



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS TRINDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Flora Würth Simon

**Valorização do digestato proveniente
da digestão anaeróbia de resíduos alimentares**

FLORIANÓPOLIS
2020

Flora Würth Simon

**Valorização do digestato proveniente
da digestão anaeróbia de resíduos alimentares**

Dissertação submetida ao Programa de Pós
Graduação em Engenharia Ambiental da
Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do título de Mestre em
Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Armando Borges de
Castilhos Junior

Coorientador: Prof. Dr. Arcângelo Loss

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra

Simon, Flora

Valorização do digestato proveniente da digestão anaeróbia de resíduos alimentares / Flora Simon ; orientador, Armando Borges de Castilhos Junior, coorientador, Arcângelo Loss, 2020.
138 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Engenharia Ambiental. 2. Digestão anaeróbia. 3. Biofertilizantes. 4. Digestato. 5. Tratamento de resíduos orgânicos. I. Borges de Castilhos Junior, Armando . II. Loss, Arcângelo. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. IV. Título.

Flora Würth Simon

**Valorização do digestato proveniente da digestão anaeróbia
de resíduos alimentares**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr Paulo Belli Filho

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof Dr Jucinei José Comin

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Prof. Dra Lisete Celina Lange

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia Ambiental

Prof. Dra Maria Eliza Nagel Hassemer

Coordenadora do Programa

Prof. Dr Armando Borges de Castilhos Junior

Orientador

Florianópolis, 2020.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar agradecendo ao meu marido, Juliano, que esteve comigo durante toda esta jornada e que me ajudou com tanta paciência e amor, sempre me apoiando e dando força. Te amo!

À minha família, que sempre que podia vinha para Floripa quando eu não podia ir visitá-los, para matar as saudades... Mãe, Gui, Taly e Pedrinho, adorei ter vocês por perto! E muito feliz que estaremos juntos também na minha defesa... Amo vocês demais! Ao meu pai, um agradecimento in memoriam por sempre me inspirar.

Às minhas amigas que me deram todo o apoio mesmo distantes, e muitas vezes também vindo visitar, inclusive ouvindo eu treinar a minha apresentação do projeto e me apoiando sempre! Marina, Denise, adorei as visitas e as idas para a praia, bem como as da Déia, da Bru e da Bruna, sem contar todo o suporte e parceria ano passado! Foi simplesmente incrível ter TODAS vocês aqui comemorando comigo!

A todos os amigos e amigas que estiveram presentes no casamento ano passado, muito obrigada! Aquele momento com todos vocês me deu muita energia para a reta final do mestrado.

Gostaria de agradecer também a minha segunda família, que me acolheu em Floripa e fez tudo ficar mais fácil: Liane, minha sogrinha, Martha e Bruno, foi muito bom poder contar com vocês! Sempre momentos muito leves e divertidos.

À família PG que ajudou a me aproximar ainda mais de Deus e entender que precisamos confiar nele, sempre. A todos estes amigos e amigas queridos, obrigada! Ao pessoal da Luterana do centro que também proporcionou diversos momentos leves e de comunhão, obrigada!

Ao pessoal do Global Shapers Floripa, que foram outra família, com reunião toda quinta-feira. É muito bom saber que tem estão sempre dispostas a ouvir um bom desabafo e dar um apoio, bem como compartilham dessa vontade de melhorar a nossa cidade de o mundo!

Ao professor orientador Armando Borges, agradeço pela confiança depositada em mim e pela orientação ao longo deste projeto, foram dicas valiosas para manter o trabalho em andamento.

Ao coorientador Arcângelo Loss, que desde o começo me ajudou a entender melhor como direcionar a parte agrônômica da minha pesquisa, esclarecendo diversas dúvidas sobre um tema que não é diretamente da minha alçada.

Ainda, aos professores Paulo Belli e Jucinei Comin, que apontaram direcionamentos no projeto de dissertação para melhoria do trabalho. Ainda, ao professor Cledimar que sempre foi solícito tirando algumas dúvidas de metodologia... E a todos os professores e professoras que eu tive contato ao longo deste período, como Liese, Maria Eliza, Rodrigo M e Willian M.

Também quero agradecer às colegas de mestrado que participaram desta jornada comigo desde o primeiro dia de aula de Estatística... Paty, nossas conversas no RU, nossos diálogos, desabafos, e todos os momentos que tivemos durante todo este período de mestrado foram muito importantes para que tudo ficasse mais leve. Carol, Aninha e Ana Sílvia, foi muito legal estar com vocês também, o apoio mútuo foi incrível. A Tay, apesar de ser de outro curso também foi super parceira nas nossas caminhadas no final de semana, inclusive para discutir estatística.

A todos os colegas do LARESO, que time! Me senti muito bem acolhida no laboratório desde o início... A Letícia que foi a primeira pessoa que eu conheci, e que junto com a Carina me ajudou desde o começo e até hoje com os seus conhecimentos sobre a nossa pesquisa em conjunto, foi muito bom poder contar com vocês. Isa Pin, Thai, Isabela, Keylla, Eduarda e Ailton, aprendi muito com todos vocês e sigo aprendendo, obrigada por me ajudarem em tudo que eu precisei. Agradeço a todos que já passaram pelo laboratório!

Ainda não posso deixar de agradecer a todos os bolsistas e voluntários que tivemos, desde os mais antigos Igor, Emanuel, Fernanda e Grazi, até as voluntárias atuais que me ajudaram demais, como a Clara, Marina, Gabi e Laura. Vocês fizeram a diferença no Lab. Agradeço também ao Gabriel, atual bolsista, pelo ótimo trabalho desenvolvido ao longo destes últimos meses.

Quero também agradecer a todo o pessoal do CCA e do NEPEA, que desde o começo foram muito solícitos em me permitir utilizar o laboratório. Todos foram de extrema importância, me ajudando com as dúvidas, nas análises, e dando apoio a todo o momento. Foram trocas muito relevantes para o meu trabalho, tanto no Laboratório quanto na sala de aula, no RU do CCA e nos cafés de tarde. Obrigada a todos vocês e aos bolsistas que eu tive contato ao longo deste período, agradeço de coração!

Ainda, gostaria de agradecer ao pessoal do Laboratório de Sementes, a professora Renata e o técnico Jean que me permitiram também o uso do espaço para realização de alguns ensaios, bem como ao pessoal do M.I.P, responsáveis pela casa de vegetação. E, por fim, agradeço a todos os professores, funcionários e alunos da UFSC que eu tive contato ao longo destes meses todos.

Fiquei muito feliz de fazer parte da Universidade Federal de Santa Catarina, tudo que eu aprendi nestes dois anos me fizeram uma pessoa melhor. Sei que sempre que precisar, vou poder contar com o apoio desta incrível universidade.

Por fim, agradeço à CAPES pela concessão da bolsa durante este período.

RESUMO

O tratamento de resíduos sólidos orgânicos por digestão anaeróbia é eficaz na degradação da matéria orgânica, e gera subprodutos que podem ser aproveitados. Entre estes o biogás, que pode ser aplicado para diversos usos, e o material digerido ou digestato, que pode ser aproveitado na agricultura. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o uso do digestato resultante da digestão anaeróbia de resíduos alimentares como biofertilizante. Previamente à sua aplicação na agricultura, o digestato foi coletado do digestor metanogênico e acumulado entre abril e julho de 2019. Ainda, uma parte desde digestato acumulado foi mantido armazenado e inalterado até dezembro de 2019. Outra parte foi seca em estufa de laboratório a 65°C. Também foram realizados três ensaios de germinação para avaliar a toxicidade do digestato utilizando sementes de alface (*Lactuca sativa*). As concentrações de digestato testadas, em que foi feita diluição com água destilada, foram de 5%, 10%, 25%, 50% e 100% (puro). Foram testados o digestato acumulado entre abril e julho, o digestato seco em estufa e ainda dois digestatos coletados em dois períodos distintos, em que o sistema de metanização operava com carga orgânica volumétrica de 6 e 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹. Para avaliação da ecotoxicidade, foi realizado um teste agudo com o microcrustáceo *Daphnia Magna*. Por fim, o digestato foi aplicado na cultura da alface em dois experimentos diferentes, sendo um iniciado em julho de 2019 e outro em outubro, com duração média de 60 dias e aplicando-se os seguintes tratamentos: DS - digestato sólido seco em estufa a 65°C; 100% DL - digestato líquido; MIN - fertilizante mineral (NPK); MIN+DL - digestato líquido na proporção 1:1 com fertilizante mineral; MIN+DS - digestato sólido misturado na proporção 1:1 com fertilizante mineral; Controle, sem fertilização; e 50% DL - digestato líquido diluído em água na proporção 1:1. Em termos de avaliação do digestato, observou-se que este sofreu variações de acordo com a carga orgânica volumétrica aplicada no sistema de metanização, apresentando valores maiores dos nutrientes para uma carga mais elevada. Ainda, os diferentes tratamentos aplicados modificaram os parâmetros físico-químicos do digestato, com destaque para o digestato seco em que o pH se elevou consideravelmente e ocorreu concentração de nutrientes. Nos ensaios de germinação com o digestato líquido, de forma geral, o digestato menos diluído (diluições de 50% e 100%) causou toxicidade para as sementes de alface, mas para as maiores diluições (5%, 10% e 25%), o resultado foi positivo com crescimento das sementes. O digestato foi avaliado como muito tóxico no ensaio agudo com *Daphnia Magna*. Em relação ao experimento em vasos, observou-se que o aumento da temperatura no segundo experimento provocou maior crescimento das alfaces. Para a maior parte dos parâmetros não foram verificadas diferenças estatísticas entre os tratamentos MIN e MIN+DL, em ambos os plantios. O digestato líquido (100% DL) e o sólido (DS) também elevaram o pH do solo em ambos os experimentos. De forma geral, ambos os digestatos, líquido e sólido, apresentaram boa performance quando misturados com fertilizante mineral, ou seja, é possível a minimização do uso destes fertilizantes e o aproveitamento do digestato na agricultura.

Palavras-chave: resíduos sólidos orgânicos; digestato; valorização agrônômica; ensaio de germinação.

ABSTRACT

The treatment of organic solid waste by anaerobic digestion is effective in decomposing organic matter, and generates by-products that can be used. Biogas, which can be applied for different uses, and digestate, which can be used in agriculture. This research aims to evaluate whether the digestate resulting from anaerobic digestion of food waste can be used as an organic fertilizer. Prior to its application in agriculture, the digestate was collected from the methanogenic digester and accumulated between April and July 2019. In addition, part of the accumulated digestate was kept stored and unchanged until December 2019. Another part was dried in a laboratory oven at 65°C. Three germination tests were also carried out to evaluate toxicity of digestate for lettuce seeds. The dilutions tested were 5%, 10%, 25%, 50% and 100%. It was tested the digestate accumulated between April and July, the dried digestate and also two digestate collected in different periods: when the methanization system operated with organic loading rate of 6 kgTVS.m⁻³.dia⁻¹ and 8 kgVTS.m⁻³.dia⁻¹. To assess ecotoxicity, an acute test was also carried out with the microcrustacean *Daphnia Magna*. Finally, the digestate was applied for lettuce crops in two different experiments, one starting in July and the other in October, with an average duration of 60 days and applying the following treatments: DS - oven-dried solid digestate at 65°C; 100% DL - liquid digestate; MIN - mineral fertilizer; MIN + DL - liquid digestate mixed in a 1: 1 ratio with mineral fertilizer; MIN + DS - solid digestate mixed in a 1: 1 ratio with mineral fertilizer; Control, without fertilization; and 50% DL - liquid digestate diluted in water in a 1: 1 ratio. In terms of digestate evaluation, it was observed that its characteristics changed according to the OLR applied in the methanization system, presenting higher values of nutrients for a higher load. Still, the different treatments applied modified the physical-chemical parameters of the digestate, with emphasis on the dry digestate, in which the pH increased considerably and there was a concentration of nutrients. In the germination tests with liquid digestate, in general, less diluted digestate (dilutions 50% and 100%) caused toxicity to the lettuce seeds, but more diluted digestate (5%, 10% and 25) had a positive result, with seeds growth. The digestate was evaluated as very toxic in the acute trial with *Daphnia Magna*. Regarding the pot experiment, the higher temperature at the second caused greater growth of lettuces. For most parameters, no statistical differences were found between the MIN and MIN + DL treatments, in both plantations. The liquid digestate (100% DL) and the solid (DS) also raised the soil pH in both experiments. In general, both digestates, liquid and solid, performed well when mixed with fertilizing minerals, so it is possible to minimize the use of these fertilizers and enhance the use of digestion in agriculture.

Keywords: organic solid waste; digestate; agronomic valorization; germination test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fases da Digestão Anaeróbia	27
Figura 2: Formas de tratamento e aproveitamento do digestato.....	38
Figura 3: Processos de nitrificação e desnitrificação do nitrogênio	41
Figura 4: Fluxograma dos métodos aplicados	50
Figura 5: Esquema do sistema de metanização	51
Figura 6: Coleta e armazenamento do digestato.....	52
Figura 7: Procedimento de secagem do digestato	53
Figura 8: Preparação das sementes nos ensaios de germinação	54
Figura 9: Câmara de germinação utilizada nos ensaios.....	55
Figura 10: Medição das sementes com paquímetro digital	55
Figura 11: Distribuição dos vasos no primeiro plantio (inverno/primavera)	60
Figura 12: Distribuição dos vasos no segundo plantio (primavera/verão)	61
Figura 13: Gráfico pH x grau de disponibilidade de nutrientes	73
Figura 14: Variação do COT do digestato para duas cargas orgânicas diferentes operando no sistema de metanização.....	77
Figura 15: Variação do fósforo total do digestato com duas cargas orgânicas diferentes operando no sistema de metanização.....	78
Figura 16: Nitrogênio amoniacal do digestato com duas cargas orgânicas diferentes operando no sistema de metanização.....	79
Figura 17: Variação do Nitrogênio total e do amoniacal nos últimos quatro meses de operação do sistema de metanização	80
Figura 18: Sementes de alface após 7 dias de germinação pós aplicação de digestato proveniente de duas cargas orgânicas diferentes no sistema.....	82
Figura 19: Sementes de alface após 7 dias de germinação com digestato líquido e sólido, em diferentes diluições.	86
Figura 20: Fotos do primeiro experimento em vasos	87
Figura 21: Fotos do segundo experimento em vasos.....	89
Figura 22: Variação da temperatura na casa de vegetação para os dois plantios ...	94
Figura 23: Número médio de folhas para cada tratamento em ambos os plantios .	94
Figura 24: Valores médios de pH em ambos os plantios e em todos os tratamentos	100

Figura 25: Teores de nitrogênio total no solo em ambos os plantios e em todos os tratamentos	103
Figura 26: Teores de matéria orgânica no solo ao final dos experimentos	105
Figura 27: Teores de nitrogênio total nas raízes das plantas	108
Figura 28: Teores de nitrogênio total nas folhas das plantas.....	109
Figura 29: Teores de fósforo nas raízes das plantas	112
Figura 30: Teores de fósforo nas folhas das plantas.....	113

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Resumo de legislação sobre biofertilizantes.....	23
Quadro 2: Estudos que avaliaram a composição de digestatos de resíduos orgânicos	31
Quadro 3: Estudos que avaliaram o efeito do digestato em culturas vegetais.....	47
Quadro 4: Registro dos dias de coleta do digestato para ser armazenado e seco ...	52
Quadro 5: Regras de análise de sementes de alface	55
Quadro 6: Resultados preliminares da análise do solo utilizado nos experimentos	57
Quadro 7: Recomendação de aplicação de N para alface.....	58
Quadro 8: Recomendação de aplicação de P e K para alface.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos a serem analisados	63
Tabela 2: Resultados dos parâmetros físico-químicos para os diferentes tratamentos com o digestato	72
Tabela 3 : Resultados do ensaio ecotoxicológico agudo	81
Tabela 4: Resultados dos índices de germinação para ensaios com COV diferentes	82
Tabela 5: Resultados das análises dos digestatos usados nos ensaios de germinação com COVs diferentes	84
Tabela 6: Resultados dos índices de germinação para ensaios com o digestato líquido e sólido e respectivas diluições testadas.....	85
Tabela 7: Temperaturas máxima, mínima e média na casa de vegetação	93
Tabela 8: Comprimento e largura da maior folha para ambos os plantios	95
Tabela 9: Valores médios de massa fresca e massa seca das plantas de alface para ambos os plantios	97
Tabela 10: Valores médios de massa radicular e teor de umidade	98
Tabela 11: Valores médios de SMP para o solo em ambos os plantios e em todos os tratamentos	101
Tabela 12: Teores de carbono orgânico total no solo em ambos os plantios	104
Tabela 13: Relação C/N do solo em ambos os plantios e em todos os tratamentos	106
Tabela 14: Teores médios de fósforo no solo em ambos os plantios e para todos os tratamentos	107
Tabela 15: Nitrogênio acumulado nas raízes e nas folhas das plantas	110
Tabela 16: Fósforo acumulado nas raízes e nas folhas das plantas	114

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 – ANÁLISES QUÍMICAS DO DIGESTATO 137

APÊNDICE 2 – RESULTADOS DOS ENSAIOS DE GERMINAÇÃO 138

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais

AGV – Ácidos graxos voláteis

APHA – *American Public Health Association*

Ca - Cálcio

C/N – Carbono/Nitrogênio

CCA – Centro de Ciências Agrárias

CE – Condutividade Elétrica

CHP – *Combined Heat and Power*

COA – Carga Orgânica Aplicada

COT – Carbono Orgânico Total

COV – Carga Orgânica Volumétrica

CTC – Capacidade de Troca de Cátions

Cu - Cobre

DA – Digestão Anaeróbia

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DL – Digestato líquido

DQO – Demanda Química de Oxigênio

DS – Digestato sólido

FD – Fator de diluição

IN – Instrução Normativa

K – Potássio

LARESO – Laboratório de Pesquisa em Resíduos Sólidos

LIMA – Laboratório Integrado de Meio Ambiente

Mg - Magnésio

MIN – Fertilizante mineral

MO – Matéria orgânica

N – Nitrogênio

NH₃ – Amônia

NH₄⁺ – Nitrogênio amoniacal

NT – Nitrogênio Total
NTK- Nitrogênio Total de Kjeldahl
NO₃ – Nitrato
NO₂ – Nitrito
Ntotal – Nitrogênio total
P – Fósforo
pH – Potencial Hidrogeniônico
PNRS – Política Nacional de Resíduos Sólidos
Ptotal – Fósforo total
RSO – Resíduo sólido orgânico
RSU – Resíduo sólido urbano
RU – Restaurante universitário
SMP – Shoemaker, Mac lean e Pratt
ST – Sólidos Totais
STF – Sólidos Totais Fixos
STV – Sólidos Totais Voláteis
SV – Sólidos Voláteis
TDH – Tempo de Detenção Hidráulico
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
Zn - Zinco

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	19
2.	OBJETIVOS	21
2.1	OBJETIVO GERAL.....	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA	22
3.2	DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS ORGÂNICOS	26
3.2.1	Descrição do processo	26
3.2.2	Principais parâmetros do processo	28
3.2.3	Digestão anaeróbia no Brasil.....	29
3.3	CARACTERIZAÇÃO E PROCESSAMENTO DO DIGESTATO	30
3.3.1	Composição do digestato.....	30
3.3.2	Parâmetros físico-químicos do digestato.....	32
3.3.3	Aspectos negativos do digestato	34
3.3.4	Frações do digestato e tecnologias de tratamento	36
3.4	NUTRIENTES NO SOLO	40
3.4.1	Nitrogênio.....	40
3.4.2	Fósforo.....	42
3.4.3	Potássio	43
3.4.4	Cálcio e Magnésio	43
3.4.5	Micronutrientes	43
3.5	AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIGESTATO EM PLANTAS E EM MEIO AQUÁTICO	44
3.5.1	Ensaio de germinação.....	44
3.5.2	Ecotoxicidade aguda por meio de ensaio com <i>Daphnia Magna</i>	45
3.5.3	Avaliação do crescimento de culturas	46

4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
4.1	DESCRIÇÃO DO PILOTO E PROCESSAMENTO DO DIGESTATO	50
4.1.1	Sistema de metanização	50
4.1.2	Processamento do digestato	51
4.2	ENSAIOS DE GERMINAÇÃO.....	53
4.3	ENSAIO DE ECOTOXICIDADE	56
4.4	EXPERIMENTOS NA CASA DE VEGETAÇÃO	57
4.5	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	62
4.5.1	Digestato líquido	62
4.5.2	Digestato sólido e tecido vegetal.....	66
4.5.3	Caracterização do solo	69
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
5.1	TRATAMENTOS COM O DIGESTATO.....	71
5.2	VARIAÇÃO DE PARÂMETROS QUÍMICOS DO DIGESTATO EM FUNÇÃO DA CARGA NO SISTEMA DE METANIZAÇÃO	76
5.2.1	Avaliação do Carbono orgânico total	76
5.2.2	Avaliação do fósforo total	77
5.2.3	Avaliação do nitrogênio amoniacal.....	78
5.2.4	Avaliação do Nitrogênio total Kjeldahl	80
5.3	ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO	80
5.4	ENSAIOS DE GERMINAÇÃO.....	81
5.4.1	Ensaio com cargas orgânicas volumétricas diferentes	82
5.4.2	Ensaio com o digestato líquido e digestato sólido.....	85
5.5	EXPERIMENTOS EM VASOS	86
5.6	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALISADOS NO SOLO E NA PLANTA	93
5.6.1	Temperatura da casa de vegetação.....	93

5.6.2	Número de folhas, comprimento e largura da maior folha	94
5.6.3	Massa fresca, seca e massa da raiz.....	97
5.6.4	pH e índice SMP do solo após os experimentos	99
5.6.5	Nutrientes no solo	102
5.6.6	Nutrientes nos tecidos vegetais	108
6.	CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES	116
6.1	CONCLUSÕES ESPECÍFICAS	116
6.2	CONCLUSÃO GERAL	118
6.3	RECOMENDAÇÕES	118
	REFERÊNCIAS	120
	APÊNDICE 1 – ANÁLISES QUÍMICAS DO DIGESTATO.....	137
	APÊNDICE 2 – RESULTADOS DOS ENSAIOS DE GERMINAÇÃO	138

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a geração anual de resíduos sólidos urbanos passou de 61,5 milhões de toneladas, em 2007, para 79 milhões, em 2018, um aumento de mais de 20% (ABRELPE, 2007; ABRELPE, 2018). Em relação ao total de resíduos coletados da massa de resíduos domiciliares, cerca de 50% são representados por material orgânico (SNIS, 2018). Em sua maior parte, este material é disposto em aterros ou lixões, ocasionando inúmeros problemas ambientais, como a geração de gases de efeito estufa e formação de lixiviado. Uma das opções para desviar a disposição de resíduos em aterros é o tratamento dos mesmos por processos anaeróbios de degradação (CASTILHOS, 2003; CHARLES et al., 2009). A recuperação energética dos resíduos sólidos orgânicos (RSO) é possível tanto por tratamentos físicos, como separação de componentes, redução de volume e tamanho; quanto químicos, como combustão e pirólise; e biológicos, como a compostagem aeróbia e a digestão anaeróbia (TCHOBANOGLIOUS et al., 1993). A digestão anaeróbia pode ser utilizada para estabilizar diversos substratos orgânicos, e cerca de 20-95% da matéria orgânica é decomposta, dependendo da composição de cada substrato (MÖLLER e MÜLLER, 2012).

O tratamento por digestão anaeróbia gera subprodutos que podem ser aproveitados, sendo o principal deles o biogás, que tem um potencial de aplicação no aquecimento, geração de calor e energia combinados (CHP), combustível ou como gás natural para várias aplicações (SURENDRA et al., 2014). O outro subproduto do processo, o digestato, pode ser utilizado como fertilizante orgânico ou condicionador do solo na agricultura (NKOA, 2014; CECCHI e CAVINATO, 2015; DOGAN-SUBASI e DEMIRER, 2016). O digestato resultante do processo de digestão anaeróbia possui matriz orgânica e é produzido em grandes quantidades (MONLAU et al., 2015), variáveis conforme o substrato utilizado. Embora os resíduos alimentares sejam apontados como um substrato adequado para a digestão anaeróbia (MORETTI et al., 2020), sua heterogeneidade é um desafio para o controle de qualidade do digestato (DU et al., 2018). Antes de sua utilização como fertilizante ou bioestimulante, a composição química do digestato deve ser medida de forma a evitar a contaminação do solo e, ou, toxicidade para as plantas (ZIRKLER et al., 2014).

A caracterização química do digestato pode fornecer subsídios para verificar sua utilização na agricultura, de acordo com a legislação vigente do país. No Brasil, há leis e instruções normativas que fixam valores limites que um fertilizante pode liberar de cada nutriente, de forma que não haja impacto negativo no solo. O Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, define que o biofertilizante é um “produto que contém princípio ativo ou agente orgânico, isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante”. Apesar da massiva utilização de fertilizantes minerais, já é prevista a sua escassez, particularmente do fósforo, cujas fontes naturais estarão exauridas em médio prazo (JASINSKI, 2010; DAWSON e HILTON, 2011). Quanto ao potássio, as fontes tradicionais não são suficientes para atender a demanda no Brasil e em outros países (NASCIMENTO e LAPIDO-POUREIRO, 2004). Os fertilizantes nitrogenados dependem da disponibilidade de gás natural, o que provoca impactos sobre a cadeia produtiva (CELLA e ROSSI, 2010; DIAS e FERNANDES, 2005), tornando o uso de biofertilizantes viável como alternativa de baixo custo (MEDEIROS et al., 2003).

A aplicação do digestato na agricultura é uma prática comum em vários países e tem demonstrado melhorar as propriedades dos solos, com destaque para a parte química do solo, a exemplo do aumento do teor de carbono orgânico total e de fósforo total; o que irá refletir no crescimento e desenvolvimento das plantas avaliadas (JUÁREZ et al., 2013), além de também favorecer a atividade biológica do solo (ODLARE et al., 2008). Möller e Müller (2012) verificaram que o digestato proveniente de resíduos orgânicos contém níveis elevados de macro e micronutrientes, representando uma fonte alternativa ao uso de fertilizantes minerais. O presente trabalho está inserido em linha de pesquisa de digestão anaeróbia de Resíduos Sólidos Orgânicos (RSO) que vem sendo desenvolvida pelo Laboratório de Pesquisas em Resíduos Sólidos (LARESO) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), desde 2014. Um sistema piloto para metanização de resíduos alimentares da UFSC foi instalado em uma das dependências do antigo Restaurante Universitário (RU), localizado no campus Trindade, Florianópolis, Santa Catarina.

O sistema de metanização já foi utilizado para as pesquisas de mestrado de Malinowski (2016) e Debiasi (2019). Malinowski (2016) operou o sistema com somente um estágio, e foi observada acidificação do meio. Posteriormente, Debiasi (2019) desenvolveu sua pesquisa no aprimoramento do estágio acidogênico do sistema de metanização operando com duas fases, sendo que a operação do sistema como um todo estará inclusa na tese de doutorado de Malinowski (2020). O presente estudo objetivou avaliar o efluente (ou seja, o digestato), gerado em um reator metanogênico. Dentro deste contexto, foram realizados experimentos para comprovar a viabilidade do uso do digestato como fertilizante orgânico. Foram realizados ensaios de germinação com alface para avaliação da toxicidade, um ensaio ecotoxicológico com o microcrustáceo *Daphnia Magna* e dois experimentos em vasos com a cultura da alface. Para desenvolvimento dos estudos agronômicos, foi firmada parceria com o Núcleo de Ensino, Pesquisa e Extensão em Agroecologia (NEPEA-UFSC), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias (CCA), para que fossem realizadas as análises no solo e no tecido vegetal.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a utilização do digestato, resultante da digestão anaeróbia de resíduos alimentares, como biofertilizante.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a variabilidade das características químicas do digestato de acordo com os diferentes tratamentos aplicados.
- Identificar a variabilidade de parâmetros químicos do digestato conforme a modificação da carga orgânica volumétrica do sistema de metanização.
- Verificar a toxicidade do digestato por meio de ensaios de germinação e ecotoxicológico agudo com *Daphnia Magna*.
- Avaliar a aplicação do digestato como biofertilizante por meio da realização de experimentos com a cultura da alface.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

A Política Nacional de Resíduos Sólidos – PNRS (BRASIL, 2010) é a principal legislação referente a resíduos no país. O incentivo ao uso de biodigestores é citado de forma indireta, em seu Artigo 9, inciso 1º:

Poderão ser utilizadas tecnologias visando à recuperação energética dos resíduos sólidos urbanos, desde que tenha sido comprovada sua viabilidade técnica e ambiental e com a implantação de programa de monitoramento de emissão de gases tóxicos aprovado pelo órgão ambiental (BRASIL, 2010).

Existem várias legislações sobre biofertilizantes no Brasil, sendo as principais exibidas resumidamente no Quadro 1. A Lei nº 6894, de 16 de dezembro de 1980, dispõe sobre a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas, destinados à agricultura, e dá outras providências. No artigo 3º, a Lei descreve:

- (a) Fertilizante, a substância mineral ou orgânica, natural ou sintética, fornecedora de um ou mais nutrientes vegetais;
- (d) Estimulante ou biofertilizante, o produto que contenha o princípio ativo apto a melhorar, direta ou indiretamente, o desenvolvimento das plantas.

O Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, aprova o Regulamento da Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980. Este decreto estabelece as normas gerais sobre registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes e biofertilizantes, bem como outros substratos destinados à agricultura. Este decreto dita que o fertilizante é uma “substância, mineral ou orgânica, natural ou sintética, fornecedora de um ou mais nutrientes de plantas”, classificando-os em diversos tipos. O Decreto também amplia o conceito de biofertilizante, separando-o de estimulante e classificando-o como “produto que contém princípio ativo ou agente orgânico, isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante”.

Quadro 1: Resumo de legislação sobre biofertilizantes

Nome	Principal Temática	Ano de publicação
Lei nº 6894	Trata da inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas.	1980
Decreto nº 4.954	Regulamenta a Lei nº 6894, de 1980.	2004
Instrução Normativa SDA/MAPA 27	Refere-se às concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas nos fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem produzidos, importados ou comercializados.	2006
Instrução Normativa SDA/MAPA nº 25	Visa aprovar normas sobre as especificações, garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem de fertilizantes orgânicos de vários tipos, destinados à agricultura.	2009
Instrução Normativa MAPA nº 53	Visa estabelecer diversos procedimentos relacionados a estabelecimentos, e também os procedimentos a serem adotados na inspeção e fiscalização da produção, importação, exportação e comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, biofertilizantes e materiais secundários; o credenciamento de instituições privadas de pesquisa; requisitos mínimos para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica e elaboração do relatório técnico-científico para fins de registro de fertilizante, corretivo e biofertilizante na condição de produto novo.	2013
Instrução Normativa nº 39	Visa estabelecer regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, registro de produto, autorizações, embalagem, rotulagem, documentos fiscais, propaganda e tolerâncias dos fertilizantes minerais destinados à agricultura.	2018

Fonte: Elaborado pela autora

O Decreto nº 4.954 (BRASIL, 2004) define o que é um fertilizante orgânico simples (produto natural de origem vegetal ou animal, contendo um ou mais nutrientes de plantas); fertilizante orgânico misto (de natureza orgânica, resultante da mistura de dois ou mais fertilizantes orgânicos simples, contendo um ou mais nutrientes de plantas); fertilizante orgânico composto (obtido por processo físico, químico, físico-químico ou bioquímico, natural ou controlado, a partir de matéria-prima de origem industrial, urbana ou rural, animal ou vegetal, isoladas ou misturadas, podendo ser enriquecido de nutrientes minerais, princípio ativo ou agente capaz de melhorar suas características físicas, químicas ou biológicas); e fertilizante organomineral (produto resultante da mistura física ou combinação de fertilizantes minerais e orgânicos).

A qualidade dos fertilizantes orgânicos é tomada em relação aos valores declarados pelo fabricante para os parâmetros: matéria orgânica, carbono orgânico, relação carbono/nitrogênio (C/N), capacidade de troca catiônica, capacidade de retenção de água, poder de neutralização, pH, ácidos húmicos, aminoácidos, umidade, condutividade elétrica e outros componentes garantidos ou declarados não previstos. Posteriormente várias instruções normativas (IN) foram publicadas pelo MAPA, a fim de detalhar as leis e o decreto citados.

A Instrução Normativa SDA nº 27, de 5 de junho de 2006, alterada pela IN SDA nº 7, de 12 de abril de 2016, estabelece alguns limites que devem ser atendidos na produção de fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, no que se refere às concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos e patogênicos, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas. Os anexos desta IN apresentam limites máximos admitidos em fertilizantes minerais e também em fertilizantes orgânicos e condicionadores de solo.

A Instrução Normativa SDA/MAPA nº 25, de 23 de julho de 2009, revogou a Instrução Normativa SDA nº 23, de 2005. A IN nº 25 (BRASIL, 2009) aprovou as normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura. A IN nº 25 também especifica os diferentes tipos de fertilizantes orgânicos e biofertilizantes, segundo sua natureza física: produto sólido, produto fluido ou produto pastoso ou gel.

Ainda, a IN nº25 também estabelece as porcentagens ou quantidades mínimas de cada macro e micronutriente para utilização do fertilizante na agricultura, bem como os limites de tolerância. Com relação ao registro de produtos, o artigo 11 cita que para os fertilizantes, desde que respaldadas pela pesquisa oficial brasileira, as garantias e especificações foram aquelas declaradas no processo de registro do produto. Ainda, no artigo 16 da referida IN, está descrito:

§ 3º Para os biofertilizantes, além do disposto no art. 11 deste Anexo e em conformidade com o disposto no art. 15, do regulamento aprovado pelo Decreto nº 4.954, de 2004, deverá ser apresentada recomendação da pesquisa oficial brasileira ou relatório técnico-científico conclusivo, que demonstre que a eficiência agrônômica do produto se deve à ação do princípio ativo ou agente orgânico contido no biofertilizante.

A Instrução Normativa nº 53, de 23 de outubro de 2013, posteriormente alterada pela IN MAPA nº 06 de 10 de março de 2016, apresenta como principais objetivos estabelecer disposições e critérios, credenciar instituições privadas de pesquisa e apresentar requisitos mínimos para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica e elaboração do relatório para fins de registro. O Artigo 7 separa os diferentes produtos em fertilizantes, corretivos, inoculantes, biofertilizantes e remineralizadores.

A Instrução Normativa nº 39, de 8 de agosto de 2018, estabelece regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, registro de produtos, autorizações, embalagens, rotulagem, documentos fiscais, propaganda e tolerâncias de fertilizantes minerais destinados à agricultura. Esta IN estabelece as especificações e garantias mínimas de cada fertilizante segundo seu tipo, podendo ser ternário (NPK) ou binário (NP, NK e PK).

Por fim, a Resolução CONAMA nº 481/2017 estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos, e dá outras providências. Esta publicação, a mais recente sobre resíduos sólidos orgânicos, trata de um tópico em desenvolvimento no contexto brasileiro. A resolução estabelece definições e cita a necessidade de garantia do período termofílico mínimo necessário para redução de agentes patogênicos, apresentados em seu único anexo. Além disso, indica outros parâmetros a serem utilizados no processo, e dita requisitos mínimos de prevenção e controle ambiental.

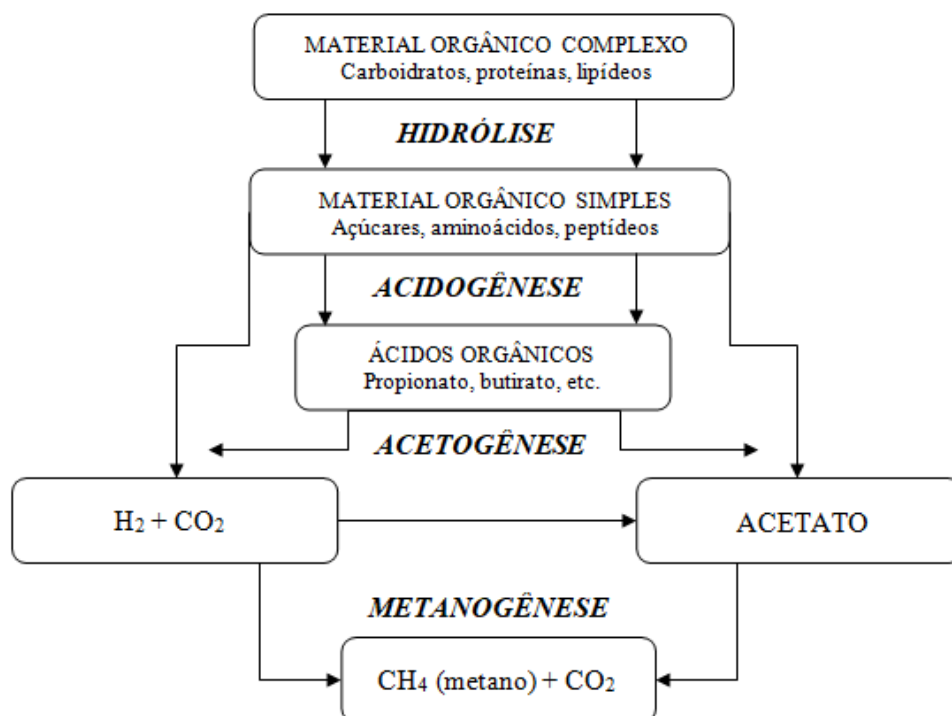
No contexto do Estado de Santa Catarina, é importante destacar a recente aprovação do projeto de Lei 26/2018, ocorrida em junho do referido ano pela Assembleia Legislativa do Estado, e que traz um marco legal que estimula a produção e utilização do biogás como fonte de energia. O objetivo principal do Projeto de Lei é dar diretrizes para que os dejetos (fezes e urina) produzidos na pecuária e também os resíduos orgânicos produzidos na área urbana sejam aproveitados na produção de energia, por meio de biodigestores. Além disso, cita-se que o biofertilizante pode ser aproveitado nas lavouras e pastagens, substituindo os adubos químicos e com um potencial poluente muito menor em relação aos dejetos (MB COMUNICAÇÃO, 2018).

