevada produção, também apresenta elevada concentração de matéria orgânica (DQO até 50.000 mg L⁻¹ e DBO até 20.000 mg L⁻¹), assim como, baixo pH (até 3,5), além de substâncias como pectina, proteínas e açúcares, taninos, alcalóides (cafeína) e compostos fenólicos (até 388 mg L⁻¹) (CAMPOS; PEREIRA; PRADO, 2010; CRUZ-SALOMÓN et al., 2018) (Tabela 1).

Tabela 5: Parâmetros físicos e químicos da água residuária do processamento do café.

Parâmetro	Referência				
	Selvamurugan et al. (2010)	Cruz-Salomón et al. (2017)	Campos et al. (2014)	Pin et al. (2020)	Lepe-Cervantes et al. (2017)
pH	4,05	3,95	4,08 - 5,17	3,87	3,83
DQO (mg L ⁻¹)	7450	45955	11767 - 64467	2082	30278
DBO (mg L ⁻¹)	4290	37944	7616 - 37600	1503	13248
ST (g L ⁻¹)	3,86	19,59	-	6,64	25,57
SF (g L ⁻¹)	-	-	-	0,53	-
SV (g L ⁻¹)	-	-	-	6,10	24,20
NT (mg L ⁻¹)	150	700	-	25	412,19
COT (mg L ⁻¹)	4200	11400	-	-	-
SV:ST	-	-	-	92	-
DQO:DBO	1,74	-	-	1,39	-
C:N	28	16	-	-	-
Fenóis	-	-	519 - 1284	-	-

Legenda: DQO: demanda química de oxigênio; DBO: demanda bioquímica de oxigênio; ST: sólidos totais; SF: sólidos fixos; SV: sólidos voláteis; NT: nitrogênio total; COT: carbono orgânico total.

O lançamento da ARC em corpos d'água pode trazer implicações em termos do decaimento de oxigênio na massa líquida, em decorrência do consumo do oxigênio pela respiração de bactérias heterotróficas ao se ter a degradação da matéria orgânica presente no efluente (SPERLING; LEMOS CHERNICHARO, 2005), situação reportada por Dadi et al. (2018) em corpos d'águas na Etiópia. Além do risco de acidificação (ADDIS et al., 2020) ou a floração de plantas aquáticas e algas no corpo d'água (CÁSSIA et al., 2021).

Ressalta-se que a legislação ambiental dispõe de limites para o lançamento de efluentes em corpos d'água. A Resolução CONAMA N° 430/11 determina remoção mínima de

60% de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) para o lançamento direto em corpos d'água, não se podendo exceder o padrão de qualidade de água estabelecidos para a classe em que se encontra o corpo receptor (CONAMA,2011).

Tratamentos químico-físicos e biológicos são alternativas para a gestão da ARC. No entanto, tratamentos químicos como oxidação avançada, coagulação-floculação e adsorção, exigem alto custo devido ao volume de efluente produzido no processamento do café (ADDIS et al., 2020). Além disso, a presença de compostos orgânicos e uma relação DQO/DBO abaixo de 2 são características usuais na ARC, para esta condição o tratamento biológico é adequado para o efluente (PRADO; CAMPOS; SILVA, 2010).

Em seu trabalho, Addis et al. (2020) apontaram a digestão anaeróbia (DA) como o tratamento mais aplicável, em razão da sua maior viabilidade técnica e financeira. De fato, a DA se sobressai dentre outros métodos de tratamento de águas residuárias em razão da menor demanda de área para o sistema de tratamento, prevenção de maus odores, redução da carga orgânica e patógenos, e a geração de subprodutos como o biogás rico em metano e fertilizante orgânico (BEYENE et al., 2014).

2.3.5 Digestão anaeróbia de ARC

Na Tabela 3 apresentam-se uma síntese de trabalhos que promoveram digestão anaeróbia da ARC. Selvamurugan et al. (2010) estudaram o Reator Híbrido Anaeróbio de Fluxo Ascendente (UAHR, em inglês) para o tratamento da ARC. No tempo de retenção hidráulica (TRH) otimizado (18h), obteve-se uma produção de 775 L por kg de DQO removida; redução de 61% de DQO, 66% de DBO e 58% de ST, com uma carga orgânica volumétrica de 9.55 kg m⁻³.

Tabela 6: Descrição de estudos com o uso da digestão anaeróbia para o tratamento da água residuária do processamento do Café.

Reator	COV (kg DQO (m ³ d) ⁻¹)	Temp. (°C)	TRH (h)	Remoção de DQO (%)	Rendimento de biogás (m ³ (Kg DQO) ⁻¹)	CH ₄ (%)	Referências
EGSB	-	21	1441	96	0,3	80,3	Cruz-Salomón et al. (2017)
TA-UASB	0,14 - 20,29	-	9,9 -62,2	71 - 82	42,8 - 46,2	29,9 - 32,4*	Campos et al. (2010)
UASB-UAF	7,01 a 28,41	-	24 a 6	70 a 46	0,43 (18 h) a 0,26 (6 h)	61,8 a 50,4	Selvamurugan et al. (2010)
Reator em batelada	-	37	38 d	16 - 77	0,042- 0,082	0,8 - 11	Pin et al., (2020)
Co-digestão							
AnMBR (ARC +lodo ativado)	4.27	55	240	92	-	0,28*	Chen et al. (2019)

Fonte: Adaptado de Addis et al. (2020). *m³ (kg DQO)⁻¹removida; COV = carga orgânica volumétrica; EGSB : leitos de lodo granular expandido; filtros anaeróbios de fluxo ascendente (UAF), UASB: reatores de manta de lodo anaeróbio de fluxo ascendente, TA: tanque de acidificação; AnMBR: reator anaeróbio de membranas.

No caso da ARC, a presença de material prontamente fermentável no efluente pode acelerar a acidificação do sistema e causar um acúmulo de ácidos orgânicos voláteis (AOV). Além disso, algumas macromoléculas presentes na ARC como polifenóis (taninos) e polissacarídeos são recalcitrantes e conferem uma cor marrom escura ao efluente (IJANU; KAMARUDDIN; NORASHIDDIN, 2020). A co-digestão da ARC e outros resíduos se mostrou interessante para amenizar esses problemas. Kim et al. (2017) estudaram a co-digestão de borra de café e outros substratos como: resíduos alimentares, *Ulva* (macroalgas), lodo ativado (LA) e soro de leite em batelada. Com exceção do LA, a co-digestão apresentou um aumento na taxa cinética, sem prejuízos ao potencial de metano. Outros estudos foram conduzidos para avaliar a co-digestão de ARC com lodos ativados (CHEN et al., 2019; LEI et al., 2019) e resíduos do café (borra do café e efluente) com lodos provenientes de laticínios e municipal (SHOFIE et al., 2015), apresentando melhorias na estabilidade e balanço energético positivo.

Nesse contexto, a digestão conjunta de microalgas e ARC pode ser beneficiar o balanço de nutrientes. Além disso, o pH da biomassa de microalgas varia na faixa de 6,4 a 8,2 (JANKOWSKA; SAHU; OLESKOWICZ-POPIEL, 2017). A alcalinidade da biomassa pode auxiliar no ajuste da acidez da ARC para DA. O cultivo de microalgas dispõe de outros benefícios em relação ao uso de outros co-substratos, dentre eles: redução do efeito da sazonalidade de alguns co-substratos agroindustriais, bem como permitir o uso deste co-substrato em regiões onde outras matérias-primas não estão disponíveis. Nesse sentido, a co-digestão da ARC com a biomassa microalgal parece ser interessante, porém ainda faltam estudos na literatura.

2.4 REFERÊNCIAS

ADDIS, Y. et al. Management options for coffee processing wastewater . A review. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 22, n. 2, p. 454–469, 2020.

ASTALS, S. et al. Anaerobic co-digestion of pig manure and algae: Impact of intracellular algal products recovery on co-digestion performance. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 97–104, 1 abr. 2015.

ATELGE, M. R. et al. A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery. **Fuel**, v. 270, n. March, p. 117494, 2020.

BEYENE, A. et al. Experimental evaluation of anaerobic digestion for coffee wastewater treatment and its biomethane recovery potential. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 1881–1886, 2014.

BLEAKLEY, S.; HAYES, M. Algal proteins: Extraction, application, and challenges concerning production. **Foods**, v. 6, n. 5, p. 1–34, 2017.

BOHUTSKYI, P. et al. Production of lipid-containing algal-bacterial polyculture in wastewater and biomethanation of lipid extracted residues: Enhancing methane yield through hydrothermal pretreatment and relieving solvent toxicity through co-digestion. **Science of the Total Environment**, v. 653, p. 1377–1394, 25 fev. 2019.

BOREM, F. M. **Pós-Colheita do Café**. 1. ed. ed. Lavras: Editora UFLA, 2008.

CAMPOS, C. M. M.; PEREIRA, E. L.; PRADO, M. A. C. Caracterização físico-química, bioquímica e energética da água residuária do café processado por via úmida. **Biosci. J.**, v. 26, n. 4, p. 514–524, 2010.

CÁSSIA, R. et al. New sustainable perspectives for “ Coffee Wastewater ” and other by-products : A critical review. v. 4, n. June, 2021.

CHANDRA, R. et al. Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. **Bioresource Technology**, v. 278, n. November 2018, p. 346–359, 2019.

CHATSUNGNOEN, T.; CHISTI, Y. Harvesting microalgae by flocculation-sedimentation. **Algal Research**, v. 13, p. 271–283, 2016.

CHEIRSILP, B.; MANEECHOTE, W. Insight on zero waste approach for sustainable microalgae biorefinery: Sequential fractionation, conversion and applications for high-to-low value-added products. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, p. 101003, 2022.

CHEN, C. L.; CHANG, J. S.; LEE, D. J. Dewatering and Drying Methods for Microalgae. **Drying Technology**, v. 33, n. 4, p. 443–454, 2015.

CHEN, R. et al. Energy recovery potential of thermophilic high-solids co-digestion of coffee processing wastewater and waste activated sludge by anaerobic membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 274, p. 127–133, fev. 2019.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Anaerobic Reactors**. London: IWA Publishing, 2007. v. 4

CHEW, K. W. et al. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53–62, 2017.

CHIONG, T. et al. Microalgal-Based Protein By-Products: Extraction, Purification, and Applications. In: **Protein Byproducts**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 213–234.

CONAB COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café. **Brasília, DF**, v. 9 safra 22, n. 1 primeiro levantamento, p. 60, jan. 2022.

COSTA, J. A. V.; DE MORAIS, M. G. **An Open Pond System for Microalgal Cultivation**. [s.l.] Elsevier B.V., 2013.

CRUZ-SALOMÓN, A. et al. Anaerobic treatment of agro-industrial wastewaters for COD removal in expanded granular sludge bed bioreactor. **Biofuel Research Journal**, v. 4, n. 4, p. 715–720, 2017.

CRUZ-SALOMÓN, A. et al. Evaluation of hydraulic retention time on treatment of coffee processing wastewater (CPWW) in EGSB bioreactor. **Sustainability (Switzerland)**, v. 10, n. 1, 2018.

D. LEPE-CERVANTES, E. LEON-BECERRIL, J. GOMEZ-ROMERO, O. GARCIA-DEPRAECT, A. L.-L. Anaerobic Digestion of Coffee Wastewater from a Fast Inoculum Adaptation Stage : Replacement of Complex Substrate. v. 11, n. 5, p. 374–378, 2017.

DADI, D. et al. Assessment of the effluent quality of wet coffee processing wastewater and its influence on downstream water quality. **Ecohydrology and Hydrobiology**, v. 18, n. 2, p. 201–211, 2018.

EHIMEN, E. A. et al. Energy recovery from lipid extracted, transesterified and glycerol codigested microalgae biomass. **GCB Bioenergy**, v. 1, n. 6, p. 371–381, dez. 2009.

FILER, J.; DING, H. H.; CHANG, S. Biochemical Methane Potential (BMP) Assay Method for Anaerobic Digestion Research. 2019.

GONZALEZ-FERNANDEZ, C.; SIALVE, B.; MOLINUEVO-SALCES, B. Anaerobic digestion of microalgal biomass: Challenges, opportunities and research needs. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 896–906, 2015.