3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS ORGÂNICOS

3.2.1 Descrição do processo

A digestão anaeróbia é um processo de degradação da matéria orgânica que ocorre na ausência de oxigênio molecular livre. Neste processo, microrganismos atuam na conversão de matéria orgânica complexa (carboidratos, proteínas e lipídeos) em metano e compostos como dióxido de carbono, amônia, ácido sulfídrico, entre outros (CHERNICHARO, 2007). Este processo envolve mecanismos bioquímicos complexos e atividades microbiológicas que dependem da natureza do substrato e de condições físico-químicas do ambiente onde ocorre a reação. Tradicionalmente, divide-se o processo de degradação anaeróbia da matéria orgânica em quatro etapas (Figura 1): hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (CHERNICHARO, 2007; LEITE, 2011; METCALF & EDDY, 2014).

Figura 1: Fases da Digestão Anaeróbia



Fonte: Adaptado de MetCalf & Eddy, 2014

Na fase de hidrólise, compostos orgânicos complexos de longas cadeias são convertidos em monômeros por exo-enzimas, as hidrolases, produzidas por bactérias fermentativas (APPELS et al., 2008). Na fase seguinte, a acidogênese, os monômeros são metabolizados pelas bactérias fermentativas, sendo transformados em ácidos orgânicos de cadeia curta (ácido butírico, ácido propiônico, acetato, ácido acético), alcoóis, hidrogênio e dióxido de carbono (NGHIEM et al., 2014).

Durante a fase acetogênica, compostos como etanol, propionato e butirato são metabolizados pelas bactérias acetogênicas em acetato, hidrogênio (H_2) e gás carbônico (CO_2). Paralelamente, as *arqueas* metanogênicas consomem hidrogênio, evitando a diminuição do pH do meio e gerando uma condição termodinamicamente favorável para que as bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio degradem os derivados da acidogênese produzindo acetato, H_2 e CO_2 (CHERNICARO, 2007; KHALID et al., 2011). A metanogênese, fase final do processo, é realizada pelas bactérias *archaea*, separadas em dois grupos: o primeiro, de bactérias metanogênicas acetoclásticas, que quebram o acetato produzindo metano e dióxido de carbono; e o segundo, de metanogênicas hidrogenotróficas, que usam o H_2 como doador de elétrons e o CO_2 como receptor para produzir metano (METCALF e EDDY, 2014).

3.2.2 Principais parâmetros do processo

- **Temperatura:** A temperatura é um dos parâmetros mais importantes que influencia a digestão anaeróbia, uma vez que afeta não só a atividade de enzimas e coenzimas, mas também a produção de metano e a qualidade do digestato (APPELS et al., 2011). A faixa de temperatura de digestores anaeróbios geralmente se situa na região mesofílica e termofílica. Os digestores mesofílicos operam a temperaturas entre 30 - 40 °C, e os termofílicos entre 50 – 60 °C (MOLLER et al., 2009; WANG, 2014). A temperatura também é um fator relevante na medida em que afeta parâmetros físicos como viscosidade, tensão superficial e propriedades de transferência de massa (CASTELLANO-HINOJOSA, 2018).

- **Ácidos graxos voláteis, pH e alcalinidade:** O potencial hidrogeniônico (pH) é um parâmetro relevante no processo de digestão anaeróbia, e cada grupo de microrganismos possui faixas ideais para o seu desenvolvimento. O principal objetivo do controle do pH é evitar a inibição dos microrganismos metanogênicos. A faixa ideal de pH em reatores anaeróbios situa-se entre 6,5 e 7,5, mas as bactérias metanogênicas podem crescer em pH entre 6,0 e 8,0 (CHERNICARO, 2007). Este parâmetro também é um fator crítico que controla o tipo de Ácidos Graxos Voláteis (AGVs) produzidos durante as fases de hidrólise e acidogênese (ZHOU et al., 2017). Os AGVs, que incluem os ácidos acético, propiônico, butírico e valérico, são os principais produtos intermediários gerados na digestão anaeróbia de resíduos orgânicos (PALACIO-BARCO et al., 2010; CYSNEIROS et al., 2012). Desequilíbrios devido ao desbalanceamento entre os dois principais tipos de microrganismos têm sido observados em sistemas anaeróbios de um estágio (INCE et al., 1995), ocorridos pelo acúmulo destes ácidos, especialmente o propiônico, causando falha no sistema (HOLM-NIELSEN et al., 2007). O pH geralmente se torna mais básico durante o processo de digestão, sendo menor na fase acidogênica, e aumentando nas fases acetogênica e metanogênica. Appels et al. (2008) destacam que o pH do sistema é controlado pela concentração do CO₂ na fase gasosa e pela alcalinidade do bicarbonato (HCO₃⁻) na fase líquida. Para o processo funcionar corretamente a faixa de alcalinidade deve estar entre 1000 e 5000 mgL⁻¹ (METCALF e EDDY, 2014), e assim manter a capacidade tamponante e evitar mudanças no pH (CHERNICARO, 2007).

- **Relação C/N:** A relação C/N é apontada como fator limitante na biodegradação de compostos orgânicos, uma vez que o carbono representa a fonte de energia dos microrganismos e o nitrogênio acentua o crescimento bacteriano (IGONI et al., 2008; KHALID, 2011). Segundo Ostrem (2004), baixas relações C/N podem conduzir ao acúmulo de amônia, tendo como consequência a elevação do pH para valores acima de 8,5 e a inibição da atividade dos organismos metanogênicos. Por outro lado, elevadas razões C/N induzem o rápido consumo do nitrogênio pelas bactérias metanogênicas e menores taxas de produção de biogás. Alguns autores consideram ótima a relação C/N de 20/1 até 30/1 para o crescimento bacteriano na digestão anaeróbia (LI et al., 2011), embora autores como Guermoud et al. (2009) ampliem esta faixa para valores entre 20/1 e 35/1. A relação C/N também é utilizada como indicador para verificar a aplicabilidade de um digestato como condicionador de um tipo específico de solo. Segundo Möller e Muller (2012), a variação da razão C/N é dependente da degradabilidade do carbono contido no substrato.

- **Carga orgânica volumétrica e tempo de detenção hidráulico:** A carga orgânica representa a quantidade de resíduos aplicada diariamente por unidade de volume do reator, que pode ser expressa em termos de demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais (ST) ou sólidos totais voláteis (STV). Já o tempo de detenção hidráulico (TDH) é o período de retenção em que o material adicionado no reator irá permanecer em digestão, e é variável e dependente do tipo de substrato e da temperatura (METCALF e EDDY, 2014).

3.2.3 Digestão anaeróbia no Brasil

A utilização da digestão anaeróbia no Brasil teve um forte impulso nas décadas de 70 e 80, caindo em descrédito posteriormente, mas novamente ganhando forças como alternativa para agregação de valor aos dejetos (KUNZ et al., 2005). A Emater calculou que haviam 3000 biodigestores em 1984 no país, principalmente do modelo Indiano utilizado para biodigestão de dejetos de bovinos. Segundo o Levantamento Agropecuário Catarinense (2002-2003), considerando somente produtores com mais de 50 cabeças de suínos (7.158 suinocultores), foi verificado que 0,08% deles possuíam biodigestores e 99,2% esterqueiras (PALHARES, 2008).

Há diversos tratamentos possíveis para os dejetos de suínos (BELLI FILHO et al, 2001). Na agricultura, alguns autores já avaliaram a aplicação de dejetos suínos como biofertilizantes. Em uma propriedade rural do interior do estado de São Paulo, Oliveira et al. (2011) avaliou o uso de dejetos suínos como biofertilizantes para a fertilização das culturas de café e milho. Foi verificado que o uso do digestato sozinho contribuiu 40% com a necessidade de fertilização, sendo necessária complementação com fertilizante mineral.

Os autores Sedyama et al. (2014) utilizaram dejetos líquidos suínos após processo de fermentação anaeróbia como biofertilizante em duas culturas híbridas de pimentão: Amanda (fruta amarela) e Rubia (fruta vermelha), aplicando as doses de 0, 30, 60 e 120 m³ha⁻¹. De modo geral, as maiores alturas de plantas foram obtidas na maior dose de biofertilizante (120 m³ha⁻¹), e os teores foliares dos cultivares foram considerados adequados em termos de fornecimento de nutrientes.

De forma semelhante, Santos et al. (2012) aplicaram um biofertilizante de dejetos líquidos suínos obtido do processo de fermentação anaeróbia na cultura de abóbora híbrida, analisando ao final da colheita de 147 dias os nutrientes N, P, K, S, Ca e Mg, além de alguns micronutrientes. Os autores observaram incremento na produção de abóbora híbrida com doses de biofertilizante até 40 m³ha⁻¹; esses autores sugerem a combinação de uma fonte de P para completar a baixa disponibilidade deste nutriente no biofertilizante.

3.3 CARACTERIZAÇÃO E PROCESSAMENTO DO DIGESTATO

3.3.1 Composição do digestato

O digestato é um dos subprodutos da digestão anaeróbia, e pode ser tanto sólido quanto líquido, dependendo de tecnologia utilizada no processo. A composição do digestato é fortemente dependente do substrato, da fonte do inóculo, de condições operacionais do sistema de digestão anaeróbia, e da configuração dos reatores (MONLAU et al., 2015). No Quadro 2 está apresentada a composição de digestatos de resíduos orgânicos determinada por diversos autores.

Quadro 2: Estudos que avaliaram a composição de digestatos de resíduos orgânicos

Propriedades	Variação	Referência
pH	7,5 – 8,2	Haraldsen et al. (2011); Menardo et al. (2011); Abubaker et al. (2012); Albuquerque et al. (2012a); Pezzolla et al. (2012); Rigby e Smith (2013); Sambusiti et al. (2015).
Sólidos Totais - ST (%)	1,4 – 11,5	Banks et al. (2011a); Goberna et al. (2011); Haraldsen et al. (2011); Menardo et al. (2011); Abubaker et al. (2012); Pezzolla et al. (2012); Zhang et al. (2012); Rigby e Smith (2013); Sambusiti et al. (2015).
Sólidos Voláteis - SV (%ST)	38-77	Paavola e Rintala (2008); Banks et al. (2011a); Menardo et al. (2011); Pezzolla et al. (2012); Zhang et al. (2012); Rigby e Smith (2013); Sambusiti et al. (2015).
Carbono orgânico total (g/kg ST)	273-452	Abubaker et al. (2012); Albuquerque et al. (2012a); Pezzolla et al. (2012); Rigby e Smith (2013).
Nitrogênio total (g/kg ST)	44-157	Banks et al. (2011a); Haraldsen et al. (2011); Menardo et al. (2011); Abubaker et al. (2012); Albuquerque et al. (2012a); Pezzolla et al. (2012); Zhang et al. (2012); Rigby e Smith (2013); Sambusiti et al. (2015).
Nitrogênio amoniacal (g/kg ST)	20-120	Haraldsen et al. (2011); Menardo et al. (2011); Abubaker et al. (2012); Albuquerque et al. (2012a); Pezzolla et al. (2012); Zhang et al. (2012); Rigby e Smith (2013); Sambusiti et al. (2015).
Fósforo total (g/kg ST)	6-16	Banks et al. (2011a); Haraldsen et al. (2011); Abubaker et al. (2012); Zhang et al. (2012); Rigby e Smith (2013).
Potássio total (g/kg ST)	26-81	Banks et al. (2011a); Haraldsen et al. (2011); Abubaker et al. (2012); Zhang et al. (2012); Rigby e Smith (2013).

Fonte: Elaborado pela autora

No Brasil, alguns autores já trabalharam com caracterização do biofertilizante gerado nos digestores anaeróbios. Franco et al. (2017) monitoraram um sistema de metanização de resíduos alimentares composto por reator anaeróbio, reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) e filtros, por um período de 6 meses, de forma a caracterizar o efluente final, ou seja, o digestato. A caracterização química após o período de monitoramento foi de sólidos totais de $3,3 \text{ gL}^{-1}$, sólidos voláteis de $1,7 \text{ gL}^{-1}$, pH de 7,4, DQO de $2145,2 \text{ mgL}^{-1}$, nitrogênio amoniacal total de $821,6 \text{ mgL}^{-1}$ e fósforo total de 147 mgL^{-1} .

Alguns autores também realizaram análises físico-químicas diretamente no digestato líquido. Velho (2016) avaliou o uso de biodigestor alimentado com a fração orgânica de resíduos sólidos domésticos através de diferentes bateladas de operação do sistema. O autor encontrou valores de pH entre 7,9 e 8,6; COT entre 10,39% e 15,96%; nitrogênio total entre 1,37 e $2,82 \text{ gL}^{-1}$; fósforo total entre 0,07% e 0,12%; e com relações C/N variando entre 51/1 e 86/1 ao final da digestão anaeróbia. Alguns autores também realizaram a caracterização química do digestato somente após algum processo de tratamento, como Laufer (2008). A autora avaliou a biodigestão para o tratamento de resíduos sólidos orgânicos domésticos de área urbana. Para avaliação do biofertilizante, foram realizadas coletas das amostras e secagem em estufa a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas. Para o nitrogênio, foram encontrados valores entre 22,8 e $75,3 \text{ gkg}^{-1}$ dentro dos 11 reatores do experimento; para fósforo foram valores entre 2,0 e $4,6 \text{ gkg}^{-1}$, cobre entre 3,5 e $9,0 \text{ mgkg}^{-1}$; e zinco entre 21,0 e $60,5 \text{ mgkg}^{-1}$.

3.3.2 Parâmetros físico-químicos do digestato

O pH é um dos principais parâmetros do digestato, e costuma ser alcalino (MAKÁDI et al., 2012). O pH é controlado principalmente pelas reações químicas que ocorrem nos digestores, sendo que a sua elevação pode ocorrer devido à formação de carbonato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ e à remoção de dióxido de carbono (GEORGACAKIS et al., 1982.; WEBB et al., 1985). Ainda, o pH é afetado pela concentração de cátions básicos, como Ca^{+2} e K^+ (ARBOR, 2013; HJORTH et al., 2010), bem como pode aumentar devido ao consumo dos ácidos graxos voláteis durante o processo de digestão anaeróbia.

A adição de bases fortes ou carbonatos para controlar tanto o pH como a capacidade tamponante do sistema podem também ser fatores que provocam esta elevação (WARD et al., 2008; TAMBONE et al., 2010). Alguns dos produtos utilizados são bicarbonato de sódio (NaHCO_3) ou hidróxido de sódio (NaOH), adicionados no começo do processo (KONDUSAMY e KALAMDHAD, 2014).

Outro parâmetro extremamente relevante no processo de digestato anaeróbia e também para a agricultura é o nitrogênio. Durante a digestão anaeróbia o nitrogênio total é parcialmente transformado em nitrogênio inorgânico, sendo na maior parte amônio (NH_4^+) e a amônia livre (NH_3). O equilíbrio entre os dois depende da temperatura e pH do digestato, sendo que quanto mais elevados estes parâmetros, maior a fração de amônia livre. (MONLAU 2015). O nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+) também é considerado um nutriente essencial para o crescimento das bactérias para manter a estabilidade durante o processo de digestão anaeróbia (MONLAU et al., 2015.; RAJAGOPAL et al., 2013). Quanto maior a porção de N-NH_4^+ , maior a eficiência do digestato como fertilizante nitrogenado (ARBOR, 2013).

A concentração de 50 a 200 $\text{mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ é necessária para suplementar nutrientes para os microrganismos para um processo eficiente de digestão anaeróbia (CHEN et al., 2008.; RAJAGOPAL et al., 2013). A concentração de 200 a 1000 $\text{mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ não possui efeitos antagônicos. Entretanto, concentrações maiores de 1500 a 3000 $\text{mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ podem ser inibidoras durante o processo metanogênico especialmente a pH mais elevados, causando falha no digestor (RAJAGOPAL et al., 2013.; YENIGÜN e DEMIREL, 2013). A determinação da amônia também é relevante para avaliação da lixiviação e volatilização, para se definir taxa e tempo de aplicação (ALBUQUERQUE et al., 2012a), uma vez que concentrações elevadas de amônia podem aumentar o risco de volatilização (BAGGE, 2009).

O fósforo é outro parâmetro relevante tanto para o processo de digestão anaeróbia quanto para as plantas. O teor total de fósforo que entra no sistema de metanização não se modifica durante o processo de digestão anaeróbia, mas o fósforo orgânico pode se tornar disponível para as plantas durante o processo (VANEECKHAUTE et al., 2017.), e a sua disponibilidade a curto prazo pode reduzir (INSAM et al., 2015).

Alguns parâmetros também estão relacionados à bioestabilidade do digestato. Durante o processo, a quantidade de matéria orgânica e de teor de carbono no digestato diminui pela decomposição de compostos de carbono facilmente degradáveis nos digestores (STINNER et al., 2008). Já em contato com o solo, o digestato tende a aumentar a atividade e a biomassa microbiana, ocorrendo estímulo que é atribuído ao aumento da disponibilidade de carbono e nutrientes (ODLARE et al, 2008; FRAC et al, 2012).

Para avaliação de resíduos líquidos contendo sólidos, índices de respiração, como a DBO_{5d} , e parâmetros analíticos relacionados à matéria orgânica solúvel, como a DQO e o carbono orgânico dissolvido, são mais adequados (ALBUQUERQUE et al., 2012b; ASTALS et al., 2012). Os primeiros autores também sugerem uma relação entre DQO e o NTK menor que 1,5 g C/ g N como indicativa de um digestato estável, bem como DQO menor que 1,5 g C/ L. Análises mais simples de métodos não biológicos para avaliação da estabilidade de substratos orgânicos são através da determinação dos sólidos totais, da matéria orgânica (sólidos voláteis) e do teor de carbono orgânico total (ASTALS et al., 2012; BARRENA et al., 2014). Segundo Wojnowska-Baryla et al. (2018), teores altos de matéria orgânica no digestato (demonstrados por uma razão SV/ST alta) refletem em baixa estabilidade.

3.3.3 Aspectos negativos do digestato

Alguns digestatos possuem alto teor de amônia, salinidade, DQO, fosfatos e coloração que irão causar riscos ao meio ambiente e aos organismos se expostos de forma inapropriada a terras aráveis (TIGINI et al., 2016). A avaliação destes compostos, juntamente com os nutrientes, é necessária para um adequado manejo da aplicação do digestato como fertilizante.

Em usinas de biogás de escala real, diversos substratos de resíduos orgânicos, como por exemplo os dejetos, a fração orgânica de resíduos sólidos urbanos, resíduos alimentares e lodo ativado podem conter patógenos (SAHLSTRÖM et al., 2008; SCAGLIA et al., 2014). Em geral o processo de digestão reduz o teor de patógenos, especialmente em condições termofílicas (FRANKE e INSAM, 2013).

Por outro lado, na Europa, digestores mesofílicos são o tipo mais comum em fazendas de biogás e se mostraram os mais efetivos em diminuir a carga de patógenos (LUKEHORST et al., 2010). O tipo de patógeno presente no digestato depende de qualidade do substrato inicial e da configuração dos digestores, bem como tecnologias de pré tratamento, temperatura do sistema, pH, concentração de amônia e tempo de retenção hidráulico, entre outros (SAHLSTROM, 2003; OTTOSON et al., 2008). Em particular, são os resíduos de origem animal ou humana que podem conter várias bactérias patogênicas, parasitas, vírus e fungos (SAHLSTRÖM, 2003; SIDHU e TOZE, 2009; VENGLOVSKY et al., 2006). O elevado pH foi apontado por alguns autores como um fator de inibição de bactérias patogênicas (BAGGE, 2009; OTTOSSON et al., 2008).

A presença de patógenos foi pouco significativa para onze digestatos de diferentes usinas termofílicas na Irlanda e Reino Unido. Coelho et al. (2018) analisaram digestatos que utilizavam majoritariamente como substrato resíduos alimentares de diversas origens, bem como dejetos, resíduos de grama e do tratamento de esgoto sanitário, advindos de digestores operando a condições mesofílicas. Apenas um digestato (com substrato da indústria de leite) detectou *Salmonella* spp, ainda abaixo dos limites da legislação. Para *Escherichia coli* os valores variaram de 0,3 (não detectada) a 2400 CFU g⁻¹ massa fresca, mas somente um estava acima dos limites irlandeses.

Além dos patógenos, os metais pesados também podem estar presentes no digestato, cujos teores se originam de fontes antropogênicas tais quais: aditivos de alimentação animal, indústria de processamento de alimentos, lodo ativado, resíduos gordurosos e esgoto doméstico (MAKÁDI et al., 2012). Os digestatos provenientes de resíduos alimentares são ricos em nitrogênio, potássio e fósforo e possuem baixa concentração de metais pesados (BANKS et al. 2011 a,b), mas a variabilidade é alta (FISGATIVA et al., 2016). O teor de metais pesados em digestatos provenientes de usinas que utilizam como substrato resíduos da agricultura, alimentares ou de processamento de alimento geralmente se encontram dentro dos limites para serem utilizados como fertilizantes (AL SEADI e LUKEHORST, 2012). Ainda, alguns metais pesados também são importantes para as plantas, como o Cobre e o Zinco (MAKÁDI et al., 2012).

Na Noruega, Govasmark et al. (2011) realizaram a análise do digestato ao longo de doze meses de usinas de biogás processando resíduos alimentares, da indústria alimentícia, bem como domésticos e de jardinagem. Embora os teores tenham flutuado ao longo deste período, o teor médio de metais pesados foi tão baixo que os digestatos destas usinas de biogás foram considerados aceitáveis para uso na agricultura. No Reino Unido, amostras de digestatos coletadas de três usinas de biogás processando resíduos alimentares com resíduos agrícolas e dejetos bovinos, coletadas entre 2009 e 2010, mostraram níveis de metais pesados inferiores à norma do país, os padrões PAS 110 (TOMPINKS *apud* AL SEADI e LUKEHORST, 2012).

3.3.4 Frações do digestato e tecnologias de tratamento

Apesar do digestato ser utilizado diretamente na sua forma completa, existem diferentes tecnologias para seu processamento antes de sua aplicação no solo (AL SEADI, 2013). Neste sentido, Sheets et al. (2015) buscaram avaliar diferentes tecnologias de pós tratamento do digestato, dentre elas a desidratação e reuso como inóculo dentro do processo de digestão anaeróbia; e técnicas de remoção, recuperação e reuso de nutrientes, para a fração líquida. De forma geral, os autores verificaram que a aplicação destas tecnologias é limitada pela composição do digestato, especialmente seu teor de sólidos totais. Os autores sugeriram a combinação da desidratação do digestato, o reuso das frações sólida e líquida e a aplicação na agricultura para melhorar o manejo das grandes quantidades produzidas.

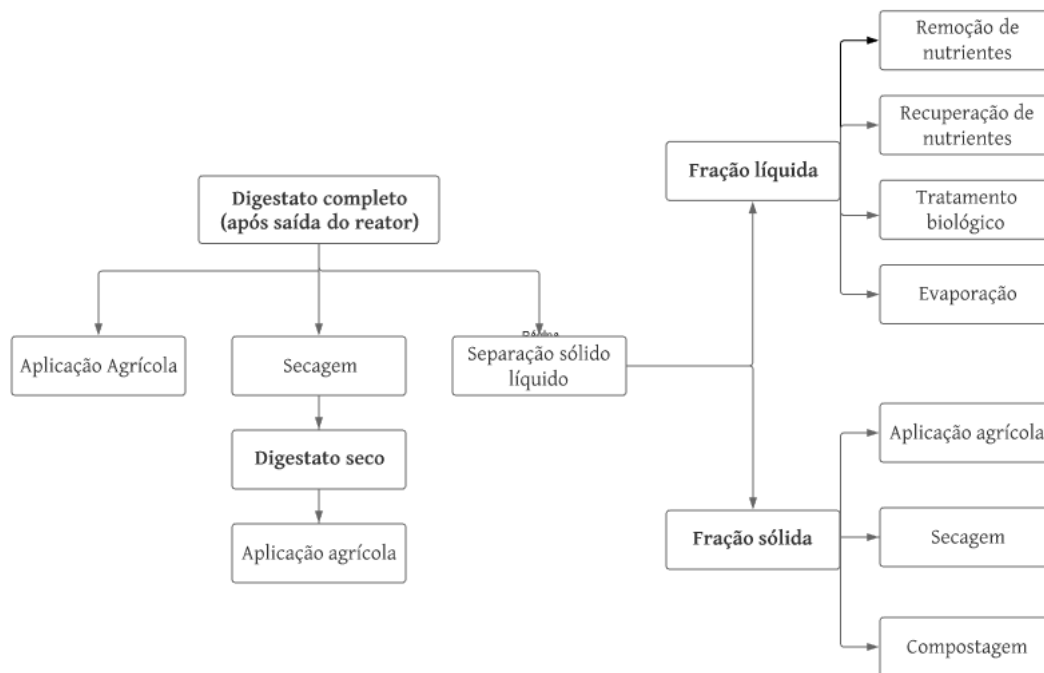
O teor de sólidos totais nos digestores anaeróbios é um dos principais fatores que classifica o processo de digestão anaeróbia nas usinas de biogás, sendo: digestão úmida convencional (<10% ST), semi seca (10-20% ST) e seca (20-40% ST), em que as duas últimas são de alto teor de sólidos (BRAGULIA et al., 2018). Ainda, as propriedades reológicas dos digestatos produzidos a partir das tecnologias com alto de teor de sólidos podem afetar o tipo de pós tratamento, como a desidratação (ZHANG et al., 2018), o acondicionamento (OLIVEIRA et al., 2016) e a aplicação na agricultura (LIANG et al, 2018).

Em escala real nas fazendas, geralmente o digestato é separado mecanicamente em duas frações, sólida e líquida, de forma a ser manejado separadamente (BAUER et al., 2009; LUKEHORST et al., 2010). A desidratação tem sido o método mais utilizado para separar as duas fases, por reduzir o volume do efluente e melhorar o manejo de sólidos. Algumas formas de desidratação são centrifugação, prensa de rosca e filtro de correia (LUKEHORST et al., 2010). O efeito da separação sólido-líquido foi avaliado por Tambone et al. (2017) para digestatos derivados de treze usinas de biogás que operam em escala real, analisando as características químicas. Os resultados obtidos indicaram que a fração líquida correspondeu a 67%, 87% e 71% do total de matéria seca, nitrogênio total (NT) e pentóxido de fósforo - P_2O_5 , respectivamente. A caracterização indicou que essa fração é rica em NT, em especial amônia, podendo substituir um fertilizante nitrogenado. A fração sólida correspondeu a 33%, 13% e 29% do total de matéria seca, NT e P_2O_5 , e foi considerada um potencial fertilizante orgânico.

A fração líquida corresponde a cerca de 90-95% da massa total da maior parte dos digestatos comerciais (ABUBAKER et al., 2012; ALBURQUERQUE et al., 2012a; FOUUDA et al., 2013). Esta fração contém baixa quantidade de sólidos e uma boa quantidade de orgânicos, sendo reutilizada para irrigação ou como fertilizante (LUKEHURST et al., 2010). Apesar de haver outras tecnologias para o tratamento e subsequente aproveitamento desta fração, a mais simples é a direta aplicação na agricultura (FUCHS e DROSG, 2013). A fração líquida do digestato geralmente apresenta alta concentração de DQO, nitrogênio total e nitrogênio amoniacal (GANESH et al., 2014; LI et al., 2015; XIA e MURPHY, 2016), e sua composição completa é menos considerada na literatura do que a da fração sólida. Segundo Akhilar et al. (2017), a fração líquida após separação do digestato obtido de onze usinas de biogás em escala real, com diferentes tipos de substrato, apresentou altas concentrações de DQO, variando entre 9,2 a 78 gL^{-1} , sendo 60-96% deste total partículas suspensas, 2-27% coloides e 2-18% matéria dissolvida. Além disso, os digestatos continham de 1,5 a 6,5 gL^{-1} de nitrogênio total e apresentaram baixa biodegradabilidade devido a substâncias húmicas presentes, o que tornou ineficiente o tratamento anaeróbio.

A fração líquida do digestato é rica em nitrogênio e potássio, enquanto a fração sólida retém a maior parte do fósforo (LIEDL et al., 2006; DROSG et al., 2015; INSAM et al., 2015). Fuchs e Drog (2013) também observaram esses resultados ao analisar o fluxo de nutrientes após processamento do digestato, em que a maior parte do fósforo se concentrou na fração sólida, a qual contém ainda uma porção de nitrogênio, embora a maior parte do nitrogênio orgânico e amoniacal tenha permanecido na fração líquida. Uma porção de tratamentos podem ser aplicados ao digestato após sua retirada do sistema de metanização. Alguns destes tratamentos estão apresentados na Figura 2.

Figura 2: Formas de tratamento e aproveitamento do digestato



Fonte: Adaptado de WRAP (2012) e AL SEADI (2013)

Entre as tecnologias de tratamento da fase líquida, as técnicas de recuperação de nutrientes mais utilizadas são precipitação de estruvita, tecnologias de membrana e reuso de nutrientes (SHEETS et al., 2015). Além destas técnicas, a evaporação do digestato pode ser uma solução interessante se há calor remanescente suficiente na usina de biogás. Através deste processo, um concentrado rico em nutrientes é produzido e um condensado é recuperado. O objetivo é obter menor concentração de nitrogênio no condensado e maiores concentrações no concentrado (AL SEADI et al., 2013).

Uma das técnicas para remover e recuperar nitrogênio e fósforo é por meio da cristalização destes nutrientes na forma de estruvita ($\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), que possui lenta liberação, sendo um fertilizante valioso (ULUDAG-DEMIRER et al., 2005), e ainda a solubilidade da estruvita é uma função do pH do meio (MARTI et al., 2008). Outras técnicas de recuperação são as tecnologias de membranas, que podem ser ainda associadas com *stripping* de amônia para recuperação e reciclagem de nutrientes (SIEGRIEST et al., 2005). O processo se inicia com ultrafiltração, seguida de osmose reversa para remoção de amônia e DQO (AL SEADI et al, 2013). Algumas técnicas para remoção de nutrientes do digestato já são utilizadas no tratamento de efluentes comuns. Na técnica de *stripping*, a amônia líquida é convertida na forma de gás quando entra em contato com o ar ou corrente que contenha pouca ou nenhuma NH_3 (SHEETS et al., 2015). Uma das vantagens deste método é a obtenção de um fertilizante nitrogenado padrão (AL SEADI et al, 2013). Outra técnica é a ANAMNOX, oxidação anaeróbica da amônia, que utiliza certos tipos de bactérias em condições anóxicas para oxidar amônio (NH_4^+) em gás nitrogênio (N_2), usando nitrato (NO_2) como aceptor de elétrons e carbono inorgânico como doador (SHEETS et al., 2015).

A fração sólida do digestato após secagem ou separação pode ser aplicada diretamente no solo, com a vantagem de facilitar os custos de transporte e o armazenamento (FUCHS e DROSG, 2013). Ainda, processos de compostagem ou de secagem podem ser utilizados para estabilizar e transformar a fração sólida, tipicamente obtendo-se produtos que são também utilizados como condicionadores de solo ou fertilizantes (FUCHS e DROSG, 2013). A compostagem é um método efetivo para remover patógenos e reduzir o volume da fração sólida do digestato (SHEETS et al, 2015). Um ponto negativo é a necessidade de reduzir a quantidade de água do efluente, verificada por Lin et al. (2014), que centrifugou o digestato para obtenção de um teor de matéria seca de 35-55%, necessária para compostagem. A secagem pode ser realizada por meio do uso de secador de correia, secagem por tambor, secador de leito fluidizado, sistemas de secagem solar ou por paletizador, para então o digestato ser levado ao mercado como um biofertilizante (DROSG et al., 2015). Ainda, o digestato seco pode ser peletizado e usado como combustível sólido (KRATZEISEN et al., 2010).

O armazenamento do digestato ao longo dos meses antes de seu uso também é algo que deve ser considerado, uma vez que seu uso como biofertilizante objetiva a aplicação durante a estação de crescimento das culturas vegetais (AL SEADI e LUKEHORST, 2012). Para localizações em que há restrições climáticas para o crescimento de determinadas culturas há maior necessidade de um local adequado para a estocagem do digestato (LOGAN e VISVANATHAN, 2019). É importante que este local de armazenamento seja coberto para evitar emissões de amônia para o ambiente. O tempo de duração do período de armazenamento irá depender da área geográfica, tipo de solo, precipitação, rotação de culturas e as regulações de cada país. (LUKEHORST et al., 2010; LOGAN et al., 2019).

3.4 NUTRIENTES NO SOLO

Nutriente é todo elemento necessário para o crescimento e produção dos vegetais (BRASIL, 1975), sendo que os macronutrientes primários são nitrogênio, fósforo e potássio, expressos nas formas de nitrogênio (N), pentóxido de Fósforo (P_2O_5) e óxido de potássio (K_2O). Os macronutrientes secundários, por sua vez, são cálcio, magnésio e enxofre, expressos na forma de óxido de cálcio (CaO), óxido de magnésio (MgO) e enxofre (S), respectivamente (BRASIL, 1975).

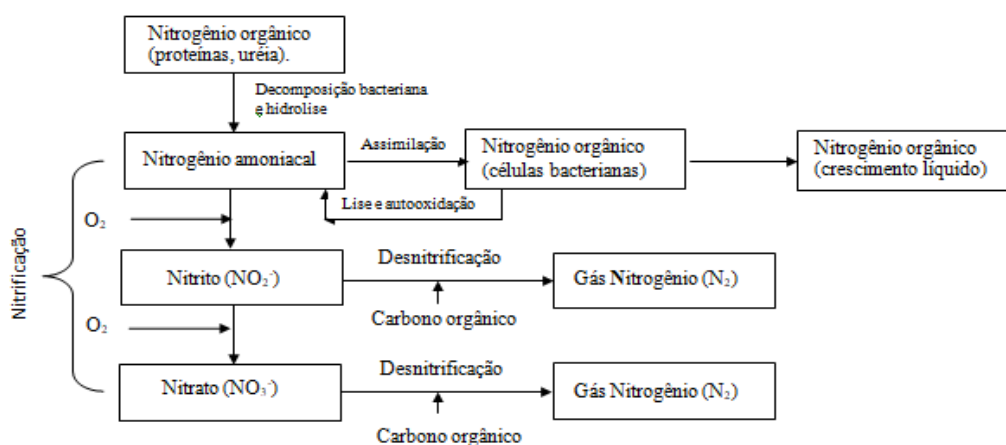
3.4.1 Nitrogênio

O nitrogênio é um elemento essencial para as plantas, sendo o mineral requerido em maiores quantidades (TAIZ et al., 2017). Ele serve como constituinte de muitos componentes celulares vegetais, incluindo clorofila, aminoácidos e ácidos nucleicos. No solo, o nitrogênio encontra-se principalmente em forma orgânica, sendo as restantes formas inorgânicas de amônia (NH_3), nitrogênio amoniacal (NH_4^+), e nitrato (NO_3^-).

A conversão da forma orgânica, que não é disponível para as plantas, para a forma inorgânica, aproveitável pelas plantas, é realizada pelos microrganismos existentes no solo (ROBERSTON e GROFFMANN, 2015). Os teores de N no solo na forma mineral são pequenos, variando desde traços até 5g/kg nas camadas superficiais, diminuindo com a profundidade (NOVAIS et al, 2007).

As transformações do nitrogênio são mediadas pela biomassa microbiana, sendo os processos de amonificação (também chamado mais amplamente de mineralização), imobilização, nitrificação e desnitrificação responsáveis por transformar o nitrogênio presente no solo de uma forma para a outra (Figura 3). A nitrificação ocorre nos solos de forma natural através das bactérias autotróficas, transformando amônia em nitrito, e então nitrito em nitrato. A desnitrificação, por sua vez, é realizada por bactérias desnitrificantes na ausência de oxigênio, transformando os produtos da nitrificação em nitrogênio gasoso (ROBERSTON e GROFFMANN, 2015).

Figura 3: Processos de nitrificação e desnitrificação do nitrogênio



Fonte: Adaptado de Metcalf e Eddy (2014)

As taxas de nitrificação são elevadas em solos com pH acima de 5,0, condição comum em solos agrícolas manejados (CARVALHO et al., 2015). Em condições com baixos valores de espaço poroso saturado por água (EPSA), ou seja, solos bem aerados, a nitrificação é o principal processo responsável pela emissão de N₂O (JANTALIA et al., 2006). Dentre os principais fatores que afetam os processos de desnitrificação estão a aeração do solo e as concentrações de nitrato e carbono em solução (JANTALIA et al., 2006; BAYER et al., 2015).

O processo de digestão anaeróbia degrada nitrogênio orgânico, liberando a amônia (LUKEHORST et al., 2010). Em reatores anaeróbios, já foi observada em estudos a imobilização do nitrogênio (KIRCHMANN et al., 1993; ALBUQUERQUE et al., 2012b). No solo, a adição de materiais com relação C/N elevadas ou baixas é que irá interferir nos processos de mineralização ou imobilização do nitrogênio (MELLO et al., 1983).

Alguns autores verificaram esta imobilização em estudos de incubação. De La Fuente et al. (2013) incubaram o solo com o digestato sólido líquido proveniente de uma usina de biogás tratando dejetos bovinos, de forma a verificar a mineralização do nitrogênio (N) e do carbono no solo. Foi verificada a imobilização do nitrogênio no início do período de testes, mas remineralização parcial com produção de nitrato no solo após este período. Os autores verificaram que compostos orgânicos remanescentes induziram a atividade biológica, imobilizando o N parcialmente.

Os autores Rigby e Smith (2013), também em um estudo de incubação, avaliaram a dinâmica do N no solo, utilizando digestato sólido de resíduos sólidos urbanos, digestato líquido advindo de usina tratando resíduos alimentares e de fazendas, e digestato tratando resíduos alimentares. O digestato de resíduo alimentar apresentou menor estabilidade, o que gerou maior atividade microbiana no solo. Os autores observaram que a liberação do nitrogênio para as plantas foi determinada primeiramente pelas propriedades do digestato e pela capacidade do solo em processar este nutriente.

3.4.2 Fósforo

O fósforo é um componente integral de compostos importantes nas células vegetais, além de ser um componente de nucleotídeos utilizados no metabolismo energético das plantas e no DNA e no RNA (TAIZ et al., 2017). De acordo com Oehl et al. (2004), os microrganismos no solo são capazes de mineralizar moléculas de fósforo orgânico e integrá-lo na biomassa. Entretanto, ainda não está totalmente esclarecido como a digestão anaeróbia afeta a disponibilidade de fósforo para os microrganismos e as plantas. Segundo Lukehorst et al. (2010), o processo de digestão anaeróbia não afeta o teor de fósforo do digestato.

O teor total médio de P na litosfera é 2,8 g/kg de P_2O_5 , contudo, muitos solos contêm de 0,2 a 0,8 g/kg de P (NOVAIS et al., 2007). No solo, o fósforo é um nutriente de baixa mobilidade, sendo encontrado geralmente na forma de ortofosfatos, com predominância do $H_2PO_4^-$. O fósforo orgânico do solo ocorre em teores proporcionais aos teores da própria matéria orgânica, podendo-se citar a relação C/P de 50/1 (RAIJ, 1991).

O fósforo disponível para as plantas no solo encontra-se predominantemente em solução, e se origina da solubilização de minerais fosfatados, da mineralização da matéria orgânica e da adição de fertilizantes (MELLO et al., 1983). Nas plantas, os teores de P variam de 0,5 a 3 g/kg de matéria seca na planta, considerando-se teores entre 1 e 1,5 g/kg como adequados para um crescimento normal das plantas, sendo que plantas deficientes em fósforo apresentam teores foliares menores do que 1,0 g/kg (NOVAIS et al., 2007).

3.4.3 Potássio

O potássio é um elemento abundante em rochas e solos, podendo ser encontrado na forma estrutural dos minerais. O nutriente também ocorre no solo na forma de cátion trocável e na solução, como íon K^+ (RAIJ, 1991). Este nutriente desempenha um papel importante na regulação do potencial osmótico das células vegetais, além de ativar muitas enzimas envolvidas na respiração e na fotossíntese (TAIZ et al., 2017). Os sais de potássio geralmente apresentam alta solubilidade, sendo que seus teores podem atingir concentrações elevadas. Desta forma, sua mobilidade é mais elevada do que outros nutrientes, como o P, o que permite maior movimentação na forma de sais e lixiviação através do solo (RAIJ, 1983; 1991).

3.4.4 Cálcio e Magnésio

Estes macronutrientes secundários apresentam-se, no solo, nas suas formas iônicas de Ca^{+2} e Mg^{+2} , em solução e como cátions trocáveis (RAIJ, 1983). As necessidades de cálcio (Ca) para a maioria das culturas não são elevadas; por outro lado, deficiências de magnésio (Mg) têm sido constatadas em diversas culturas. Já foi verificado que culturas que recebem elevadas aplicações de potássio costumam apresentar problemas na concentração destes dois nutrientes (RAIJ, 1991).

3.4.5 Micronutrientes

Os micronutrientes, com destaque para o cobre (Cu) e o zinco (Zn), são também nutrientes essenciais para as plantas. De forma geral, nos digestatos de resíduos alimentares, a presença destes metais é baixa, mas variabilidades são encontradas (FISGATIVA et al., 2016).

3.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIGESTATO EM PLANTAS E EM MEIO AQUÁTICO

3.5.1 Ensaios de germinação

A qualidade do digestato está relacionada com a ausência de fitotoxicidade, e a presença de elementos orgânicos e inorgânicos (BAFFI et al., 2007). O ensaio de germinação consiste em determinar o potencial germinativo de um dado lote de forma a avaliar a qualidade fisiológica de sementes (BRASIL, 1992). Este ensaio deve ser realizado em ambiente de laboratório, sob condições controladas de temperatura, teor de água e luz, de forma a evitar interferências externas indesejáveis (FERREIRA e BORGHETTI, 2004). Os ensaios de germinação em condições de laboratório objetivam qualificar e quantificar o valor das sementes vivas, capazes de produzir plantas normais sob condições favoráveis de campo (FIGLIOLIA et al., 1993).

O ensaio de germinação também é comumente aplicado por vários autores para avaliar a fitotoxicidade do digestato. Abdullahi et al. (2008) avaliaram os digestatos da fração orgânica de resíduos sólidos municipais por meio deste ensaio, com sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.). Foi verificado que a germinação de sementes aumentou com a diluição e o tempo de incubação, sugerindo que menores taxas de aplicação no solo e períodos de retardamento maiores entre a aplicação do digestato e o plantio podem reduzir a quantidade de orgânicos biodegradáveis no composto, aumentando sua qualidade.

Outros autores buscaram avaliar diferentes culturas, como Panuccio et al. (2015), que realizaram um ensaio de germinação com sementes de agrião (*Nasturtium officinale*), alface (*Lactuca sativa*) e pepino (*Cucumis sativus*), utilizando 50 replicatas e concentrações de 0, 10, 25, 50 e 100%. Os autores utilizaram digestatos de duas usinas de biogás, uma que utilizava dejetos animais misturado com sêrum de leite e silagem de milho, e outra que utilizava resíduos da indústria de oleícola com polpa cítrica. Foi verificado que a germinação foi significativamente diferenciada entre as espécies em relação ao tipo de frações, aos níveis de diluição e à combinação destes fatores. De forma geral, com o aumento das concentrações, as porcentagens de germinação diminuíram, mais para a alface e o agrião do que para o pepino.

Autores como Luo et al. (2018) analisaram diversos estudos de germinação em um artigo de revisão, de vários autores que utilizaram compostos orgânicos como resíduos sólidos municipais, resíduos alimentares e dejetos animais. De forma geral, os estudos utilizaram uma quantidade de 10-30 sementes em cada placa de Petri, e um período de incubação entre 1 e 5 dias. A germinação diferiu significativamente entre as espécies em relação ao tipo de fração, aos níveis de diluição e a uma combinação desses fatores.

Alguns autores brasileiros também realizaram ensaios de germinação em seus estudos, como Damaceno (2018) e Velho (2016). Velho (2016) realizou um ensaio de germinação utilizando a alface e testando um digestato vindo da fração orgânica de resíduos sólidos domésticos, encontrando resultados na maioria de seus tratamentos semelhantes aos do controle, no que se refere ao índice de germinação. Já Damaceno (2018) fez o bioensaio com agrião-de-jardim (*Lepidium sativum*), utilizando cinco placas de tratamento. Como o digestato obtido em uma unidade produtora de leite era sólido, os autores centrifugaram durante 30 minutos, posteriormente filtrando para obtenção dos extratos concentrados. As diluições testadas foram de 1%, 10%, 50% e 100% (puro). Os tratamentos demonstraram ser em sua maior parte não fitotóxicos, sendo que para três deles concluiu-se que são moderadamente fitotóxicos.

3.5.2 Ecotoxicidade aguda por meio de ensaio com *Daphnia Magna*

A ecotoxicologia busca estudar os efeitos de substâncias tóxicas nos ecossistemas. Na literatura, uma boa parte dos estudos utiliza o microcrustáceo *Daphnia Magna*, cujo ensaio agudo apresenta retorno em 48 horas. No Brasil os estudos baseiam-se na norma ABNT NBR 12713, de 2016, que especifica o método de avaliação da toxicidade aguda de amostras líquidas para esta espécie. O resultado do ensaio com *Daphnia Magna* descrito na norma é apresentado em termos de Concentração de efeito (CE_p), que representa a concentração da amostra que causa efeito a uma determinada porcentagem (p) dos organismos-teste em relação ao controle, nas condições de ensaio (ABNT, 2016). Geralmente utiliza-se a porcentagem de 50% dos organismos-teste, descrita como CE₅₀.

Alguns autores já avaliaram a ecotoxicidade no digestato utilizando *Daphnia Magna*, bem como outros organismos. Tigini et al. (2016) avaliaram sete testes ecotoxicológicos diferentes com digestato de dejetos suínos, incluindo ensaios com *Daphnia Magna*, com a contagem dos animais imobilizados após 24 e 48 horas de ensaio. Como resultado, a CE₅₀ para este ensaio foi de 1,6-3,1% (v/v). Os autores também discutiram as possíveis causas para a ecotoxicidade, sendo alguns fatores apontados a alta concentração de amônia no digestato, bem como sua salinidade, DQO, fosfato e coloração.

Alguns autores observaram que a *Daphnia Magna* apresenta maior sensibilidade do que outros organismos, devido possivelmente a menor tolerância deste organismo à salinidade do que os organismos *Artemia* sp. e *Alivibrio fischeri*, que não foram afetados após o ensaio (PIVATO et al., 2016). Os autores usaram digestato produzido em uma usina de biogás alimentada por dejetos bovino e triticales (*Triticosecale*) para avaliar também a mobilidade dos organismos 48 horas após a aplicação do teste, encontrando um valor de 13,61% (v/v) para a CE₅₀.

3.5.3 Avaliação do crescimento de culturas

O efeito de digestatos no crescimento de culturas vegetais costuma ser avaliado de diferentes formas (NKOVA, 2014): (a) performance similar ao controle, sem fertilização; (b) performance similar ou melhor do que o substrato puro; (c) performance igual ou melhor do que o fertilizante mineral utilizado na comparação. Para esta avaliação, podem ser realizados testes em vasos, utilizando-se geralmente triplicatas, ou ainda experimentos em longo prazo no campo. No Quadro 3 está apresentado o resumo de alguns trabalhos que avaliaram o efeito do digestato em diferentes culturas dentro de casas de vegetação ou estufas.

Quadro 3: Estudos que avaliaram o efeito do digestato em culturas vegetais

Autores	Objetivo	Digestato	Cultura vegetal estudada	Método
Walsh et al. (2012)	Comparar a aplicação do digestato com dois tipos de fertilizantes minerais em termos de nutrientes e crescimento de culturas.	Dejeto bovino	Azevém perene e trevo branco	Experimento em vasos na estufa a temperatura de $23\text{ °C} \pm 3$, com solo mantido a 70% da capacidade de campo.
Barbosa et al. (2014)	Avaliar a produção de biomassa de culturas vegetais na presença do digestato como fertilizante.	Silagem de milho e excrementos de aves poedeiras	Malva da Virgínia, milho e alfafa	Experimento em vasos na estufa com temperatura variável entre 17 e 22 °C, e umidade constante de 60%.
Grigatti et al. (2014)	Testar a liberação de fósforo (P) do digestato por extração sequencial, de sua capacidade de liberar P no solo e de sua capacidade de fornecer P para as plantas.	Resíduos sólidos urbanos	Azevém	Experimento em potes de 2 litros realizado em casa de vegetação com temperatura variável entre 13 a 23 °C, e umidade constante de 60%.
Bhatnagar e Mutnur (2015)	Testar o digestato no crescimento de culturas vegetais visando resolver o problema da sua disposição	Resíduo alimentar de restaurante universitário	Tomate, berinjela e pimenta	Experimentos em travessas durante o período de um mês, com monitoramento a cada 3-4 dias, e posterior transferência para o campo.
Hupfauf et al. (2016)	Verificar o efeito de digestatos, em comparação a fertilizantes minerais, na atividade e composição da microbiota do solo.	Dejeto bovino, silagem de milho, culturas energéticas, silagem de capim.	Amaranto e sorgo	Experimento em vasos durante um mês ao ar livre, cobertos com uma grade de arame. O solo recebeu irrigação quando necessário.
Müller-Stöver et al. (2016)	Investigar os efeitos da aplicação de digestatos selecionados nas dinâmicas de carbono e nitrogênio no solo, bem como as respostas da cultura vegetal.	Misturas variadas de espécies perenes: capim, erva-de-gato, erva-carneira, alfafa e trevo vermelho	Cevada de primavera	Experimento em vasos com dois quilos de solo na estufa, com temperatura variando entre $16,1\text{ °C} \pm 1,4$ e $25,4\text{ °C} \pm 3,7$, durante 60 dias.
Pampillón-González (2017)	Investigar os efeitos das aplicações do digestato no crescimento do trigo e nas emissões de gases do efeito estufa.	Digestato de dejeto suíno	Trigo	Experimento realizado em estufa durante 120 dias.

Fonte: Elaborado pela autora

O estudo de Walsh et al. (2012) avaliou se um biofertilizante apresentava melhores resultados que os fertilizantes minerais, em experimento em estufa com temperatura controlada de $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 3$, utilizando digestato líquido de uma fazenda de leite que utiliza dejetos como substrato. Os nutrientes foram aplicados na superfície, em dois estágios, sendo o equivalente a 100 kg/ha de N aplicado nas quatro semanas após a semeadura, e o equivalente a 50 kg/ha de N aplicados após uma semana da colheita. As culturas utilizadas foram consórcio de azevém perene (*Lolium perenne L.*) e trevo-branco (*Trifolium repens L.*). O estudo indicou que substituir fertilizantes minerais com o digestato líquido melhorou o crescimento do sistema radicular das gramíneas. Igualmente, Barbosa et al. (2014), utilizando cinco replicatas de: (i) digestato da parte aérea triturada do milho, na dose de 40 t/ha; (ii) fertilizante mineral (NPK), com aplicações de 100-200 kg/ha; e (iii) controle, sem fertilização. Os autores testaram uma espécie herbácea (*Sida hermafrodita*), milho (*Zea mays L.*) e alfafa (*Medicago sativa L.*) e verificaram um potencial efetivo para o digestato testado, que apresentou efeito similar ao fertilizante mineral em relação ao crescimento das espécies e teor de nutrientes.

Os autores Pampillón-González et al. (2017) também conduziram um estudo em estufa durante 120 dias, utilizando três replicatas por amostra, na cultura do trigo (*Triticum spp. L.*). Os autores verificaram que a aplicação do digestato promoveu o crescimento do trigo, sendo que o tratamento com o digestato foi igual estatisticamente ao tratamento com ureia, para os parâmetros de peso seco e fresco, bem como número de grãos de milho. Grigatti et al. (2014) realizaram um experimento com azevém da Itália (*Lolium multiflorum* subsp. *Italicum*) em potes de 2 litros, utilizando 2 quilos de solo e aplicando três produtos orgânicos, incluindo um resíduo da digestão anaeróbia de uma planta de biogás que trata a fração orgânica dos resíduos urbanos. Além do digestato, foi aplicado também um fertilizante nitrogenado e o controle. O experimento durou 112 dias, mostrando que o teor de nitrogênio no tecido foi menor no digestato em comparação a outros tratamentos.

Outros autores buscaram avaliar o digestato em culturas vegetais diferentes, como Bhatnagar e Mutnuri (2015), que aplicaram o digestato líquido resultante da digestão anaeróbia de resíduos alimentares de cozinhas e cafeterias, misturado com fibra de coco. O líquido foi aplicado de acordo com a quantidade de nitrogênio requerida pelas culturas testadas de tomate (*Solanum lycopersicum*), pimenta (*Capsicum annum*) e berinjela (*Solanum melogena*). Os autores mediram a altura das plantas e o tamanho de folha durante o período de 1 mês em vasos retangulares, com intervalo de 3 a 4 dias, que depois foram transferidas para lotes localizados próximos ao reator. Para a pimenta e a berinjela, foi observado maior desenvolvimento das plantas após aplicação do digestato e na transferência para os lotes houve o início do crescimento de alguns frutos. O tomate, por outro lado, desenvolveu-se nos vasos, mas, após a transferência, apresentou diminuição das folhas e, posteriormente, morte.

Outro estudo deste tipo foi o de Hupfauf et al. (2016), com amaranto (*Amaranthus cruentus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*), em um experimento em vasos com duração de oito semanas, em solo argiloso. Foram utilizados sete fertilizantes diferentes: dejetos bovinos não fermentados e outros seis digestatos contendo diferentes misturas de dejetos bovinos, silagem de milho, culturas energéticas, grama, entre outros. Para ambas as culturas, houve maior captação de fósforo para todos os digestatos testados em comparação ao fertilizante mineral do controle. Os autores também concluíram que o efeito do digestato varia com a cultura, devido às demandas variadas de fósforo, que são maiores para o amaranto.

Também com o objetivo de testar tanto a variabilidade das culturas quanto do digestato, Muller e Stover (2016) utilizaram um solo argiloso e seis digestatos diferentes, provenientes das misturas em diferentes proporções de inóculo, grama (*Poaceae*) e trevo vermelho (*Trifolium pratense*). As aplicações foram de 200 kg de N/ha, e ainda foi realizado um tratamento de controle com a mesma quantidade de nitrogênio, mas na forma de NH_4NO_3 . Os autores fizeram um experimento em vasos com quatro replicatas para cada tratamento, utilizando sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.cv. Evergreen), em uma estufa com temperatura controlada durante 60 dias. Todos os tratamentos com digestato aumentaram de 40-170% a biomassa dos caules, em comparação ao fertilizante de nitrogênio testado.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção foi dividida em duas partes. Primeiramente, são apresentadas todas as etapas de processamento do digestato, desde sua obtenção até todos os experimentos realizados com o mesmo. Em seguida está apresentado um resumo das análises físico-químicas realizadas no digestato, no solo e na planta. Na Figura 4 está apresentado um fluxograma com o resumo dos métodos.

Figura 4: Fluxograma dos métodos aplicados

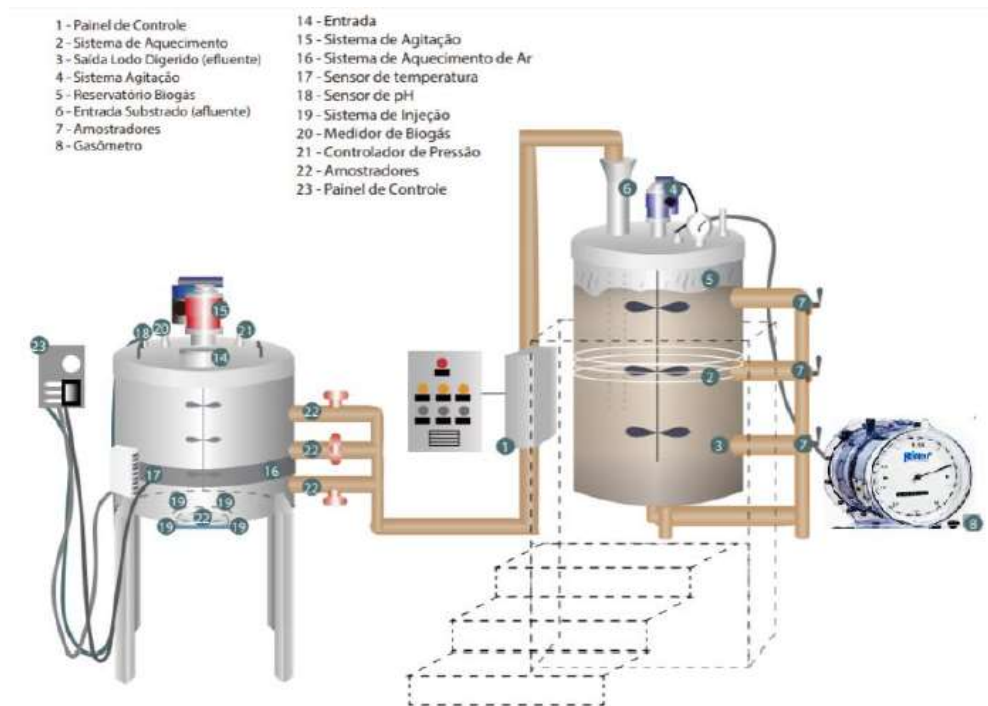


4.1 DESCRIÇÃO DO PILOTO E PROCESSAMENTO DO DIGESTATO

4.1.1 Sistema de metanização

Em uma das dependências do antigo Restaurante Universitário (RU), campus Trindade, Florianópolis/Santa Catarina, foi instalado um sistema piloto de dois estágios para a metanização dos RSO produzidos no RU, com o objetivo de estudar a máxima conversão anaeróbia da matéria orgânica em biogás. Os dois digestores, correspondentes a um reator acidogênico e um metanogênico, são semi-contínuos e operam com digestão por via úmida, ou seja, teor de sólidos totais menor que 10%. A alimentação do sistema de metanização foi feita diariamente, sendo o biogás medido por um equipamento da marca Ritter (Figura 5). Os digestores funcionaram na temperatura mesofílica, entre 35-40 °C. A coleta do digestato foi feita na saída 3, no digestor metanogênico.

Figura 5: Esquema do sistema de metanização



Fonte: Elaborado por Malinowsky (2020, em fase de elaboração)

O sistema tem início com a inserção no digestor acidogênico de resíduo alimentar do restaurante universitário e de resíduo de jardinagem coletado na própria universidade, nas proporções de 95% e 5%, respectivamente. Os resíduos são parcialmente degradados no reator acidogênico e então seguem para o reator metanogênico, com adição de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) para elevar o pH do efluente. No reator metanogênico ocorre a parte final da degradação, com a produção de biogás e a produção do efluente final, correspondente ao digestato. Diariamente é feita a retirada do digestato e adição de substrato no digestor acidogênico, de forma a manter a carga orgânica volumétrica operante no sistema.

4.1.2 Processamento do digestato

A coleta do digestato para processamento foi realizada de forma gradual, com a retirada de 2,8 litros por vez, por ser o volume retirado do reator metanogênico ao longo dos meses em que foi feita a coleta. O armazenamento foi feito em bombonas de água que permaneceram parcialmente fechadas durante os meses de abril, maio, junho e julho (Figura 6).

Figura 6: Coleta e armazenamento do digestato



Fonte: A autora

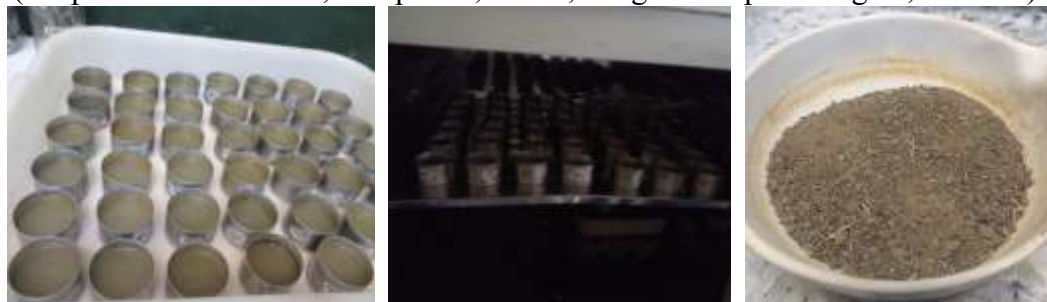
Ao longo deste armazenamento também foram retirados cerca de 2 litros por vez em datas específicas para que o digestato fosse processado e levado para secagem. Os dias em que o digestato foi coletado para ser armazenado, bem como retirado para secagem, estão apresentados no Quadro 4.

Quadro 4: Registro dos dias de coleta do digestato para ser armazenado e seco

Armazenamento	06/04/19	01/05/19	04/06/19 11/06/19 26/06/19	02/07/19 10/07/19
	10/04/19	10/05/19		
	16/04/19	16/05/19		
		26/05/19		
		28/05/19		
Secagem		03/05/19	07/06/19	
		17/05/19		
		24/05/19		
		31/05/19		

A secagem foi feita utilizando-se recipientes de alumínio, que foram deixados por no mínimo 48 horas em estufa a 65 °C. Após a secagem, os sólidos foram raspados dos recipientes e novamente colocados na mesma estufa, para secagem completa (Figura 7), ou seja, até que o peso dos recipientes contendo o digestato permanecesse inalterado.

Figura 7: Procedimento de secagem do digestato (recipientes de alumínio, à esquerda; estufa; e digestato após secagem, à direita)



Fonte: A autora

Além da retirada do digestato para secagem, uma parte do digestato que já vinha sendo armazenado nos meses apresentados no Quadro 4 foi mantida inalterada em uma das bombonas apresentadas na Figura 6 até início de dezembro de 2019. Após este período de oito meses foram realizadas algumas análises físico-químicas com o objetivo de verificar se ocorrem alterações nos parâmetros após um longo tempo de armazenagem.

4.2 ENSAIOS DE GERMINAÇÃO

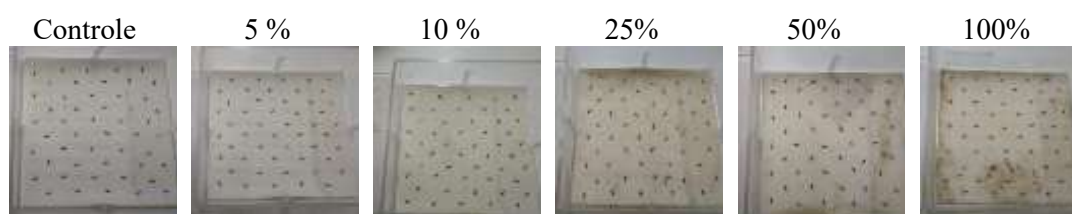
A alface é a hortaliça folhosa mais consumida no país, apresenta grande resposta à adubação nitrogenada e a altos conteúdos de água no solo, além de possuir grande potencial de produção com adubos orgânicos (SANTOS et al., 2011). Sendo uma hortaliça de ciclo curto, a alface é bastante utilizada em testes com o digestato, e por este motivo foi escolhida esta cultura para a realização dos ensaios de germinação. A avaliação da fitotoxicidade do digestato foi realizada, portanto, por meio de ensaios biológicos de germinação com sementes de *Lactuca sativa* (alface), que também foi a mesma espécie utilizada no experimento em vasos. Para realização do bioensaio foram utilizadas caixas de germinação gerbox com 2 papéis para substrato do tipo mata borrão, de gramatura 250 GR.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Sementes da UFSC, com utilização da câmara de germinação do tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) do Laboratório. Além da determinação de uma possível fitotoxicidade, foi avaliada a diferença entre os parâmetros do digestato coletados em períodos com duas cargas orgânicas volumétricas diferentes (COV), e ainda entre o digestato líquido (coletado após saída do sistema de metanização) e sólido (após secagem em estufa a 65 °C).

Desta forma, foram realizados no total três ensaios de germinação no digestato líquido: um no mês de abril, com o sistema de metanização operando com uma COV de $6 \text{ kgSTV.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$; outro em junho, para a COV de $8 \text{ kgSTV.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$; e um ensaio para o digestato acumulado até o mês de julho, que também foi utilizado nos experimentos com vasos. No mesmo dia do ensaio com o digestato acumulado também foi feito um ensaio com o digestato sólido.

Os ensaios com estes quatro tratamentos foram montados exatamente da mesma forma, com uso de quadruplicatas para as seguintes concentrações do digestato líquido e do sólido, que foram diluídos em água destilada: 100% (puro), 50%, 25%, 10% e 5%, além de um controle só com água destilada. O digestato sólido foi preparado conforme método descrito em Tiquia e Tam (1998), com as adaptações descritas a seguir. Para tal, o digestato sólido foi inicialmente diluído na proporção 1:10 em água destilada, e posteriormente agitado mecanicamente durante 1 hora a 4 r.p.m. e em seguida centrifugado a 4000 rpm, por 20 minutos, para então ser feita a coleta do sobrenadante. Em cada caixa gerbox foram inseridas 50 sementes de alface por papel filtro, conforme pode-se visualizar na Figura 8, e foi aplicado 6,25 mL de digestato em cada replicata.

Figura 8: Preparação das sementes nos ensaios de germinação



Fonte: A autora

As sementes foram preparadas da mesma forma em todos os ensaios, e foi utilizada o mesmo tipo de semente, correspondente à alface crespa Grand Rapids TBR da empresa Isla. Após a preparação inicial, as sementes foram fechadas dentro das caixas gerbox e transferidas para a câmara de germinação com fotoperíodo e alternância de temperatura (Figura 9), pertencente ao Laboratório de Sementes do CCA.

Figura 9: Câmara de germinação utilizada nos ensaios



Fonte: A autora

A duração do teste, o número de dias para cada contagem de sementes, as temperaturas máxima e mínima e o controle de qualidade seguiram a descrição do Manual de Regras para Análise de Sementes, publicado por MAPA (BRASIL, 2016), conforme o Quadro 5.

Quadro 5: Regras de análise de sementes de alface

Espécie botânica	Substrato	Temperatura		Contagem Final
		Máxima	Mínima	
<i>Lactuca sativa</i>	Sobre Papel	20 °C	15 °C	7 dias

Fonte: Manual de Regras de Análise de Sementes (2016)

Após o tempo de realização dos ensaios, o número de sementes foi contabilizado e também foram medidos os comprimentos radiculares com paquímetro digital (Figura 10). Por fim, foram realizados os cálculos a seguir para determinação dos índices de germinação, conforme equações apresentadas em Abdullahi et al. (2008) e Zucconi et al. (1981).

Figura 10: Medição das sementes com paquímetro digital



Fonte: a autora

Cálculos realizados:

Germinação relativa de sementes – GRS:

$$\text{GRS}(\%) = \frac{\text{número de sementes germinadas nas amostras}}{\text{número de sementes germinadas no controle}} \times 100 \quad (1)$$

Crescimento relativo de raízes – CRR:

$$\text{CRR}(\%) = \frac{\text{crescimento médio das raízes nas amostras}}{\text{crescimento médio das raízes no controle}} \times 100 \quad (2)$$

Índice de germinação – IG:

$$\text{IG} = \frac{(\% \text{ germinação de sementes}) \times (\% \text{ crescimento das raízes})}{100} \quad (3)$$

A análise estatística dos resultados foi realizada pelo uso da Análise da Variância (ANOVA), utilizando-se o software Statistica 8.0. O teste Shapiro-Wilk foi aplicado para verificação da normalidade dos dados. Eventuais *outliers* ou extremos do tamanho das raízes foram retirados do cálculo das médias e do IG. Além da ANOVA, foi realizado também o teste de significância de Tukey HSD com $p < 0,05$. Foi feita a comparação entre os índices de germinação para os ensaios com cargas orgânicas volumétricas diferentes e também para os ensaios com digestato líquido e sólido.

4.3 ENSAIO DE ECOTOXICIDADE

O ensaio de ecotoxicidade foi realizado inteiramente pelo Laboratório de Ecotoxicologia (LABTOX) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, da UFSC. O ensaio foi feito de acordo com o descrito em Puerari et al. (2016), com base na ISO 6341 (2012) e na NBR 12713 (2016), com o microcrustáceo *Daphnia Magna*. Os organismos foram expostos a diferentes concentrações de nanopartículas de Cr_2O_3 (óxido de cromo III), e após 48 horas foi determinada a sua imobilidade. O controle negativo usado foi um meio ISO, e como positivo, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (dicromato de potássio), sendo que os tratamentos foram avaliados em triplicata. Os dados foram estatisticamente analisados com o método Trimmer Sperman-Karber, sendo o resultado determinado como CE_{50} , conforme a EPA 821-R-02-012.

O ensaio foi feito para o digestato líquido, o mesmo utilizado nos outros experimentos. Além da CE_{50} , também foi determinado o Fator de Diluição, que indica a concentração testada em que não é observado efeito tóxico (ou seja, em que não há imobilização de nenhum organismo). Este parâmetro é utilizado pela Portaria 17, da FATMA (atual Instituto do Meio Ambiente de Santa Catarina), de 2002. As concentrações avaliadas foram de 2 (50%), 4 (25%), 8 (12,5%), 16 (6,25%), 32 (3,12%), 64 (1,56%) e 128 (0,78%), até não ser mais observado efeito tóxico sobre os organismos testados.

4.4 EXPERIMENTOS NA CASA DE VEGETAÇÃO

O estudo do desempenho do digestato frente a uma cultura vegetal foi realizado na casa de vegetação pertencente ao Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP) da UFSC, localizado no campus Trindade, Florianópolis. A casa de vegetação é coberta e funciona sem controle de temperatura, mas para o ensaio realizado no inverno foi aplicado fotoperíodo extra das 17h às 21h. Foram realizados dois experimentos metodologicamente iguais, porém em períodos diferentes, o primeiro iniciando em julho/2019 e o segundo em outubro/2019. As sementes de alface utilizadas foram as mesmas do ensaio de germinação, da espécie Grand Rapids TBR. A quantidade de digestato a ser aplicada no solo seguiu as recomendações do Manual de Adubação e Calagem (SBSC, 2016) para a cultura da alface. Esta quantidade foi calculada a partir dos teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) encontrados na análise físico-química preliminar feita no solo utilizado nos vasos (Quadro 6).

Quadro 6: Resultados preliminares da análise do solo utilizado nos experimentos

Parâmetros	%Argila m/v	pH-Água	Índice SMP	P (g/kg)	K (g/kg)
Resultado	18	5,2	5,8	0,007	0,159
Parâmetros	Al cmolc/dm³	Ca cmolc/dm³	Mg cmolc/dm³	H+Al cmolc/dm³	CTC pH7.0 cmolc/dm³
Resultado	0,6	2,3	0,9	5,7	9,31
Parâmetros	% Saturação na CTC		Soma Bases		M.O. (%)
	Al	V	S		
Resultado	14,16	38,82	3,61		3,1

Fonte: Relatório de Análise de Solo da EPAGRI, datado de 22/04/2019

Legenda: M.O – matéria orgânica

O solo dos experimentos, é de textura arenosa a média, com pH baixo, teor de fósforo muito baixo, teor de potássio alto e teores médios de cálcio e magnésio. Os Quadros 7 e 8 apresentam a quantidade de N, P e K recomendados para a alface.

Quadro 7: Recomendação de aplicação de N para alface

Teor de matéria orgânica no solo (%)	Nitrogênio (kg de N/ha)
≤ 2,5	180
2,6-5,0	140
> 5,0	≤ 100

Fonte: Manual de Adubação e Calagem (SBSC, 2016).

Quadro 8: Recomendação de aplicação de P e K para alface

Interpretação do teor de P ou K no solo	Fósforo (kg de P ₂ O ₅ /ha)	Potássio (kg de K ₂ O/ha)
Muito baixo	240	240
Baixo	160	180
Médio	120	150
Alto	80	120
Muito alto	≤ 40	≤ 90

Fonte: Manual de Adubação e Calagem (SBSC, 2016).

A quantidade de digestato aplicada objetiva contabilizar a necessidade da planta por todos os três nutrientes, mas buscando evitar excesso. Desta forma, foi escolhida a quantidade referente ao nutriente limitante, ou seja, aquele que se apresentou em menor quantidade no digestato. Feita esta escolha, foram realizados todos os cálculos com base neste nutriente para todos os tratamentos, de acordo com as quantidades recomendadas acima. Tanto para o digestato líquido quanto para o digestato sólido, este nutriente foi o nitrogênio. Para os tratamentos com fertilizante mineral, foi utilizada uréia para N, superfosfato triplo para P e cloreto de potássio para K. Para a calagem que foi feita em um dos tratamentos, foi inserida uma mistura de CaCO₃ e MgO correspondente a 4,2 toneladas de calcário por hectare,

Para ambos os plantios foram utilizados vasos de 3,6 litros, que comportam a cultura da alface para um ciclo de 40 a 60 dias, ou até as alfaces alcançarem tamanho suficiente para viabilizar as análises físico-químicas. Os ensaios foram monitorados ao longo de ambos os períodos, observando-se o tamanho e o desenvolvimento das plantas. Quando as plantas atingiram tamanho satisfatório para a colheita e observou-se que já estavam bem desenvolvidas, o experimento foi finalizado e o solo, as raízes e a parte aérea encaminhadas para análises físico-químicas, conforme procedimentos dos capítulos 4.5.2 e 4.5.3.

No primeiro experimento foram utilizados 24 vasos, por se tratar de seis tratamentos e quadruplicatas. No segundo, após já terem sido realizados todos os ensaios de germinação, decidiu-se adicionar também um tratamento com o digestato líquido diluído em água na proporção de 1:1, para verificar se ocorreriam mudanças nos efeitos, o que resultou em 28 vasos. Abaixo segue o resumo de cada tratamento, sendo que as siglas atribuídas a cada tratamento serão utilizadas ao longo dos próximos capítulos.