HERNÁNDEZ, D. et al. Recovery of Protein Concentrates From Microalgal Biomass Grown in Manure for Fish Feed and Valorization of the By-Products Through Anaerobic Digestion. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, n. June, p. 1–11, 2018.

HU, Y. et al. Filamentous microalgae as an advantageous co-substrate for enhanced methane production and digestate dewaterability in anaerobic co-digestion of pig manure. **Waste Management**, v. 119, p. 399–407, 2021.

HUE, N. V; BITTENBENDER, H. C. Managing coffee processing water in Hawaii. n. May 2014, p. 15–21, 2006.

IJANU, E. M.; KAMARUDDIN, M. A.; NORASHIDDIN, F. A. Coffee processing wastewater treatment: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Applied Water Science**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

IRIONDO-DEHOND, A. et al. Validation of coffee by-products as novel food ingredients. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 51, n. June 2018, p. 194–204, 2019.

JANKOWSKA, E.; SAHU, A. K.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 75, n. December 2016, p. 692–709, 2017.

KHOO, K. S. et al. Recent advances in downstream processing of microalgae lipid recovery for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 304, n. February, p. 122996, 2020.

KIM, J. et al. Anaerobic co-digestion of spent coffee grounds with different waste feedstocks for biogas production. **Waste Management**, v. 60, p. 322–328, 2017.

KUNATSA, T.; XIA, X. A review on anaerobic digestion with focus on the role of biomass co-digestion, modelling and optimisation on biogas production and enhancement. **Bioresource**

Technology, v. 344, n. PB, p. 126311, jan. 2022.

LEE, S. Y. et al. Cell disruption and lipid extraction for microalgal biorefineries: A review. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1317–1328, 2017.

LEI, Z. et al. Characterization of microbial evolution in high-solids methanogenic co-digestion of canned coffee processing wastewater and waste activated sludge by an anaerobic membrane bioreactor. **Journal of Cleaner Production**, v. 232, p. 1442–1451, 2019.

LI, R. et al. Anaerobic co-digestion of chicken manure and microalgae *Chlorella* sp.: Methane potential, microbial diversity and synergistic impact evaluation. **Waste Management**, v. 68, p. 120–127, 2017.

MAINARDIS, M.; BUTTAZZONI, M.; GOI, D. Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Technology for Energy Recovery : A Review on State-of-the-Art and Recent Technological Advances. 2020.

MARKOU, G. et al. Methane production through anaerobic digestion of residual microalgal biomass after the extraction of valuable compounds. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 31 mar. 2020.

MATOS, Â. P. **Microalgae as a Potential Source of Proteins**. [s.l: s.n.].

MOHSENPOUR, S. F. et al. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. **Science of the Total Environment**, v. 752, n. September 2020, p. 142168, 2021.

MORAIS JUNIOR, W. G. et al. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, n. May, p. 735562, 2020.

MORAIS, N. W. S. et al. Biochemical potential evaluation and kinetic modeling of methane production from six agro-industrial wastewaters in mixed culture. **Environmental Pollution**, v. 280, 2021.

MORELI, A. P. et al. Water Use Efficiency in the Processing of Coffee Fruits. p. 24–27, 2015.

MURTHY, P. S.; MADHAVA NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition - A review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 66, p. 45–58, 2012.

NÁTHIA-NEVES, G. et al. Anaerobic digestion process: technological aspects and recent developments. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 15, n.

9, p. 2033–2046, 2018.

NGUYEN, D. D. et al. Thermophilic anaerobic digestion of model organic wastes: Evaluation of biomethane production and multiple kinetic models analysis. **Bioresource Technology**, v. 280, n. February, p. 269–276, 2019.

OLIVEIRA, R. A. DE; BRUNO, N. M. N. Start-up of horizontal anaerobic reactors with sludge blanket and fixed bed for wastewater treatment from coffee processing by wet method. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n. 2, p. 353–366, abr. 2013.

OLIVEIRA, I. P.; OLIVEIRA, L. C.; MOURA, C. S. T. F. Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, n. 4, p. 17–32, 2012.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ. Relatório sobre o mercado cafeeiro – fevereiro 2022. p. 1–10, 2022.

PASSOS, F. et al. Pretreatment of microalgae to improve biogas production: A review. **Bioresource Technology**, v. 172, p. 403–412, nov. 2014.

PASSOS, F. et al. Anaerobic co-digestion of coffee husks and microalgal biomass after thermal hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 253, n. October 2017, p. 49–54, 2018.

PHONG, W. N. et al. Mild cell disruption methods for bio-functional proteins recovery from microalgae—Recent developments and future perspectives. **Algal Research**, v. 31, p. 506–516, abr. 2018.

PHUSUNTI, N.; CHEIRSILP, B. Integrated protein extraction with bio-oil production for microalgal biorefinery. **Algal Research**, v. 48, n. December 2019, p. 101918, jun. 2020.

PIN, B. V. DA R. et al. Energetic use of biogas from the anaerobic digestion of coffee wastewater in southern Minas Gerais, Brazil. **Renewable Energy**, v. 146, p. 2084–2094, 2020.

PRADO, M. A. C.; CAMPOS, C. M. M.; SILVA, J. F. DA. Estudo da variação da Prado, M. A. C., Campos, C. M. M., & Silva, J. F. da. (2010). Estudo da variação da concentração de metano no biogás produzido a partir das águas residuárias do café. *Ciência e Agrotecnologia*, 34(2), 475–484. <https://doi.org/10.1590/>. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 475–484, abr. 2010.

RAMOS-SUÁREZ, J. L. et al. Benefits of combining anaerobic digestion and amino acid

extraction from microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v. 258, p. 1–9, dez. 2014.

RAMOS-SUÁREZ, J. L.; ARROYO, N. C.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. The Role of Anaerobic Digestion in Algal Biorefineries: Clean Energy Production, Organic Waste Treatment, and Nutrient Loop Closure. In: **Algae and Environmental Sustainability**. New Delhi: Springer India, 2015. p. 53–76.

RAMOS-SUÁREZ, J. L.; CARRERAS, N. Use of microalgae residues for biogas production. v. 242, p. 86–95, 2014.

Resolução CONAMA nº430, de 13 de maio de 2011. Condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Publicada no DOU nº 92, de 16 de mai de 2011, pág. 89.

ROTTA, N. M. et al. A comprehensive analysis of operations and mass flows in postharvest processing of washed coffee. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 170, n. March, p. 105554, jul. 2021.

SAKARIKA, M.; KORAROS, M. *Chlorella vulgaris* as a green biofuel factory: Comparison between biodiesel, biogas and combustible biomass production. **Bioresource Technology**, v. 273, n. October 2018, p. 237–243, 2019.

SCARCELLI, P. G. et al. Evaluation of biomethanization during co-digestion of thermally pretreated microalgae and waste activated sludge, and estimation of its kinetic parameters. **Science of the Total Environment**, v. 706, p. 135745, 2020.

SELVAMURUGAN, M. et al. High rate anaerobic treatment of coffee processing wastewater using upflow anaerobic hybrid reactor. **Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 7, n. 2, p. 129–136, 2010.

SELVAMURUGAN, M.; DORAISAMY, P.; MAHESWARI, M. An integrated treatment system for coffee processing wastewater using anaerobic and aerobic process. **Ecological Engineering**, v. 36, n. 12, p. 1686–1690, 2010.

SHOFIE, M. et al. Comprehensive monitoring and management of a long-term thermophilic CSTR treating coffee grounds, coffee liquid, milk waste, and municipal sludge. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 202–211, 2015.

SHOW, K. Y. et al. Microalgal drying and cell disruption - Recent advances. **Bioresource**

Technology, v. 184, p. 258–266, 2015.

SIDDIKI, S. Y. A. et al. Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept. **Fuel**, v. 307, n. August 2021, p. 121782, 2022.

SOLÉ-BUNDÓ, M. et al. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, n. June, p. 471–482, 2019.

SOTO-SIERRA, L.; STOYKOVA, P.; NIKOLOV, Z. L. Extraction and fractionation of microalgae-based protein products. **Algal Research**, v. 36, n. June, p. 175–192, 2018.

SPERLING, M. VON; LEMOS CHERNICHARO, C. A. DE. Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions. **IWA Publishing**, p. 1–856, 2005.

SUGANYA, T. et al. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 55, p. 909–941, 2016.

UMMALYMA, S. B.; SINGH, A. Biomass production and phycoremediation of microalgae cultivated in polluted river water. **Bioresource Technology**, v. 351, n. February, p. 126948, 2022.

VANTHOOR-KOOPMANS, M. et al. Biorefinery of microalgae for food and fuel. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 142–149, 2013.

WARE, A.; POWER, N. Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions. **Renewable Energy**, v. 104, p. 50–59, 2017.

WEILAND, P. Biogas production: Current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 4, p. 849–860, 2010.

WELLINGER, A.; MURPHY, J.; BAXTER, D. **The biogas handbook: science, production and applications**. Oxford: Woodhead Publishing, 2013.

WU, N. et al. Techno-Economic Analysis of Biogas Production from Microalgae through Anaerobic Digestion. **Anaerobic Digestion**, 2019.

YUKESH KANNAH, R. et al. A review on anaerobic digestion of energy and cost effective microalgae pretreatment for biogas production. **Bioresource Technology**, v. 332, n. February,

p. 125055, 2021.

ZHEN, G. et al. Anaerobic co-digestion on improving methane production from mixed microalgae (*Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp. and food waste : Kinetic modeling and synergistic impact evaluation. **Chemical Engineering Journal**, v. 299, p. 332–341, 2016.

3 HIPÓTESES

Hipótese 1

O processo de extração de proteína é capaz de aumentar a biodegradabilidade e favorecer a digestão anaeróbia da biomassa de microalgas em termos de produção de biogás e metano em relação à biomassa bruta e rompida.

Hipótese 2

A co-digestão da ARC e microalgas é capaz de beneficiar o balanço dos nutrientes e melhorar o desempenho da mono-digestão anaeróbia da ARC.

Hipótese 3

A co-digestão da ARC e microalgas é benéfica para a cinética da digestão anaeróbia.

4 OBJETIVOS

Avaliar a co-digestão anaeróbia da biomassa de *Scenedesmus obliquus* – bruta (MB), rompida (MR) e desproteínizada (MPE) - e da água residuária do processamento do café (ARC) em termos de produção de biogás.

Objetivos Específicos:

1. Caracterizar e comparar a digestão anaeróbia em termos da produção de biogás das biomassas de microalga (MB, MR, MPE);
2. Avaliar a produção e composição do biogás proveniente da co-digestão anaeróbia das diferentes biomassas de microalga e ARC;
3. Avaliar a cinética da mono-digestão dos substratos (MB, MR, MPE e ARC) e a co-digestão da ARC e das microalgas estudadas.

5 CO-DIGESTÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS E ÁGUA RESIDUÁRIA DO PROCESSAMENTO DO CAFÉ

5.1 INTRODUÇÃO

As microalgas são uma importante matéria-prima de produtos energéticos (biodiesel, biogás, bioetanol) e outros produtos de elevado valor agregado, como proteínas e carboidratos (CHANDRA et al., 2019). As proteínas são os biopolímeros predominantes nas microalgas, consistindo entre 30 a 60% do seu peso seco (YUKESH KANNAH et al., 2021), compatíveis aos encontrados nas fontes convencionais de proteínas, como carne, ovo, soja e leite, com um perfil de aminoácidos muito favorável (MARKOU et al., 2020). A digestão anaeróbia (DA) é uma alternativa adequada para o manejo das grandes quantidade de resíduos de microalgas advindos da extração de metabólitos e diminuir os custos associados ao tratamento e descarte da biomassa residual (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019). Além disso, a DA se destaca em relação à outros biocombustíveis produzidos a partir de microalgas, dado a simplicidade do processo de e seu elevado rendimento energético comparado aos processos de bioetanol/biodiesel (WU; CHENG; CHANG, 2020).

Nesse contexto, alguns estudos analisaram a DA da biomassa residual de microalgas (BOHUTSKYI et al., 2019; EHIMEN et al., 2009; SCARCELLI et al., 2020). A etapa de extração de componentes de alto valor agregado atua como um pré-tratamento, de forma que a biomassa residual têm apresentado uma maior biodegradabilidade quando comparada às microalgas bruta (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019). Isso porque, pré-tratamentos são usados para romper a parede celular das microalgas em processos com ou sem extração de coprodutos. O rompimento aumenta a disponibilidade do conteúdo intracelular e melhora a biodegradabilidade anaeróbia das microalgas (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019). Em condições onde há a extração de proteínas das microalgas, identificam-se benefícios na DA da biomassa microalgal, dentre os quais a solubilização de macromoléculas e melhoria na relação de C:N (HERNÁNDEZ et al., 2018), evitando a inibição por amônia (RAMOS-SUÁREZ et al., 2014).