Tratamento 1 – Digestato sólido (DS)

Tratamento 2 – Digestato líquido (100% DL)

Tratamento 3 – Fertilizante mineral – NPK, e calagem (MIN)

Tratamento 4 – 50% Fertilizante mineral + 50% líquido (MIN+DL)

Tratamento 5 – 50% Fertilizante mineral + 50% sólido (MIN+DS)

Tratamento 6 – Testemunha (Controle)

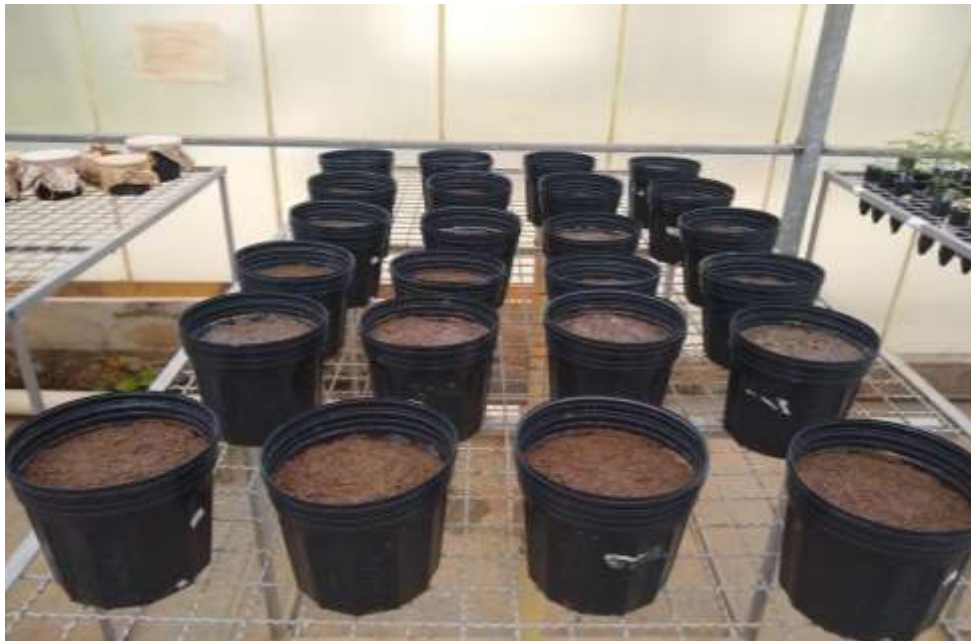
Tratamento 7 – Digestato líquido diluído 1:1 com água (50% DL)

Para os tratamentos com digestato sólido, como o 1 e o 5, o DS foi misturado ao solo previamente à sua disposição nos vasos. No primeiro plantio foi utilizado betoneira para a mistura, mas no segundo a homogeneização foi realizada de forma manual, quando foi verificado que não havia necessidade da betoneira pela pouca quantidade de solo. Para o tratamento 2, foi adicionado cerca de 350 mL de digestato, enquanto que para o tratamento 7, foi misturado cerca de 175 mL de digestato com 175 mL de água.

A calagem para o tratamento 3 também foi feita no mesmo dia da aplicação do fertilizante, manualmente, aplicando-se uma mistura de aproximadamente 4,3 gramas de CaCO_3 e 0,6 gramas de MgO por vaso. Em seguida, a mistura com os fertilizantes que formaram o NPK também foi homogeneizada previamente à distribuição nos vasos. A calagem não foi realizada nos tratamentos com o digestato pois buscou-se verificar também se ele possui propriedades que melhoram o solo. O objetivo de aplicar um tratamento com fertilizante mineral, além do controle, é ser observada a comparação da performance de cada um. Sendo assim, os tratamentos 4 e 5 também foram escolhidos para verificar se o digestato pode colaborar para a redução do uso de fertilizantes minerais, se não for possível sua substituição completa.

A primeira rega dos vasos para todos os tratamentos foi feita a partir de uma avaliação prévia em laboratório da capacidade de campo, utilizando funis e provetas, em quadruplicatas, para testar o solo. A irrigação das alfaces foi realizada de acordo com a demanda da cultura, sempre que o solo estivesse seco e evitando irrigar quando ele ainda apresentasse umidade visualmente aparente. Ainda, foi anotada a temperatura da casa de vegetação nos dias de rega. Os tratamentos foram distribuídos de forma completamente casualizada, conforme a Figura 11 para o primeiro experimento.

Figura 11: Distribuição dos vasos no primeiro plantio (inverno/primavera)



Fonte: A autora

Ao longo dos experimentos algumas medidas foram tomadas para melhorar o crescimento das plantas e avaliar o andamento do ciclo. O primeiro experimento teve início no dia 25 de julho de 2019, com a montagem dos vasos, e a inserção de cinco sementes de alface por vaso no dia 26/07/2019. A germinação ocorreu aproximadamente 10 dias após o plantio, e ao longo das duas primeiras semanas manteve-se no mínimo duas mudas de alface por vaso, até ser feita a escolha da planta que cresceu mais rapidamente. Após este período, foi feito o transplante para o centro do vaso, eliminando-se as outras sementes germinadas, e então permanecendo somente uma planta de alface por vaso.

As fotos para verificar o crescimento dos tratamentos foram tiradas semanalmente, sendo que a partir da terceira semana foi ligado o sistema de iluminação na casa de vegetação para que as alfaces pudessem receber luz também no período das 17h até as 21h. Ainda, a partir do dia 04/09/2019, ou seja, com cerca de 40 dias de experimento, foi feita também a medição do comprimento da largura e do comprimento da maior folha, bem como a quantidade de folhas, até que o crescimento das plantas se estabilizasse para a interrupção do experimento. O primeiro experimento foi encerrado no dia 26/09/2019, totalizando 64 dias.

O segundo experimento teve início no dia 11 de outubro de 2019, com a distribuição dos tratamentos nos vasos. Os tratamentos foram distribuídos de forma completamente casualizada, conforme Figura 12. Entretanto, desta vez decidiu-se esperar três dias para inserção das sementes de alface, para permitir maior estabilização do digestato. Sendo assim, dia 14/10/2019 iniciou-se a semeadura, com a inserção de cinco sementes por vaso, sendo que a germinação também ocorreu cerca de 10 dias após o plantio.

Figura 12: Distribuição dos vasos no segundo plantio (primavera/verão)



Fonte: A autora

Para este experimento também foram mantidas duas mudas de alfaces por vaso até e escolha da que seria transplantada para o centro do vaso. As fotos para verificar o crescimento dos tratamentos foram tiradas semanalmente, como no primeiro experimento. A contagem do número de folhas e as medições na maior folha ocorreram a partir do dia 20/11/2019, após 37 dias de plantio. O segundo experimento foi encerrado no dia 11/12/2019, totalizando 62 dias.

Ao final de ambos os experimentos foi feita a coleta da parte aérea e radicular das plantas para obtenção da massa fresca foliar. A massa fresca das folhas foi medida em balança de laboratório logo após o fim do experimento, e em seguida as plantas foram desidratadas em estufa de aeração forçada a 65-70 °C, dentro de sacos de papel com capacidade de até 1 kg, até obtenção de massa constante, para então serem medidas as massas seca foliar e radicular. Após este período o tecido vegetal das folhas e da raiz foi moído manualmente para ser analisado posteriormente no Laboratório de Solos, Água e Tecidos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da UFSC, seguindo as metodologias do capítulo 4.5.2. Cerca de 500 gramas de solo foram coletados de cada replicata, sendo primeiramente homogeneizado para se obter uma amostra representativa. O solo permaneceu armazenado em ambiente seco até sua análise no mesmo Laboratório do CCA, conforme as metodologias do capítulo 4.5.3.

A análise estatística para comparar cada um dos tratamentos foi realizada por meio do teste Scott-Knott; de forma a avaliar a diferença entre os tratamentos, e do teste t, para avaliar a diferença entre os plantios, dentro de um mesmo tratamento; no software Sisvar. Eventualmente, para poucos parâmetros, foi realizado o teste de Tukey HSD ($p < 0,05$) no software STATISTICA 8.0.

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.5.1 Digestato líquido

A caracterização do digestato foi feita por meio de análises físico-químicas, após coleta no digestor metanogênico. O objetivo das análises é verificar a variação da sua composição com os diferentes tratamentos aplicados. As amostras foram coletadas e na sequência analisadas nos laboratórios LIMA e LARESO, da UFSC. Os parâmetros avaliados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos a serem analisados

Parâmetro	Método
pH	Eletrômetro*
Acidez e Alcalinidade	Titulométrico 2330B*
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Refluxo Fechado - Colorimétrico 5220D*
Carbono Orgânico Total (COT)	Oxidação por combustão catalítica
Fósforo Total (P _{total})	Método Vanadatômolibdato 4500C*
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	Destilação Kjeldahl *
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄ ⁺)	Titulométrico 4500 *
Sólidos Totais (ST) e Sólidos Totais Voláteis (STV)	Método evaporação em chapa aquecida 2540 *
Potássio, Cálcio, Magnésio, Cobre e Zinco	EPA 3010A* com leitura em AAS atomização por chama

Legenda: *Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005).

Em relação aos parâmetros acima, somente o nitrogênio total, o nitrogênio amoniacal, o carbono e o fósforo foram avaliados ao longo dos meses, visando verificar se estes nutrientes sofrem variações com a mudança de carga orgânica volumétrica (COV), e por serem parâmetros de maior relevância para avaliação do digestato. Para o fósforo, carbono e nitrogênio amoniacal foram utilizadas boa parte das análises disponíveis para as COV do sistema de metanização de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹ e 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹, no ano de 2019. Para o nitrogênio total foram avaliados os meses de setembro, outubro, novembro e dezembro de 2019, meses finais de operação do sistema, devido a um problema no equipamento que impediu a avaliação dos meses anteriores. O resumo de cada análise está descrito na sequência.

- **pH, acidez e alcalinidade total e condutividade elétrica**

O pH do digestato líquido foi avaliado imediatamente após o tempo de agitação aplicando-se o método eletrométrico (*Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater* 20Th – APHA-AWWA-WEF - método 4500 H+B). Ainda, para obtenção da acidez e alcalinidade de cada amostra inicia-se adicionando uma solução padronizada de ácido sulfúrico (0,05 M e 0,1 M, de acordo com a necessidade). Inicialmente é feita a aferição do pH e da condutividade elétrica, e então titula-se o ácido até os valores de pH de 5,75 e 4,30, em que a quantidade de ácido que foi titulada é anotada. Para determinação da acidez, a amostra é levada para uma chapa aquecida, onde permanece por 3 minutos após fervura.

Após este período, procede-se a titulação com solução padronizada de hidróxido de sódio (0,1 M), subindo o pH até 4 e 7, em que os volumes da base utilizados são anotados. O cálculo da alcalinidade total foi expressa em carbonato de cálcio (CaCO₃) por ser o padrão utilizado para determinar a concentração de soluções ácidas, conforme a equação abaixo.

$$\text{Alcalinidade total} = \frac{V_2 \times M \times 100.000}{V_a} \quad (4)$$

Em que:

V₁: volume de H₂SO₄ gasto na titulação até pH 5,75 (mL);

V₂: volume de H₂SO₄ gasto na titulação até pH 4,30 (mL);

M: molaridade do ácido empregado;

V_a: volume da amostra (mL).

- **Demanda Química de Oxigênio (DQO)**

Para a determinação da DQO foi adotada a metodologia *Standard Methods* (APHA, 2005), utilizando o kit da marca Alfakit, o qual realiza a oxidação da amostra em meio ácido por uma quantidade conhecida de um agente oxidante forte, seguida de aquecimento em bloco digestor a 150 °C por 2 horas. Após a digestão e o resfriamento, procede-se com a leitura no espectrofotômetro Hach® DB 2800 com comprimento de onda 662 nm.

- **Carbono Orgânico Total (COT), Fósforo Total (Ptotal), Nitrogênio Total (NT) e Nitrogênio Amoniacal (N-NH₄⁺)**

O preparo das amostras líquidas para determinação do COT procedeu-se através da secagem em estufa a 65°C, durante um período mínimo de 48 horas, seguida de raspagem dos sólidos remanescentes nos recipientes de alumínio e peneiramento em peneira de 355 µm. Já para a amostra sólida, foi possível determinar diretamente. A determinação foi feita no analisador de carbono orgânico total, marca SHIMADZU®, modelo TOC-SSM 5000A, que utiliza o método de oxidação por combustão catalítica na temperatura de 900 °C. Todo carbono presente na amostra é oxidado a dióxido de carbono (CO₂), que é detectado pelo detector de infravermelho não dispersivo (NDIR). A área do pico de CO₂ detectada é proporcional à concentração de carbono total na amostra, de acordo com uma curva de calibração. Neste estudo foi determinado o COT para as amostras líquidas e sólidas.

Para a determinação do Fósforo Total foi utilizado o KIT HACH de determinação de Fósforo. Nesse procedimento adiciona-se 0,2 mL do reagente 1 e 0,2 mL do reagente 2 e aguarda-se o tempo de reação, para posterior leitura no espectrofotômetro Hach® DB 2800 com comprimento de onda 660 nm.

O método de determinação do NT consiste na adaptação da descrição das normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005) e de FOSS (2001). A amostra é misturada em ácido sulfúrico e catalisador (sulfato de potássio e de cobre) e aquecida até 420 °C no equipamento *Automatic Kjeldahl Digester* DKL (VELP Scientifica), com o objetivo de digerir as proteínas. Em seguida, o nitrogênio presente na solução ácida resultante é determinado por destilação por arraste de vapor, seguida de titulação com ácido diluído (ácido bórico 4%, vermelho de metila e verde de bromocresol) no destilador automático UDK 159 Series (VELP Scientifica). A determinação do Nitrogênio Amoniacal é realizada pela destilação em meio básico, em um frasco contendo solução indicadora (ácido bórico 4 %, vermelho de metila e verde de bromocresol). O íon amônio é levado a gás amoníaco e fixado em solução de ácido bórico, procedimento também realizado no destilador automático UDK 159 Series (VELP Scientifica).

- **Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Fixos (STF) e Sólidos Totais Voláteis (STV)**

A determinação dos teores de ST, STF e STV foi realizada de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater - 2540B* (APHA, 2005). Os ST são obtidos após a evaporação da amostra, acondicionada em cadinhos, colocados em estufa durante um mínimo de 24h e a 65 °C. Após essa etapa, os cadinhos são levados para mufla a 550 °C, durante 120 minutos, e assim são obtidos os valores de STF. A seguinte equação foi utilizada para obter-se os valores dos sólidos totais voláteis: $STV = ST - STF$.

- **Potássio, Cálcio, Magnésio, Cobre e Zinco**

Devido a indisponibilidade dos equipamentos e materiais necessários para análise do Potássio nos laboratórios parceiros, este elemento foi analisado inteiramente pela Central de Análises do Departamento de Química da UFSC, e somente para o digestato líquido. A metodologia utilizada foi a mesma descrita para os outros elementos abaixo.

Para determinação dos outros elementos no digestato líquido, procedeu-se primeiramente a uma digestão das amostras com ácido nítrico, segundo a metodologia 3010A (*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* - APHA, 2005). Primeiramente, transferiu-se 50 mL da amostra (já previamente agitada e acidificada com $\text{pH} < 2$) para b quer de Teflon de 90 mL. Em seguida adicionou-se 3 mL de HNO_3 concentrado, cobrindo o b quer com um vidro relógio e foi colocado em uma chapa aquecedora com temperatura entre 90 – 95  C, até a permanência de 5 mL da amostra.

Após o resfriamento   temperatura ambiente, adicionou-se mais 3 mL de HNO_3 concentrado. O b quer foi coberto com o vidro relógio e colocado novamente na chapa aquecedora, até o composto da digestão ficar transparente. Havendo a necessidade, foram acrescentados pequenos volumes de ácido, para manter a amostra com volume de 3 mL, até completar a digestão, tomando o cuidado para não cristalizar as amostras. Os béqueres contendo as amostras foram resfriados na temperatura ambiente e, posteriormente, adicionado 1 mL (1:1) de HCl (10 mL / 100 mL da soluço final). Após, as amostras foram agitadas levemente por 15 minutos para dissolver possíveis precipita es. Posteriormente, as amostras foram filtradas e ajustadas com água ultrapura até o volume final de 100 mL.

Antes do início das análises, o equipamento de medi o foi ajustado e foram construídas as curvas de calibra o para cada elemento. As leituras foram então realizadas por meio de espectrometria de absor o at mica com atomiza o em chama (FAAS), no equipamento da marca Varian-50B.

4.5.2 Digestato sólido e tecido vegetal

O digestato sólido foi primeiramente desidratado a 65  C em estufa, para então ser homogeneizado para as análises. Todo o digestato que foi seco ao longo dos meses do Quadro 4 foi misturado em um único recipiente, e ficou armazenado na geladeira a 4 C até o início das análises. As amostras das plantas de alface foram colhidas cuidadosamente dos vasos após os experimentos de plantio, tomando-se o cuidado para manuten o das raízes intactas. A prepara o da amostra de tecido foi feita pela secagem em estufa a ar quente, a 65-70  C, após a lavagem do material. A moagem do tecido foi feita manualmente em cadinho e pilão, uma vez que as amostras não eram muito grandes.

As análises de nitrogênio, fósforo, cobre e zinco foram realizadas de acordo com as metodologias para resíduo orgânico, presentes em Tedesco et al. (1995). Estes parâmetros do digestato sólido e todos os parâmetros para solo e planta foram medidos e analisados no Laboratório de Solos, Água e Tecidos Vegetais do CCA/UFSC. Os parâmetros K, Ca, Mg, Cu e Zn não foram analisados por falta de disponibilidade do equipamento necessário para a análise no período de duração desta pesquisa. A seguir está apresentada uma descrição de cada uma das análises.

- **pH**

Estas análises foram realizadas somente para o digestato sólido. A determinação do pH foi feita com base em Tedesco et al. (1995). Primeiramente, pesou-se 10 gramas do digestato para então ser adicionado 50 mL de água destilada, para então agitar intermitentemente a mistura por 30 minutos. Por fim foi feita a determinação do pH do sobrenadante, após até um máximo de 12 horas de adição do líquido.

- **Teor de umidade**

O teor de umidade foi realizado somente para a parte aérea das plantas, e foi determinado em relação à temperatura de secagem de 65-70 °C, até peso constante, utilizando-se a equação 5.

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{\text{peso úmido} - \text{peso seco}}{\text{peso úmido}} \times 100 \quad (5)$$

- **Carbono orgânico total**

A determinação do carbono para o digestato sólido foi realizada da mesma forma que o líquido, apresentada no capítulo 4.5.1, sendo que não foi feita a determinação do COT para o tecido vegetal.

- **Macronutrientes (Nitrogênio e Fósforo)**

Estes nutrientes foram determinados a partir de uma única extração, segundo a metodologia de Tedesco et al. (1995) para macronutrientes. Primeiramente, é adicionado H₂O₂ para propiciar uma pré-digestão da amostra, e em seguida o H₂SO₄, para que a temperatura alcance 180-190 °C, bem como a mistura de digestão previamente preparada. Em bloco digestor, eleva-se a temperatura até 350-375 °C. Após as amostras esfriarem, são retiradas alíquotas do extrato para as várias determinações, não havendo necessidade de filtração.

Para o nitrogênio, primeiramente foi adicionado 5 mL de NaOH ao extrato, e iniciada a destilação. A solução é destilada e o destilado misturado com 5 mL de ácido bórico, para então ser feita a titulação com H₂SO₄ 0,025 M. Em seguida foi feito o cálculo da equação abaixo, baseada em Tedesco et al. (1995).

$$N (\%) = \frac{(\text{mL H}^+\text{am} - \text{mL H}^+\text{br}) \cdot \text{Cn}}{X \cdot 10000} \quad (6)$$

Em que:

mL H⁺ am: Quantidade, em mL, de ácido titulado na amostra;

mL H⁺ br: Quantidade, em mL, de ácido titulado no branco;

Cn: Valor correspondência de N, calculado a partir da equação presente em Tedesco et al. (1995), para o ácido utilizado na titulação. Cn deve se situar em torno de 700.

X (gramas) = Valor correspondente da amostra ($X = \frac{\text{PESO amostra (g)} \cdot 20\text{mL}}{50\text{mL}}$)

O fósforo foi determinado da mesma que forma que foi feito para o solo, pelo método de Murphy e Riley (1977). Primeiramente retira-se uma alíquota da amostra que foi previamente digerida, para então iniciar-se a análise. Para tal, foi adicionada água destilada na alíquota da amostra até completar o volume de 3 mL, e em seguida uma gota de p-nitrofenol 0,25%. Em seguida foram adicionadas gotas de NaOH 10 mol/L até neutralização das amostras, que se tornaram da cor amarela, e posteriormente 0,5 mL de uma solução preparada no dia da análise, constituída por ácido ascórbico dissolvido em uma solução previamente preparada, que contém molibdato de amônio e antimoniato de potássio.

As amostras se tornam então incolores ou com leves tons de azul, sendo que quanto mais forte a cor azul, mais fósforo está presente na amostra. Por fim, foi feita a inserção da curva do fósforo e leitura de cada amostra após 30 minutos de adição da solução com ácido ascórbico em absorvância de 882 nm. O cálculo final é feito a partir da curva de fósforo obtida na leitura do equipamento, com a utilização do coeficiente da reta.

Além da determinação do nitrogênio e do fósforo nas raízes e nas folhas, foi feito o cálculo do N e P acumulado no tecido vegetal, por meio da multiplicação do teor dos nutrientes (em porcentagem - %) pela massa seca da raiz e da folha (em gramas).

- **Micronutrientes (Zn, Cu)**

Os micronutrientes foram determinados somente no resíduo sólido orgânico, pois devido à baixa presença detectada no digestato não foi verificada a necessidade de análise no tecido vegetal. Assim com os outros nutrientes, os metais pesados também passaram por um processo de digestão com ácido, apresentada no capítulo 3.6 de Tedesco et al (1995). Após a digestão, foi feita a leitura em espectrofotômetro de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (ICP-OES; Perkin Elmer Optima 8000).

4.5.3 Caracterização do solo

Após ambos os dos experimentos, o solo de cada tratamento foi coletado e mantido em local protegido, arejado e seco, até sua utilização nas análises. A caracterização química foi feita com base na metodologia de Tedesco et al. (1995). As análises do solo foram realizadas ao final de cada experimento, para os parâmetros: acidez ativa, acidez potencial, carbono orgânico total, fósforo disponível e nitrogênio total. As análises também foram realizadas no Laboratório de Análises do Solo, Água e Tecidos Vegetais. A relação C/N foi calculada pela divisão do teor de carbono pelo teor de nitrogênio do solo, e a matéria orgânica foi calculada pela multiplicação do teor de carbono pelo fator fixo 1,724.

- **Acidez ativa e potencial**

A acidez ativa do solo é determinada pelo pH em água, enquanto que a acidez potencial é avaliada pela mudança do pH de uma solução tamponada, em que se é obtido o índice SMP. Este índice apresenta alta correlação com o valor de $H + Al$, sendo interessante, portanto, a sua determinação. Para leitura das amostras iniciou-se com 10 mL de solo adicionados em copo plástico, e então foram adicionados 10 mL de água destilada. As amostras foram então agitadas com bastão de vidro e deixadas em repouso por 30 minutos, sendo que, após este tempo, foi determinado o pH em pHmetro de bancada. Em seguida adicionou-se 5 mL da solução SMP, apresentada em Tedesco et al. (1995); a solução foi agitada e, após 20 minutos de repouso, determinou-se o índice SMP, com leitura também no pHmetro.

- **Carbono orgânico total**

O COT para o solo foi determinado pelo método de oxidação do carbono pela adição de dicromato de potássio em meio ácido, baseando-se em Tedesco et al. (1995). Foram pesadas 0,25 gramas de cada amostra, que foram inseridas em tubos de digestão e nas quais se adicionou 10 mL de dicromato de potássio 0,4 N. Em seguida, as amostras foram colocadas no bloco digestor e aquecidas até 150 °C, onde permaneceram por 30 minutos, e após retiradas e deixadas até esfriar, para então adicionar-se 10 ml de água destilada. Por fim, foram adicionados os reagentes ácido ortofosfórico e difenilamina, para então ser feita a titulação da amostra com sulfato ferroso amoniacal 0,1 N. Ao final do procedimento, foi feito o cálculo do carbono conforme a equação de Tedesco et al. (1995), adaptada para a molaridade do ácido utilizada, de 0,33 molL⁻¹.

- **Fósforo disponível**

Para determinação do fósforo disponível no solo realizou-se primeiramente a extração, em que foram adicionados 10 mL de solução P-A (descrita em Tedesco et al., 1995) em 1 mL de solo, e em seguida a mistura foi inserida em agitador horizontal durante 5 minutos, com 110-120 oscilações por minuto. Em seguida, a mistura com cada amostra foi deixada em repouso por 15 a 18 horas. Para determinação do fósforo seguiu-se os procedimentos descritos no capítulo 4.5.2, com leitura no espectrofotômetro, em absorvância de 882 nm.

- **Nitrogênio total**

A determinação do nitrogênio total no solo também foi realizada por meio de digestão, iniciando-se com a pesagem de 0,5 gramas de amostra. Em seguida, foram adicionados nas amostras 1 mL de H₂O₂ 30% e 2 mL de H₂SO₄. Após alguns minutos de esfriamento, adicionou-se a mistura de digestão (apresentada em Tedesco et al., 1995) e inseriu-se as amostras no bloco digestor. Procedeu-se, então, a um aquecimento gradual da temperatura, iniciando-se a 150 °C, e passando para 250 °C até a temperatura de aproximadamente 350 °C, observando-se quando a cor das amostras passou de cor de palha para amarelo-esverdeado. Por fim, as amostras foram deixadas para esfriar e foram adicionados 5 ml de água destilada. Para análise, adicionou-se mais cerca de 15 mL de água destilada e iniciou-se o procedimento de destilação.

Para a destilação, foram então adicionados 10 mL de NAOH 10M nas amostras, que após a destilação caem em um erlenmeyer contendo 5 mL de ácido bórico. Por fim foi realizada a titulação com H₂SO₄ 0,025 M, aguardando-se a amostra mudar de verde para rosa e anotando o valor utilizado da solução titulante. O cálculo para a determinação do nitrogênio é baseado em Tedesco et al. (1995), conforme equação abaixo.

$$N(\%) = \frac{(\text{mL H}^+\text{am} - \text{mL H}^+\text{br})}{\text{g solo} \times 10.000} \times Cn \quad (7)$$

Em que:

mL H⁺ am: Quantidade, em mL, de ácido titulado na amostra;

mL H⁺ br: Quantidade, em mL, de ácido titulado no branco;

Cn: Valor correspondência de N, calculado a partir da equação presente em Tedesco et al. (1995), para o ácido utilizado na titulação. Cn deve se situar em torno de 700.

g solo: Quantidade de solo pesada.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados de acordo com os objetivos específicos, iniciando-se com os tratamentos realizados com o digestato, seguido da avaliação da toxicidade e, por fim, os resultados dos ensaios com vasos e das análises químicas do solo e do tecido vegetal das alfaves.

5.1 TRATAMENTOS COM O DIGESTATO

Neste capítulo serão discutidos os resultados das análises químicas do digestato e os tratamentos aplicados, bem como e a comparação dos parâmetros com o de outros autores. Na Tabela 2 estão apresentados os principais parâmetros do digestato completo, que foi utilizado em todos os experimentos, bem como de seus respectivos tratamentos, sendo eles: digestato armazenado ao longo de 10 meses, no ano de 2019, e digestato seco em estufa a 65 °C. Alguns parâmetros não puderam ser avaliados, e por isso não serão apresentados.

Tabela 2: Resultados dos parâmetros físico-químicos para os diferentes tratamentos com o digestato

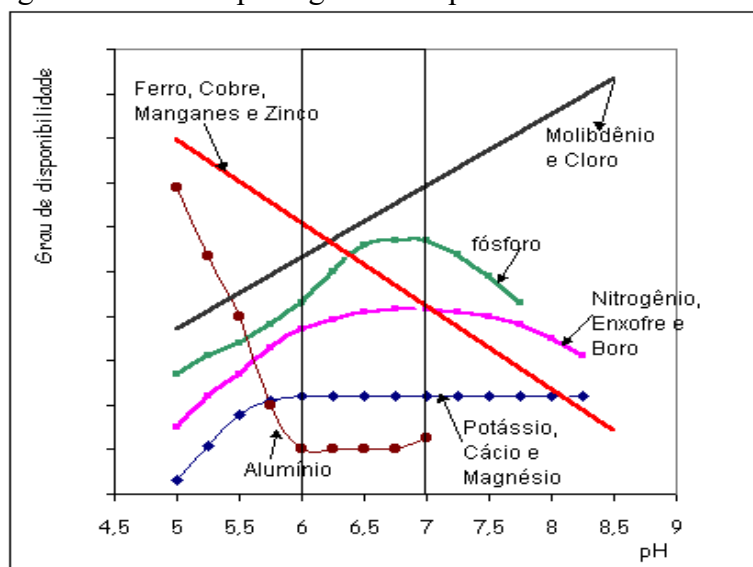
Parâmetros	Digestato completo¹	Digestato armazenado²	Digestato seco³
pH	6,82	7,60	8,86
Sólidos Totais – ST (%)	1,13	0,91	NA
Sólidos Totais Voláteis – STV (% dos ST)	65,5	56,8	NA
Carbono Orgânico Total – COT (%)	38,2	12,0	37,6
(g/kg ST)	337	131	
Nitrogênio Total Kjeldahl (mgL ⁻¹)	570,7	1046,5	23333
(g/kgST)	50,3	114,9	
Nitrogênio Amoniacal (mgL ⁻¹)	229,8	498,9	NA
(g/kg ST)	20,3	54,8	
Relação C/N	5,8	1,2	16,1
Fósforo Total (mgL ⁻¹)	49,0	62,6	22454
(g/kg ST)	4,3	6,9	NA
Potássio Total (mgL ⁻¹)	139,3	NA	NA
(g/kg ST)	12,3		
Cálcio (mgL ⁻¹)	102,6	NA	NA
Magnésio (mgL ⁻¹)	10,9		
Cobre (mgL ⁻¹)	0,17	NA	9,98
Zinco (mgL ⁻¹)	0,23		46,9
Condutividade elétrica (mS.cm ⁻¹)	8,3	8,1	NA
DQO (mgL ⁻¹)	24710	12186	NA
Alcalinidade total (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	4820	1860	NA

Legenda: NA - Parâmetros que não foram avaliados por indisponibilidade de equipamento no período em que foi realizada a análise ou por não ser possível a avaliação. ¹Digestato completo, não tratado, coletado na saída do digestor metanogênico; ²Digestato líquido armazenado em bombona durante 10 meses, mantido inalterado; ³Digestato sólido, após secagem em estufa a 65°C.

Entre os tratamentos, o digestato líquido apresentou valor de pH ligeiramente menor que os avaliados pelos autores do Quadro 2, mas ainda dentro dos valores recomendados para bactérias metanogênicas, entre 6,0 e 8,0 (CHERNICARO, 2007). O pH mais alcalino no digestato sólido também foi observado por outros autores como de La Fuente et al. (2013), que avaliaram as frações líquida e sólida separadamente de digestato produzido em planta de biogás que trata estrume e dejetos bovinos, encontrando valores de 7,6 para o digestato líquido e 8,9 para o digestato sólido. O pH mais alcalino do digestato sólido pode afetar o solo e a disponibilidade de nutrientes para as plantas (DE LA FUENTE et al., 2013). Ainda, a alface se desenvolve em pH ideal de 6,0 (SBSC, 2016), o que indica que valores de pH muito mais elevados ou baixos do que este podem prejudicar seu desenvolvimento.

A Figura 13 apresenta a faixa de disponibilidade de nutrientes para as plantas de acordo com o pH do solo. Como pode ser abaixo, os macronutrientes nitrogênio e fósforo possuem sua disponibilidade máxima no pH do solo entre 6,0 e 7,0. Acima de 7,0, além destes macronutrientes, também os micronutrientes ferro, cobre, manganês e zinco tem seu grau de disponibilidade diminuído. Os solos ácidos se caracterizam pela presença de alumínio tóxico que é prejudicial para as plantas, influenciando no desenvolvimento do sistema radicular, e nos solos básicos há uma deficiência na disponibilidade de fósforo por causa da formação de fosfato de cálcio que é insolúvel e não aproveitável para as plantas, bem como o nitrogênio se perde por volatilização (MALAVOLTA, 1979).

Figura 13: Gráfico pH x grau de disponibilidade de nutrientes



Fonte: Malavolta, 1979

Ainda, o pH está relacionado com outro parâmetro que é a alcalinidade. A alcalinidade total foi menor no digestato armazenado, sendo que a faixa recomendada na digestão anaeróbia se situa entre 1000 e 5000 mgL⁻¹ (METCALF e EDDY, 2014). Apesar do valor do digestato completo ser maior, a alcalinidade ainda está na faixa considerada normal. Os autores Akhilar et al. (2017), testando onze digestatos líquidos originados de diferentes substratos, observaram que a co-digestão com resíduos alimentares contribuiu para valores mais elevados de alcalinidade em comparação a digestatos de frutas e vegetais somente.

O digestato completo, após saída do reator, apresentou teores de nitrogênio total (NT), nitrogênio amoniacal (NH_4^+) e carbono orgânico total (COT) dentro da faixa encontrada pelos autores apresentados no Quadro 2, porém com teores de fósforo total (PT) e potássio total ligeiramente menores. O digestato que foi armazenado também apresentou valores dentro desta faixa para NT, NH_4^+ e PT, enquanto o valor de COT diminuiu com o acúmulo, possivelmente pela estabilização da matéria orgânica e diminuição da atividade das bactérias metanogênicas.

Conforme apontado, portanto, o digestato armazenado concentrou os teores de macronutrientes, que mostraram valores mais elevados do que para o digestato completo. O aumento no teor dos parâmetros para o digestato acumulado em relação ao completo foi de cerca de 83% para o NT, 117% em relação ao NH_4^+ , e 28% para o PT. A relação entre sólidos voláteis e sólidos totais, de 65,5 % e 56,8 % respectivamente para o digestato completo e o armazenado, estão dentro ou próximo da faixa que outros autores encontraram para digestatos de resíduos alimentares e da fração orgânica de resíduos sólidos municipais, entre 59-81% (TAMPIO et al., 2016), e ambos estão dentro da faixa encontrada pelos autores do Quadro 2, entre 38-77%.

O digestato após secagem, além de apresentar pH mais elevado, também apresentou elevação e concentração dos nutrientes nitrogênio, fósforo, cobre (Cu) e zinco (Zn). No solo, o Cu e o Zn, bem como outros metais pesados, podem aumentar o seu teor quando o meio sofre acidificação, podendo ser maiores do que as concentrações necessárias para o desenvolvimento das plantas (ZHANG et al., 2012), e desta forma podem ser fitotóxicos.

Mesmo com teores mais elevados, estes teores ainda foram muito menores do que os encontrados nas frações líquidas e sólidas de digestatos caracterizados por Tambone et al. (2017). Os autores caracterizaram digestatos completos e ainda as frações líquidas e sólidas separadas, coletados de treze usinas de biogás que tratam misturas diferentes de substrato de dejetos suínos, bovinos e culturas energéticas, encontrando valores em média de 44,6 a 71,1 $\text{mgkg}^{-1}\text{ST}$ para Cu e 205-353 $\text{mgkg}^{-1}\text{ST}$ para Zn.

Outro parâmetro importante é a relação C/N, a qual varia com diferentes composições do substrato principal e condições dos digestores, como com a temperatura e o tempo de retenção (ABUBAKER et al., 2012; CHEN et al., 2012). Neste estudo, a relação C/N se apresentou mais alta para o digestato completo e menor para o digestato acumulado, e a maior C/N foi encontrada para o digestato sólido. Outros autores avaliaram a relação C/N da fração líquida do digestato, como Akhiar et al. (2017), e encontraram valores entre 0,2 e 1,6; os autores atribuíram os baixos valores ao consumo da matéria orgânica durante a digestão anaeróbia, o que geralmente de fato ocorre no processo (STINNER et al., 2008).

A diminuição do teor de COT no digestato que foi armazenado ocorreu possivelmente devido à esta estabilização da matéria orgânica, com redução da atividade das bactérias anaeróbias. Outro parâmetro que reduziu seu teor com o tempo de estocagem foi a DQO, possivelmente pelo mesmo motivo de estabilização da matéria orgânica facilmente degradável. Os autores Albuquerque et al. (2012b) sugerem uma relação entre DQO e NTK menor que 1,5 g C/g N como indicativa de um digestato estável, ou seja, o digestato armazenado, com C/N de 1,2, poderia ser considerado já estabilizado.

O efeito de armazenamento do digestato para estabilização foi averiguado pelos autores Wojnowska-Baryla et al. (2018), que mantiveram seis digestatos durante 120 dias, inalterados, na temperatura de 20°C. Os digestatos, provenientes de diferentes combinações de usinas de biogás que usam substratos de silagem de milho, dejetos bovinos e suínos, e glicerina, apresentaram remoção de sólidos voláteis entre 22,2 a 61,6% em relação aos teores iniciais. Em comparação, o digestato armazenado apresentou remoção de 15,32% nos sólidos voláteis, após ser mantido sem alteração por aproximadamente 150 dias, à temperatura ambiente.

Além de ser mais estável, o aumento dos nutrientes no digestato acumulado se mostra positivo em termos de utilização na agricultura, por apresentar também teores mais próximos aos exigidos pela legislação. A IN nº 25, de 2009, especifica o mínimo e máximo de alguns parâmetros para fertilizantes. Com relação aos produtos fluidos, o carbono exige um teor mínimo de 3%, o que é atingido por todos os digestatos líquidos testados. Ainda, a relação C/N deve ser no máximo 20, e para os digestatos líquidos ela está dentro deste limite.

É possível avaliar ainda o digestato sólido, para mais parâmetros. Segundo os anexos da IN nº25 (2009), o nitrogênio total mínimo deverá ser de 0,5%, teor que é atingido somente pelo digestato sólido, uma vez que o teor de N total é de 2,3%. Já com relação ao pH, em que o ideal seria 6,0, o digestato sólido ultrapassa o valor por possuir um pH mais básico. Ainda, com relação C/N de 16, o digestato sólido também se enquadra no limite da regulação brasileira.

5.2 VARIAÇÃO DE PARAMETROS QUÍMICOS DO DIGESTATO EM FUNÇÃO DA CARGA NO SISTEMA DE METANIZAÇÃO

Conforme apresentado no item 4.5.1, alguns parâmetros foram avaliados neste estudo, para verificar se ocorrem variações para as diferentes cargas orgânicas aplicadas no sistema de metanização. Os parâmetros aqui apresentados são: carbono orgânico total, fósforo total, nitrogênio amoniacal e nitrogênio total de Kjeldahl. Para este último parâmetro, foi feita uma comparação com o nitrogênio amoniacal em um mesmo período.

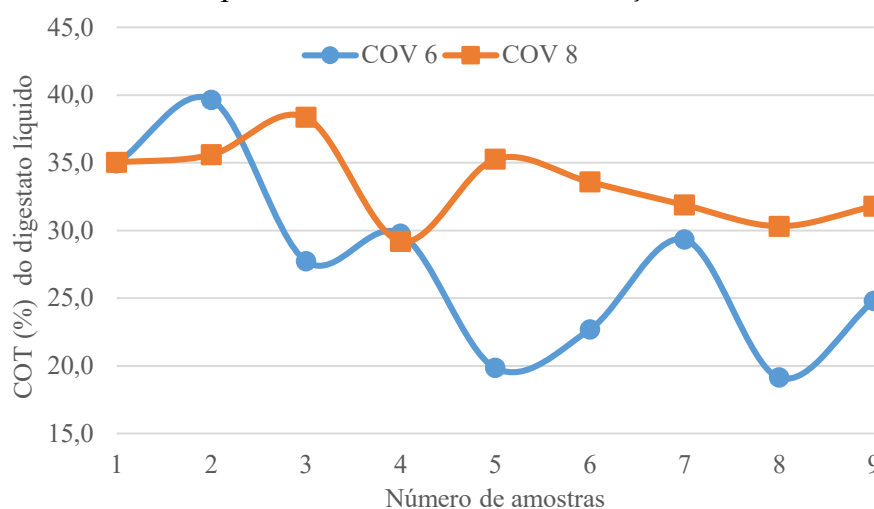
5.2.1 Avaliação do Carbono orgânico total

O carbono orgânico total (COT) é indicado por alguns autores como representativo do teor de matéria orgânica dos substratos (GRIGATTI et al., 2004; FONSECA et al., 2006), embora a matéria orgânica biodegradável se refira à concentração de sólidos voláteis (ZHANG et al., 2014). O carbono também é um dos elementos envolvidos na síntese celular, crescimento dos microrganismos e fornecimento de energia na digestão anaeróbia.

Neste estudo foi avaliada a variação do COT nas datas entre 8 de fevereiro e 8 de abril de 2019, em que o sistema de metanização operava com COV de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; e entre 09 de maio e 8 de julho de 2019, em que o sistema de metanização operava com COV de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹ (Figura 14). Foram utilizados dados de nove dias diferentes para cada uma das cargas, sendo que os dias em que as amostras foram analisadas estão apresentados no Apêndice 1. A média do COT para a COV 6 foi de 27,54±6,81%, e para a COV 8 foi de 33,45±2,91%, sendo que o teste de Tukey com nível de significância de 5% apresentou diferença estatística entre as duas cargas, ou seja, o COT modificou de uma COV para a outra.

A média do COT foi cerca de 21% maior para a carga de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹, o que já era esperado devido a uma maior carga de substrato para os microrganismos anaeróbios. Percebeu-se também que os valores de COT variaram mais para a primeira carga, com um desvio padrão mais alto, enquanto para a segunda carga os valores foram mais constantes. Apesar da variação, este parâmetro mostrou menor variabilidade do que os restantes.

Figura 14: Variação do COT do digestato para duas cargas orgânicas diferentes operando no sistema de metanização

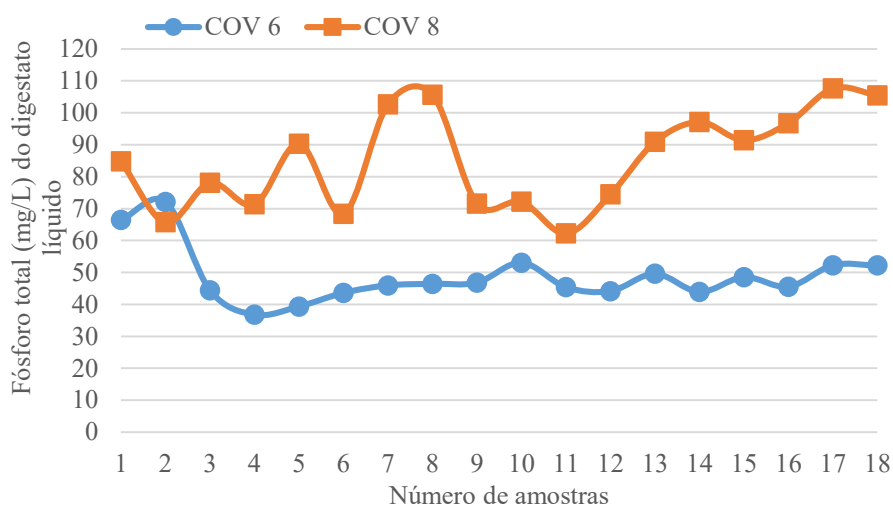


Legenda: COV 6 – carga orgânica volumétrica de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; COV 8 – carga orgânica volumétrica de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; COT – carbono orgânico total.

5.2.2 Avaliação do fósforo total

O fósforo é outro elemento essencial nos processos biológicos, tendo relevância quando se avalia o uso do digestato na agricultura. Neste estudo foi avaliada a variação do fósforo nas datas entre 8 de fevereiro e 11 de abril de 2019, em que o sistema de metanização operava com COV de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; e entre 03 de maio e 5 de julho de 2019, com COV de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹ (Figura 15). Foram utilizados dados de 18 dias diferentes para cada uma das cargas, sendo que os dias em que as amostras foram analisadas estão apresentados no Apêndice 1. A média do fósforo para a COV 6 foi de 48,67±8,61 mg/L, e para a COV 8 foi de 85,35±14,76 mg/L, e houve diferença estatística entre as duas cargas, ou seja, o fósforo modificou de uma carga para a outra, apresentando valor cerca de 75% maior para a carga 8, o que também já era esperado. Percebe-se também que os valores de fósforo total variaram mais para a carga de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹, com um desvio padrão mais alto.

Figura 15: Variação do fósforo total do digestato com duas cargas orgânicas diferentes operando no sistema de metanização



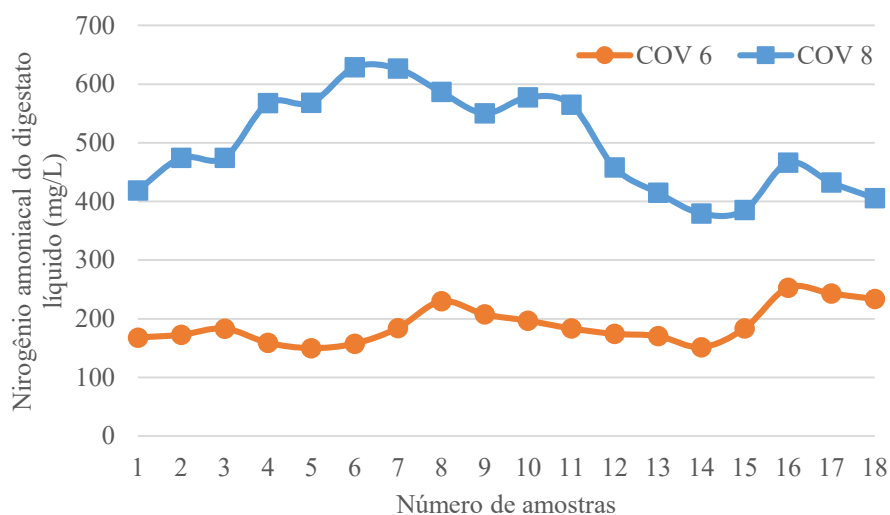
Legenda: COV 6 – carga orgânica volumétrica de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; COV 8 – carga orgânica volumétrica de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹.

5.2.3 Avaliação do nitrogênio amoniacal

O nitrogênio amoniacal (N-NH₄⁺) é produzido nos digestores quando as bactérias convertem as proteínas, sendo que o aumento da amonificação costuma vir seguido de aumento de carga (MALINOWSKI, 2016). Neste estudo foi avaliada a variação do N-NH₄⁺ nas datas entre 8 de fevereiro e 11 de abril de 2019, em que os digestores operavam com COV de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; e entre 03 de maio a 5 de julho de 2019, em que os digestores operavam com COV de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹ (Figura 16). Foram utilizados dados de 18 dias diferentes para cada uma das cargas, sendo que os dias em que as amostras foram analisadas estão apresentados no Apêndice 1.

A média do N-NH₄⁺ para a COV 6 foi de 190,04±31,87 mg/L, e para a COV 8 foi de 503,54±84,41 mg/L, e o teste de Tukey com nível de significância de 5% apresentou diferença estatística entre as duas cargas, ou seja, a amônia modificou de uma carga para a outra, apresentando valor cerca de 165% maior para a carga 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹. Percebe-se também que os valores variaram mais para a COV 8, com um desvio padrão mais alto, enquanto que para a carga menor a variação foi menor.

Figura 16: Nitrogênio amoniaco do digestato com duas cargas orgânicas diferentes operando no sistema de metanização



Legenda: COV 6 – carga orgânica volumétrica de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; COV 8 - carga orgânica volumétrica de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹.

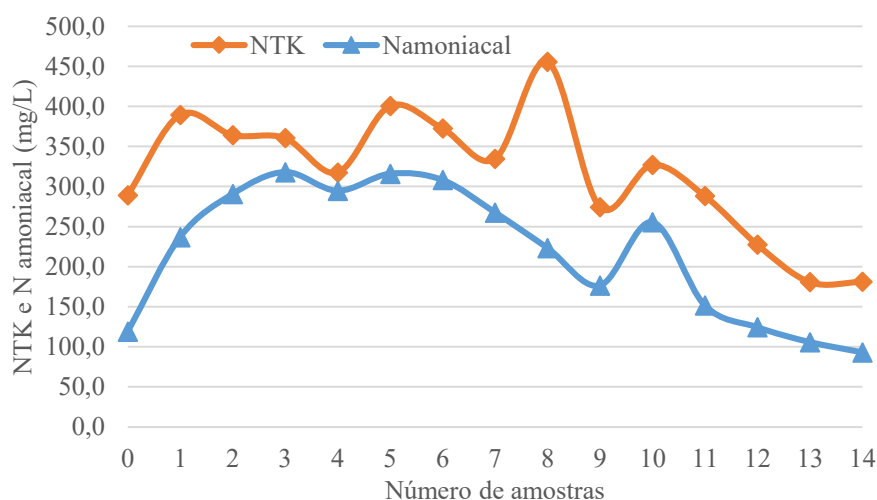
O aumento da concentração de N-NH₄⁺ costuma ocorrer com aumentos contínuos da carga orgânica aplicada, devido a maior liberação de material orgânico no meio e conversão das proteínas pelas bactérias. Este aumento também foi observado em Malikowski (2016), em que o mesmo digestor metanogênico deste estudo, operando em um único estágio, apresentou valores inicialmente de 210 mg/L até 450 mg/L.

O nitrogênio amoniaco é um nutriente essencial para o crescimento das bactérias na digestão anaeróbia, embora possa ser tóxico aos microrganismos na presença de altas concentrações (KIM et al., 2011; YENIGÜN et al., 2013; WALKER et al., 2011). Apesar deste aumento do N-NH₄⁺, a alta concentração de nitrogênio amoniaco está abaixo da faixa que pode causar falhas nos digestores, considerada entre 1500 a 3000 mgL⁻¹ por alguns autores (RAJAGOPAL et al., 2013.; YENIGUN e DEMIREL, 2013). Além da alta concentração poder causar estas falhas, também pode resultar na emissão posteriormente no efluente (PARK et al., 2010), ou seja, no digestato.

5.2.4 Avaliação do Nitrogênio total Kjeldahl

O nitrogênio total (NT) é um dos principais parâmetros de operação de digestores anaeróbios, e é de especial importância na avaliação do digestato. Neste estudo foi avaliada a variação do NT e do nitrogênio amoniacal nas datas entre 6 de setembro e 18 de dezembro de 2019, em que inicialmente o sistema operava com COV de $10 \text{ kgSTV.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$, até que nos últimos meses passou a operar com carga de $6 \text{ kgSTV.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ (Figura 17). Foram utilizados dados de 14 dias diferentes para cada um dos parâmetros, sendo que os dias em que as amostras foram analisadas estão apresentados no Apêndice 1. A média do NT foi de $322,90 \pm 70,99 \text{ mg/L}$, enquanto que o N-NH_4^+ foi de $228,12 \pm 72,16 \text{ mg/L}$. Ao longo de todo o período, em média, o nitrogênio amoniacal representou cerca de 70% do nitrogênio total, o que é consistente com o que foi avaliado por outros autores (Quadro 2).

Figura 17: Variação do Nitrogênio total e do amoniacal nos últimos quatro meses de operação do sistema de metanização



Legenda: NTK – Nitrogênio total de Kjeldahl; Namoniactal – Nitrogênio amoniacal.

5.3 ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO

O ensaio ecotoxicológico objetivou avaliar a toxicidade em meio aquático do digestato por meio da avaliação com o microcrustáceo *Daphnia Magna*; os resultados do ensaio estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 : Resultados do ensaio ecotoxicológico agudo

AMOSTRA	CE _{50,48h} (%)	FD
Digestato completo	7,54 ± 0,24	128

Legenda: CE_{50,48h} - Concentração calculada através do método Trimmed Spearman-Kärber que causa efeito a 50% dos organismos expostos após 48h de exposição. FD - Fator de Diluição. Indica a concentração testada em que não foi observado efeito tóxico (nenhuma imobilização). Parâmetro utilizado pela Portaria 17/2002 da FATMA (atual IMA).

Segundo Nieto (2000), que classificou a toxicidade das amostras a partir de sua CE₅₀, as amostras de digestato se enquadram na faixa de muito tóxicas, por ter apresentado valores menores que 25%, dentro de uma escala entre <25 % (muito tóxica) e >75 % (levemente tóxica). Poucos autores realizaram avaliação de ecotoxicidade com *Daphnia Magna* para os digestato, mas os resultados foram similares ao deste estudo. Tigini et al. (2016), utilizando digestato de dejetos suíno, encontrou uma CE₅₀ entre 1,6-3,1% (v/v), enquanto Pivato et al. (2016) encontraram um valor de 13,61% (v/v). Alguns fatores que seriam responsáveis pela alta toxicidade são a salinidade, condutividade elétrica, nitrogênio amoniacal e nitrogênio total (TIGINI et al., 2016; BRES et al., 2018). O organismo *Daphnia Magna* também foi apontado como o mais sensível para avaliação em comparação a outros organismos-teste (PIVATO et al., 2016).

Em termos de fator de diluição, o valor encontrado foi o maior de todos dentre as concentrações testadas de 50% (FD=2), 25% (FD=4), 12,5% (FD=8), 6,25% (FD=16), 3,12% (FD=32), 1,56% (FD=64) e 0,78% (FD=128), sendo que este fator considera nenhuma imobilização dos organismos. Os valores máximos de FD para a *Daphnia Magna* situam-se entre 1 e 16 para diferentes efluentes, segundo a Portaria nº 17 (FATMA, 2002). O digestato, como um efluente, deveria, portanto, obrigatoriamente passar por processos de tratamento antes de ser descartado. Sendo assim, o seu uso para outros fins como a agricultura é positivo, uma vez que ele deve ser processado independente do seu destino.

5.4 ENSAIOS DE GERMINAÇÃO

Após os ensaios de germinação, os resultados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, em que foi verificada a normalidade dos dados. Ainda, eventuais outliers foram retirados para os cálculos executados. A seguir serão apresentados os resultados dos ensaios para COVs diferentes e para o digestato líquido e sólido, respectivamente.

5.4.1 Ensaios com cargas orgânicas volumétricas diferentes

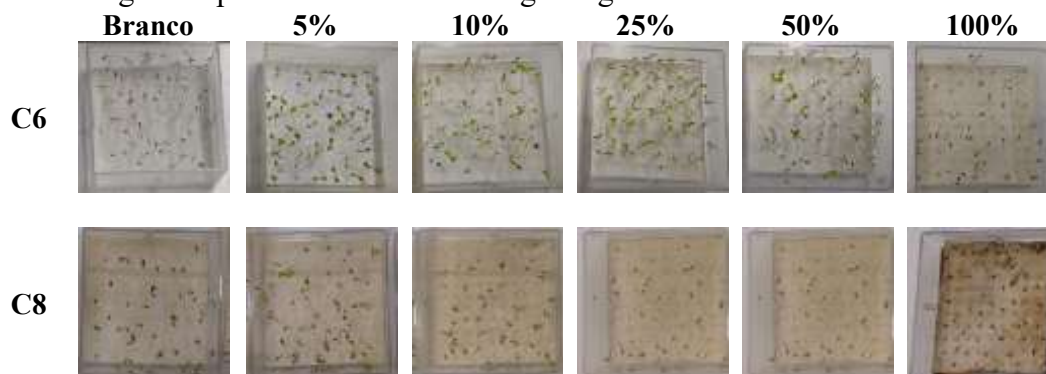
A seguir são apresentados os resultados dos ensaios de germinação realizados nos dias 08/04/2019 e 28/06/2019. No primeiro ensaio, o digestato foi coletado enquanto o sistema de metanização operava com carga orgânica volumétrica (COV) de 6 Kg de STV.m⁻³.dia⁻¹, enquanto que para o segundo a carga era de 8 Kg de STV.m⁻³.dia⁻¹. O resultados dos índices de germinação (IG) encontram-se apresentados na Tabela 4 para todas as diluições testadas (5%, 10%, 25%, 50% e 100%), sendo que os valores dos cálculos intermediários da germinação relativa das sementes (GRS) e do crescimento relativo das raízes (CRR) estão no Apêndice 1. Na Figura 18 pode-se ver também a diferença visual entre as sementes germinadas para cada ensaio e para as diferentes diluições testadas.

Tabela 4: Resultados dos índices de germinação para ensaios com COV diferentes

Diluições	5%	10%	25%	50%	100%	CV ₁ (%)
IG COV 6 (%)	90,29 aA	76,12 aA	88,74 aA	83,47 aA	21,52 bA	41,87
IG COV 8 (%)	103,67 aA	89,62 aA	64,68 abA	42,73 bB	0 cB	67,23
CV ₂ (%)	18,04	24,50	31,75	38,98	27,78	

Legenda: IG COV 6 – Índices de germinação para o ensaio realizado com digestato quando o sistema de metanização operava com carga orgânica volumétrica de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; IG COV 8 – Índices de germinação para o ensaio realizado com digestato quando o sistema de metanização operava com carga orgânica volumétrica de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; CV₁ – coeficiente de variação de casa ensaio, com todas as diluições; CV₂ – coeficiente de variação para cada diluição, com ambos os ensaios. Estatística: Letras minúsculas correspondem às diferenças entre as diluições, e letras maiúsculas entre os tratamentos, para p<0,05 no teste de Tukey HSD.

Figura 18: Sementes de alface após 7 dias de germinação pós aplicação de digestato proveniente de duas cargas orgânicas diferentes no sistema



Fonte: A autora.

Legenda: C6 – Carga orgânica volumétrica de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; C8 – Carga orgânica volumétrica de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹. Branco – Controle com água destilada; 5%, 10%, 25%, 50% e 100% – Diluições do digestato líquido.

Estes resultados indicam que, independente da carga, a utilização de 100% do digestato se mostrou tóxico para as sementes, uma vez que as sementes apresentaram índice de germinação bem baixo em um dos ensaios, e nem ocorreu germinação no ensaio com carga orgânica mais elevada. Em ambos os ensaios, os índices de germinação para o digestato puro também se apresentaram estatisticamente diferentes dos demais. Este resultado é coerente com o encontrado por outros autores como Panuccio et al. (2015).

Para o ensaio de germinação com carga orgânica volumétrica de 6 Kg de STV.m⁻³.dia⁻¹, pode-se observar que não ocorreu diferença estatística para as diluições de 5%, 10%, 25% e 50% de digestato, ou seja, o digestato resultou em um bom crescimento das sementes da alface mesmo quando utilizado mais concentrado. Já no ensaio com carga de 8 Kg de STV.m⁻³.dia⁻¹, os índices de germinação nas diluições de 5% e 10% foram iguais estatisticamente, e o de 25% apresentou semelhança tanto com estas diluições quanto para a diluição 50%. Apesar da germinação ter sido menos significativa que para o ensaio com uma carga menor, ainda ocorreu germinação de sementes. A igualdade estatística entre os ensaios ocorreu para as diluições menores de 5, 10 e 25%, o que indica que para as diluições menores, a carga não influenciou significativamente ($p < 0,05$) a germinação das sementes. Nota-se, ainda, pelo coeficiente de variação, que para estas três diluições o grupo de dados se mostra bastante homogêneo. Nas diluições maiores de 50 e 100% já ocorre diferença significativa (Tabela 4), possivelmente devido a alguns fatores que serão explicados em seguida.

Alguns autores observaram que os maiores índices de germinação ocorreram com o aumento da diluição do digestato, como Abdulahhi et al. (2008), que testaram diluições de 25% e 50%, além de puro (100%). Os autores utilizaram digestato produzido a partir da fração orgânica de resíduos sólidos, e observaram que não ocorreu germinação das sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L) quando foi utilizado puro, ou seja, sem diluição. Outros autores também encontraram resultados similares, e testando outros tipos de digestato. Coelho et al. (2018), em seu estudo, testou digestatos líquidos de onze diferentes usinas de biogás. As concentrações de digestatos líquidos maiores que 50% suprimiram completamente a germinação das sementes de agrião (*Lepidium sativum*).

Para a mesma espécie, Da Ros (2018) encontraram resultados similares, testando digestatos advindo de resíduos da indústria vinícola, sendo D1 misturado com lodo ativado e D2 com borra de vinho. D1 inibiu o crescimento das sementes de *Lepidium sativum*, *S. alba* e *S. saccharatum* para as concentrações de 25%, 50% e 100%, enquanto que usando o D2 nas concentrações de 25% e 50%, apenas 10-13% das sementes germinaram.

Para avaliar a diferença entre os índices de germinação para as diferentes cargas, é necessária a análise dos parâmetros do digestato. Na Tabela 5 estão apresentados os resultados de todos os parâmetros que foram analisados e que auxiliam na interpretação dos resultados dos ensaios.

Tabela 5: Resultados das análises dos digestatos usados nos ensaios de germinação com COVs diferentes

	pH	CE mScm ⁻¹	N total mgL ⁻¹	N-NH₄⁺ mgL ⁻¹	P total mgL ⁻¹	Ca mgL ⁻¹	Mg mgL ⁻¹	Cu mgL ⁻¹	Zn mgL ⁻¹
D6	6,48 B	5,05 B	291,67 B	242,75 B	52,25 B	32,00 B	6,08 B	0,061 B	0,05 B
D8	6,32 A	8,37 A	1001,8 A	465,89 A	123,21 A	187,53 A	20,50 A	0,342 A	0,85 A

Legenda: D6 – Digestato coletado com carga orgânica volumétrica de 6 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; D8 – Digestato coletado com carga orgânica volumétrica de 8 kgSTV.m⁻³.dia⁻¹; CE – condutividade elétrica. Estatística: As letras maiúsculas indicam diferença entre os tratamentos D6 e D8, para p<0,05 no teste de Tukey HSD.

Os maiores índices de germinação das sementes de alface ocorreram para o digestato de carga orgânica volumétrica menor, que apresentou teores de nitrogênio amoniacal e total menores, e valor de condutividade elétrica mais baixo. Alguns autores apontaram que o parâmetro condutividade elétrica apresentou correlação significativa com a fitotoxicidade. Coelho et al. (2018) obtiveram em seu estudo maiores taxas de germinação para os digestatos com menores valores de condutividade elétrica, sendo que alguns dos digestatos testados com alta condutividade suprimiram a germinação. Em outros estudos, foi verificada relação inversa entre a condutividade elétrica e a germinação de sementes. Albuquerque et al. (2012a) testaram 12 digestatos diferentes e cinco concentrações, em sementes de alface e agrião. Independente do digestato e da cultura, entretanto, digestato puro (100%) não provocou germinação em nenhuma semente. Os autores apontaram que o benefício máximo de nutrientes providos pelo digestato poderia ser obtido se a sua aplicação fosse em conjunto com a água de irrigação, ou seja, diluído.

A alta concentração de amônia e o nível de salinidade também são apontados como fatores inibidores que impedem a germinação das sementes. Di Maria et al. (2014) reportaram inibição da germinação de sementes de *Lepidium sativum* em concentrações de 16-25 gN-NH₄⁺/kg ST, enquanto Tigini et al. Tigini et al. (2016) observaram inibição do crescimento das espécies *Lepidium sativum* e *Cucumis sativum* para teores maiores que 2000mgL⁻¹ de N-NH₄⁺.

O efeito germinativo em digestato sólido e líquido foi avaliado com sementes de feijão-da-china (*Vigna radiata*), e foram observadas diferenças entre os tratamentos testados: dejetos bovinos puros, dejetos bovinos misturados com folhas de *Ipomoea* (uma planta), e uma mistura de palha de arroz com dejetos bovinos e forragens. Os autores Kataki et al. (2017) realizaram regressão linear para verificar os fatores que influenciam estas diferenças, observando que há uma correlação negativa entre condutividade elétrica e nitrogênio amoniacal com os digestatos testados. Os autores concluíram que os maiores efeitos fitotóxicos ocorreram no digestato líquido proveniente da mistura entre dejetos bovinos e folhas de *Ipomoea*, havendo relação direta com o teor de N amoniacal e a condutividade elétrica.

5.4.2 Ensaio com o digestato líquido e digestato sólido

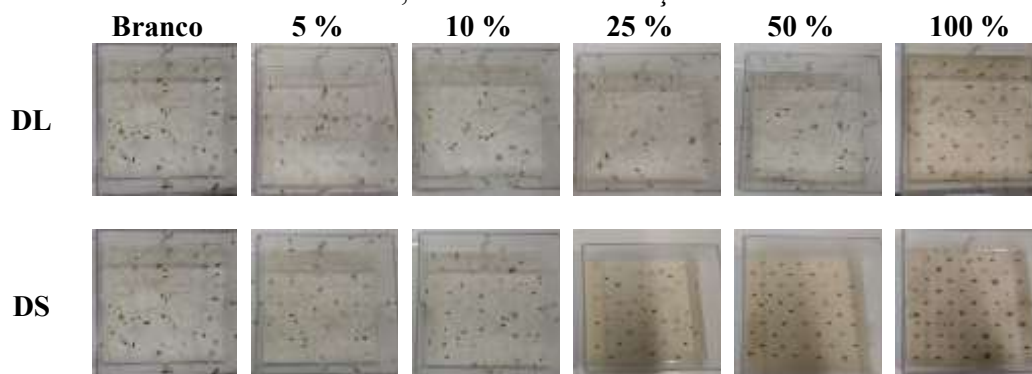
Conforme apresentado na metodologia, também foram realizados ensaios de germinação com os digestatos líquido e sólido utilizados nos experimentos com as plantas. Os resultados dos índices de germinação estão apresentados na Tabela 6, sendo que os valores dos cálculos intermediários da germinação relativa das sementes (GRS) e do crescimento relativo das raízes (CRR) estão apresentados no Apêndice 2. Na Figura 19 pode-se ver também a diferença visual entre as sementes germinadas para cada ensaio. Ressalta-se que, como o ensaio foi realizado no mesmo dia, o branco é o mesmo para ambos.

Tabela 6: Resultados dos índices de germinação para ensaios com o digestato líquido e sólido e respectivas diluições testadas.

Diluições	5%	10%	25%	50%	100%
IG Líquido (%)	101,80 aA	87,77 aA	52,18 bA	42,00 bA	0 cA
IG Sólido (%)	41,44 aB	17,78 bB	3,54 cB	0 cB	0 cA

Legenda: IG Líquido – Índices de germinação para o digestato líquido; IG Sólido – índices de germinação para o digestato sólido; Estatística: Letras minúsculas correspondem às diferenças entre as diluições, e letras maiúsculas entre os tratamentos (IG líquido e sólido), para p<0,05 no teste de Tukey HSD.

Figura 19: Sementes de alface após 7 dias de germinação com digestato líquido e sólido, em diferentes diluições.



Legenda: DL – Digestato líquido, também utilizado nos ensaios com vasos; DS – Digestato sólido, seco em estufa a 65 °C. Branco – Controle com água destilada; 5%, 10%, 25%, 50% e 100% – Diluições dos digestatos líquido e sólido.

A diferença entre os dois ensaios foi significativa, com especial destaque para o digestato líquido, que apresentou um resultado mais positivo em relação ao digestato sólido. Novamente não houve germinação para a quantidade de 100% digestato, possivelmente pelos mesmos fatores já apontados anteriormente. A germinação do digestato líquido à diluição de 5% mostrou-se inclusive superior ao branco, estimulando a germinação das sementes. Entretanto, para diluições acima de 25% o digestato causou toxidez às sementes, com diminuição dos índices de germinação, se for avaliado um IG mínimo de 70% para não ser considerado fitotóxico (MCLACHLAN et al., 2014). Os índices de germinação para o digestato sólido se mostraram muito baixos, possivelmente devido a sua alta carga de nutrientes bem como seu pH, em torno de 9,0 (Tabela 2), que, como já foi comentado, impacta na disponibilidade dos nutrientes para as plantas.

5.5 EXPERIMENTOS EM VASOS

O primeiro experimento em vasos teve seu início no dia 26 de julho de 2019, com o plantio das sementes de alface, sendo finalizado em 26 de setembro de 2019. Anteriormente, no dia 25 de julho foi feita a primeira rega para que fosse atingida a capacidade de campo do solo. A partir da data de plantio o crescimento foi acompanhado de forma contínua, com rega a cada dois dias, ou sempre que o solo apresentasse estar seco, com pouco umidade. As fotos para verificar o crescimento dos tratamentos foram tiradas semanalmente, e na Figura 20 é possível acompanhar o resultado de todos os tratamentos, no final do plantio.

Figura 20: Fotos do primeiro experimento em vasos

24/09 – Sétima semana após germinação, tratamento DS



02/09 – Quarta semana após germinação, tratamento 100% DL



24/09 – Sétima semana após germinação, tratamento MIN



24/09 – Sétima semana após germinação, tratamento MIN+DL



24/09 – Sétima semana após germinação, tratamento MIN+DS



02/09 – Quarta semana após germinação, tratamento controle



O tratamento DS, que corresponde ao digestato sólido, não apresentou bom desenvolvimento das alfaces ao longo das semanas, mas a partir da quinta semana, entretanto, as alfaces começaram a apresentar maior número de folhas, porém ainda com pouco desenvolvimento. O tratamento 100% DL, que é o digestato líquido na sua forma pura, apresentou resultado negativo, ou seja, não houve crescimento das alfaces. Tal resultado pode ter ocorrido devido à instabilidade do digestato, que ainda apresentava altos valores de DQO ao ser adicionado aos vasos.

Os tratamentos MIN e MIN+DL apresentaram os melhores resultados entre todos os testados no primeiro plantio. O tratamento MIN, em que foi realizada calagem do solo e uso de fertilizante mineral, já apresentou um bom desenvolvimento logo na segunda semana após a germinação das sementes. Da terceira para quarta semana ocorreu um bom desenvolvimento das plantas, que começaram a crescer e gerar novas folhas a cada semana, até o encerramento do ciclo. O tratamento MIN+DL, por sua vez, corresponde ao uso de fertilizante mineral misturado com o digestato líquido. Diferentemente do que ocorreu no tratamento com o digestato puro, a mistura com o MIN favoreceu o crescimento das alfaces, que se desenvolveram rapidamente. As alfaces do MIN+DL também apresentaram visualmente o maior crescimento dentre todos os tratamentos.

O tratamento controle, apresentado por último, corresponde ao solo puro sem nenhuma adição de fertilizante nem realização de calagem. Na quarta semana após germinação, as alfaces começaram a perder as folhas e não apresentaram crescimento, morrendo por fim na quinta semana. Isso possivelmente aconteceu devido à sensibilidade desta espécie de alface ao baixo pH do solo, o que será discutido mais adiante.

O segundo experimento em vasos teve seu início no dia 11 de outubro de 2019, quando foi feita a primeira rega para que fosse atingida a capacidade de campo do solo, finalizando em 11 de dezembro de 2019. A partir da data de plantio, em 14 de novembro, o crescimento foi acompanhado de forma contínua, com rega a cada dois dias, ou sempre que a terra já aparentasse estar seca. As fotos para verificar o crescimento dos tratamentos foram tiradas semanalmente, e pode-se acompanhar o resultado ao final do segundo experimento na Figura 21.

Figura 21: Fotos do segundo experimento em vasos

06/12 – Sétima semana após germinação, tratamento DS



06/12 – Sétima semana após germinação, tratamento 100% DL



06/12 – Sétima semana após germinação, tratamento MIN



6/12 – Sétima semana após germinação, tratamento MIN+DL



6/12 – Sétima semana após germinação, tratamento MIN+DS



6/12 – Sétima semana após germinação, tratamento controle



6/12 – Sétima semana após germinação, tratamento 50% DL



O tratamento DS, corresponde ao digestato sólido, não apresentou bom desenvolvimento das alfaces ao longo das semanas. Diferentemente do primeiro plantio, as alfaces não resistiram e morreram na quarta semana, mesmo sendo feita uma substituição das mudas para verificar se o problema era somente no plantio. Por outro lado, o tratamento 100% DL esboçou performance diferente neste plantio, com crescimento das alfaces ao longo das semanas, o que não havia ocorrido no primeiro experimento.

Assim como no primeiro experimento, os tratamentos MIN e MIN+DL apresentaram os melhores resultados entre todos os testados. O tratamento MIN, em que foi realizada calagem do solo e uso de fertilizante mineral, já apresentou um bom desenvolvimento logo na segunda semana após a germinação das sementes. Da terceira para quarta semana ocorreu um bom desenvolvimento das plantas, que começaram a crescer e gerar novas folhas a cada semana, até o encerramento do ciclo.

O tratamento MIN+DL, por sua vez, corresponde ao uso do fertilizante mineral em mistura com o digestato líquido, na razão de 1:1. A mistura com o fertilizante mineral rendeu um crescimento positivo das alfaces, que cresceram rapidamente e de forma bastante homogênea, apresentando inclusive maior crescimento das folhas em relação ao tratamento MIN. As alfaces deste tratamento apresentaram visualmente o maior crescimento e a maior quantidade de folhas entre todos os tratamentos.

O tratamento MIN+DS corresponde à mistura de 1:1 entre o digestato sólido e o fertilizante mineral. Neste tratamento as alfaces começaram a se desenvolver mais somente a partir da quinta semana. Apesar disso, elas permaneceram em crescimento até o final do ciclo, e visualmente cresceram mais do que no primeiro experimento. Já no tratamento controle as alfaces começaram a perder as folhas e nunca apresentaram crescimento, morrendo por fim na quinta semana, como ocorreu no primeiro experimento. No tratamento 50% DL, que corresponde ao digestato líquido diluído em água na proporção 1:1, as alfaces começaram a esboçar maior crescimento somente na penúltima semana do fim do plantio.

Alguns autores também testaram o digestato fazendo experimentos em vasos com alface. Mortola et al. (2019) avaliaram o efeito de digestato proveniente de reator alimentado com dejetos de galinha, utilizando potes de três litros para plantar alface, e com doses baixas e altas de digestato, além de um fertilizante mineral e do controle. Após 34 dias de plantio, a massa seca das alfaces foi medida e verificou-se que ela aumentou com a aplicação de uma dose mais elevada de digestato, o que foi associado à lenta liberação dos nutrientes para a planta após a aplicação.

Resultados similares ao de Mortola et al. (2019) foram encontrados no estudo de Sharifi et al. (2019), utilizando digestatos líquido e sólido advindos de usina de biogás que utiliza dejetos bovinos, silagem de milho e feno como substrato, para testar quatro taxas de aplicação do digestato e verificar as dinâmicas do nitrogênio. Os autores identificaram, testando na cultura do azevém, que a biomassa total da planta aumentou linearmente com a taxa de aplicação do digestato, com o valor maior na taxa mais alta. Estes resultados são similares aos do presente estudo, uma vez que o tratamento 100% DL no segundo plantio se mostraram melhores visualmente do que o tratamento 50% DL, com o mesmo digestato líquido, porém diluído 1:1 em água. Ao final do plantio foi visível que as alfaces do tratamento 50% DL começaram a apresentar sinais de crescimento, podendo ser também pela carga menor de nutrientes que atrasou a liberação para as plantas.