Uma alternativa para melhorar o desempenho da DA é a co-digestão conjunta de substratos, reconhecida como favorável à estabilidade do processo e ao aumento da produção de biogás (MAINARDIS; BUTTAZZONI; GOI, 2020). Passos et al. (2018), ao estudarem a co-digestão de biomassa microalgal com casca do café, reportaram o efeito sinérgico entre estes substratos, com aumento de 17% da produção de metano em relação à produção teórica, calculada pela média ponderada dos rendimentos individuais. O café se destaca como

importante produto agrícola, do qual o Brasil é o maior produtor mundial, responsável por 33,6% da produção mundial na safra atual, seguido por Vietnã, 18,6% e Colômbia com 8% (CONAB, 2022; ROTTA et al., 2021). No processamento úmido do café aplica-se água para lavagem, separação e remoção da casca e da mucilagem do grão (CAMPOS; PEREIRA; PRADO, 2010). Neste tipo de processamento, tem-se um elevado volume de efluente líquido (ARC) gerado, com consumo de até 15 L de água por kg de café verde processado (ADDIS et al., 2020). A ARC é rica em açúcares, proteínas, amido, pectina, óleos e gorduras solúveis, resultando em elevadas concentrações de demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sólidos, nitrogênio, fósforo e compostos fenólicos (CAMPOS; PEREIRA; PRADO, 2010; CRUZ-SALOMÓN et al., 2018).

Muitos estudos têm reportado DA como uma alternativa para o tratamento de ARC (CRUZ-SALOMÓN et al., 2018; PIN et al., 2020; SELVAMURUGAN et al., 2010). Entretanto, algumas limitações no tratamento podem estar associadas à uma tendência de acidificação e de acúmulo de ácidos orgânicos voláteis (AOV), devido à presença de material prontamente fermentável, assim como a acidez do efluente (IJANU; KAMARUDDIN; NORASHIDDIN, 2020). Além disso, algumas macromoléculas presentes na ARC como polifenóis (taninos) e polissacarídeos são recalcitrantes e conferem uma cor marrom escura ao efluente (CÁSSIA et al., 2021). A co-digestão de substratos com elevados teores de nitrogênio, como identificado nas microalgas ($C/N < 12$) (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019), em associação com substratos com elevados teores de carbono, típicos da ARC ($C/N = 29$), favorecem o balanço dos nutrientes, e o desempenho da degradação anaeróbia (CHEN et al., 2019).

Estudos avaliaram a co-digestão de ARC com lodos ativados (CHEN et al., 2019; LEI et al., 2019), de resíduos do café (borra do café e efluente) com lodos provenientes de laticínios e municipal (SHOFIE et al., 2015) apresentando melhorias na estabilidade e balanço energético positivo. No entanto, a co-digestão de microalgas com ARC ainda precisa ser melhor investigada. Em adição, a maioria dos estudos com a digestão anaeróbia de biomassa residual de microalgas foca em microalgas após a extração de lipídeos para a produção de biodiesel (ALZATE et al., 2014; BOHUTSKYI et al., 2019; EHIMEN et al., 2009), de forma que o estudo da DA do resíduo da biomassa microalgal após a extração de outros compostos, como proteínas, ainda é pouco explorado (ASTALS et al., 2015; HERNÁNDEZ et al., 2018; MARKOU et al., 2020). Nesse contexto, no presente trabalho objetivou-se avaliar a digestão anaeróbia da biomassa de *Scenedesmus obliquus* na sua forma bruta, após o rompimento e da biomassa

residual após extração de proteínas, bem como a co-digestão conjunta de ARC, em termos de produção de biogás e aspectos cinéticos.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Substratos

Nos experimentos foi utilizada a microalga *Scenedesmus obliquus* BR003, obtida da Coleção de Microalgas do Laboratório de Biocombustíveis do DEA/UFV. O cultivo ocorreu em um tanque aberto tipo *raceway* com volume útil de 4 m³, com radiação solar natural, temperatura do cultivo sujeita às variações climáticas e operação em batelada. O meio de cultura utilizado para o crescimento da biomassa microalgal foi sintético, produzido com fertilizantes agrícolas (ROCHA et al., 2019). A biomassa foi coletada no 12º dia, após atingir a fase estacionária de crescimento. O cultivo foi transferido para decantadores e o pH ajustado para 10, na sequência adicionou-se o floculante poliamina catiônica (SNF Floerger), sendo o sistema agitado para promover a dispersão e formação dos flocos. Após a sedimentação, a biomassa foi coletada com aproximadamente 5% (m/m) de sólidos totais.

Após a coleta, a biomassa foi congelada e em seguida seca por liofilização. A biomassa seca foi macerada em gral e pistilo por 1 hora, a fim de promover o rompimento da parede celular (SAFI et al., 2014). O material seco e rompido foi reidratado com água deionizada antes do processo de extração de proteínas. A caracterização da biomassa microalgal foi realizada após cada tratamento pelas análises de teor de carboidrato, lipídeo, proteína, nitrogênio total, DQO e sólidos, de acordo com métodos analíticos descritos no item 5.2.4.

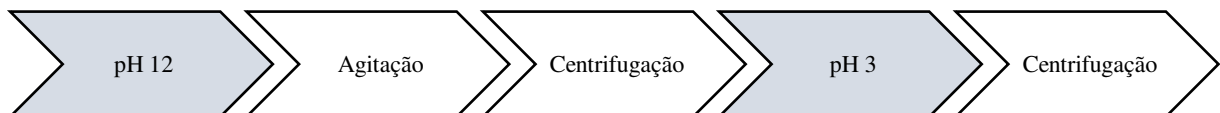
A ARC foi obtida em uma unidade de processamento de café por via úmida, localizada no município de Paula Cândido, Minas Gerais (Brasil). O sistema pós-colheita adotado no local é composto pela lavagem, despulpa e fermentação dos grãos. A água utilizada no processamento do café (ARC) passa por um conjunto de três decantadores, sendo posteriormente retornada ao início do sistema e descartada uma vez ao dia. A coleta da ARC foi realizada por amostragem simples na entrada do primeiro decantador, em recipientes de polietileno expandido de alta densidade (PEAD). O efluente foi coletado em agosto de 2021, no final do período de colheita do café, usualmente iniciada no mês de abril. Após a coleta, a ARC foi armazenada a 4 °C. A caracterização da ARC foi realizada a partir das análises de

sólidos, demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total (NT), óleos e graxas e fenóis na ARC, conforme os métodos analíticos descritos no item 5.2.4.

5.2.2 Extração de proteínas

A extração de proteínas foi realizada a partir do tratamento alcalino, seguido de precipitação isoelétrica (Figura 6). Dessa forma, o pH da suspensão da biomassa rompida foi ajustado para 12 com solução de NaOH 4 mol L⁻¹, com agitação por 3 horas, a uma temperatura de 60 °C. Esse procedimento promove a liberação das proteínas do interior das células rompidas para o meio externo (AMORIM et al., 2020). A solução resultante foi então centrifugada (5000 rpm por 10 minutos) e o sobrenadante teve o pH corrigido para 3 com solução de HCl 4 mol L⁻¹, seguido de centrifugação (5000 rpm por 10 minutos) para obtenção do concentrado proteico. Para maximizar o rendimento da extração de proteínas, o processo foi repetido por 2 vezes. Após a extração, a biomassa residual foi seca em estufa com circulação de ar a 65°C por 24 horas.

Figura 6: Esquema da extração de proteína.



5.2.3 Avaliação da digestão anaeróbia das microalgas e da ARC

O estudo da digestão anaeróbia foi realizado a partir de testes de BMP (*Biochemical Methane Potencial*), os quais foram conduzidos em frascos de penicilina de 120 mL, com volume útil de 60 mL. Os reatores permaneceram em condições mesofílicas (35 °C), em banho maria, sendo agitados manualmente uma vez ao dia. Uma relação inóculo: substrato de 2:1 (com base em SV) foi aplicada (HOLLIGER et al., 2016). Os frascos BMP foram purgados com nitrogênio por 5 minutos para se garantir condição anaeróbica e selados com uma rolha de borracha presa com lacre de alumínio.

A co-digestão dos substratos foi avaliada entre a biomassa microalgal bruta (MB), a biomassa microalgal rompida (MR), a biomassa microalgal após extração de proteína (MPE) com água residuária do processamento do café (ARC). Os tratamentos testados corresponderam à mistura de: MB:ARC, MR:ARC e MPE:ARC, nas proporções de 25:75, 50:50 e 75:25, em

termos de sólidos voláteis totais (SV). Além disso, para obtenção de produção de metano de base dos substratos, para possibilitar comparações, promoveu-se a digestão individual (mono-digestão) dos substratos avaliados (MB, MR, MPE e ARC). Em todos os frascos, a concentração de SV de substrato (mono ou co-digestão) foi padronizada em $4 \text{ g}_{\text{SV}} \text{ L}^{-1}$. O branco foi composto de inóculo e água deionizada como substrato, o controle positivo foi feito com o uso de celulose. Todos os tratamentos foram realizados em quadruplicata. Um teste complementar nas mesmas condições do experimento foi feito com as biomassas MB e MR, porém com ajuste de pH a condições neutras ($\text{pH} = 7$). O inóculo utilizado nos testes foi lodo coletado em um biodigestor modelo lagoa coberta em uma suinocultura, localizado no município de Viçosa. Após a coleta, o material foi armazenado à 4°C e caracterizado em termos de sólidos, nitrogênio amoniacal e alcalinidade.

A produção volumétrica do biogás foi determinada pelo método manométrico. A pressão interna dos frascos foi quantificada por meio de manômetro digital (INSTRUTHERM – mod. MVR-87) (HAFNER et al., 2020a; HOLLIGER et al., 2016). A cada leitura da pressão, uma camada de silicone acético (UNIPEGO) foi colocada sobre o lacre dos frascos para se garantir a estanqueidade do sistema. Inicialmente, a medição de biogás aconteceu diariamente durante 10 dias, sendo posteriormente feita a cada 4 dias. O experimento foi finalizado quando a produção diária de gás foi 1% da produção total (HOLLIGER et al., 2016), o que foi observado após 35 dias.

A composição do biogás (CH_4 e CO_2) foi medida por cromatógrafo gasoso (Agilent 7820A), equipado com detector de ionização de chama (DIC) e detector de condutividade térmica (DCT). Os rendimentos de metano acumulado obtidos nos testes de BMP foram expressos na condição padrão de temperatura e pressão (0°C a $101,325 \text{ kPa}$) por massa de SV adicionada e a produção líquida foi obtida subtraindo a produção de metano média dos ensaios branco (HAFNER et al., 2020b).

O Potencial de Biometano Teórico Máximo (BMP_{Tmax}) e a biodegradabilidade foram calculados conforme as Eq. (4) e (5) (RAPOSO et al., 2011).

$$\text{BMP}_{\text{Tmax}} (\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{SV}}^{-1}) = \frac{g_{\text{DQO}}}{g_{\text{SV}}} \cdot 350 \frac{\text{mL}_{\text{CH}_4}}{g_{\text{DQO}}} \quad \text{Eq. (4)}$$

$$\text{Biod} (\%) = \frac{\text{BMP} (\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{SV}}^{-1})}{\text{BMP}_{\text{Tmax}} (\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{SV}}^{-1})} \cdot 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

Em que, gDQO e gSV são a concentração de DQO e SV por unidade de volume no do substrato, respectivamente e $350 \text{ mLCH}_4 (\text{gDQO})^{-1}$ é a relação estequiométrica de produção de metano. BMP ($\text{mLCH}_4 \text{ gSV}^{-1}$) é a produção de metano obtida no experimento.