Assim como nos experimentos deste estudo, alguns autores também obtiveram melhor performance do digestato líquido em relação do digestato sólido, como Maurer et al. (2019). Os autores testaram quatro tipos de digestato: não tratado, fração líquida, fração sólida e fração sólida após secagem a 60°C em laboratório, coletados de duas usinas de biogás diferentes, sendo a primeira alimentada com dejetos líquidos e culturas energéticas, e a segunda somente com culturas energéticas, visando verificar as dinâmicas de P e N no plantio da cevada. Os autores realizaram o experimento em uma estufa durante 54 dias, até a coleta da cevada. Foi observado que a secagem do digestato trouxe um impacto negativo no crescimento das plantas, com menor crescimento da cevada nestes tratamentos. Ainda, os autores verificaram que o digestato não tratado também se mostrou uma fonte apropriada de nutrientes para as plantas.

Outros autores também testaram diferentes diluições do digestato e utilizando misturas com fertilizante mineral. Nicoletto et al. (2014) testaram cinco tratamentos: 50% digestato, 50% fertilizante mineral; 75% digestato; 25% mineral; 100% digestato e ainda dois controles, sendo um com fertilizante mineral e outro sem fertilização. Foram feitos dois plantios com alfaces das espécies cabeça de manteiga e batavia, utilizando digestato derivado de usina tratando frutas e borra, aplicando N, P e K com diferentes taxas. Os melhores resultados para o crescimento da primeira espécie foram do fertilizante mineral, seguido de 75% de digestato e 50% de digestato, respectivamente, enquanto para a espécie batavia não houve diferença para este parâmetro entre todos os tratamentos (com exceção da testemunha, com crescimento bem menor). No presente estudo, de forma geral, os melhores resultados também ocorreram para as misturas do digestato com o fertilizante mineral.

Um estudo realizado por Stoknes et al. (2016) verificaram que o digestato líquido de resíduo alimentar se mostrou tão bom quanto um fertilizante mineral em termos de nutrientes para culturas de ciclo curto, como a alface. Os autores testaram, entre outros substratos, o digestato advindo de turfa como fertilizante para a cultura da alface e de ervas e experimentando diferentes valores de pH e de condutividade elétrica. O maior crescimento das alfaces ocorreu para a fração líquida do digestato com pH de 6,5, sem muita influência da condutividade elétrica, que foi de 4,5, 8,5 e 6,5, respectivamente, do maior ao menor crescimento. Entretanto, para condutividade elétrica igual ou menor que 3,5 e pH maior que 8,0 o crescimento foi menor.

A diferença de crescimento entre o primeiro experimento (realizado no inverno/primavera) e o segundo (primavera/verão), para os tratamentos com o digestato, pode ter ocorrido devido à sua instabilidade. Apesar do mesmo digestato ter sido utilizado, ocorreu uma diferença de cerca de dois meses antes do segundo plantio ocorrer. Albuquerque et al. (2012b) observaram em seu estudo que o digestato que foi testado, correspondente a uma mistura de dejetos bovinos com glicerina, apresentou alta concentração de DQO (maiores que 10.000mg/L), razão DQO/Ntotal >5 e baixas porcentagens de Ntotal na forma de amônia podem ter causado imobilização do nitrogênio devido à instabilidade dos materiais.

O digestato utilizado no primeiro experimento, neste estudo, havia sido recém retirado do digestor, enquanto para o segundo experimento este mesmo digestato ficou um tempo armazenado, o que possivelmente diminuiu o seu teor de DQO, conforme o que aconteceu com o digestato que foi armazenado ao longo dos meses (vide item 5.1). Outros autores como de La Fuente et al. (2013, 2010), Jorgensen e Jensen (2009) e Kirchmann e Lundvall (1993) verificaram a imobilização de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ no solo devido à presença de carbono orgânico facilmente degradável como fonte de energia, o que dificultou a disponibilidade de N para as plantas absorverem.

5.6 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALISADOS NO SOLO E NA PLANTA

A seguir são discutidos os resultados dos parâmetros medidos e analisados para ambos os plantios, primeiramente de forma separada, para em seguida ser feita uma comparação entre os experimentos. O Plantio 1 se refere ao primeiro experimento (inverno/primavera), e o Plantio 2 ao segundo (primavera/verão).

5.6.1 Temperatura da casa de vegetação

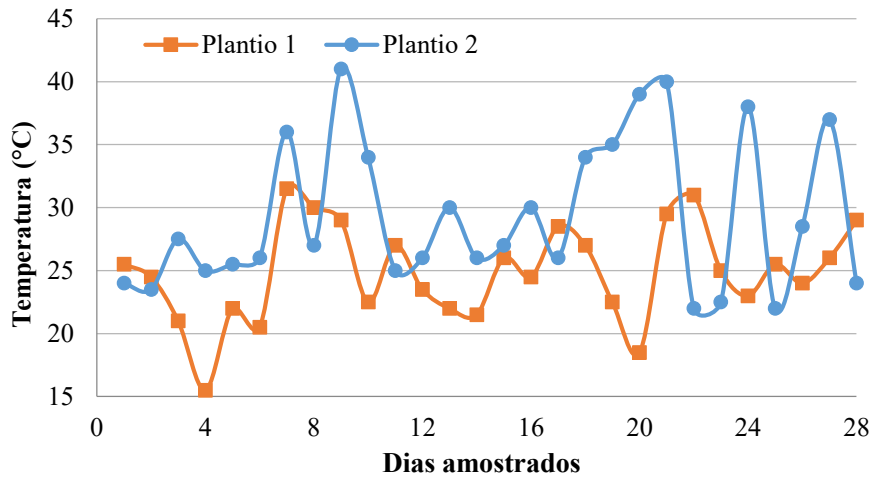
A temperatura na casa de vegetação foi medida todos os dias em que ocorreu a rega das alfaces, totalizando 28 dias tanto para o primeiro plantio quanto para o segundo. As temperaturas máxima e mínima e a média para cada plantio estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7: Temperaturas máxima, mínima e média na casa de vegetação

	T máxima (°C)	T mínima (°C)	T média (°C)
Plantio 1	31,5	15,5	24,9±3,8
Plantio 2	41,0	22,0	29,5±5,9

Pelo teste de Tukey HSD verificou-se diferença entre as médias ($p < 0,05$), ou seja, ocorreu de fato aumento da temperatura no segundo plantio, indicando que esta variável teve influência nos experimentos. A variação da temperatura ao longo dos dias está apresentada na Figura 22. No plantio de inverno-primavera as temperaturas mínimas ficaram mais próximas de 20°C, e no plantio primavera-verão foram de 25°C. Por outro lado, no plantio primavera-verão os valores máximos passaram de 35°C, o que não ocorreu no plantio de inverno-primavera.

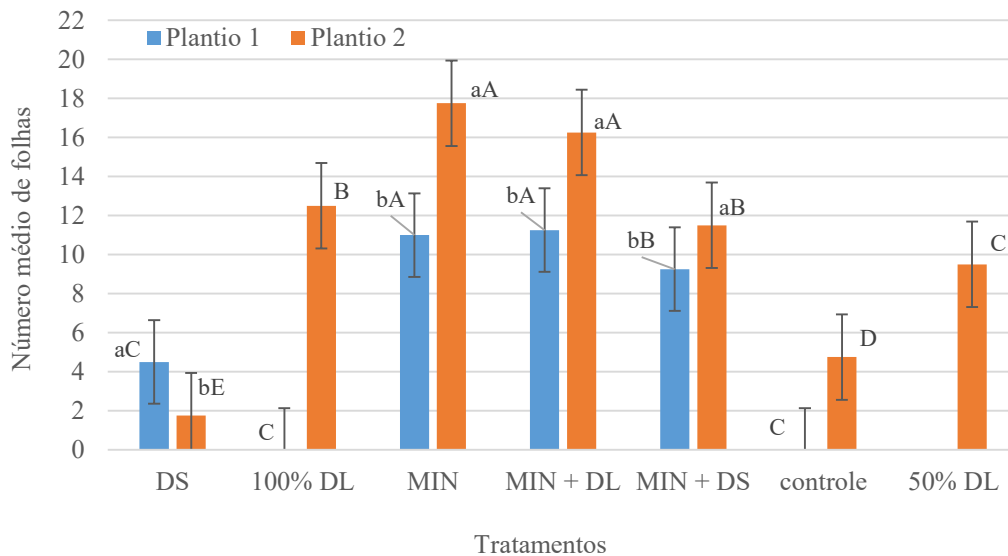
Figura 22: Variação da temperatura na casa de vegetação para os dois plantios



5.6.2 Número de folhas, comprimento e largura da maior folha

Conforme explicado anteriormente, a partir de cerca de 40 dias para cada plantio foi iniciada a contagem do número de folhas e medição do comprimento e largura da maior folha para cada alface que se desenvolveu, com o objetivo de verificar o crescimento das alfaces ao longo do tempo. O número de folhas está apresentado na Figura 23, para o plantio inverno-primavera (plantio 1) e primavera-verão (plantio 2), e para todos os tratamentos.

Figura 23: Número médio de folhas para cada tratamento em ambos os plantios



Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Em relação ao número de folhas do primeiro plantio, somente os tratamentos MIN e MIN+DL se enquadraram em um mesmo grupo estatístico, com média de 11 folhas em cada planta. No segundo plantio isto também ocorreu, contudo, os tratamentos MIN e MIN+DL apresentaram uma média de 16 a 18 folhas em cada planta. Em seguida, os tratamentos MIN+DS e 100% DL, situados em um mesmo grupo estatístico, apresentaram média de 11 a 13 folhas em cada planta. Entre os plantios, houve diferença estatística significativa para os tratamentos MIN, MIN+DL e MIN+DS, ou seja, houve maior produção foliar no segundo experimento em relação ao primeiro. O único tratamento em que ocorreu menor produção foliar foi o DS, sendo que em ambos os plantios as plantas não apresentaram muitas folhas, com média de uma a quatro nas replicatas. O comprimento e a largura da maior folha estão apresentados na Tabela 8. Os tratamentos 100% DL e o controle não foram apresentados no primeiro plantio devido ao pouco ou nenhum crescimento das alfaves.

Tabela 8: Comprimento e largura da maior folha para ambos os plantios

Comprimento da maior folha (gramas)				
Tratamentos	Plantio 1	Plantio 2	CV ₁ (%)	
DS	4,8±1,1 aC	1,0±0,0 bE	18,02	
100% DL	NA	12,2±2,1 C	NA	
MIN	15,3±0,8 bA	18,6±1,9 aA	3,78	
MIN + DL	16,3±0,3 bA	18,4±1,6 aA	6,59	
MIN + DS	12,5±1,1 bB	16,4±1,0 aB	7,33	
Controle	NA	4,00±0,4 D	NA	
50% DL	NA	11,6±0,6 C	NA	
CV ₂ (%)	8,41	8,84		
Largura da maior folha (gramas)				
Tratamentos	Plantio 1	Plantio 2	CV ₁ (%)	
DS	2,0±0,5 aC	1,0±0,0 bC	21,43	
100% DL	NA	8,5±0,6 B	NA	
MIN	11,4±0,7 bA	13,3±0,7 aA	5,47	
MIN + DL	11,8±1,2 aA	12,3±0,9 aA	5,79	
MIN + DS	10,1±1,2 aB	9,8±1,4 aB	13,43	
Controle	NA	2,6±0,5 C	NA	
50% DL	NA	7,9±0,8 B	NA	
CV ₂ (%)	13,85	15,47		

Legenda: NA – não avaliado. DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. NA: não avaliado ou medido. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

No primeiro plantio, para o comprimento da maior folha, os tratamentos MIN e MIN+DL novamente se enquadraram em um mesmo grupo. O tratamento MIN+DS se mostrou diferente dos demais, assim como o tratamento DS. Já no segundo plantio, para o comprimento da maior folha, novamente MIN e MIN+DL se enquadraram em um mesmo grupo, com os maiores valores, seguidos pelo tratamento MIN+DS. Os tratamentos 100 % DL e 50% DL, do digestato líquido, também formaram um grupo,

Em relação à largura da maior folha, tanto para o primeiro quanto para o segundo plantio, os tratamentos MIN e MIN+DL se enquadraram novamente em um mesmo grupo estatístico e apresentaram os maiores valores. Em seguida, para ambos os experimentos, foi o tratamento MIN+DS. Contudo, no segundo plantio os tratamentos 100% DL e 50% DL também se enquadraram no mesmo grupo estatístico do tratamento MIN+DS.

Entre os plantios, todos os tratamentos avaliados apresentaram diferença estatística para o comprimento da maior folha, mas somente o tratamento DS apresentou um valor menor no segundo plantio. Para a largura da maior folha, somente o tratamento MIN não apresentou diferença estatística, e somente no tratamento DS a média foi menor. Uma vez que somente o tratamento DS apresentou piora no crescimento das alfaces, observa-se que o crescimento das plantas com o uso do digestato seco não teve influência da temperatura na casa de vegetação, e provavelmente outros fatores influenciaram, que serão discutidos mais adiante.

Alguns autores também avaliaram o crescimento das plantas em seus experimentos com digestato. Chiconato et al. (2011) avaliaram biofertilizante advindo de um biodigestor que trata resíduos de bovinocultura na cultura da alface, do grupo Crespa, e avaliaram a altura das plantas, número de folhas e diâmetro. Após 35 dias de plantio, não foi encontrada diferença estatística em termos de número de folhas para estes três parâmetros, o que segundo os autores foi devido ao biofertilizante ser líquido e proporcionar maior quantidade de água para a planta. Os autores testaram várias doses, verificando que a maior delas apresentou maior crescimento das folhas, bem como maior quantidade, igualando ou superando a adubação mineral para dose de 60 m³/ha.

5.6.3 Massa fresca, seca e massa da raiz

A Tabela 9 mostra os valores médios de massa fresca e massa seca, obtidos pela pesagem do tecido vegetal retirado de cada vaso, para ambos os plantios e para cada tratamento. Alguns tratamentos não estão apresentados devido ao baixo ou nenhum crescimento das alfaces.

Tabela 9: Valores médios de massa fresca e massa seca das plantas de alface para ambos os plantios

Massa fresca das alfaces (gramas)			
Tratamentos	Plantio 1	Plantio 2	CV ₁ (%)
DS	NA	NA	NA
100% DL	NA	17,08±5,1 D	NA
MIN	22,00±1,0 bA	47,01±4,0 aA	8,27
MIN + DL	17,73±1,5 bB	38,75±5,7 aB	14,82
MIN + DS	14,48±3,1 bB	28,95±6,1 aC	22,10
Controle	NA	NA	NA
50% DL	NA	7,86±1,4 E	NA
CV ₂ (%)	11,30	17,06	
Massa seca das alfaces (gramas)			
Tratamentos	Plantio 1	Plantio 2	CV ₁ (%)
DS	NA	NA	NA
100% DL	NA	2,05±0,7 D	NA
MIN	3,01±0,2 bA	5,09±0,5 aA	8,95
MIN + DL	2,99±0,6 bA	3,97±0,7 aB	14,83
MIN + DS	2,01±0,4 bB	2,99±0,5 aC	19,11
Controle	NA	NA	NA
50% DL	NA	0,51±0,1 E	NA
CV ₂ (%)	15,59	18,52	

Legenda: NA – não avaliado. DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott Knott).

Para o parâmetro massa fresca, no primeiro plantio, o valor mais elevado foi para o tratamento MIN, seguido dos tratamentos MIN+DL e MIN+DS. No segundo plantio, por outro lado, os tamanhos das alfaces foram diferentes em cada tratamento, sendo os maiores correspondentes ao MIN, MIN+DL e MIN+DS, o que ocorreu também para a massa seca. No primeiro plantio, para o parâmetro massa seca, os tratamentos MIN e MIN+DL foram iguais, com os valores mais elevados. Entre os plantios, houve diferença estatística para ambos os parâmetros e em todos os tratamentos, indicando que a temperatura pode ter contribuído com o aumento da disponibilidade de nutrientes e consequente maior crescimento plantas de alfaces.

A Tabela 10 mostra os valores médios da massa das raízes das alfaces e do teor de umidade calculado para cada tratamento. Para as plantas que não cresceram o cálculo não foi realizado.

Tabela 10: Valores médios de massa radicular e teor de umidade

Massa das raízes (gramas)					
Tratamentos	Plantio 1		Plantio 2		CV ₁ (%)
DS	NA		NA		NA
100% DL	NA		0,67±0,2	B	NA
MIN	0,85±0,0	bA	1,38±0,2	aA	13,80
MIN + DL	0,64±0,1	bA	1,47±0,2	aA	14,02
MIN + DS	0,64±0,3	aA	0,85±0,2	aB	30,28
Controle	NA		NA		NA
50% DL	NA		0,22±0,1	C	NA
CV ₂ (%)	25,34		20,42		
Umidade das plantas (%)					
Tratamentos	Plantio 1		Plantio 2		CV ₁ (%)
DS	NA		NA		NA
100% DL	NA		92,28±2,9	A	NA
MIN	86,32±0,6	bA	89,17±0,4	aB	0,60
MIN + DL	84,76±1,1	bA	89,74±1,1	aB	1,21
MIN + DS	86,09±0,3	bA	91,62±1,6	aA	4,89
Controle	NA		NA		NA
50% DL	NA		93,50±0,33	A	NA
CV ₂ (%)	1,22		1,71		

Legenda: NA – não avaliado. DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott Knott).

Com relação à massa das raízes no primeiro plantio, os tratamentos MIN, MIN+DL e MIN+DS se enquadram em um mesmo grupo estatístico. No segundo plantio, os tratamentos MIN e MIN+DL apresentam os maiores valores, estando em um mesmo grupo, seguidos pelo tratamento MIN+DS e 100% DL. Entre os plantios, a massa seca nos tratamentos MIN e MIN+DL apresentaram valores maiores, já o tratamento MIN+DS não apresentou diferença significativa.

Em termos de diferença entre os plantios, o parâmetro umidade apresentou igualdade estatística para os tratamentos MIN, MIN+DL e MIN+DS. No segundo plantio, os maiores valores foram dos tratamentos 100% DL, MIN+DS e 50% DL. Entre os plantios, todos os teores de umidade foram mais elevados para o segundo experimento, com diferença estatística significativa.

Alguns autores também avaliaram estes parâmetros buscando analisar a aplicação do digestato como fertilizante. Barbosa et al. (2014) testaram três espécies diferentes de plantas com digestato advindo de uma usina que trata silagem de milho como principal substrato. Após o experimento, a parte superior das plantas, correspondente ao caule e folhas, apresentaram crescimento superior ao do controle, enquanto não foi observada diferença estatística para as raízes entre os tratamentos.

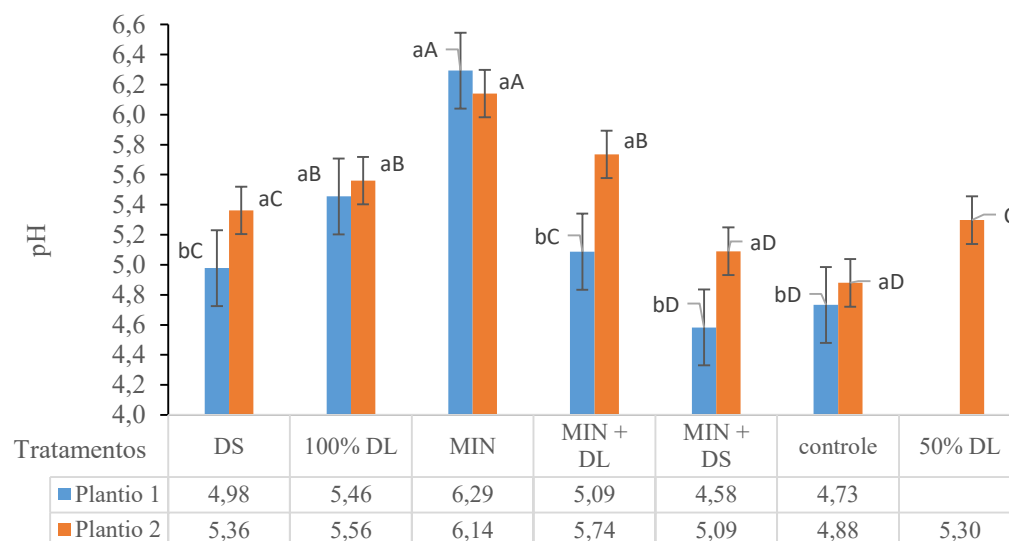
Alguns autores testaram diferentes doses de biofertilizante originado de dejetos bovinos, Chiconato et al. (2011), em seu estudo, em que não ocorreu diferença estatística significativa para as massas fresca e seca da parte aérea da espécie de alface testada (grupo Crespa). Em termos de massa fresca, os valores variaram aproximadamente entre 10 e 25 gramas, enquanto para a massa seca foi entre 1 e 4 gramas, sendo que os maiores valores foram para a adubação mineral e para a maior dosagem de biofertilizante, respectivamente.

Outros autores realizaram experimentos com trigo (*Triticum* spp. L) em estufa durante 120 dias, utilizando digestato e comparando com um controle, bem como com solo fertilizando com uréia. Pampillón-González et al. (2017) verificaram que a massa fresca das raízes e das folhas obteve maiores valores para os tratamentos com digestato e com uréia, que foram estatisticamente iguais, seguidos do controle. Para o peso seco nas folhas não houve diferença estatística entre os três tratamentos.

5.6.4 pH e índice SMP do solo após os experimentos

A Figura 24 apresenta os valores de pH para ambos os plantios e para ambos os experimentos. Os valores de pH estão apresentados na parte inferior do gráfico, e as diferenças estatísticas são apresentadas junto das barras de desvio padrão.

Figura 24: Valores médios de pH em ambos os plantios e em todos os tratamentos



Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

No primeiro plantio, o tratamento MIN, que recebeu calagem, apresentou o maior valor e foi estatisticamente diferente dos demais. O segundo maior valor foi do tratamento 100% DL, seguido dos tratamentos MIN+DL e DS. Embora no tratamento MIN+DL as alfaces não tenham se desenvolvido, o digestato provocou aumento significativo no pH, quando se compara ao controle, solo sem fertilização. O tratamento MIN+DS apresentou valores mais baixos, bem como o tratamento controle, mas somente as sementes das alfaces do tratamento MIN+DS se desenvolveram, ou seja, a fertilização foi importante para que as plantas crescessem.

No segundo plantio, o maior valor de pH novamente ocorreu para o tratamento MIN, seguido dos tratamentos MIN+DL e 100% DL. O pH novamente foi mais elevado do que o controle tanto para o tratamento 100% DL quanto para o DS, o que pode indicar que o digestato aumenta o pH do solo, uma vez que nenhuma calagem foi aplicada. O baixo ou nenhum desenvolvimento das alfaces no tratamento com DS, entretanto, evidencia que o pH do solo não é o único parâmetro que influencia no crescimento das plantas. Entre os plantios, houve diferença significativa para os tratamentos DS, MIN+DL, MIN+DS e controle, com valores mais elevados no segundo plantio.

A alface cresce melhor no pH de 6,0 (SBSC, 2016), que se enquadra na faixa em que os nutrientes se tornam mais disponíveis. Um estudo de Malavolta et al. (1985) com tomateiro, alface e grama bermuda verificou que o crescimento máximo das plantas se sucedeu em pH entre 6,0 e 7,0, sendo que em valores extremos (pH muito alto ou muito baixo), as plantas morreram ou apresentaram acentuada diminuição do crescimento. Ainda, solos ácidos se caracterizam pela presença de alumínio tóxico que é prejudicial para as plantas, influenciando no desenvolvimento do sistema radicular (MALAVOLTA, 1979).

Alguns autores como Dubski et al. (2019) observaram diferença no crescimento das alfaces conforme o pH do digestato. Os autores testaram diferentes proporções de 20, 40, 60 e 80% de volume de digestato proveniente de usinas de biogás que utilizam turfa como substrato, plantando três espécies diferentes em uma estufa, sem adicionar calagem nos vasos. Os autores observaram que nas proporções de 60% e 80% a biomassa da espécie *Petunia* diminuiu, o que foi atribuído à falta de disponibilidade dos nutrientes para estas plantas nos elevados valores de pH de 7,2 e 8,3, respectivamente.

As médias do índice SMP podem ser visualizadas na Tabela 11, para todos os tratamentos em ambos os plantios. Diferentemente dos outros parâmetros, a análise foi feita com ANOVA e uso do teste Tukey HSD, uma vez que a proximidade entre os valores não permitiu a análise pelo teste Scott-Knott.

Tabela 11: Valores médios de SMP para o solo em ambos os plantios e em todos os tratamentos

Tratamentos	Índice SMP				CV ₁ (%)
	Plantio 1		Plantio 2		
DS	6,32	aC	6,20	bC	1,19
100% DL	6,54	aB	6,39	bB	1,50
MIN	7,15	aA	7,01	bA	1,42
MIN + DL	6,38	aC	6,24	bC	1,22
MIN + DS	6,17	aD	6,19	aC	0,54
Controle	6,21	aD	6,16	aC	0,99
50% DL	NA		6,36	B	NA
CV ₂ (%)	5,30		4,48		

Legenda: NA – não avaliado. DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios, letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (p<0,05 pelo teste de Tukey HSD).

No primeiro plantio, o único tratamento que se mostrou estatisticamente diferente de todos os restantes foi o MIN. O tratamento 100% DL apresentou o segundo maior valor de SMP, seguido por MIN+DL e DS. Os menores valores foram dos tratamentos controle e MIN+DS. No segundo plantio os resultados foram semelhantes, com o tratamento MIN com valor mais elevado, seguido pelo tratamento 100% DL e 50% DL, que foram iguais. Comparando-se os dois plantios, não houve diferença estatística entre os tratamentos MIN+DS e o controle. Diferentemente do pH, o índice SMP foi menor na maior parte dos tratamentos. De forma geral, entretanto, o baixo valor dos coeficientes de variação evidencia que este parâmetro não se alterou tanto quanto o pH para ambos os experimentos.

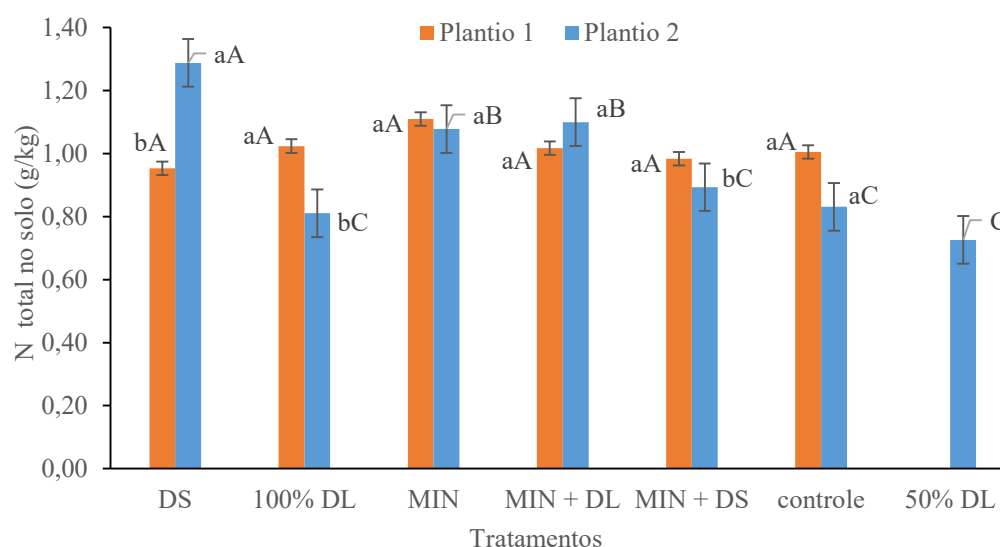
Os valores de SMP são utilizados no Rio Grande do Sul e Santa Catarina para o cálculo da calagem a ser aplicada nos solos. Quanto menor o valor de SMP, maiores serão as doses de calcário necessárias para corrigir o pH. Sendo assim, é interessante observar que os valores de SMP para o digestato líquido, tanto o 100% DL quanto o 50% DL, apresentaram valores mais altos e maiores do que o do controle, o que novamente indica que o digestato provocou efeitos positivos ao melhorar características do solo.

5.6.5 Nutrientes no solo

- **Nitrogênio no solo**

Na Figura 25, estão apresentados os teores de nitrogênio no solo após o término dos plantios, para cada tratamento. No primeiro plantio não houve diferença significativa para o nitrogênio do solo em todos os tratamentos. Por outro lado, no segundo plantio, os maiores teores de nitrogênio foram encontrados no solo do tratamento DS, seguido pelos tratamentos MIN e MIN+DL.

Figura 25: Teores de nitrogênio total no solo em ambos os plantios e em todos os tratamentos



Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Entre os plantios, ocorreu diferença significativa para os tratamentos DS, 100% DL e MIN+DS. Para o tratamento DS, o aumento do N no solo no segundo experimento pode ter ocorrido porque as alfaces não cresceram, e o tecido foliar murchou e caiu no solo. No primeiro plantio, por outro lado, ocorreu um pequeno crescimento das alfaces neste tratamento, o que pode indicar a absorção do N presente no solo. O mesmo pode ter ocorrido no tratamento 100% DL, em que as alfaces somente cresceram no segundo plantio; o N no solo também diminuiu, ou seja, as alfaces que cresceram possivelmente absorveram o nutriente, o que não ocorreu no primeiro plantio para este tratamento. Os efeitos em solos de arrozal e de planaltos no Japão provocados por digestato produzido por via seca e por via úmida foram testados em laboratório no estudo de Sawada e Toyota (2015). O digestato seco, advindo de resíduos de cozinha e papel como substrato, com pH 8,8 e C/N 23,4, apresentou maior nitrificação líquida para ambos os solos durante 7 dias após aplicação. Os autores apontaram que o efeito do digestato com maior pH, apresentado pelo seco, na lixiviação do nitrato, deve ser considerada quando da sua aplicação como fertilizante, o que os autores apontaram como ponto de atenção para digestato com maior pH, devido ao aumento da possível lixiviação do nitrato.

Alguns autores observaram, em experimentos de incubação, a relação entre a mineralização do nitrogênio e a relação C/N de digestatos sólidos e líquidos. Andruschkewitsch et al. (2012) realizaram um experimento em vasos durante 5 meses em solo arenoso, com a cultura do azevém perene (*Lolium perene L.*). Os tratamentos foram: digestato líquido de silagem de grama, digestato completo de culturas vegetais e um fertilizante mineral. Os autores associaram uma menor razão C/N do digestato líquido a uma maior mineralização do nitrogênio, que teria aumentado portanto o N disponível no solo para as plantas. A menor proporção de partículas grossas no digestato líquido também foi apontada pelos autores como uma facilitação para que uma maior quantidade de N infiltre no solo.

- **Carbono no solo e matéria orgânica**

Os teores de carbono orgânico total no solo para cada tratamento estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Teores de carbono orgânico total no solo em ambos os plantios

Tratamentos	Carbono orgânico total – COT (%)				CV ₁ (%)
	Plantio 1		Plantio 2		
DS	1,29±0,09	bA	2,12±0,13	aA	5,64
100% DL	1,33±0,13	bA	1,82±0,12	aC	7,81
MIN	1,23±0,06	bB	1,93±0,13	aB	5,33
MIN + DL	1,44±0,12	bA	1,69±0,10	aC	5,34
MIN + DS	1,12±0,04	aB	1,25±0,09	aD	7,99
Controle	1,16±0,04	bB	2,06±0,06	aA	4,86
50% DL	NA		2,08±0,09	A	
CV ₂ (%)	8,98		5,01		

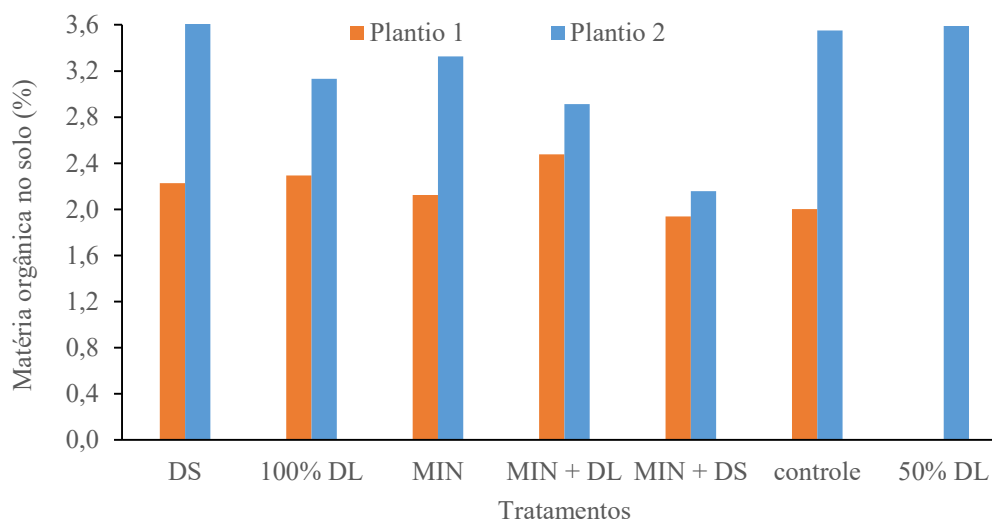
Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

No primeiro plantio, os valores mais elevados de COT no solo foram dos tratamentos MIN+DL, 100% DL e DS, ou seja, tratamentos em que foi aplicado o digestato. No segundo plantio, novamente o tratamento DS apresentou o maior teor de carbono no solo, juntamente com os tratamentos 50% DL e controle. Entre os plantios, o único tratamento que não obteve teores mais elevados de carbono no segundo experimento foi o MIN+DS.

Em um experimento de incubação realizado em laboratório, Muscolo et al. (2017) testaram as frações sólidas líquidas do digestato *Fattoria*, advindo de usina que utiliza dejetos animais misturados com soro de leite e silagem de milho, e o digestato *Uliva*, advindo de usina que utiliza resíduos da indústria de azeite com polpa cítrica e dejetos. O solo tratado com a fração sólida de ambos os digestatos apresentou maior teor de matéria orgânica e razão C/N, embora ambos tenham aumentado o carbono orgânico do solo a curto prazo, devido ao seu alto teor de matéria orgânica. Estes resultados foram de acordo com os dos autores García-Sánchez et al. (2015), em que as propriedades químicas do solo aumentaram após um tempo curto de tratamento (30 dias).

A matéria orgânica para ambos os experimentos também foi calculada, considerando-se que 58% dela é constituída pelo carbono do solo (NOVAIS et al., 2007), e está apresentada na Figura 26. A matéria orgânica inicial do solo era de 3,1%, e ela provavelmente diminuiu em todos os tratamentos devido à sua mineralização e incorporação pelas alfaces durante o seu crescimento.

Figura 26: Teores de matéria orgânica no solo ao final dos experimentos



Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

- **Relação C/N**

A relação C/N também é um indicador importante da decomposição da matéria orgânica do solo, dando informação sobre o estado de humificação. Na decomposição da matéria orgânica dos solos a relação C/N é muito importante para a determinação da competição entre os nutrientes essenciais para a atividade dos microrganismos do solo (LUCHESE et al., 2002). Os valores de relação C/N calculadas para este estudo estão apresentados na Tabela 13. Não foi feita análise estatística deste parâmetro por se tratar de uma relação calculada a partir das médias dos resultados de carbono e nitrogênio para o solo.

Tabela 13: Relação C/N do solo em ambos os plantios e em todos os tratamentos

Tratamentos	C/N Plantio 1	C/N Plantio 2
DS	13,6	16,5
100% DL	13,0	22,4
MIN	11,1	17,9
MIN + DL	14,1	15,4
MIN + DS	11,4	14,0
Controle	12,2	24,8
50% DL	-	28,7

Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água.

No primeiro plantio as relações C/N apresentaram valores mais próximos, sendo os menores valores para os tratamentos MIN e MIN+DS, seguidos pelo tratamento controle. No segundo plantio, os maiores valores foram para o tratamento 100% DL, seguidos pelo 50% DL e o controle. A diferença entre os plantios indica que as dinâmicas do carbono e do nitrogênio no solo também variam com a temperatura.

Os microrganismos do solo utilizam o nitrogênio (N) como energia e o carbono (C) oriundo dos restos vegetais para formarem tecidos do próprio corpo, e o N excedente é liberado para o solo e colocado à disposição das plantas para o seu desenvolvimento e produção (MELLO et al, 1983). No segundo plantio, os tratamentos 50% DL e 100% DL apresentaram valores mais elevados da relação C/N do solo, sendo uma possibilidade para este aumento a diminuição do nitrogênio devido à absorção pelas alfaves.

- **Fósforo no solo**

Foram determinados os teores de fósforo no solo para os diferentes tratamentos e em ambos os plantios, apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Teores médios de fósforo no solo em ambos os plantios e para todos os tratamentos

Teores de fósforo no solo (g/kg)					
Tratamentos	Plantio 1		Plantio 2		CV ₁ (%)
DS	0,013±0,002	aC	0,013±0,001	aC	10,20
100% DL	0,014±0,001	aC	0,008±0,000	bD	9,09
MIN	0,079±0,004	aA	0,060±0,001	bA	3,89
MIN + DL	0,034±0,005	aB	0,032±0,004	aB	16,29
MIN + DS	0,034±0,004	aB	0,031±0,003	aB	14,42
Controle	0,007±0,002	bC	0,014±0,003	aC	19,03
50% DL	-		0,012±0,001	C	
CV ₂ (%)	13,82		10,20		

Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Tanto no primeiro quanto no segundo experimento, o tratamento MIN apresentou os teores mais elevados de fósforo no solo, seguidos pelos tratamentos MIN+DL e MIN+DS. No primeiro plantio o menor teor de fósforo foi o do tratamento controle, enquadrado no mesmo grupo estatístico dos tratamentos DS e 100% DL. No segundo plantio, o menor valor foi do tratamento 100% DL.

Conforme as análises preliminares do solo, o teor de fósforo inicial era de 0,007 g/kg, ou seja, o solo já era originalmente muito pobre em fósforo. Em ambos os plantios, portando, é visível que os tratamentos elevaram o teor de fósforo no solo, embora isso só tenha ocorrido de forma mais significativa nos tratamentos em que ocorreu mistura com fertilizante mineral.

Em princípio o digestato funcionou melhor como fertilizante nitrogenado do que fosfatado, uma vez que para o nitrogênio no solo os teores foram muito similares. Uma vez que a aplicação dos digestatos líquido e sólido também foi feita com base no nutriente limitante, que era o nitrogênio, é de se esperar carência dos outros nutrientes que não foram suplementados, como o fósforo e o potássio. Os fertilizantes orgânicos, de uma forma geral, devem ter suplementação de outros nutrientes.

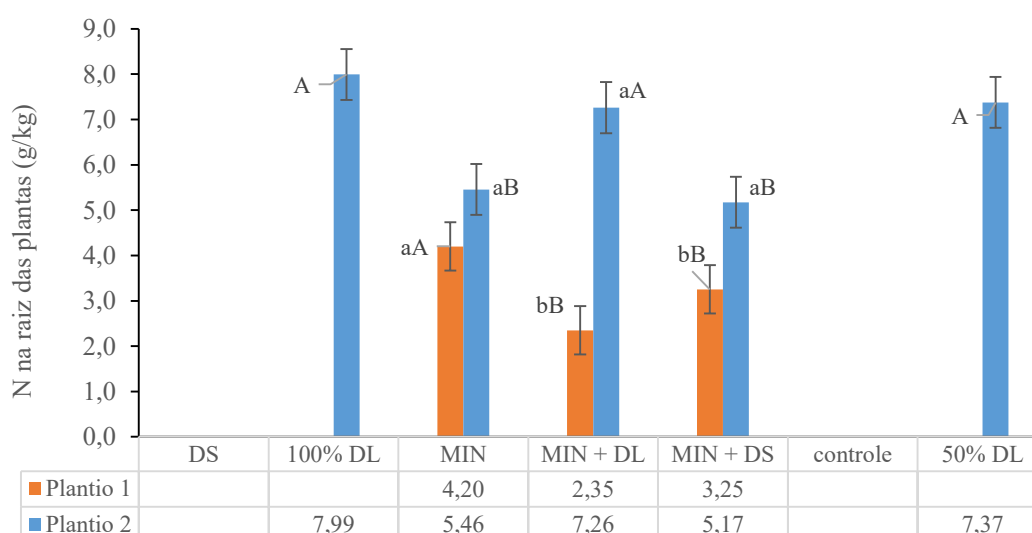
A diferença estatística entre os plantios, para o fósforo no solo, só ocorreu para os tratamentos 100% DL, MIN e o controle. A diminuição da quantidade de fósforo nos tratamentos 100% DL e MIN pode ter ocorrido devido à maior absorção deste nutriente pelas plantas, que apresentaram maior crescimento no segundo plantio. Quanto ao tratamento controle, o aumento pode ter ocorrido por alguma reação no solo entre cada um dos experimentos.

5.6.6 Nutrientes nos tecidos vegetais

- **Nitrogênio total nas raízes e nas folhas**

Os teores de nitrogênio total foram medidos tanto nas raízes quanto nas folhas, para alguns dos tratamentos e em ambos os plantios, sendo que os resultados encontram-se apresentados na Figura 27.

Figura 27: Teores de nitrogênio total nas raízes das plantas

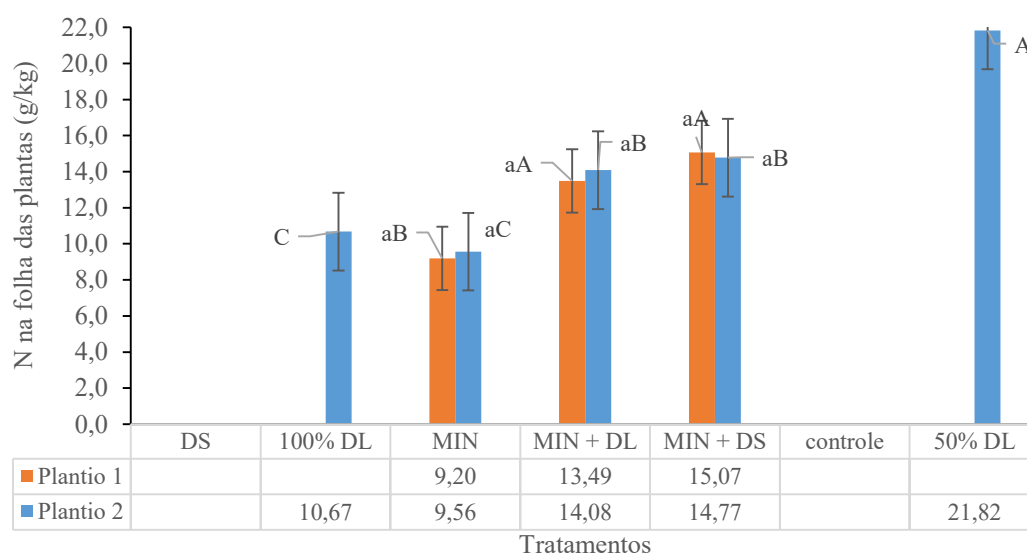


Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Para o primeiro plantio, o maior teor de nitrogênio na raiz das plantas foi encontrado no tratamento MIN, seguido pelos tratamentos MIN+DL e MIN+DS, estando estes em um mesmo grupo estatístico. No segundo experimento foram os tratamentos com o digestato líquido 100% DL, 50% DL e MIN+DL, que apresentaram maiores teores de nitrogênio na raiz das plantas, seguidos por MIN e MIN+DS.

Os maiores teores de N no digestato líquido vem de acordo com o que outros autores já verificaram sobre o digestato líquido ser um bom fertilizante nitrogenado (LIEDL et al., 2006; DROSG et al., 2015; INSAM et al., 2015). Entre os plantios, a diferença foi bastante significativa para os tratamentos MIN, MIN+DL e MIN+DS. Provavelmente o aumento da temperatura incentivou a mineralização do nitrogênio e o tornou mais disponível para as plantas, que absorveram no seu tecido de forma mais rápida. Para os tratamentos MIN+DL e MIN+DS, o pH aumentou de forma significativa (Figura 24), o que possivelmente colaborou com o aumento da disponibilidade dos nutrientes para as alfaces. O teor de nitrogênio das folhas também foi calculado, e os resultados estão apresentados na Figura 28.

Figura 28: Teores de nitrogênio total nas folhas das plantas



Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Os teores de nitrogênio nas folhas das alfaces, no primeiro plantio, foram mais elevados para os tratamentos MIN+DL e MIN+DS. No segundo plantio, os maiores valores foram do tratamento 50% DL, seguido dos tratamentos MIN+DL e MIN+DS, iguais estatisticamente. Em termos de teor de nitrogênio nas folhas, não ocorreu diferença estatística entre os plantios para os tratamentos MIN, MIN+DL e MIN+DS, diferentemente do que ocorreu para o N das raízes das plantas.

Os teores adequados de N nas plantas, para um crescimento normal, variam entre 20 e 50 gkg⁻¹. Plantas deficientes apresentam teores foliares menores que 10 g/kg (NOVAIS et al., 2007). Avaliando-se todos os tratamentos em ambos os plantios, em que houve crescimento das alfaces, observa-se que nenhuma apresentou deficiência em nitrogênio, o que demonstra que o digestato supriu a necessidade das alfaces por este nutriente.

Os autores Barbosa et al. (2014) também calcularam o teor de nitrogênio nas raízes e folhas, mas para *Sida hermafrodita*, *Zea Mays* L. e *Medicago sativa* L. utilizando biogás proveniente da digestão de silagem de milho. Os valores foram de 23,5, 12,4 e 37,7 gkg⁻¹, respectivamente, para cada espécie no tecido radicular; e de 37,1, 20,1 e 38,3 gkg⁻¹, respectivamente, para o tecido foliar. Os valores, entretanto, foram mais baixos do que os tratamentos com fertilizante mineral para as primeiras duas espécies, e a terceira obteve os maiores valores com o digestato.

Além do nitrogênio na raiz e nas folhas, foi feito o cálculo para o nitrogênio acumulado, ou seja, o teor de N multiplicado pela massa do tecido (Tabela 15).

Tabela 15: Nitrogênio acumulado nas raízes e nas folhas das plantas

Nitrogênio acumulado nas raízes das alfaces (g/vaso)					
Tratamentos	Plantio 1		Plantio 2		CV ₁ (%)
DS	NA		NA		NA
100% DL	NA		0,22±0,08	D	NA
MIN	0,37±0,01	bA	0,79±0,03	aB	4,32
MIN + DL	0,20±0,03	bB	1,06±0,09	aA	10,58
MIN + DS	0,18±0,04	bB	0,42±0,02	aC	7,58
Controle	NA		NA		NA
50% DL	NA		0,20±0,02	D	NA
CV ₂ (%)	9,13		10,70		
Nitrogênio acumulado nas folhas das alfaces (g/vaso)					
Tratamentos	Plantio 1		Plantio 2		CV ₁ (%)
DS	NA		NA		NA
100% DL	NA		0,48±0,18	B	NA
MIN	2,82±0,63	aB	4,62±1,64	aA	33,44
MIN + DL	3,84±0,11	aA	5,60±1,46	aA	21,96
MIN + DS	2,97±0,91	aB	4,02±1,27	aA	29,83
Controle	NA		NA		NA
50% DL	NA		0,89±0,09	B	NA
CV ₂ (%)	17,67		36,49		

Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Para o nitrogênio acumulado nas raízes, no primeiro plantio o maior valor foi para o tratamento MIN, seguido dos tratamentos MIN+DL e MIN+DS, que se enquadraram em um mesmo grupo estatístico. No segundo plantio, nenhum tratamento apresentou semelhança estatística, sendo que os valores mais elevados foram para o tratamento MIN+DL, seguido pelo tratamento MIN. Aqui, observa-se que o tratamento em que o digestato foi misturado ao fertilizante mineral apresentou maior acúmulo de nitrogênio na raiz das alfaces do que o que utilizou somente fertilizante mineral. Destacam-se também os tratamentos 100% DL e 50% DL que, apesar das alfaces apresentarem menor acúmulo de nitrogênio, elas absorveram a mesma quantidade deste nutriente nas suas raízes.

Para o nitrogênio acumulado nas folhas, no primeiro plantio novamente o maior valor de nitrogênio acumulado foi para o tratamento MIN+DL, seguido pelos tratamentos MIN e MIN+DS, que se mostraram iguais estatisticamente. No segundo experimento, por outro lado, as alfaces em todos estes três tratamentos apresentaram acúmulo semelhante de nitrogênio nas folhas. Os tratamentos 100% DL e 50% DL novamente se enquadraram em um mesmo grupo estatístico, absorvendo também o nutriente, embora em menor quantidade.

Entre os plantios, tanto para o nitrogênio acumulado na raiz quanto para as folhas, houve diferença estatística para os tratamentos MIN, MIN+DL e MIN+DS. É possível observar que as plantas absorveram muito mais nitrogênio no segundo plantio, em que a temperatura foi mais elevada durante o experimento. Nas raízes os valores chegam a ser maiores que o dobro, mas o aumento também é significativo nas folhas.

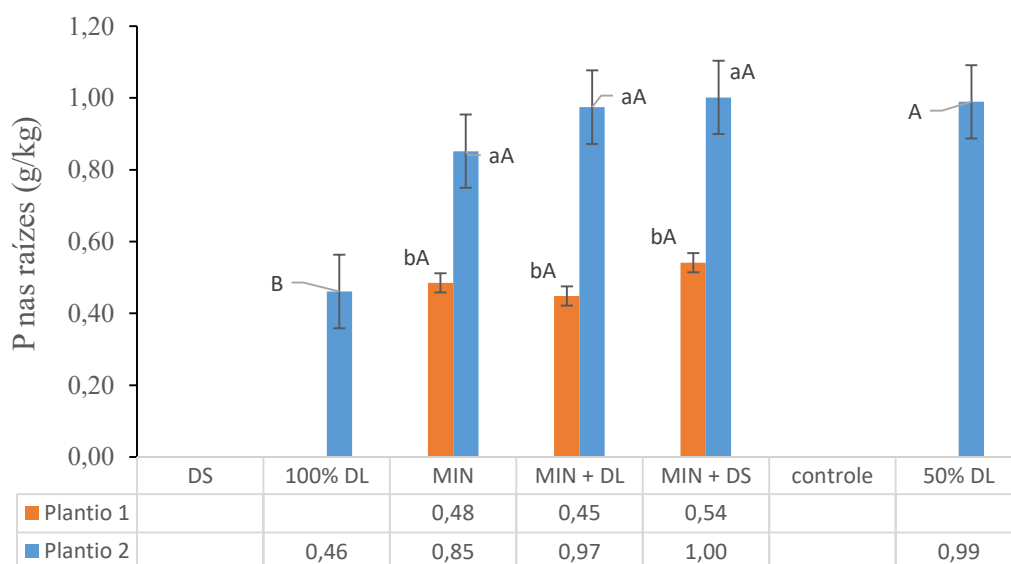
Alguns autores calcularam a captura de nitrogênio no tecido vegetal, como Grigatti et al. (2014), que testaram digestato da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos, bem como um controle e o fertilizante NH_4NO_3 . Os autores realizaram um experimento em vasos ao longo de 112 dias utilizando azevém do tipo italiano (*Lolium multiflorum* subsp. *Italicum*). O nitrogênio acumulado no caule das plantas ao final do experimento foi maior para o fertilizante químico (0,349 g/vaso), seguido do digestato (0,103 g/vaso) e por fim o controle. Foi observado que ao longo do experimento ocorreu imobilização do nitrogênio para o tratamento com o digestato, que apresentou o valor mais elevado de N acumulado para o 28º dia de plantio.

Autores como Hupfauf et al. (2016) também realizaram um experimento de oito semanas em vasos utilizando as culturas do amaranto (*Amaranthus cruentus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*), testando digestato líquido (LFC) e sólido (SFC) de dejetos bovinos, bem como digestato de culturas energéticas (FE). Os valores médios de N acumulado foram, respectivamente, para a cultura do amaranto e do sorgo: 0,998 g/vaso e 0,916 g/vaso para o NPK testado; 0,997 g/vaso e 0,866 g/vaso para o FE, 0,937 g/vaso e 0,759 g/vaso para o LFC e 0,882 g/vaso e 0,877 g/vaso para o SFC. Os autores não perceberam diferenças estatísticas para estes tratamentos na cultura do sorgo e do amaranto, sendo que o crescimento das plantas de amaranto foi maior do que para o sorgo ($p=0,011$).

- **Fósforo na raiz e nas folhas**

Os teores de fósforo foram medidos tanto nas raízes quanto nas folhas, para todos os tratamentos e ambos os plantios, sendo que os resultados encontram-se apresentados na Figura 29.

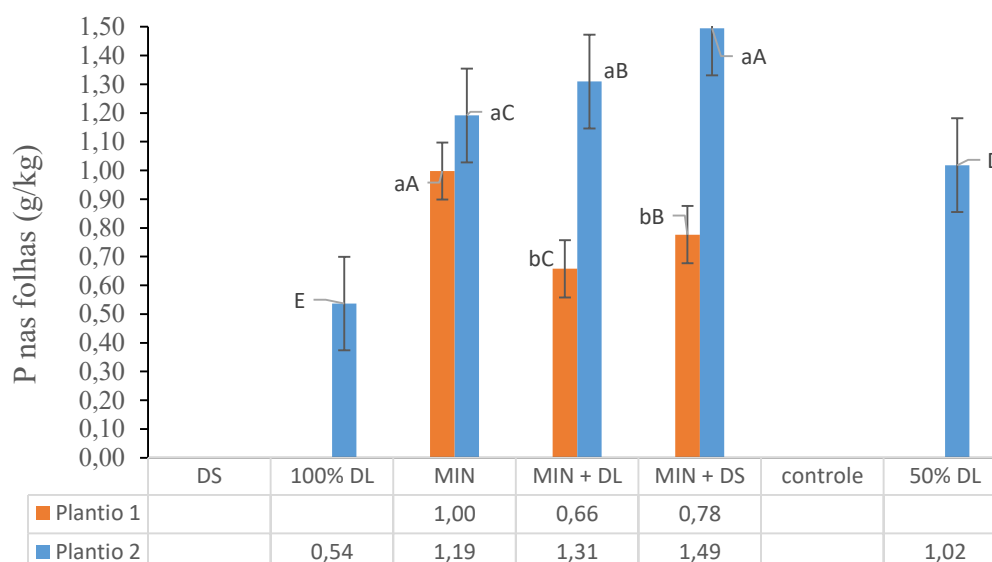
Figura 29: Teores de fósforo nas raízes das plantas



Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Os teores de fósforo nas raízes das plantas mostraram valores estatisticamente iguais para os tratamentos MIN, MIN+DL e MIN+DS no primeiro plantio. No segundo plantio, estes mesmos tratamentos, bem como também o tratamento 50% DL, também se enquadram em um mesmo grupo estatístico. O único tratamento que apresentou um valor mais baixo foi o 100% DL, que apresentou valor próximo a metade dos outros tratamentos. Em termos de diferença entre os plantios, pode-se observar que as plantas apresentaram teores de fósforo muito mais elevados no segundo, que foram quase ao dobro em relação ao primeiro. Também foram calculados os teores de fósforo nas folhas, que estão apresentados na Figura 30.

Figura 30: Teores de fósforo nas folhas das plantas



Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Os teores de fósforo nas folhas, no primeiro plantio, foram diferentes para todos os tratamentos, sendo o maior deles no MIN, seguido pelo MIN+DS e MIN+DL. No segundo plantio também ocorreram diferenças os tratamentos, mas com o maior valor no MIN+DS, seguido pelos tratamentos MIN+DL e MIN, respectivamente. Em termos de comparação entre os plantios, os tratamentos MIN+DL e MIN+DS apresentaram diferença estatística, enquanto que o tratamento MIN não apresentou diferença entre os plantios.

Além do fósforo na raiz e nas folhas, foi feito o cálculo para o fósforo acumulado (Tabela 16), tanto nas raízes das alfaces quanto nas folhas.

Tabela 16: Fósforo acumulado nas raízes e nas folhas das plantas

Fósforo acumulado nas raízes (g/vaso)				
Tratamentos	Plantio 1		Plantio 2	CV ₁ (%)
DS	NA		NA	NA
100% DL	NA		0,04±0,02 B	NA
MIN	0,05±0,01	bA	0,15±0,06 aA	43,51
MIN + DL	0,03±0,00	bA	0,14±0,01 aA	10,23
MIN + DS	0,04±0,03	bA	0,08±0,01 aB	30,07
Controle	NA		NA	NA
50% DL	NA		0,03±0,003 B	NA
CV ₂ (%)	35,74		34,87	
Fósforo acumulado nas folhas (g/vaso)				
Tratamentos	Plantio 1		Plantio 2	CV ₁ (%)
DS	NA		NA	NA
100% DL	NA		0,09±0,05 D	NA
MIN	0,31±0,04	bA	0,61±0,07 aA	12,78
MIN + DL	0,21±0,02	bB	0,41±0,10 aB	22,31
MIN + DS	0,17±0,04	aB	0,29±0,11 aC	36,09
Controle	NA		NA	NA
50% DL	NA		0,05±0,01 D	NA
CV ₂ (%)	14,00		26,21	

Legenda: DS – digestato seco; 100% DL – digestato líquido puro; MIN – fertilizante mineral; MIN+DL – fertilizante mineral misturado com digestato líquido (1:1); MIN+DS – fertilizante mineral misturado com digestato seco (1:1); controle – tratamento sem fertilização; 50% DL – digestato líquido misturado na proporção 1:1 com água. CV₁ – coeficiente de variação calculado entre um mesmo tratamento para ambos os experimentos, CV₂ – coeficiente de variação calculado para todos os tratamentos, em cada experimento. Tratamento estatístico: Letras minúsculas representam diferença entre os plantios (teste t), letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos dentro de um mesmo experimento (Scott-Knott).

Para o fósforo acumulado nas raízes, no primeiro plantio não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos MIN, MIN+DL, e MIN+DS, para o fósforo. Por outro lado, para o fósforo acumulado nas folhas os tratamentos MIN e MIN+DL foram diferentes dos demais, com valor mais elevado, seguido pelos tratamentos MIN+DL e MIN+DS, enquadrados em um mesmo grupo.

No segundo plantio, os tratamentos MIN e MIN+DL foram estatisticamente iguais entre si para o fósforo acumulado nas raízes, seguidos pelos tratamentos MIN+DL, 100% DL e 50% DL, em um mesmo grupo estatístico. Já para o fósforo acumulado nas folhas, apenas os tratamentos 100% DL e 50% DL, com os menores valores, se enquadraram em um mesmo grupo estatístico. Os maiores valores foram para o MIN, seguido de MIN+DL e MIN+DS.

Entre os plantios, ocorreu diferença estatística entre todos os tratamentos em que pode ser feita a comparação, para o parâmetro fósforo acumulado nas raízes. A quantidade de fósforo acumulado duplicou e até triplicou entre os experimentos, com maiores valores no segundo plantio, da época primavera-verão. O mesmo ocorreu para o fósforo acumulado nas folhas para os tratamentos MIN e MIN+DL, com valores no segundo plantio sendo o dobro dos do primeiro. Somente o tratamento MIN+DS não apresentou diferença estatística entre os plantios para o fósforo acumulado nas folhas.

Os autores Hupfauf et al. (2016), da mesma forma que calcularam o nitrogênio acumulado, também calcularam o fósforo acumulado com as mesmas culturas do amaranto e sorgo, e testando digestato líquido (LFC) e sólido (SFC) de dejetos bovinos, bem como digestato de culturas energéticas (FE). Os valores médios de P acumulado foram, respectivamente para a cultura do amaranto e do sorgo: 0,156 g/vaso e 0,084 g/vaso para o NPK testado; 0,181 g/vaso e 0,085 g/vaso para o FE, 0,167 g/vaso e 0,068 g/vaso para o LFC e 0,167 g/vaso e 0,083 g/vaso para o SFC. O P acumulado foi maior para o amaranto do que para o sorgo (significância $p < 0,001$). Os maiores valores na cultura do sorgo foram para os tratamentos com NPK e digestato de culturas energéticas (FE).

6. CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES

6.1 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

- O digestato sofre variações na sua composição química conforme a mudança da carga orgânica volumétrica do sistema de metanização e diferentes tratamentos aplicados ao mesmo.

- O digestato líquido armazenado ao longo dos meses mostrou maior estabilidade, devido ao seu menor teor de COT, DQO e relação C/N, em comparação ao digestato de julho, o qual foi utilizado nos experimentos de germinação e em vasos.

- O digestato seco acumulou de forma significativa os nutrientes nitrogênio, fósforo, cobre e zinco, e apresentou um pH mais elevado que os digestatos líquidos, que apresentaram pH próximo da neutralidade.

- O digestato seco se situou dentro do exigido pela IN nº 25, de 2009, para os parâmetros nitrogênio e carbono. Por outro lado, o pH se mostrou bastante elevado. O digestato líquido atinge o teor mínimo de 3% para COT exigido na IN.. Ambos os digestatos apresentaram relação C/N menores que 20, também uma exigência da IN.

- O aumento da carga orgânica volumétrica aplicada no sistema de metanização provocou um aumento nos teores de COT, fósforo total e nitrogênio total e amoniacal, sendo que para uma carga mais elevada os valores foram mais elevados, o que já era esperado. A variação, que se mostrou estatisticamente significativa ($p < 0,05$), demonstra a necessidade da determinação da composição do digestato antes de sua aplicação na agricultura, para todos os parâmetros avaliados neste estudo, como: COT, P, N e K totais, N amoniacal, pH, alcalinidade total, DQO, condutividade elétrica e ainda metais pesados.

- Em termos de ecotoxicidade, o digestato líquido se mostrou bastante tóxico, e alguns parâmetros que podem ser responsáveis por esta toxicidade são a salinidade, nitrogênio amoniacal e total e a condutividade elétrica.

- Nos ensaios de germinação o digestato que apresentou maiores valores de nitrogênio amoniacal, condutividade elétrica e nitrogênio total ocasionou menor germinação das sementes do que o outro digestato líquido testado.

- Nos ensaios de germinação com digestato líquido e sólido, o digestato líquido, de pH mais neutro, obteve resultados muito mais positivos de germinação de sementes do que o digestato sólido, que possui elevado pH e alto teor de nutrientes.

- Nos experimentos em vasos, as temperaturas mínima, média e máxima foram mais elevadas para o segundo plantio, o que pode ter auxiliado na liberação dos nutrientes do solo, tornando-os mais disponíveis para absorção pelas plantas. O segundo experimento, de forma geral, aumentou o crescimento das alfaces em todos os tratamentos - exceto o DS - bem como a absorção dos nutrientes nitrogênio e fósforo.

- Alguns dos parâmetros avaliados se referem à estabilidade do digestato, como o teor de carbono orgânico total, a relação C/N, a relação entre sólidos voláteis e totais. O teor mais elevado desses parâmetros no digestato completo pode ter interferido no crescimento das alfaces no primeiro plantio, enquanto no segundo o digestato provavelmente já estava mais estável, uma vez que permaneceu inalterado por cerca de dois meses até ser utilizado novamente.

- No primeiro plantio, os tratamentos MIN e MIN+DL se enquadraram em um mesmo grupo estatístico para boa parte dos parâmetros, com exceção somente para a massa fresca, o COT do solo e o N acumulado nas folhas. Ainda, o tratamento MIN+DS também está no mesmo grupo estatístico que estes tratamentos já citados, para o parâmetro P acumulado nas raízes.

- No segundo plantio, novamente os tratamentos MIN e MIN+DL foram iguais estatisticamente para uma boa parte dos parâmetros, exceto para N do solo, COT do solo e N acumulado nas raízes. O que pode também ser observado é que os tratamentos 100% DL e 50% DL se enquadraram em um mesmo grupo estatístico para alguns dos parâmetros. Para estes tratamentos, em termos de nitrogênio e fósforo acumulado tanto nas raízes e nas folhas das alfaces, não ocorreu diferença estatística, ou seja, a dose do biofertilizante não influenciou de forma significativa a absorção destes nutrientes pelas plantas.

6.2 CONCLUSÃO GERAL

Este trabalho teve como objetivo avaliar o uso do digestato, resultante da digestão anaeróbia de resíduos alimentares, como biofertilizante. Baseando-se nas análises realizadas, o digestato apresenta um bom resultado quando utilizado junto com um fertilizante mineral, tanto na sua forma líquida quanto na sua forma sólida. Uma vez que o digestato foi aplicado baseando-se na quantidade do nutriente nitrogênio, possivelmente faltaram os outros nutrientes para que as alfaces pudessem se desenvolver mais nos tratamentos com o digestato líquido e seco utilizados puros. Ainda, diversos fatores discutidos ao longo deste estudo podem ter interferido no crescimento das alfaces para alguns dos tratamentos, o que comprova a importância da determinação da composição química antes de qualquer tipo de uso, seja como fertilizante, ou se for aplicado algum tratamento ao digestato. De forma geral, o digestato preenche alguns dos requisitos para ser utilizado como fertilizante orgânico, e apresenta resultados positivos quando aplicado em conjunto com um fertilizante mineral, o que auxilia na redução do uso deste tipo de fertilizante.

6.3 RECOMENDAÇÕES

Em termos de processamento do digestato, poderiam ser aplicados tratamentos para diminuir o pH do digestato sólido. Também poderia ser aplicado o processo de compostagem, que tem como vantagens diminuir o teor de patógenos e aumentar a estabilidade.

Também é interessante a determinação de outros metais pesados, como cobre e zinco, e sua migração para as plantas, para verificar se este fator também estaria prejudicando o crescimento. A determinação de principais patógenos também é relevante para garantir que eles não estejam presentes no digestato.

Em relação aos ensaios de germinação, poderiam ser realizados ensaios com o mesmo digestato, mas para períodos diferentes de armazenamento após saída do sistema de metanização. Desta forma, seria possível verificar se parâmetros como a DQO, COT e N amoniacal se modificam com o tempo de estocagem.

O digestato líquido também poderia ser testado em experimentos com vasos utilizando-se diferentes diluições, assim como foi feito nos ensaios de

germinação, para verificar a influência da quantidade de nutrientes e de outros parâmetros. Ainda, a avaliação dos teores de nutrientes no solo ao longo do experimento também é de interesse para verificar as transformações.

Para avaliação da mineralização de nutrientes como o carbono e nitrogênio, também podem ser realizados experimentos de incubação. Estes experimentos identificam o que ocorre com estes nutrientes logo após a adição do digestato e também ao longo das semanas, o que pode ser interessante para buscar alternativas de estabilizá-lo antes de ser aplicado em uma cultura vegetal.

Para verificar os efeitos dos nutrientes a longo prazo, também é interessante a avaliação da aplicação do digestato em experimentos no campo. Ainda, experimentos com culturas diferentes e de ciclo mais longo são interessantes para verificar a absorção dos nutrientes do digestato em cada espécie.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAHI, Y.A.; AKUNNA, J.C.; WHITE, N.A.; HALLETT, P. D.; WHEATLEY, R. Investigating the effects of anaerobic and aerobic post-treatment on quality and stability of organic fraction of municipal solid waste as soil amendment. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8631-8636, 2008.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13805 de 1997**. Água – determinação de potássio pelo método de espectrofotometria por emissão em chama.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.713 de 2016**. Ecotoxicologia aquática-Toxicidade aguda-Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro.
- ABRELPE - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2007**. São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.abrelpe.org.br/Panorama/panorama2007.pdf>>.
- ABRELPE - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2018/2019**. São Paulo, 2019.
- ABUBAKER, J.; RISBERG, K.; PELL, M. Biogas residues as fertilisers – Effects on wheat growth and soil microbial activities. **Applied Energy**, v. 99, p. 126-134, 2012.
- ALBUQUERQUE, J. A., DE LA FUENTE, C., FERRER-COSTA, A., CARRASCO, L., CEGARRA, J., ABAD, M. ; BERNAL, M. P. Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. **Biomass and Bioenergy**, v. 40, p. 181–189, 2012a.
- ALBURQUERQUE, J. A.; DE LA FUENTE, C.; BERNAL, M. P. Chemical properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 160, p. 12-22, 2012b.
- AKHIAR, A.; BATTIMELLI, A.; TORRIJOS, M.; CARRERE, H. Comprehensive characterization of the liquid fraction of digestates from full-scale anaerobic co-digestion. **Waste Management**, v. 59, p. 118–128, 2017.
- AL SEADI, T.; DROSG, B.; FUCHS, W. Biogas digestate quality and utilization. In: The biogas handbook. WIP **Renewable Energies**, Germany, 2013.
- AL SEADI, T.; LUKEHORST, C. Quality management of digestate from biogas plants used as fertilizer. **IEA Bioenergy**, 2012.
- ANASRURON, D.F.D.; BADE, O.; KÖRNER, I. Nitrogen recovery from biogas plant digestates via solid-liquid separation and stripping. **Technologies/systems for different manure and organic waste treatment options**. Hamburg University of Technology, Institute of Environmental Technology and Energy Economics, Bioconversion and Emission Control Group. Alemanha, 2010.

ANDRUSCHKEWITSCH, M.; WACHENDORF, C.; WACHENDORF, M. Effects of digestates from different biogas production systems on above and belowground grass growth and the nitrogen status of the plant-soil-system. Japanese Society of Grassland Science, 2012.

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21th Edition. Washington. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Washington-DC, USA, 2005.

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

APPELS, L.; ASSCHEB, A. V.; WILLEMSB, K.; DEGRÈVEA, J.; IMPEA, J. V.; DEWIL, R. Peracetic acid oxidation as an alternative pretreatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p. 4124-4130, 2011.

ARBOR – Biomass for Energy. Inventory: Techniques for nutrient recovery from digestate. Disponível em: <http://arbornwe.eu/downloads> (www. arbornwe.eu). 2013.

ASTALS, S.; NOLLA-ARDEVOL, V.; MATA-ALVAREZ, J. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 63-70, 2012.

BAFFI, C.; DELL'ABATE, M. T.; NASSISI, A.; SILVA, S.; BENEDETTI, A.; GENEVINI, P. L.; ADANI, F. Determination of biological stability in compost: a comparison of methodologies. **Soil, Biology & Biochemistry**, v. 39, n. 6, p. 1284–1293, 2007.

BAGGE, E. Hygiene Aspects of the Biogas Process with Emphasis on Sporeforming Bacteria. PhD thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2009.

BANKS, C.; CHESSHIRE, M.; HEAVEN, S.; ARNOLD, R. Anaerobic digestion of source-segregated domestic food waste: Performance assessment by mass and energy balance. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 612-620, 2011a.

BANKS, C.J; SALTER, A.M; HEAVEN, S; RILEY, K. Energetic and environmental benefits of co-digestion of food waste and cattle slurry: a preliminary assessment. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 56, p.71–79, 2011b.

BARBOSA, D. B. P., NABEL, M., & JABLONOWSKI, N. D. Biogas-digestate as nutrient source for biomass production of *Sida hermaphrodita*, *Zea mays* L. and *Medicago sativa* L. **Energy Procedia**, v. 59, p. 120–126, 2014.

BARRENA, R.; FONT, X.; GABARRELL, X.; SÁNCHEZ, A. Home composting versus industrial composting: influence of composting system on compost quality with focus on compost stability. **Waste Management**, v. 34, p. 1109–1116, 2014.

BAUER, A.; MAYR, H.; HOPFNER-SIXT, K.; AMON, T. Detailed monitoring of two biogas plants and mechanical solid–liquid separation of fermentation residues. **Journal of Biotechnology**, v. 142, n.1, p. 56-63, 2009.

- BAYER, C.; GOMES, J.; ZANATTA, J. A.; VIEIRA, F. C. B.; PICCOLO, M. D.; DIECKOW, J.; SIX, J. Soil nitrous oxide emissions as affected by long-term tillage, cropping systems and nitrogen fertilization in Southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 146, p. 213–222, 2015.
- BELLI FILHO, P.; CASTILHOS JUNIOR, A. B. DA COSTA, R. H. R.; SOARES, S. R.; PERDOMO, C. C. Tecnologias de tratamento de dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.5, n.1, p. 166-170, 2001.
- BHATNAGAR, N.; MUTNURI, S. Digestate from anaerobic reactor as a potential fertilizer. **Carbon – Science and Technology**, p. 17-24, 2015.
- BRAGULIA, C. M.; GALIPPOLI, A.; GAINICO, A.; PAGLIACCIA, P. Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review. **Bioresource Technology**, p. 248, v. 37-56, 2018.
- BRASIL. **Decreto-lei nº 75.583, de 9 de abril de 1975**. Regulamenta a Lei nº 6.138, de 8 de novembro de 1974 que dispõe sobre a inspeção e fiscalização do comércio de fertilizantes, corretivos e inoculantes destinados à agricultura. **Lex: Coleção de leis do Brasil: Edição federal, Brasília, p. 48, v. 4.**
- BRASIL. **Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980**. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, destinados à agricultura, e dá outras providências. Casa Civil, Brasília, 1980.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992, 365 p.
- BRASIL. **Decreto-lei nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004**. Aprova o Regulamento da Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, e dá outras providências. Casa Civil, Brasília, 2014.
- BRASIL. **Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010**. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. Casa Civil, Brasília, 2010.
- BRASIL. Instrução Normativa SDA nº27, de 05 de junho de 2006.
- BRASIL. Instrução Normativa SDA/MAPA nº 25, de 23 de julho de 2009.
- BRASIL. Instrução Normativa MAPA nº53, de 23 de outubro de 2013.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 39, de 8 de agosto de 2018.
- BRES, P.; BEILY, M. E.; YOUNG, B. J.; GASULLA, J.; BUTTI, M.; CRESPO, D.; CANDAL, R.; KOMILIS, D. Performance of semi-continuous anaerobic co-digestion of poultry manure with fruit and vegetable waste and analysis of digestate quality: A bench scale study. **Waste Management**, v. 82, p. 276-284, 2018.
- CARVALHO, A. M. et al. Avaliação das emissões atmosféricas de gases de efeito estufa na agropecuária. In: LIMA, C. E. P. et al. (Ed.). **Mudanças climáticas e produção de**

hortaliças: Projeções, impactos, estratégias adaptativas e mitigadoras. Brasília - DF: EMBRAPA, p. 151-170, 2015.

CASTILHOS JR, A. B.. Principais processos de degradação de resíduos sólidos urbanos. In: Armando Borges de Castilhos Junior; Luciana Paulo Gomes; Lisete Celina Lange; Neide Pesin. (Org.). **Resíduos sólidos urbanos: aterro sustentável para municípios de pequeno porte.** Rio de Janeiro: ABES, 2003.