5.2.4 Métodos analíticos

As análises de sólidos fixos (SF/cinzas) e voláteis (SV), bem como a DQO total e DQO solúvel foram determinadas conforme metodologia proposta por APHA (2017). Para os substratos secos (MB, MR e MPE), o procedimento para DQO seguiu a metodologia adaptada de Ramos-Suárez e Carreras (2014). Primeiramente, houve a suspensão do material em água deionizada na proporção 1:150 por 2 horas, para em seguida se determinar a DQO solúvel e o pH. O nitrogênio total foi analisado pelo método Semi-Micro-Kjeldahl e o carbono orgânico total (COT) foi quantificado no analisador SSM-5000A da Shimadzu e TOC-VCSH da Shimadzu. A alcalinidade total, parcial e intermediária foi determinada de acordo com Ripley et al. (1986).

Os compostos fenólicos (CF) podem afetar a eficiência da DA e são encontrados usualmente na ARC (ADDIS et al., 2020; NOVITA, 2016), nesse sentido, o composto foi caracterizado no substrato. Para quantificação dos CF foi usado o método Mussatto et al. (2011). Especificamente, os CF foram extraídos com uma mistura de ARC e álcool etílico anidro (99,5%) a 60% (v/v) em uma estufa a 65°C por 30 minutos. Em seguida, para a determinação do teor de compostos fenólicos totais nos extratos foi utilizado o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com o método colorimétrico descrito por Singleton e Rossi (1965), adaptado por Mussatto et al. (2011) para microplaca de 96 poços. O teor de óleos e graxas presente na ARC foi determinada pela extração de Soxhlet, APHA (2017).

A composição bioquímica da biomassa de microalgas foi determinada conforme os métodos: (i) teor de lipídeos totais - método gravimétrico proposto por Schmid-Bondzynski-Ratzlaff (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1987); (ii) proteínas hidrossolúveis - método de Lowry adaptado por Lucarini e Kilikian (LUCARINI; KILIKIAN, 1999); e (iii) carboidratos neutros totais - método fenol-ácido sulfúrico de Dubois et al. (1956) adaptado para microplacas por Masuko et al. (2005).

5.2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos para o rendimento de metano acumulado (BMP) de todos os tratamentos foram submetidos à análise estatística com uso do programa R 4.0.2 (R core team, 2020). Primeiramente, a normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, seguida pela análise de variância (ANOVA) conjunta. O teste de Tukey com nível de significância 5% foi utilizado para análise para comparar as razões (100:0; 25:75; 50:50; 75:25; 0:100) dos substratos (MB:ARC, MR:ARC, MPE:ARC) e avaliar os substratos em cada proporção. Parâmetros estatísticos como erro aleatório e desvio padrão dos tratamentos foram calculados levando em consideração os erros do inóculo e do próprio tratamento como sugerido por HAFNER et al. (2020b).

5.2.6 Modelos cinéticos

Para um estudo mais aprofundado da DA dos substratos em mono-digestão e em co-digestão foi estudado o ajuste dos dados de produção de metano para três modelos usualmente empregados na modelagem cinética de CH₄ acumulado, a saber: modelo de primeira ordem (PO) (eq. 6), Gompertz Modificado (GM) (eq. 7) e Cone (eq. 8) (HU et al., 2021; MOHSENI; FAN; RODDICK, 2021; NGUYEN et al., 2019; ZHEN et al., 2016).

A partir das equações dos modelos cinéticos (Tabela 1), os parâmetros cinéticos - produção máxima de metano (Y_m), coeficiente de 1ª ordem (k), taxa máxima de produção de metano (R_m), fator de forma (n) e fase lag (λ) foram obtidos. Os dados foram analisados por meio da ferramenta de otimização “Solver” do programa MS Excel, no qual os parâmetros dos modelos foram obtidos pela minimização do valor desvio quadrático médio (RMSD, do inglês). A avaliação dos modelos foi efetuada pela raiz quadrática média dos erros normalizado em relação à média dos valores experimentais (RRMSE, do inglês, %) (PHAM; TRIOLO; SOMMER, 2014) e do coeficiente de determinação (R^2).

Tabela 7: Modelos cinéticos aplicados em digestão anaeróbia.

Equação	Modelo	Equação	Parâmetros do modelo
(6)	1ª ordem	$Y_i = Y_m(1 - e^{-k_h t_i})$	Y_i = é o rendimento específico de metano no tempo i ($\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{SV}}^{-1}$); Y_m = rendimento máximo de metano ($\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{SV}}^{-1}$); k_h = taxa de hidrólise (d^{-1}); t_i = tempo de digestão (d).
(7)	Gompertz Modificado	$Y_i = Y_m \exp(-\exp(\frac{R_m e(\lambda - t_i)}{Y_m}) + 1)$	λ = fase lag (d^{-1}); R_m = taxa máxima de produção de metano ($\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{SV}}^{-1} \text{d}^{-1}$).
(8)	Cone	$Y_i = \frac{Y_m}{1 + (k_h t_i)^{-n}}$	n = fator de forma.

Adaptado: Hu et al. (2021) e Zhen et al. (2016).

5.2.7 Efeito sinérgico

O efeito sinérgico entre os co-substratos foi constatado a partir da comparação entre o potencial de biometano específico observado no experimento (BMP) e a média ponderada da produção dos substratos individuais (MBMP). O efeito sinérgico positivo foi identificado quando a diferença entre BMP e MBMP ($D = \text{BMP} - \text{MBMP}$) for maior que o desvio padrão (DP) do respectivo tratamento (LI et al., 2017; ZHANG et al., 2018). A MBMP foi calculada de acordo como a equação 9.

$$\text{MBMP}_i = P_{\text{Mi}} \cdot \text{BMP}_{\text{Mi}} + P_{\text{ARC}} \cdot \text{BMP}_{\text{ARC}} \quad \text{Eq.(9)}$$

Em que, P_{Mi} e P_{ARC} são a fração decimal de biomassa microalgal i (MB, MR ou MPE) e ARC no substrato, respectivamente, BMP_{Mi} e BMP_{ARC} ($\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{SV}}^{-1}$) corresponde a produção acumulada de metano da biomassa i (MB, MR ou MPE) e ARC, respectivamente.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Caracterização dos substratos

Na Tabela 2 apresenta-se a caracterização dos substratos estudados, microalgas (MB, MR e MPE) e ARC.

Tabela 8: Caracterização dos substratos e inóculo usados no estudo.

Parâmetros	Unid.	ARC	MB	MR	MPE	Inóculo
DQO _T	g kg ⁻¹	8,7 (0,2)	878,1 (97,0)	906,1 (53,5)	533,4 (62,6)	106,1 (8,4)
DQOs	g kg ⁻¹	8,0 (0,3)	33,9 (0,8)	38,7 (3,5)	17,4 (1,5)	NA
ST	g kg ⁻¹	7,1 (0,0)	907,8 (2,3)	899,4 (1,8)	917,6(1,6)	58,5 (1,2)
SV	%	96,0 (3,5)	59,0 (0,6)	59,4 (0,4)	57,0 (0,5)	78,6 (0,8)
Cinzas	%	5,9 (1,1)	41,0 (0,0)	40,6 (0,0)	43,0 (0,0)	21,4 (0,8)
Lipídeos totais	%	1,1 (0,2)	8,1 (1,9)	7,6 (1,7)	4,5 (0,1)	NA
Carboidratos	%	19,6 (0,0)	6,2 (0,2)	6,5 (0,1)	5,5 (0,2)	NA
Proteína solúvel	%	NA	29,5 (0,9)	29,3 (0,2)	23,9 (2,8)	NA
NT	%	1,6 (0,4)	5,1 (0,1)	4,9 (0,1)	4,7 (0,1)	NA
COT	%	41,5	26,6	26,9	25,8	NA
C/N	-	25,9	5,7	5,9	6	NA
pH	-	4,2	9,7	9,8	9,8	7,8
Alcalinidade	mg L ⁻¹	35,0 (3,2)	NA	NA	NA	5.111,5 (196,9)
Fenóis	mg L ⁻¹	87,3	NA	NA	NA	NA

Legenda: ARC: água residuária do processamento do café; MB: microalga bruta; MR: microalga rompida; MPE: microalga proteína extraída; ^a:relação COT/NT; % em massa seca; NA: não analisado; média (desvio padrão); DQO_T = demanda química de oxigênio total; DQOs = demanda química de oxigênio solúvel.

A ARC usada no experimento apresenta características típicas para o efluente conforme reportado na literatura (ADDIS et al., 2020; CAMPOS; PRADO; PEREIRA, 2014). A matéria orgânica solúvel é predominante, em torno de 92% da DQO está na forma dissolvida na ARC. Além disso, 96% dos sólidos são constituídos de sólidos voláteis, fração que se relaciona com a matéria orgânica biodegradável (SPERLING; LEMOS CHERNICHARO, 2005). O reduzido valor de pH da ARC também é compatível com o observado na literatura, e está relacionado com a matéria orgânica dissolvida presente no efluente e a presença de fenóis que possuem características ácidas (CAMPOS; PEREIRA; PRADO, 2010; IJANU; KAMARUDDIN; NORASHIDDIN, 2020).

Em relação às microalgas, o ajuste do pH para 10 (colheita) e para 12 (extração da proteína) conferiu um pH mais elevado (cerca de 9,8) para suspensão aquosa das microalgas

(Tabela 2). A biomassa bruta utilizada neste estudo (MB) possui um elevado teor de proteínas - 29,5% em massa seca (m.s.), o que representa cerca de 55% na base de sólidos voláteis. De fato, as microalgas da espécie *Scenedesmus* sp. apresentam um alto teor de proteína (BECKER, 2007; WU et al., 2019). Por outro lado, a colheita em fase estacionária diminuiu o acúmulo de compostos ricos em carbono (lipídeos e carboidratos) (ROCHA et al., 2019). A elevada presença de cinzas (41,0%) também foi observada em outros estudos (AMORIM et al., 2020). O teor de cinzas pode estar relacionado com materiais inorgânicos como metais alcalinos e alcalino-terrosos presentes na biomassa (MOLINO et al., 2018). Além disso, a maior parte da matéria orgânica não se apresenta na forma solúvel; apenas 3,9% da DQO total está na sua forma solúvel. Esse valor é menor que os encontrados por Ramos-Suárez e Carreras (2014) e Scarcelli et al. (2020) de 9,0 e 10,0%, respectivamente. As diferenças podem estar associadas com as condições de cultivo, colheita e tempo de armazenamento (SIALVE; BERNET; BERNARD, 2009; ZHEN et al., 2016).

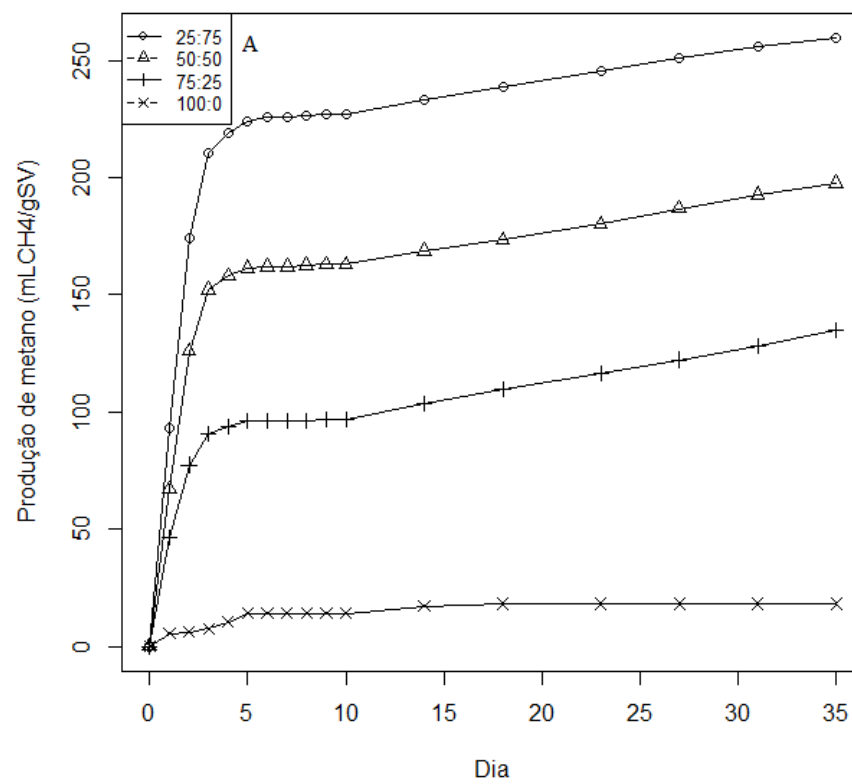
O rompimento da parede celular das microalgas a partir da microalga bruta (MB) promoveu um aumento da DQO solúvel em torno de 15% na biomassa rompida, o qual foi responsável pela solubilização de compostos orgânicos da biomassa. Um aumento da solubilidade após pré-tratamento (rompimento), também foi observado em outros trabalhos (ALZATE et al., 2012; RAMOS-SUÁREZ; CARRERAS, 2014; SCARCELLI et al., 2020). Gruber-Brunhumer et al. (2015) atestaram um acréscimo de 12% na DQO solúvel (DQOs) após a moagem em relação ao controle, embora tenham observado que maiores teores de DQOs, nem sempre levam a maiores produções de metano.

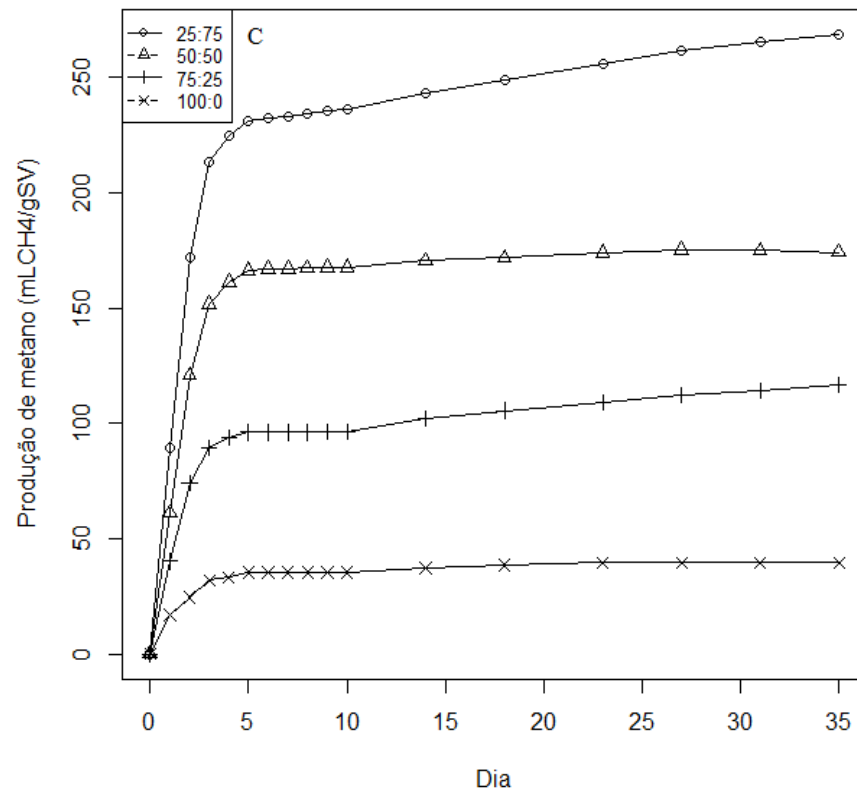
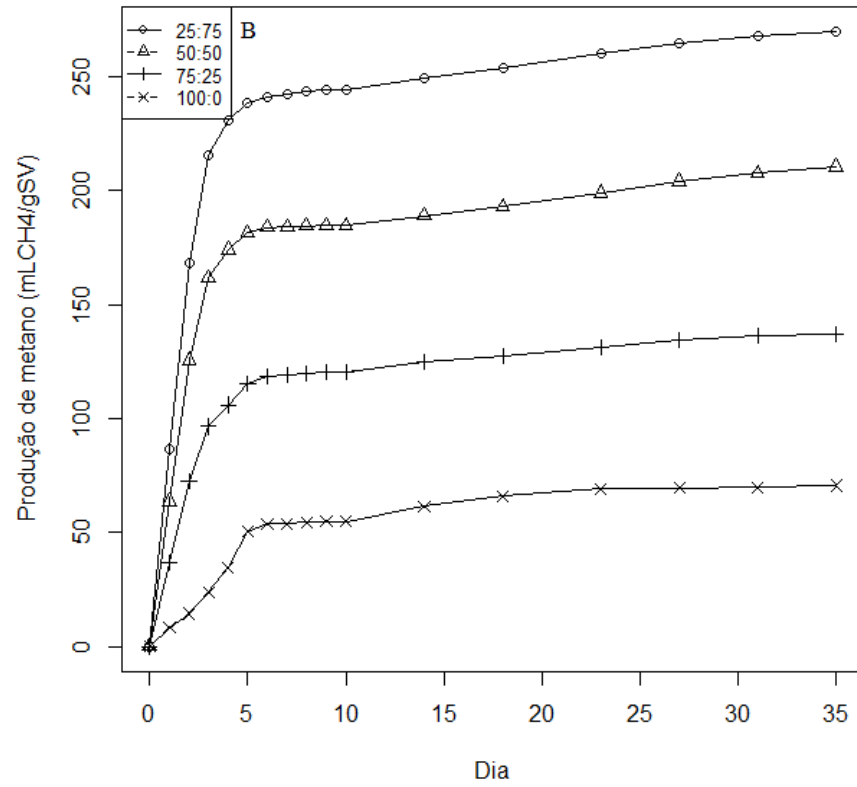
A extração de proteínas obteve uma eficiência de 18,9%, coerente com o resultado observado por Amorim et al. (2020) para a espécie *S. obliquus*, a partir do uso do moinho de bolas como pré-tratamento. No estudo de Hernández et al. (2018), uma remoção proteica de 18,4% foi alcançada no ensaio com pré-tratamento com ultrassom, seguido de solubilização de proteínas em pH 12 e precipitação em pH 3,5. Além disso, o processo de extração produziu uma biomassa (MPE) com menores teores de lipídeos, proteína e carboidratos, bem como menores valores de DQO. Isso porque, nos diferentes processos de extração, além do componente alvo, outros compostos também são removidos. De fato, condições extremas de temperatura e pH podem acarretar mudanças nas características físicas e químicas de carboidratos (MENDEZ et al., 2013) e provocar a hidrólise de lipídeos presentes nas microalgas, posteriormente ocorrendo a saponificação dos ácidos graxos (LORENZO-HERNANDO et al., 2019) e formação de emulsões (AMORIM et al., 2020).

5.3.2 Digestão anaeróbia de microalgas e ARC

Os ensaios de biodegradabilidade dos substratos foram realizados a partir de testes BMP, os resultados estão dos tratamentos avaliados são apresentados na Figura 7.

Figura 7: Produção de metano ao longo do tempo para as diferentes misturas de biomassa e água residuária do processamento do café (ARC): (A): microalga bruta (MB):ARC, (B): microalga rompida (MR):ARC e (C): microalga proteína-extraída (MPE):ARC.





No ensaio de controle positivo com a microcelulose cristalina observou-se uma produção acumulada de 387 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹, com erro aleatório de 5,3 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹ e coeficiente de variação (CV) de 1,36%. Esses valores estão dentro do estipulado por Holliger et al. (2021) para validação dos testes BMP: 340 a 395 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹ de produção final de metano e um CV < 6% no tratamento da celulose, atestando a adequação do experimento.

Na Tabela 3 é apresentado o estudo estatístico que compara os valores de produção acumulada de metano comparando-se as diferentes proporções (mono e co-digestão de microalgas e ARC) e condições da biomassa de microalgas (MB, MR e MPE).

Tabela 9 Produção de metano a partir da mono-digestão (MB, MR, MPE, ARC) e da co-digestão (MB:ARC, MR:ARC, MPE:ARC– 25:75; 50:50, 75:25)

Proporção	MB:ARC	MR:ARC	MPE:ARC
0:100	343.38Aa	343.38Aa	343.38Aa
25:75	259.49Ab	269.81Ab	268.41Ab
50:50	197.64Ac	210.47Ac	174.04Bc
75:25	134.72Ad	137.09Ad	116.53Ad
100:0	18.25Be	70.65Ae	39.69Be

MB: microalga bruta; MR: microalga rompida; MPE: microalga proteína extraída; ARC: água residuária do processamento do café. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha para cada variável não diferem ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

Os resultados dos testes de co-digestão (25:75, 50:50 e 75:25) indicam que as produções acumuladas de metano variaram entre 269,6 a 116,4 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹, de forma que os resultados de BMP decresceram à medida que a contribuição de microalgas aumentou. Essa tendência é atribuída à maior biodegradabilidade da ARC (77%) em relação às biomassas de microalgas avaliadas (entre 3,5 e 11,9%).

Vale destacar também que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na produção de metano entre as biomassas quando comparado os tratamentos de mesmas proporções, com exceção da proporção 50:50, em que os ensaios de co-digestão das biomassa MB e MR se destacaram em relação a MPE. Isso mostra que, de modo geral, o rompimento celular teve efeito na produção de metano quando MR foi co-digerido com ARC e no caso da MPE, o processo de extração não causou uma redução do rendimento final de metano (BMP) em relação a MB, como foi observado na mono-digestão das biomassas.

Dentre as diferentes condições do substrato de microalgas (mono-digestão), observa-se que a MR apresentou a maior produção de metano, seguida da MPE e MB, de modo que os resultados das médias de produção para MB e MPE foram estatisticamente semelhantes e

estatisticamente inferiores a MR ($p \leq 0,05$) (Tabela 3). Esses efeitos também foram reportados por outros autores na literatura. Gruber-Brunhmer et al. (2015) reportaram um aumento entre 51 e 57% no rendimento de metano no estudo com a biomassa de *S. obliquus* após os pré-tratamentos mecânicos em comparação ao controle. A tendência observada pode ser atribuída à linhagem de microalga, assim como o processamento do substrato. *Scenedesmus* é um gênero de microalgas que possui uma camada tripla de parede celular (YUKESH KANNAH et al., 2021) composta com carboidratos complexos (TAKEDA, 1996), o que dificulta a ação dos microrganismos envolvidos na degradação. Com o emprego do rompimento celular como pré-tratamento, os compostos intracelulares passam a estar mais disponíveis, favorecendo o aumento da biodegradabilidade de MR, em comparação à MB. Na biomassa residual após a extração proteica (MPE), remove-se a proteína e outros componentes, em especial lipídeos (Tabela 2), afetando a produção acumulada de metano do resíduo (SIALVE; BERNET; BERNARD, 2009) em relação à MR.

A Tabela 4 apresenta a caracterização físico-química nos tratamentos, assim como a produção de biogás e teor de metano. No que diz respeito a DA das biomassas de microalgas, os valores de BMP encontrados (70,6 a 18,2 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹) estão abaixo dos rendimentos típicos de metano para biomassa microalgal de 150 - 300 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹ (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019) encontrados na literatura. Diferentemente, durante o teste complementar realizado com correção de pH as produções de metano foram superiores em 8,9 vezes para MB (162 mL g_{SV}⁻¹) e 3,9 vezes para MR (275 mL g_{SV}⁻¹), o que reforça a hipótese de que o pH exerce influência na DA e como consequência na produção de biogás.

No caso, para as condições do experimento, os valores elevados de pH da biomassa de microalgas contribuíram para que o pH inicial do meio preparado para os testes de monodigestão de microalgas fosse em torno de 9. Esse valor está fora do considerado ideal para DA entre 6 e 8 (CHERNICHARO, 2007), o que poderia inibir parcialmente os microrganismos metanogênicos, ocasionando o acúmulo de AOV em relação à alcalinidade bicarbonato, observado pelo aumento da relação AI/AP. Em contrapartida, observa-se que a DA para os tratamentos produziu teores de metano de até 90% no biogás e condições do pH após a DA em termos de co-digestão de até 7,8. De fato, condições alcalinas podem ser aplicadas como uma forma de enriquecer o teor de metano no biogás. Isso porque o meio alcalino conduz o equilíbrio do carbono para dissolução do CO₂ e formação de bicarbonato e carbonato (NOLLA-ARDÈVOL; STROUS; TEGETMEYER, 2015; RINCÓN-PÉREZ et al., 2021). Nesse contexto, os resultados obtidos no presente trabalho estão mais alinhados com os encontrados

por Nolla-Ardèvol et al. (2015). Os autores reportam para condição alcalina da digestão anaeróbia (pH = 10) com o emprego da biomassa de *Arthrospira* sp., a produção específica de biogás entre 13 e 84 mL (dia g_{SV})⁻¹, com teor médio de metano de 86%. Esses valores correspondem à um grau de biodegradabilidade de 2% e 11%, similar aos resultados encontrados no estudo (biodegradabilidade de 3,5 a 11,9 %).

Tabela 10: Caracterização mono-digestão (MB, MR, MPE, ARC) e da co-digestão (MB:ARC, MR:ARC, MPE:ARC– 25:75; 50:50, 75:25)

Tratamentos	Proporção	Parâmetro							
		BMP	X _{CH₄}	BMP _{Tmax}	Biod.	pH i	pH f	IA/PA i	IA/PA f
ARC	(0:100)	343,4	0,64	442,5	76	7,2	7,7	0,5	0,9
	(25:75)	259,5	0,65	-	-	7,6	7,5	0,4	0,3
MB:ARC	(50:50)	197,6	0,69	-	-	8,1	7,7	0,4	0,5
	(75:25)	134,7	0,76	-	-	8,5	7,7	0,3	0,4
	(100:0)	18,52	0,91	574	3,5	9	8	0,1	0,5
MR:ARC	(25:75)	269,8	0,65	-	-	7,6	7,4	0,6	0,2
	(50:50)	210,5	0,69	-	-	8	7,7	0,3	0,2
	(75:25)	137,1	0,76	-	-	8,3	7,8	0,2	0,4
	(100:0)	70,6	0,89	593,4	11,9	8,9	7,8	0,2	0,4
MPE:ARC	(25:75)	268,4	0,65	-	-	7,7	7,6	0,5	0,2
	(50:50)	174	0,69	-	-	8	7,2	0,1	0,2
	(75:25)	116,5	0,75	-	-	8,3	7,3	0,2	0,4
	(100:0)	39,7	0,89	356,9	11,1	9,1	7,8	0,2	0,4

MB: microalga bruta; MR: microalga rompida; MPE: microalga proteína extraída; ARC: água residuária do processamento do café. X: teor de metano no biogás, considerando apenas as frações de CH₄ e CO₂; i: inicial; f: final

Para a digestão anaeróbia da ARC observou-se o maior valor de BMP entre todos os tratamentos estudados, 343,3 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹. O resultado encontrado no presente trabalho foi equivalente a 76,0% da produção teórica máxima de metano (BMP_{Tmax}), 442,5 mL_{CH₄} g_{SV}⁻¹. O rendimento encontrado está ligado ao elevado conteúdo de matéria orgânica biodegradável do efluente, expresso pela DQOs e SV. Além disso, a concentração de compostos fenólicos (CF) na ARC do presente estudo – 87,3 mg L⁻¹ (Tabela 2) - está dentro da faixa de até 1 g L⁻¹ de CF que não afetaram a degradação anaeróbia, encontrado por Novita (2016). A relação da alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial (AI/AP) passou de 0,5 para 0,9. Segundo Ripley et al. (1986) a AI é proporcional aos teores de AOV e AP é representativo da alcalinidade bicarbonato. Dessa forma, esse acréscimo indica consumo da alcalinidade carbonato em relação AOV, importante para a capacidade tampão do processo de DA.

A produção de biogás no teste de BMP está próximo do reportado por Lepe-Cervantes et al. (2017), os quais avaliaram a biodegradabilidade da ARC em testes BMP com diferentes proporções inóculo/substrato. Os autores reportaram um rendimento de $320 \text{ mL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{SV}}^{-1}$ e o resultado foi atribuído à atividade microbiológica do inóculo adaptado utilizado no experimento e a relação otimizada de I/S empregada no trabalho. Rincón-Pérez et al. (2021) ao realizaram estudos de co-digestão da biomassa pré-tratada de *Scenedesmus obtusiusculus* e soro de queijo em um reator em batelada sequencial tanto em condições alcalinas ($\text{pH} = 9$) e neutra ($\text{pH} = 7$). Os autores obtiveram teor médio de metano de 83% para digestão alcalina, contra 63% na condição a neutra. A produção de metano na co-digestão foi de $233 \text{ mL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{DQOT}}^{-1}$ para ambos os casos e 1,8 vez maior que mono-digestão da microalga - $126 \text{ mL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{DQOT}}^{-1}$. Os maiores rendimentos encontrados podem ser atribuídos às condições de adaptação do inóculo à digestão, assim como a adição de solução nutritiva, recursos estes que não foram aplicados no presente trabalho.

Os teores de metano variaram de 65% para os ensaios microalgas:ARC na proporção (25:75), 69% para (50:50) e 75% nas misturas (75:25). A variação pode ser explicada a partir do pH inicial do experimento, uma vez que a variável apresentou um aumento à medida que a presença de microalgas como co-substrato cresceu, favorecendo assim o teor de metano no biogás. Além disso, que a adição da biomassa microalgal melhora a relação AI/AP final quando comparado com os ensaios de mono-digestão (Tabela 9). Os resultados ficam abaixo de 0,5, valor reportado por Shofie et al. (2015), no estudo da co-digestão de resíduos do café e resíduos lácteos e municipais, para estabilidade da DA.

Para avaliar os mecanismos de interação entre os substratos durante a co-digestão, uma análise sinérgica foi feita a partir da comparação dos dados obtidos no experimento e os calculados a partir da média ponderada da produção dos substratos individuais (mono-digestão). A digestão conjunta dos substratos produziu uma quantidade maior de metano em relação ao potencial calculado (MBMP) nos ensaios MB:ARC (50:50) e (75:25); MR:ARC (50:50) e MPE:ARC (25:75) e (75:25), enquanto nas demais situações a diferença ($D = \text{BMP} - \text{MBMP}$) foi negativa. Entretanto, essa divergência (D) entre os valores experimentais e calculados superou o desvio padrão (DP) somente nos tratamentos MB:ARC (50:50) e (75:25), nos quais fica evidenciado o efeito sinérgico positivo entre os substratos.

Tabela 11: Efeito da co-digestão anaeróbia (MB:ARC, MR:ARC, MPE:ARC) nas proporções de 25:75; 50:50, 75:25.

Tratamento	Proporção	BMP	DP	MBMP	BMP-MBMP	Efeito
MB:ARC	(0:100)	343,4	13,8	343,4	0	-
	(25:75)	259,5	17,7	262	-2,5	IC
	(50:50)	197,6	16,3	180,8	16,8	S
	(75:25)	134,7	11,7	99,5	35,2	S
	(100:0)	18,5	1,5	18,5	0	-
MR:ARC	(0:100)	343,4	13,8	343,4	0	-
	(25:75)	269,8	17,8	275,1	-5,3	IC
	(50:50)	210,5	17,6	206,9	3,6	IC
	(75:25)	137,1	14	138,7	-1,6	IC
	(100:0)	70,6	5,9	70,6	0	-
MPE:ARC	(0:100)	343,4	13,8	343,4	0	-
	(25:75)	268,4	17,8	267,4	1	IC
	(50:50)	174	17,6	191,5	-17,5	IC
	(75:25)	116,5	14	115,5	1	IC
	(100:0)	39,7	3,8	39,7	0	-

MB: microalga bruta; MR: microalga rompida; MPE: microalga proteína extraída; ARC: água residuária do processamento do café; MBMP = média ponderada da produção dos substratos individuais; S: sinergismo; IC: inconclusivo.

Esse resultado corrobora com trabalhos encontrados na literatura. Astals et al. (2015) constataram o efeito sinérgico apenas na co-digestão entre biomassa bruta de *S. obliquus* e esterco suíno, o que não se verificou na co-digestão com biomassas residuais de extrações de compostos com elevado valor agregado (lipídeos e proteínas). Esse resultado foi atribuído, principalmente, aos microrganismos específicos presentes no esterco utilizado capazes de romper a parede celular da microalga. No caso das biomassas residuais, as células já estariam rompidas e por isso não apresentaram um acréscimo expressivo da produção de metano. Esse mecanismo também pode explicar o resultado deste estudo, dado que o inóculo usado no experimento é originado de suinocultura e microbiota semelhante poderia estar presente. Apesar do acréscimo de metano produzido (BMP) em alguns casos, constatado na análise de sinergia, principalmente nos ensaios MB:ARC (50:50) e (75:25), a produção obtida nesses tratamentos foi inferior àqueles com maior quantidades de ARC- microalgas:ARC (25:75).

5.3.3 Cinética

Os parâmetros cinéticos estimados, assim como os valores de R^2 e de RMSE dos modelos para todos os tratamentos estão listados na Tabela 6. De modo geral, os modelos estudados apresentaram boa aderência aos dados experimentais, com RRMSE <10% e $R^2 > 0,95$, entretanto apenas no modelo de cone observou-se um bom ajuste para o ensaio MB:ARC (75:25) (Figuras 3, 4 e 5).

Tabela 12: Parâmetros estimados a partir do ajuste das curvas de BMP para distintos modelos cinéticos.

Modelo	Parâmetro	Tratamento												
		ARC	MB:ARC				MR:ARC				MPE:ARC			
		(25:75)	(50:50)	(75:25)	(100:0)	(25:75)	(50:50)	(75:25)	(100:0)	(25:75)	(50:50)	(75:25)	(100:0)	
1ª ordem	Y _m (mL g ⁻¹ sv ⁻¹)	335,06	240,01	175,79	110,76	18,06	256,72	196,58	129,87	69,81	249,97	172,62	105,06	37,80
	k (d ⁻¹)	0,45	0,59	0,56	0,49	0,22	0,51	0,49	0,40	0,18	0,53	0,58	0,54	0,55
	R ²	0,99	0,97	0,95	0,88	0,96	0,98	0,98	0,98	0,97	0,98	0,99	0,96	0,98
	RRMSE (%)	3,80	4,93	6,72	11,19	7,69	4,05	4,73	4,17	8,30	4,91	3,36	6,62	4,41
	Diff (%)	2,48	8,12	12,43	21,63	1,11	5,10	7,07	5,56	1,21	7,38	0,83	10,92	5,01
Gompertz Modificado	Y _m (mL g _{sv} ⁻¹)	328,69	236,19	172,55	107,59	17,44	252,18	192,79	126,85	66,49	245,43	170,21	103,03	37,19
	R _m (mL g _{sv} ⁻¹ d ⁻¹)	105,30	98,66	68,89	39,31	2,63	91,72	66,79	34,55	9,57	93,28	71,38	39,02	13,49
	Lag (d)	0,15	0,10	0,08	0,00	0,00	0,11	0,10	0,00	0,33	0,09	0,18	0,04	0,00
	R ²	0,99	0,97	0,95	0,85	0,94	0,98	0,98	0,98	0,97	0,97	1,00	0,95	0,96
	RRMSE (%)	3,15	5,24	7,24	12,41	10,09	4,19	5,05	5,40	8,23	5,39	2,14	7,38	6,03
Diff (%)	4,47	9,87	14,54	25,21	4,71	6,99	9,17	8,08	6,26	9,36	2,26	13,10	6,73	
Cone	Y _m (mL g _{sv} ⁻¹)	337,40	244,69	183,86	174,70	20,13	259,89	200,03	133,64	70,42	255,61	172,80	111,12	39,70
	k (d ⁻¹)	0,61	0,80	0,78	0,23	0,29	0,70	0,68	0,57	0,26	0,74	0,76	0,76	0,81
	n	1,98	1,72	1,38	0,46	1,12	1,85	1,75	1,57	1,82	1,67	2,22	1,28	1,29
	R ²	1,00	0,99	0,97	0,96	0,97	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99	1,00	0,97	0,99
	RRMSE (%)	2,21	3,76	5,34	6,64	7,34	2,67	3,40	2,70	6,39	3,58	1,37	4,98	3,00
Diff (%)	1,77	6,05	7,49	-22,88	-9,30	3,82	5,22	2,58	0,33	5,01	0,72	4,87	0,00	

Legenda: Diff (%) = ((BMP_i - Y_{Mii}) / Y_{Mi}) · 100, com i relacionado ao tratamento.

Figura 8: Produção de metano por tempo para a co-digestão de MB:ARC. Os dados medidos estão representados por pontos e estimada para o modelo de Cone, por linha nas proporções: a: 25:75, b: 50:50, c: 75:25 e d: 100:0.

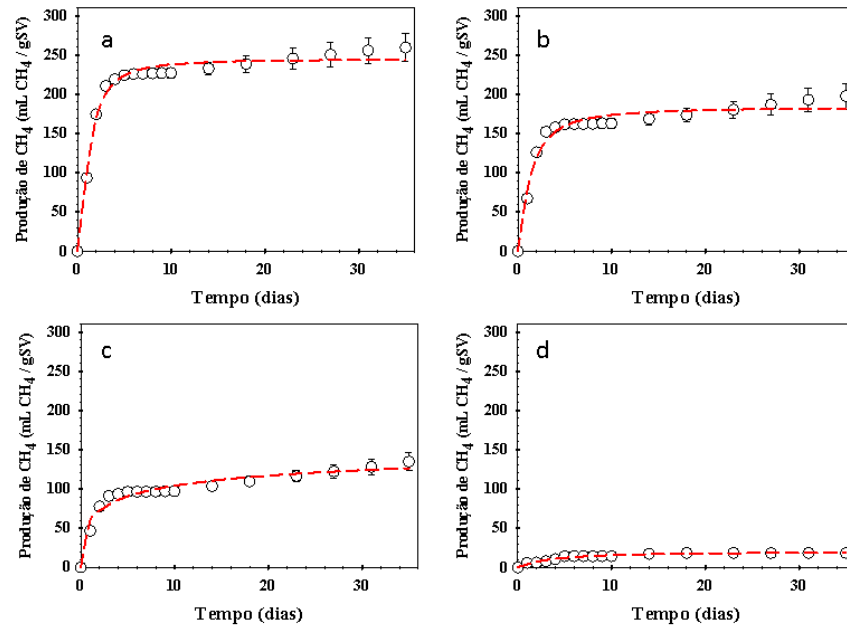


Figura 9: Produção de metano por tempo para a co-digestão de MR:ARC. Os dados medidos estão representados por pontos e estimada para o modelo de Cone, por linha nas proporções: a: 25:75, b: 50:50, c: 75:25 e d: 100:0.

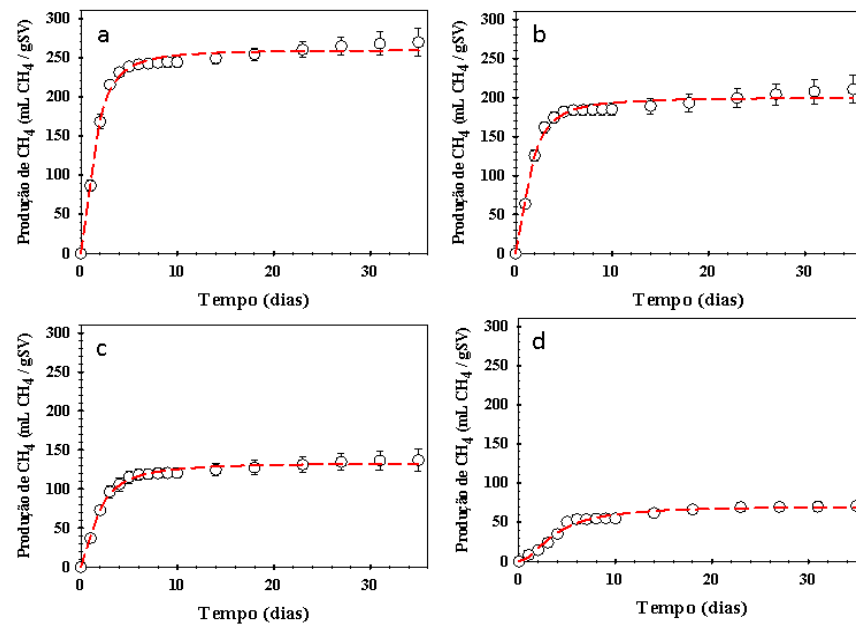
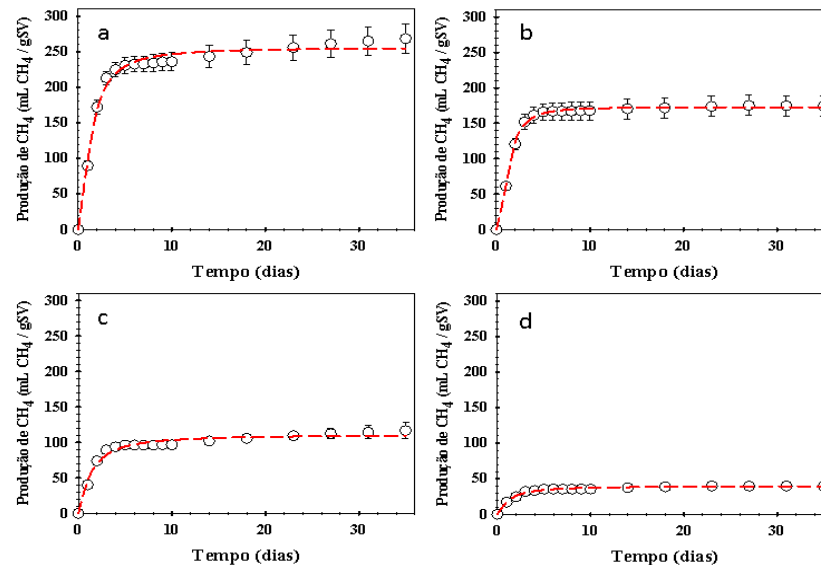


Figura 10: Produção de metano por tempo para a co-digestão de de MPE:ARC. Os dados medidos estão representados por pontos e estimada para o modelo de Cone, por linha nas proporções: a: 25:75, b: 50:50, c: 75:25 e d: 100:0.



A produção máxima de metano (Y_m) apresentou a mesma tendência observada anteriormente para o rendimento acumulado de metano (BMP), na qual uma maior proporção de microalgas acarretou uma diminuição do BMP em relação ao valor encontrado para ARC. Além disso, os resultados de BMP medidos foram maiores que Y_m na maioria dos casos.

A taxa máxima de produção de metano (R_m) seguiu um comportamento semelhante à Y_m , com valor máximo para a ARC ($105,30 \text{ mL g}_{\text{SV}}^{-1} \text{ d}^{-1}$), decrescendo à medida que a presença de microalgas na mistura aumentou. O menor valor de R_m das microalgas está ligado à baixa biodegradabilidade da parede celular, especialmente no caso de MB (TAKEDA, 1996) em MB e menor componentes solúveis (relação $\text{DQO}_s/\text{DQO}_T$ e SV/ST) na biomassas residuais, se comparado à ARC (Tabela 8). Esse resultado foi similar ao reportado por Zhen et al. (2016) na co-digestão microalgas com resíduo alimentar e Bohutskyi et al. (2019) na digestão de biomassa residual da extração de lipídeos com lodo municipal, em que se reportou um aumento de R_m , das biomassas durante a digestão da mistura, enquanto Y_m e BMP diminuíram.

A taxa de hidrólise (k_h) é um coeficiente importante, o qual retrata a biodegradabilidade do substrato (ZHEN et al., 2016). Os valores k_h obtidos nos modelos de primeira ordem (PO) e Cone não seguiram o mesmo padrão de Y_m . A maior taxa correspondeu à mono-digestão de MPE, seguido da ARC e as biomassas MB e MR. Esse fato pode ser atribuído principalmente à composição dos substratos e o processamento das biomassas. Os lipídeos produzem maiores quantidades de metano, porém proteínas e carboidratos possuem uma taxa de conversão maior

(LALAK et al., 2015). Nesse sentido, os menores valores de lipídeos presentes na biomassa MPE e ARC promoveram a aceleração da hidrólise.

MB e MR tiveram taxas similares. Isso mostra que o rompimento conseguiu aumentar a biodegradabilidade da biomassa microalgal em relação a produção de metano (BMP), porém não foi efetivo para aumentar a hidrólise do material. De forma semelhante, Keymer et al. (2013) verificaram que hidrólise térmica de alta pressão (HTAP) aumentou o rendimento de metano (Y_m) da microalga *Scenedesmus* sp., entretanto, o efeito sobre a taxa de hidrólise (k_h) foi desprezível.

Para co-digestão, o efeito do processamento da microalga (rompimento e extração) na hidrólise divergiram. Para os tratamentos com as biomassas MB e MR, os valores de k_h foram, em média de 1,2 e 2,7 vezes maiores que as mono-digestões da ARC e microalgas, respectivamente. No caso de MPE, os valores de k_h foram similares entre as proporções estudadas, porém maiores em comparação à k_h da ARC: 1,0 e 1,3 vez maior que as mono-digestões da ARC e MPE, respectivamente. Os resultados são convergentes com os apontados por Astals et al. (2015), no qual a co-digestão com resíduos de microalgas não teve expressivo impacto na cinética. Por outro lado, Passos et al. (2018) reportaram melhoria na cinética a partir da co-digestão de microalgas e casca de café após pré-tratamento por hidrólise térmica.

Os resultados apontam um favorecimento da digestão nas misturas microalgas:ARC (25:75) em relação a produção máxima de metano e em relação a cinética da DA. Além disso, as análises sugerem que a co-digestão contribui para alcalinidade da DA da ARC e o aumento da biodegradabilidade das microalgas. Por outro lado, o efeito dos processamentos das microalgas foi menos evidente quando aplicadas como co-substrato do que na mono-digestão. Nesse cenário, o benefício de utilizar MR como co-substrato é baixo, uma vez que os pré-tratamentos na maioria das vezes apresentam balanços energéticos/ econômicos negativos (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019). No caso de MPE, ainda deve-se levar em conta a receita adquirida a partir da venda do subproduto (proteína) em estudos de viabilidade energética e econômica, bem como análise de ciclo de vida (ACV) do produto desde a sua origem.

Outro aspecto importante é que as informações de testes BMP são limitadas, por exemplo a melhora na cinética, a qual contribui para produção de metano em reatores contínuos, nem sempre é levada em consideração (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2017). Desse modo, ensaios de curta duração com inóculos não adaptados podem não prever com exatidão o efeito da co-digestão, portanto, experimentos contínuos e de longo prazo devem ser realizados (PASSOS et al., 2018).

5.4 CONCLUSÕES

A água residuária do processamento do café (ARC) apresentou a maior fração de matéria orgânica solúvel, propiciando a maior produção de metano entre todos os tratamentos. Por outro lado, a acidez do efluente ocasionou um consumo de alcalinidade bicarbonato. Em relação às biomassas de microalga, o rompimento celular proporcionou um aumento na solubilidade (DQOs) da biomassa e o maior aumento de produção de CH_4 dentre as biomassas, porém não teve efeito significativo na cinética da digestão. MPE obteve produção de metano similar a MB, porém a extração de proteína provocou melhora na cinética. A produção de metano foi parcialmente inibida, porém as condições alcalinas promoveram um enriquecimento do biogás.

Na co-digestão, a presença de microalgas na mistura diminuiu o rendimento acumulado de metano em comparação à ARC. Contudo, a adição da biomassa proporcionou melhora na alcalinidade (AI/AP). O processamento da biomassa (rompimento e extração) não foram eficazes no aumento de produção de metano quando co-digeridos com ARC. A análise cinética da DA mostrou que a co-digestão com MPE não teve considerável efeito sobre a cinética (k_h), diferentemente do que mostrou a digestão da ARC com MB e MR, na quais os parâmetros cinéticos foram maiores. Além disso, o modelo de Cone obteve o melhor ajuste aos dados do experimento.

Logo, a proposta do emprego do resíduo da microalga na co-digestão com ARC (melhor proporção avaliada de 25:75), se mostra vantajosa em termos de produção final de metano e na cinética do processo, além de promover benefícios em termo da gestão integrada de resíduos. Os resultados também demonstraram que a co-digestão contribuiu para estabilidade da DA da ARC e o aumento da biodegradabilidade das microalgas.

5.5 REFERÊNCIAS

- ADDIS, Y. et al. Management options for coffee processing wastewater . A review. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 22, n. 2, p. 454–469, 2020.
- ALZATE, M. E. et al. Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 488–494, nov. 2012.
- ALZATE, M. E. et al. Biochemical methane potential of microalgae biomass after lipid extraction. **Chemical Engineering Journal**, v. 243, p. 405–410, 2014.
- AMORIM, M. L. et al. Extraction of proteins from the microalga *Scenedesmus obliquus* BR003 followed by lipid extraction of the wet deproteinized biomass using hexane and ethyl acetate. **Bioresource Technology**, v. 307, n. March, p. 123190, 2020.
- ASTALS, S. et al. Anaerobic co-digestion of pig manure and algae: Impact of intracellular algal products recovery on co-digestion performance. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 97–104, 1 abr. 2015.
- BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. v. 25, p. 207–210, 2007.
- BOHUTSKYI, P. et al. Production of lipid-containing algal-bacterial polyculture in wastewater and biomethanation of lipid extracted residues: Enhancing methane yield through hydrothermal pretreatment and relieving solvent toxicity through co-digestion. **Science of the Total Environment**, v. 653, p. 1377–1394, 25 fev. 2019.
- CAMPOS, C. M. M.; PEREIRA, E. L.; PRADO, M. A. C. Caracterização físico-química, bioquímica e energética da água residuária do café processado por via úmida. **Biosci. J.**, v. 26, n. 4, p. 514–524, 2010.
- CAMPOS, C. M. M.; PRADO, M. A. C.; PEREIRA, E. L. Kinetic parameters of biomass growth in a UASB reactor treating wastewater from coffee wet processing (WCWP). **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 9, n. 4, p. 445–458, 17 out. 2014.
- CÁSSIA, R. et al. New sustainable perspectives for “ Coffee Wastewater ” and other by-products : A critical review. v. 4, n. June, 2021.
- CHANDRA, R. et al. Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass

towards multiple product recovery. **Bioresource Technology**, v. 278, n. November 2018, p. 346–359, 2019.

CHEN, R. et al. Energy recovery potential of thermophilic high-solids co-digestion of coffee processing wastewater and waste activated sludge by anaerobic membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 274, p. 127–133, fev. 2019.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Anaerobic Reactors**. London: IWA Publishing, 2007. v. 4

CONAB COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café. **Brasília, DF**, v. 9 safra 22, n. 1 primeiro levantamento, p. 60, jan. 2022.

CRUZ-SALOMÓN, A. et al. Evaluation of hydraulic retention time on treatment of coffee processing wastewater (CPWW) in EGSB bioreactor. **Sustainability (Switzerland)**, v. 10, n. 1, 2018.

D. LEPE-CERVANTES, E. LEON-BECERRIL, J. GOMEZ-ROMERO, O. GARCIA-DEPRAECT, A. L.-L. Anaerobic Digestion of Coffee Wastewater from a Fast Inoculum Adaptation Stage : Replacement of Complex Substrate. v. 11, n. 5, p. 374–378, 2017.

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

EHIMEN, E. A. et al. Energy recovery from lipid extracted, transesterified and glycerol codigested microalgae biomass. **GCB Bioenergy**, v. 1, n. 6, p. 371–381, dez. 2009.

GRUBER-BRUNHUMER, M. R. et al. *Acutodesmus obliquus* as a benchmark strain for evaluating methane production from microalgae: Influence of different storage and pretreatment methods on biogas yield. **Algal Research**, v. 12, n. 2015, p. 230–238, 2015.

HAFNER, S. et al. Calculation of Methane Production From manometric measurements. n. Standard BMP Methods document 202, p. 1–5, 2020a.

HAFNER, S. D. et al. Calculation of Biochemical Methane Potential. n. document 201, p. 1–5, 2020b.

HERNÁNDEZ, D. et al. Recovery of Protein Concentrates From Microalgal Biomass Grown in Manure for Fish Feed and Valorization of the By-Products Through Anaerobic Digestion. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, n. June, p. 1–11, 2018.

HOLLIGER, C. et al. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science**

and Technology, v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.

HOLLIGER, C. et al. Towards a standardization of biomethane potential tests: A commentary. **Water Science and Technology**, v. 83, n. 1, p. 247–250, 2021.

HU, Y. et al. Filamentous microalgae as an advantageous co-substrate for enhanced methane production and digestate dewaterability in anaerobic co-digestion of pig manure. **Waste Management**, v. 119, p. 399–407, 2021.

IJANU, E. M.; KAMARUDDIN, M. A.; NORASHIDDIN, F. A. Coffee processing wastewater treatment: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Applied Water Science**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

KEYMER, P. et al. High pressure thermal hydrolysis as pre-treatment to increase the methane yield during anaerobic digestion of microalgae. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 128–133, mar. 2013.

KIM, J. et al. Anaerobic co-digestion of spent coffee grounds with different waste feedstocks for biogas production. **Waste Management**, v. 60, p. 322–328, 2017.

LALAK, J. et al. Development of optimum substrate compositions in the methane fermentation process. **International Agrophysics**, v. 29, n. 3, p. 313–321, 2015.

LEI, Z. et al. Characterization of microbial evolution in high-solids methanogenic co-digestion of canned coffee processing wastewater and waste activated sludge by an anaerobic membrane bioreactor. **Journal of Cleaner Production**, v. 232, p. 1442–1451, 2019.

LI, R. et al. Anaerobic co-digestion of chicken manure and microalgae *Chlorella* sp.: Methane potential, microbial diversity and synergistic impact evaluation. **Waste Management**, v. 68, p. 120–127, 2017.

LORENZO-HERNANDO, A. et al. Recovery of proteins from biomass grown in pig manure microalgae-based treatment plants by alkaline hydrolysis and acidic precipitation. **Bioresource Technology**, v. 273, n. November 2018, p. 599–607, 2019.

LUCARINI, A. C.; KILIKIAN, B. V. Comparative study of Lowry and Bradford methods: Interfering substances. **Biotechnology Techniques**, v. 13, n. 2, p. 149–154, 1999.

MAINARDIS, M.; BUTTAZZONI, M.; GOI, D. Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Technology for Energy Recovery : A Review on State-of-the-Art and Recent Technological

Advances. 2020.

MARKOU, G. et al. Methane production through anaerobic digestion of residual microalgal biomass after the extraction of valuable compounds. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 31 mar. 2020.

MASUKO, T. et al. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. **Analytical Biochemistry**, v. 339, n. 1, p. 69–72, 2005.

MENDEZ, L. et al. Enhancing methane production of *Chlorella vulgaris* via thermochemical pretreatments. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 136–141, dez. 2013.

MOHSENI, A.; FAN, L.; RODDICK, F. A. Impact of microalgae species and solution salinity on algal treatment of wastewater reverse osmosis concentrate. **Chemosphere**, v. 285, n. July, p. 131487, dez. 2021.

MOLINO, A. et al. Microalgae characterization for consolidated and new application in human food, animal feed and nutraceuticals. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 11, p. 1–21, 2018.

MUSSATTO, S. I. et al. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Separation and Purification Technology**, v. 83, n. 1, p. 173–179, nov. 2011.

NGUYEN, D. D. et al. Thermophilic anaerobic digestion of model organic wastes: Evaluation of biomethane production and multiple kinetic models analysis. **Bioresource Technology**, v. 280, n. February, p. 269–276, 2019.

NOLLA-ARDÈVOL, V.; STROUS, M.; TEGETMEYER, H. E. Anaerobic digestion of the microalga *Spirulina* at extreme alkaline conditions: biogas production, metagenome, and metatranscriptome. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. June, p. 1–21, 22 jun. 2015.

NOVITA, E. Biodegradability simulation of coffee wastewater using instant coffee. **Italian Oral Surgery**, v. 9, p. 217–229, 2016.

PASSOS, F. et al. Anaerobic co-digestion of coffee husks and microalgal biomass after thermal hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 253, n. October 2017, p. 49–54, 2018.

PHAM, C. H.; TRIOLO, J. M.; SOMMER, S. G. Predicting methane production in simple and unheated biogas digesters at low temperatures. **Applied Energy**, v. 136, p. 1–6, 2014.

PIN, B. V. DA R. et al. Energetic use of biogas from the anaerobic digestion of coffee

- wastewater in southern Minas Gerais, Brazil. **Renewable Energy**, v. 146, p. 2084–2094, 2020.
- RAMOS-SUÁREZ, J. L. et al. Benefits of combining anaerobic digestion and amino acid extraction from microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v. 258, p. 1–9, dez. 2014.
- RAMOS-SUÁREZ, J. L.; ARROYO, N. C.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. The Role of Anaerobic Digestion in Algal Biorefineries: Clean Energy Production, Organic Waste Treatment, and Nutrient Loop Closure. In: **Algae and Environmental Sustainability**. New Delhi: Springer India, 2015. p. 53–76.
- RAMOS-SUÁREZ, J. L.; CARRERAS, N. Use of microalgae residues for biogas production. v. 242, p. 86–95, 2014.
- RAPOSO, F. et al. Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 86, n. 8, p. 1088–1098, ago. 2011.
- RINCÓN-PÉREZ, J. et al. Improvement of methane production at alkaline and neutral pH from anaerobic co-digestion of microalgal biomass and cheese whey. **Biochemical Engineering Journal**, v. 169, n. February, 2021.
- RIPLEY, A. L. E. et al. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. **Journal of Water Pollution Control Federation Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406–411, 1986.
- ROCHA, D. N. et al. Combination of trace elements and salt stress in different cultivation modes improves the lipid productivity of *Scenedesmus* spp. **Bioresource Technology**, v. 289, n. April, p. 121644, 2019.
- ROTTA, N. M. et al. A comprehensive analysis of operations and mass flows in postharvest processing of washed coffee. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 170, n. March, p. 105554, jul. 2021.
- SAFI, C. et al. Aqueous extraction of proteins from microalgae: Effect of different cell disruption methods. **Algal Research**, v. 3, n. 1, p. 61–65, 2014.
- SCARCELLI, P. G. et al. Evaluation of biomethanization during co-digestion of thermally pretreated microalgae and waste activated sludge, and estimation of its kinetic parameters. **Science of the Total Environment**, v. 706, p. 135745, 2020.

SELVAMURUGAN, M. et al. High rate anaerobic treatment of coffee processing wastewater using upflow anaerobic hybrid reactor. **Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 7, n. 2, p. 129–136, 2010.

SHOFIE, M. et al. Comprehensive monitoring and management of a long-term thermophilic CSTR treating coffee grounds, coffee liquid, milk waste, and municipal sludge. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 202–211, 2015.

SIALVE, B.; BERNET, N.; BERNARD, O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 4, p. 409–416, 2009.

SOLÉ-BUNDÓ, M. et al. Anaerobic co-digestion of microalgal biomass and wheat straw with and without thermo-alkaline pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 237, p. 89–98, 2017.

SOLÉ-BUNDÓ, M. et al. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, n. June, p. 471–482, 2019.

SPERLING, M. VON; LEMOS CHERNICHARO, C. A. DE. Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions. **IWA Publishing**, p. 1–856, 2005.

TAKEDA, H. CELL WALL SUGARS OF SOME SCENEDESMUS SPECIES [] GIc % Total sugars. v. 42, n. 3, p. 673–675, 1996.

VANTHOOR-KOOPMANS, M. et al. Biorefinery of microalgae for food and fuel. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 142–149, 2013.

WU, N. et al. Techno-Economic Analysis of Biogas Production from Microalgae through Anaerobic Digestion. **Anaerobic Digestion**, 2019.

WU, W.; CHENG, L. C.; CHANG, J. S. Environmental life cycle comparisons of pig farming integrated with anaerobic digestion and algae-based wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 264, n. December 2019, p. 110512, 2020.

YUKESH KANNAH, R. et al. A review on anaerobic digestion of energy and cost effective microalgae pretreatment for biogas production. **Bioresource Technology**, v. 332, n. February, p. 125055, 2021.

ZHANG, Y. et al. Enhancement of the energy yield from microalgae via enzymatic pretreatment and anaerobic co-digestion. **Energy**, v. 164, p. 400–407, 2018.

ZHEN, G. et al. Anaerobic co-digestion on improving methane production from mixed microalgae (*Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp.) and food waste : Kinetic modeling and synergistic impact evaluation. **Chemical Engineering Journal**, v. 299, p. 332–341, 2016.

6 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudo energético e financeiro da co-digestão de ARC e biomassa de microalgas em diferentes cenários, a fim de atestar a viabilidade da aplicação da extração de proteínas;

- Avaliar a co-digestão de ARC e microalgas em estudo contínuo e mais longo prazo, para melhor avaliar o sinergismo dos co-substratos, bem como a influência da cinética e o acúmulo de compostos durante a operação contínua;

- Estudo da análise de ciclo de vida (ACV) dos substratos e biombustíveis.