CECCHI, F.; CAVINATO, C. Anaerobic digestion of bio-waste: A mini-review focusing on territorial and environmental aspects. **Waste Management and Research**, v. 33, n. 5, p. 429–438, 2015.

CELLA, D.; ROSSI, M. C. L. Análise do mercado de fertilizantes no Brasil. **Interface Tecnológica**, v. 7, n.1, 2010.

CHARLES, W., WALKER, L.; CORD-RUWISCH, R. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 8, p. 2329–2335, 2009.

CHEN, R.; BLAGODATSKAYA, E.; SENHAYRAM, M.; BLAGODATSKY, S.; MYACHINA, O.; DITTERT, K.; KUZYJOV, Y. Decomposition of biogas residues in soil and their effect on microbial growth kinetics and enzyme activities. **Biomass and Bioenergy**; v. 45, p. 221-220, 2012.

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

CHICONATO, D. A.; DE SIMONI, F.; GALBIATTI, J. A.; FRANCO, C. F.; CAMELO, A. D. Response of the lettuce to the application of biofertilizer under two levels of irrigation. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n.2, p. 392-399, mar/abr, 2013.

COELHO, J. J.; PRIETO, M.L.; DOWLING, S.; HENNESSY, A.; CASEY, I.; WOODCOCK, T.; KENNEDY, N. Physical-chemical traits, phytotoxicity and pathogen detection in liquid anaerobic digestates. **Waste Management**, v. 78, p. 8-15, 2018.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 481, de 03 de outubro de 2017.** Estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente, Brasil.

CYSNEIROS, D.; BANKS, C.J.; HEAVEN, S.; KARATZAS, K-A. G. The effect of pH control and ‘hydraulic flush’ on hydrolysis and Volatile Fatty Acids (VFA) production and profile in anaerobic leach bed reactors digesting a high solids content substrate. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 263–271, 2012.

DAMACENO, F. M. **Codigestão anaeróbia do lodo obtido em abatedouros de frangos e batata-doce: valorização energética e agrônômica.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Cascavel, PR, 2018.

DAWSON C. J., HILTON, J. Fertiliser availability in a resource limited world: production and recycling of nitrogen and phosphorus. **Food Policy**, v. 36, p. 14-22, 2011.

- DEBIASI, L. R. Avaliação da etapa hidrolítica- acidogenica da digestão anaeróbia de resíduos alimentares em sistema de dois estágios. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2019.
- DE LA FUENTE, C.; CLEMENTE, R.; MARTINEZ, J.; BERNAL, M.P. Optimization of pig slurry application to heavy metal polluted soils monitoring nitrification processes. **Chemosphere**, v. 81. p. 603–610, 2010.
- DE LA FUENTE, C.; ALBUQUERQUE, J. A.; CLEMENTE, R.; BERNAL, M.P. Soil C and N mineralization and agricultural value of the products of an anaerobic digestion system. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 3, p. 313-322, 2013.
- DIAS, V. P.; FERNANDES, E. Fertilizantes: uma visão global sintética. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, set. 2006.
- DI MARIA, F., SORDI, A., CIRULLI, G., GIGLIOTTI, G., MASSACCESI, L., CUCINA, M. Cotreatment of fruit and vegetable waste in sludge digesters. An analysis of the relationship among bio-methane generation, process stability and digestate phytotoxicity. **Waste Management**, v. 34, p. 1603–1608, 2014.
- DOGAN-SUBASI, E.; DEMIRER, G. N. Anaerobic Digestion of Microalgal (*Chlorella vulgaris*) Biomass as a Source of Biogas and Biofertilizer. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 35, n. 4, p. 936-941, 2016.
- DROSG, B.; FUCHS, W.; AL SEADI, T.; MADSEN, M.; LINKE, B. Nutrient recovery by biogas digestate processing. **IEA Bioenergy**, 2015.
- DU, C.; ABDULLAH, J. J.; GREETHAM, D.; FU, D.; YU, M.; REN, L.; LI, S.; LU, D. Valorization of food waste into biofertiliser and its field application. **Journal of Cleaner Production**, v. 187, p. 273 - 284, 2018.
- DUBSKI, M.; CHALOUPKOVA, S.; KAPLAN, L.; VONDRACKOVA, S.; TLUSTOS, P. Use of solid phase of digestate for production of growing horticultural substrates. **Horticultural Science**, v. 46, p. 24-42, 2019.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3ª.ed. Rio de Janeiro: 2013.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. DA SILVA, E. E.; DE AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. **Comunicado Técnico 99**. Determinação da respiração basal do solo (RBS) e do quociente metabólico do solo (qCO₂). Agosto, 2007. Seropédica/RJ.
- EPA – United States Environmental Protection Agency, 2002. EPA 821-R-02-012: Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. 5.ed. Washington, DC. 266p.
- FATMA – Fundação do Meio Ambiente. Portaria nº17/02, de 18/04/2002. Estabelece os limites máximos de toxicidade água para efluentes de diferentes origens e dá outras providências. Santa Catarina, 2002.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (orgs). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes. In: AGUIAR I. B.; PINÃRODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília,DF: ABRATES, 1993. p. 137-174.

FISGATIVA, H., TREMIER, A., DABERT, P. Characterizing the variability of food waste quality: a need for efficient valorization through anaerobic digestion. **Waste Management**, v. 50, 264–274, 2016.

FONSECA, J. C. L.; SILVA, M. R. A.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R.F. P.; MARCHI, M. R. R. Avaliação da confiabilidade analítica das determinações de carbono orgânico total (COT). **Eclética Química**, v. 31, n. 3, p. 47, 52, 2006.

FOUDA, S.; von TUCHER, S.; LICHTI, F.; SCHMIDHALTER, U. Nitrogen availability of various biogas residues applied to ryegrass. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, 572-584, 2013.

FOSS, A.B. Determination of crude protein (kjeldahl nitrogen) in animal feed, forage (plant tissue), grain & oilseed using block digestion with copper catalyst and steam distillation into boric acid. **Application note**, p. 1-6, 2001.

FRAC, M.; OSZUST, K.; LIPIEC, J. Community level physiological profiles (CLPP), characterization and microbial activity of soil amended with dairy sewage sludge. **Sensors**, v. 12, n. 3, p. 3253-3268, 2012.

FRANCO, A. F. T.; MELGAÇO, L. A. O.; FILHO, C. R. M.; CHERNICARO, C. A. L. Alternativas para o aproveitamento e disposição final do efluente de um sistema de metanização de resíduos alimentares. **Congresso ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**. FENASAN, 2017.

FRANKE-WHITTLE, I.H.; INSAM, H. Treatment alternatives of slaughterhouse wastes, and their effect on the inactivation of different pathogens: A review. **Critical Reviews in Microbiology**, v.9, p. 139-151, 2013.

FUCHS, W.; DROSG, B. Assesment of the stat o the art of Technologies for the processing of digestate residue from anaerobic digesters. **Water Science & Technology**, v.67, n.9, p. 1984 – 1993, 2013.

GANESH, R.; TORRIJOS, M.; SOUSBIE, P.; LUGARDON, A.; STEYER, J. P. DELGENES, J. P. Simple-phase and two-phase anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: comparison of start-up, reactor stability and process performance. **Waste Management**, v. 34. n. 5, p. 875-885, 2014.

GEORGACAKIS, D.; SIEVERS, D. M.; IANNOTTI, E. L. Buffer stability in manure digesters. **Agricultural Wastes**, v. 4, p. 427–441, 1982.

GOBERNA, N.; PODMIRSEG, S. M.; WALDHUBER, S.; KNAPP, B.A.; GARCIA, C.; INSAM, H. Pathogenic bacteria and mineral N in soils following the land spreading of biogas digestates and fresh manure. **Applied Soil Ecology**, v. 49, p. 18-25, 2011.

GÓMEZ-BRANDÓN, M.; JUÁREZ, M. F-D.; ZANGERLE, M.; INSAM, H. Effects of digestate on soil chemical and microbiological properties: A comparative study with compost and vermicompost. **Journal of Hazardous Materials**, v. 302, p. 267–274, 2016.

GOVASMAR, E.; STAB, J.; HOLEN, B.; HOORNSTRA, D.; NESBAKK, T. Chemical and microbiological hazards associated with the recycling of anaerobic digested residue intended for use in agriculture. **Waste Management**, v. 31, p. 2577-2583, 2011.

GRIGATTI, M.; CIAVATTA, C.; GESSA, C. Evolution of organic matter from sewage sludge and garden trimming during composting. *Bioresource Technology*, v. 91 n. 2, p. 163-169, 2004.

GRIGATTI, M.; CAVANI, L.; MARZADORI, C.; CIAVATTA, C. Recycling of Dry-Batch Digestate as Amendment: Soil C and N Dynamics and Ryegrass Nitrogen Utilization Efficiency. **Waste Biomass Valorization**, v. 5, p. 823-833, 2014.

GUERMOUD, N.; OUAGJNIA, F.; ABDELMALEK, F.; TALEB, F. ADDOU, A. Municipal solid waste in Mostagnem city (Western Algeria). **Waste Management**, v. 29, n. 2, p. 896-902, 2009.

HARALDSEN, T. K.; ANDERSEN, U.; KROGSTAD, T.; SORHEIM, R. Liquid digestate from anaerobic treatment of source-separated household waste as fertilizer to barley. **Waste Management & Research**, v. 29, n. 12, p. 1271 – 1276, 2011.

HJORTH, M.; CHRISTENSEN, K. V.; CHRISTENSEN, M. L.; SOMMER, S. G. Solid-liquid paration of animal slurry in theory and practice. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.30, p. 153-180, 2010.

HOLM-NIELSEN, J. B.; LOMBORG, C. J.; OLESKOWICZ-POPIEL, P.; ESBENSEN, K.H. On-line near infrared monitoring of glycerol-boosted anaerobic digestion process: evaluation of process analytical Technologies. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 99, n.2, p. 302-312, 2007.

HUPFAUF, S.; BACHMANN, S.; JUÁREZ, M, F-D.; INSAM, H.; EICHLER-LÖBERMANN, B. Biogas digestates affect crop P uptake and soil microbial community composition. **Science of the total Environment**, v. 542, p. 1144-1154, 2016.

IGONI, A. H.; AYOTAMUNO, M. J.; EZE, C. L.; OGAJI, S. O. T.; PROBERT, S.D. Designs of anaerobic digester for producing biogas from municipal solid-waste. **Applied Energy**, v. 85, n. 6, p. 430-438, 2008.

INCE, O.; ANDERSON, G.K.; KASAPGIL, B. Control of organic loading rate using the specific methanogenic activity test during start-up of an anaerobic digestion system. **Water Research**, v. 29, n.1, p. 349-355, 1995.

INSAM, H.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; ASCHER, J. Manure-based biogas fermentation residues – friend or foe of soil fertility? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 84, p. 1–14, 2015.

ISO – International Organization For Standardization, 2012. ISO 6341: water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus 42 R.C.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). Procedimentos e determinações gerais. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. p. 83- 160.

JANTALIA, C. P et al. Em busca da mitigação de produção de óxido nitroso em sistemas agrícola: Avaliação de práticas usadas na produção de grãos no Sul do Brasil. *In: ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; AITA, C.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.). Manejo dos sistemas agrícolas: impacto no sequestro de C e nas emissões de gases de efeito estufa.* Porto Alegre: Genesis, 2006.

JASINSKI, S.M. Phosphate rock. Mineral commodity Summaries. **U.S. Geological Survey**, 2010.

JORGENSEN K.; JENSEN, L.S. Chemical and biochemical variation in animal manure solids separated using different commercial separation technologies. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3088–3096, 2009.

JUÁREZ, M. F-D.; WALDHUBER, S.; KNAPP, A.; PARTL, C.; BRANDÓN-GÓMEZ, M.; INSAM, H. Wood ash effects on chemical and microbiological properties of digestate and manure-amended soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 5, p. 575-585, 2013.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ANJUM, M.; MAHMOOD, T.; DAWSON, L. The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v. 31, p. 1737-1744, 2011.

KIM, D-H; OH, S-E. CONTINUOUS high-solids anaerobic co-digestion of organic solid wastes under mesophilic conditions. **Waste Management**, v. 31, p. 1943-1948, 2011.

KIRCHMANN, H.; LUNDEVALL, A. Relationship between N immobilization and volatile fatty acids in soil after application of pig and cattle slurry. **Biology and Fertility of Soils**, v. 15, n. 3, p. 161–164, 1993.

KRATZEISEN, M., STARCEVIC, N., MARTINOV, M., MAURER, C., MÜLLER, J. Applicability of biogas digestate as solid fuel. **Fuel**, v. 89, p. 2544–2548, 2010.

KONDUSAMY, D.; KALAMDHAD, A. S.; Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production – A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, p. 1821 – 1830, 2014.

KUNZ, A.; de OLIVEIRA, P. A. V.; HIGARASHI, M. M. Biodigestor para o tratamento de dejetos de suínos: influência da temperatura ambiente. **EMBRAPA – Comunicado Técnico 416**, Concórdia, SC, 2005. ISSN 0100-8862.

LAUFER, A. **Avaliação de processo alternativo de biodigestão para tratamento de resíduos sólidos orgânicos domésticos.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Toledo, PR, 2008.

LEITE, W. R. M. **Digestão anaeróbia mesofílica de lodo adensado de estação de tratamento de esgoto.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2011.

LI, Y.; PARK, S. Y.; ZHU, J. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 1, p. 821– 826, 2011.

LI, D.; LIU, S.; MI, L.; LI, Z.; YUAN, Y.; YAN, Z.; LIU, X. Effects of feedstock ration and organic loading reate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and cow manure. **Bioresource Tehcnology**, v. 189, p. 319-326, 2015.

LIEDL, B.E., BOMBARDIERE, J., CHATFIELD, J. M. Fertilizer potential of liquid and solid effluent from thermophilic anaerobic digestion of poultry waste **Water, Science and Technology**, v. 53, p. 69–79, 2006.

LUCHESE, E. B.; FAVERO, L. O. B.; LENZI, E. **Fundamentos da química do solo: teoria e prática**. 2.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 2002. 182p.

LUKEHURST, C. T.; FROST, P.; AL SEADI, T. Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser - Task 37, **IEA Bioenergy**, 2010.

LUO, Y.; LIANG, J.; ZENG, G.; CHEN, M.; MO, D.; LI, G.; ZHANG, D. Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. **Waste Management**, v. 71, p. 109-114, 2018.

MAKÁDI, M.; TOMÓCSIK, A.; OROSZ, V. Digestate: A New Nutrient Source – Review. Biogas, Dr. Sunil Kumar (Ed.), ISBN 978-953-51-0204-5. **InTech**, v. 14, p. 295-310, 2012.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. 4. ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 1979. 256p.

MALAVOLTA, E. **Reação do solo e crescimento das plantas**. In: MALAVOLTA, E.; ed. SEMINÁRIO SOBRE CORRETIVOS AGRÍCOLAS. Piracicaba, Fundação Cargill, 1985. P. 3-64.

MALINOWSKY, C. **Tratamento dos resíduos sólidos orgânicos da UFSC através de biodigestor anaeróbio**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2016.

MALINOWSKY, C. **Sistema de metanização de resíduos sólidos orgânicos em duas fases**. Teste (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. No prelo 2020.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para Análise de Sementes**, Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

MARTI, N.; BOUZAS, A.; SECO, A.; FERRER, J. Struvite precipitation assessment in anaerobic digestion processes, **Chemical Engineering Journal**, v.141, p. 67–74, 2008.

MAURER, C.; SEILER-PETZOLD, J.; SCHULZ, R.; MÜLLER, J. Short-term nitrogen uptake of barley from differently processed biogas digestate in pot experiments. **Energies**, v. 12, p. 696- 710, 2019.

MB COMUNICAÇÃO. Santa Catarina institui a política de incentivo à produção de Biogás. *Notícias Agrícolas*, Campinas, São Paulo, 27 jun. 2018. **Agronegócio**. Disponível em: <<https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/agronegocio/216509-santa-catarina->

institui-a-politica-de-incentivo-a-producao-de-biogas.html#.W22X1tJKjIU>. Acesso em: 10 out. 2018.

MEDEIROS, M. B.; WANDERLEY, P. A.; WANDERLEY M. J. A. Biofertilizantes líquidos: processos trofofíticos para proteção de plantas em cultivos orgânicos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Edição nº 31 – julho/dezembro de 2003.

MELLO, F. de A. F.; SOBRINHO, M. de O.C. do B.; ARZOLLA, S.; SILVEIRA, R. I.; NETTO, A. C.; KIEHL, J. de C. **Fertilidade do Solo**, 2ª ed. Nobel, 1983. ISBN 85-213-0074-3.

MENARDO, S.; GIOELL, F.; BALSARI, P. The methane yield of digestate: effect of organic loading rate, hydraulic retention time, and plant feeding. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 2348-2351, 2011.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery**. 5th Edition, McGraw-Hill, New York, 2014.

MOLLER, J; BOLDRIN, A; CHRISTENSEN, T. H. Anaerobic digestion and digestate use: accounting of greenhouse gases and global warming contribution. **Waste Management & Research**, v. 27, n. 8, p. 813–824, 2009.

MÖLLER, K.; MÜLLER, T. Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review. **Engineering in Life Sciences**, v. 12, n. 3, p. 242–257, 2012.

MONLAU, F.; SAMBUSITI, C.; FICARA, E.; ABOULKAS, A.; BARAKAT, A.; CARRÈRE, H. New opportunities for agricultural digestate valorization: Current situation and perspectives. **Energy and Environmental Science**, v. 8, n. 9, p. 2600–2621, 2015.

MORETTI, P. ARAUJO, M.; CASTILHOS JUNIOR, A. B.; BUFFIÈRE, P.; GOURDON, R.; BAYARD, R. Characterization of municipal biowaste categories for their capacity to be converted into a feedstock aqueous slurry to produce methane by anaerobic digestion. **Science of the Total Environment**, v. 716, 2020.

MORTOLA, N.; ROMANIUK, R.; COSENTINO, V.; EIZA, M.; CARFAGNO, P.; RIZZO, P.; BRES, P.; RIEIRA, N. Potential use of a poultry manure digestate as a biofertiliser: evaluation of soil properties and *Lactuca sactiva* growth. **Pedosphere**, v.29, p.60-69, 2019.

MÜLLER-STÖVER, D. S.; SUN, G.; KROFF, P.; THOMSEN, S. T.; HAUGGAARD-NIELSEN, H. Anaerobic co-digestion of perennials: Methane potential and digestate nitrogen fertilizer value. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 179, p. 696-704, 2016.

MUSCOLO, A.; SETTINERI, G.; PAPALIA, T.; ATTINÀ, E.; BASILE, C.; PANUCCIO, M. R. Anaerobic co-digestion of recalcitrant agricultural wastes: Characterizing of biochemical parameters of digestate and its impacts on soil ecosystem. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 746–752, 2017.

MURPHY, J.; RILEY, J.R. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem.* 1977, 27, 31-36.

- NASCIMENTO, M.; LAPIDO-POUREIRO, F. E.; **Fertilizantes e sustentabilidade: o potássio na agricultura brasileira, fontes e rotas alternativas**. Série Estudos e Documentos. CETEM, nº 61, 2004.
- NGHIEM, L. D.; MANASSA, P.; DAWSON, M.; FITZGERALD, S. K. Oxidation reduction potential as a parameter to regulate micro-oxygen injection into anaerobic digester for reducing hydrogen sulphide concentration in biogas. **Bioresource Technology**, v. 173, p. 443-447, 2014.
- NICOLETO, C.; SANTAGATA, S.; ZANIN, G.; SAMBO, P. Effect of the anaerobic digestion residues use on lettuce yield and quality. **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 2017-213, 2014.
- NIETO, R. Caracterização Ecotoxicológica de Efluentes Líquidos Industriais – Ferramenta para Ações de Controle da Poluição das Águas. In: XXVII **Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 2000, Porto Alegre.
- NKOA, R. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 2, p. 473–492, 2014.
- NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V. H. V.; DE BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Editores). SBSC – Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo, 2007: Viçosa, Minas Gerais.. Fertilidade do solo. 1ª edição, 1017 p. – ISBN 978-85-86504-08-2
- ODLARE, M.; PELL, M.; SVENSSON, K. Changes in soil chemical and microbiological properties during 4 years of application of various organic residues. **Waste Management**, v. 28, n. 7, p. 1246–1253, 2008.
- OEHL, F.; FROSSARD, E.; FLIESSBACH, A.; DUBOIS, D.; OBERSON, A. Basal organic phosphorus mineralization in soils under different farming systems. **Soil Biology & Chemistry**, v. 36, n. 4, p. 667–675, 2004.
- OLIVEIRA, S. V. W. B.; LEONETI, A. B.; CALDO, G. M.M.; de OLIVEIRA, M. M. B. Generation of bioenergy and biofertilizer on a sustainable rural property. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 2608-2618, 2011.
- OLIVEIRA, I.; REED, J.P.; ABU-ORF, M.; WILSON, V.; JONES, D.; ESTEVES, S.R. The potential use of shear viscosity to monitor polymer conditioning of sewage sludge digestates. *Water Research*, v. 105, p. 320-330, 2016.
- OSTREM, K. **Greening waste: anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes**. Thesis (M.S.) - Department of Earth and Environmental Engineering, Columbia University, New York, 2004.
- OTTOSSON, J.R., SCHNÜRER, A., VINNERÅS, B. In situ ammonia product on as a sanitation agent during anaerobic digestion at mesophilic temperature. **Letters in Applied Microbiology**, v. 46, p. 325-330, 2008.
- PAAVOLA, T.; RINTALA, J. Effects of storage on characteristics and hygienic quality of digestates from four co-digestion concepts of manure and biowaste. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 7041-7050, 2008.

- PALACIO-BARCO, E.; ROBERT-PEILLARD, F.; BOUDENNE, J-L.; COULOMB, B. On-line analysis of volatile fatty acids in anaerobic treatment processes. **Analytica Chimica Acta**, v. 668, n. 1, p. 74–79, 2010.
- PALHARES, J.C.P. Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos: aprendendo com o passado para entender o presente e garantir o futuro. **Artigo em Hipertexto**, 2008.
- PAMPILLÓN-GONZÁLEZ, L.; LUNA-GUIDO, M.; RUÍZ-VALDIVIEZO, V. M.; FRANCO-HERNÁNDEZ, O.; FERNÁNDEZ-LUQUEÑO, F., PAREDES-LÓPEZ, O.; HÉRNANDEZ, G.; DENDOOVEN, L. Greenhouse Gas emissions and growth of wheat cultivated in soil amended with digestate from biogas production. **Pedosphere**, v. 27, n. 2, p. 318–327, 2017.
- PANUCCIO, M. R.; ATTINÀ, E.; BASILE, C.; MALLAMACI, C.; MUSCOLO, A. Use of recalcitrant agriculture wastes to produce biogas and feasible biofertilizer. **Waste and Biomass Valorization**, v. 7, n. 2, p. 267-280, 2015.
- PARK, J.; JIN, H F.; LIM, BR.; ,PARK, K Y. ,LEE, K. Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga *Scenedesmus* sp. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8649-8657, 2010.
- PEZZOLLA, D.; BOL, R.; GIGLIOTTI, G.; SAWAMOTO, T.; LÓPEZ, A. L.; CARDENAS, L.; CHADWICK, D. Greenhouse gas (GHG) emissions from soils amended with digestate derived from anaerobic treatment of food waste. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 26, n. 20, p. 2422–2430, 2012.
- PIVATO, A.; VANIN, S.; RAGA, R.; LAVAGNOLO, M. C.; BARAUSSE, A.; RIEPLE, A.; LAURENT, A.; COSSU, R. Use of digestate from a decentralized on-farm biogas plant as fertilizer in soils: An ecotoxicological study for future indicators in risk and live cycle assessment. **Waste Management**, v. 49, p. 378–389, 2016.
- PUERARI, R;C.; da CCOSTA, C.H.; VICENTINI, D.S.; FUZINATTO, C.F.; MELEGARIA, S.P.; SCHMIDT, E.C.; BOUZON, Z.L.; MATIAS, W.G. Synthetis, characterization and toxicological evaluation of Cr2O3 nanoparticles using *Daphnia Magna* and *Aliivibrio fischeri*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 36-43, 2016.
- RAIJ, Bernardo van. **Avaliação da Fertilidade do solo**. Piracicaba: Instituto de pesquisa da potassa & fosfato: Instituto internacional de Potassa. 2ª edição, 142 páginas, SP, dezembro de 1983.
- RAIJ, Bernardo van. **Fertilidade do solo e adubação**. 343 páginas, SP, Piracicaba: Ceres, Potafos, 1991.
- RAJAGOPAL, R.; MASSÉ, D.I.; SINGH, G. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 632–641, 2013.
- RIBGY, H.; SMITH, S. R. Nitrogen availability and indirect measurements of greenhouse gas emissions from aerobic and anaerobic biowaste digestates applied to agricultural soils. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2641-2652, 2013.

ROBERTSON, G. P. e P. M. GROFFMAN. **Nitrogen transformation**. Páginas 341-364 in E.A. Paul, editor. Soil microbiology, ecology and biochemistry. 4ª edição, *Academic Press*, Burlington, Massachusetts, EUA, 2015.

SAHLSTROM, L. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. **Bioresour Technology**, v. 87, p. 161–166, 2003. - LER

SAHLSTRÖM, L.; BAGGE, E.; EMMOTH, E.; HOLMQVIST, A.; DANIELSSON-THAM, M.-L.; ALBIHN, A. Laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of biowaste used in biogas plants. **Bioresour Technology**, v. 99, p. 7859-7865, 2008.

SAMBUSITI, C.; MONLAU, F.; FICARA, E.; MUSATTI, A.; ROLLINI, M.; BARAKAT, A.; MALPEI, F. Comparison of various post-treatments for recovering methane from agricultural digestate. **Fuel Processing Technology**, v. 137, p. 359-365, 2015.

SÁNCHEZ, M.; GOMES, X.; BARRIOCANAL, G.; CUETOS, M. J.; MORÁN, A. Assessment of the stability of livestock farm wastes treated by anaerobic digestion. **Internacional Biodeterioration & Biodegradation**, v. 62, n. 4, p. 421-426, 2008.

SANTOS, R. H. S.; SILVA, F. da.; CASALI, V. W.D.; CONDE, A.R. Efeito residual da adubação com composto orgânico sobre o crescimento e produção de alface. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1395 – 1398, nov 2011.

SANTOS, M.R.; SEDIYAMA, M.A.N.; MOREIRA, M.A.; MEGGUER, C.A.; VIDIGAL, S.M. Rendimento, qualidade e absorção de nutrientes pelos frutos de abóbora em função de doses de biofertilizante. **Horticultura Brasileira**, v. 30: p.160-167, 2012.

SAWADA, K.; TOYOTA, K. Effects of the Application of Digestates from Wet and Dry Anaerobic Fermentation to Japanese Paddy and Upland Soils on Short-Term Nitrification. **Microbes and Environment**, v. 30, n.1, p. 37-43, 2015.

SBSC – SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIENCIA DO SOLO. **Manual de Adubação e Calagem para os estados do rio grande do sul e santa Catarina**. Núcleo Regional Sul: Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC, 2016. 376 p.

SCAGLIA, B.; D'IMPORZAN, G.; GARUTI, G.; NEGRI, M.; ADANI, F. Sanitation ability of anaerobic digestion performed at different temperature on sewage sludge. **Science of Total Environment**, v. 466–467, p. 888–897, 2014.

SEDIYAMA, M.A.N.; dos SANTOS, M. R.; VIDIGAL, S. M.; PINTO, C. L.; JACOB, L.L. Nutrição e produtividade de plantas de pimentão colorido, adubadas com biofertilizante de suíno. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 6, p. 588-594, 2014.

SHARIFI, M.; BAKER, S.; HOJABRI, L.; HAJIAGHAEI-KAMRANI, M. Short-term nitrogen dynamics in soil amended with anaerobic digestate. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 99, p. 173-181, 2019.

SHEETS, J. P.; YANG, L.; GE, X.; WANG, Z.; LI, Y. Beyond land application: Emerging technologies for the treatment and reuse of anaerobically digested agricultural and food waste. **Waste Management**, v. 44, p. 94-15, 2015.

SIDHU, J. P. S.; TOZE, S. G. Human pathogens and their indicators in biosolids: a literature review. **Environment International**, v. 35, p. 187–201, 2009.

SIEGRIST, H.; HUNZIKER, W.; HOFER, H. Anaerobic digestion of slaughterhouse waste with UF-membrane separation and recycling of permeate after free ammonia stripping. **Water Science and Technology**, v. 52, n. 1–2, p. 531–536, 2005.

SNIS - SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO.

Diagnóstico do Manejo de Resíduos Sólidos Urbanos - 2018. Ministério das Cidades - Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Brasília, 2019. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/downloads/diagnosticos/rs/2018/Diagnostico_RS2018.pdf>.

STINNER, W., MÖLLER, K. & LEITHOLD, G. Effect of biogas digestion of clover/grass-leys, cover crops and crop residues on nitrogen cycle and crop yield in organic stockless farming system. **European Journal of Agronomy**, v. 29, N. 2-3, p.125-134, 2008.

STOKNES, K., SCHOLWIN, F., KRZESIŃSKI, W., WOJCIECHOWSKA, E., & JASIŃSKA, A. Efficiency of a novel “Food to waste to food” system including anaerobic digestion of food waste and cultivation of vegetables on digestate in a bubble-insulated greenhouse. **Waste Management**, v. 56, p. 466–476, 2016.

SURENDRA, K. C.; TAKARA, D.; HASHIMOTO, A. G.; KHANAL, S. K. Biogas as a sustainable energy source for developing countries: Opportunities and challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 31, p. 846-859, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. A.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal** [recurso eletrônico], [tradução: Alexandra Antunes Mastroberti ... et al.]. 6. Ed, Porto Alegre: Artmed, 2017.

TAMBONE, F.; SCAGLIA, B.; D’IMPORZANO, G.; SCHIEVANO, A.; ORZI, V.; SALATI, S.; ADANI, F. Assessing amendment and fertilizing properties of digestate from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. **Chemosphere**, v. 81, p. 577-583, 2010.

TAMBONE, F.; ORZI, V.; D’IMPORZANO, G.; ADANI, F. Solid and liquid fractionation of digestate: Mass balance, chemical characterization, and agronomic and environmental value. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 1251-1256, 2017.

TAMPIO, E.; ERVASTI, S.; RINTALA, J. Characteristics and agronomic usability of digestates from laboratory digesters treating food waste and autoclaved food waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 94, p. 86-92, 2015.

TAMPIO, E.; SALO, T.; RINTALA, J. Agronomic characteristics of five different urban waste digestates. **Journal of Environmental Management**, v. 169, p. 293–302, 2016.

TCHOBANOGLIOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S. **Integrated Solid Waste Management Engineering: Engineering Principles and Management Issues**, McGraw-Hill, Inc., Nova Iorque, 949 p., 1993.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1995.

- TEGLIA C.; TREMIER A.; MARTEL J. L. Characterization of solid digestates: Part 2, assessment of the quality and suitability for composting of six digested products. **Waste Biomass Valorization**, v. 2, n. 2, p. 113-126, 2011.
- TEL-TEK. **Greenhouse gas emissions from on-farm digestate storage facilities**. Mary Anderson-Glenna e Tel-Tek John Morken, UMB. Noruega, relatório nº 22130401, 2013.
- TIGINI, V.; FRANCHINO, M. BONA, F.; VAREDE, G. C. Is digestate safe? A study on its ecotoxicity and environmental risk on a pig manure. **Science of the Total Environment**, p. 127–132, 2016.
- TIWARY, A.; WILLIAMS, I. D.; PANT, D. C.; KISHORE, V. V. N. Assessment and mitigation of the environmental burdens to air from land applied food-based digestate. **Environmental Pollution**, v. 203, p. 262–270, 2015.
- TOMPKINS, D (ED). (www.wrap.org.uk, in press). **Quality, safety and use of digestate in UK agriculture**. Em: AL SEADI, T.; LUKEHORST, C. Quality management of digestate from biogas plants used as fertilizer. **IEA Bioenergy**, 2012.
- TRINSOUTROT, I.; RECOUS, S.; BENTZ, B.; LINÈRES, M.; CHÈNEBY, D.; NICOLARDOT, B. Biochemical quality of crops residues and carbon and nitrogen mineralization kinetics under nonlimiting nitrogen conditions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, n. 3, p. 918-926, 2000.
- TRZCINSKI, A. P.; STUCKEY, D. C. Parameters affecting the stability of the digestate from a two-stage anaerobic process treating the organic fraction of municipal solid waste. **Waste Management**, v. 31, p. 1480-1487, 2011.
- ULUDAG-DEMIRER, S.; DEMIRER, G. N.; CHEN, S. Ammonia removal from anaerobically digested dairy manure by struvite precipitation. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 3667–3674, 2005.
- US EPA – United States Environmental Protection Agency. **METHOD 3050B - Acid digestion of sediments, sludges, and soils**. Estados Unidos, dezembro de 1996.
- VANEECKHAUTE, C.; LEBUF, V.; MICHELS, E.; BELIA, E.; VANROLLEGHEM, P. A.; TACK, F. G.; MEERS, E. Nutrient recovery from digestate:systematic technology review and product classification. **Waste Biomass Valorization**, v. 8, p. 21-40, 2017.
- VELHO, D. F. **Digestão anaeróbia de resíduos de restaurantes – partida do reator e avaliação do biofertilizante**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS, São Leopoldo, RS, 2016.
- VENGLOVSKY, J.; MARTINEZ, J.; PLACHA, I. Hygienic and ecological risks connected with utilization of animal manures and biosolids in agriculture. **Livestock Science**, v. 102, p. 197–203, 2006.
- WALSH, J. J.; JONES, D.L.; EDWARDS-JONES, G.; WILLIAMS, A. P. Replacing inorganic fertilizer with anaerobic digestate may maintain agricultural productivity at less

- environmental cost. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 175, p. 840-845, 2012.
- WANG, J. Decentralized biogas technology of anaerobic digestion and farm ecosystem: opportunities and challenges. **Frontiers in Energy Research**, v. 2, n. 10, 2014.
- WANG Y, DONG H, ZHU Z, LIU C, XIN H. 2014. Comparison of air emissions from raw liquid pig manure and biogas digester effluent storages. **Transactions of the ASABE**, v. 5, p. 635–645, 2014.
- WARD, A. J.; HOBBS, P.J.; HOLLIMAN, P. J.; JONES, D. L. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**, v.99, n. 17, p. 7928-7940, 2008.
- WEBB, A. R., HAWKES, F. R. Laboratory scale anaerobic digestion of poultry litter: Gas yield-loading rate relationship. **Agricultural Waste**, v. 13, p. 31–49, 1985.
- WOJNOWSKA-BARYLA, I.; BERNAT, K.; SARTOWSKA, S. Biological stability of multi-component agri-food digestates and post-digestates. **Waste Management**, v. 77, p. 140-146, 2018.
- WRAP – WASTE AND RESOURCES ACTION PROGRAMME. **Enhancement and treatment of digestates from anaerobic digestion** - A review of enhancement techniques, processing options and novel digestate products. Reino Unido, novembro de 2012.
- XIA, A.; MURPHY, J. D. Microalgal cultivation in treating liquid digestate from biogas systems. **Trends in Biotechnology**, v. 34. n. 4, p. 264-275, 2016.
- WALKER, M. IYER, K.; HEAVEN,S.; BANKS, C. J. Ammonia removal in anaerobic digestion by biogas stripping: na evaluation of process alternatives using a first order rate model based on experimental findings. **Chemical Engineering Journal**, v. 178, p. 138-145, 2011.
- WOJNOWSJA-BARYLA, I.; BERNAT, K.; SARTOWSKA, S. Biological stability of multi-component agri-food digestates and post-digestates. **Waste Management**, v. 77, p. 140-146, 2018.
- YENIGÜN, O; DEMIREL, B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review. **Process Biochemistry**, v. 48, p, 901-911, 2013.
- ZHANG, Y.; BANKS, C. J.; HEAVEN, S. Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams. **Journal of Environmental Management**, v. 104, p. 166-174, 2012.
- ZHANG FS, LI YX, YANG M, LI W. Content of heavy metals in animal feeds and manures from farms of different scales in Northeast China. **International Journal of Environmental Research and public health**, v. 9, n. 8, p. 2658–266, 2012.
- ZHANG, W.Q.; WEI, Q.Y.; WU, S.B.; QI, D.D.; LI, W.; ZUO, Z.; DONG, R.J. Batch anaerobic co-digestion of pig manure with dewatered sewage sludge under mesophilic conditions. **Applied Energy**, v. 128, p.175–183, 2014.

ZHANG, J.S.; LI, N.; DAI, X.H.; TAO, W.Q.; JENKINSON, I.R., LI, Z. Enhanced dewaterability of sludge during anaerobic digestion with thermal hydrolysis pretreatment: New insights through structure evolution. **Water Research**, v. 131, p. 177-185, 2018.

ZHOU, M.; YAN, B.; WONG, J. W.C.; ZHANG, Y. Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 68-78, 2017.

ZIRKLER, D.; PETER, A.; KAUPENJOHANN, M.; Elemental composition of biogas residues: Variability and alteration during anaerobic digestion. **Biomass and bioenergy**, v.67, p.89-98, 2014.

APÊNDICE 1 – ANÁLISES QUÍMICAS DO DIGESTATO

Tabela de resultados de Fósforo, N amoniacal (N-NH₄⁺), COT e NTK

Data	Fósforo (mg/L)	Data	N-NH₄⁺ (mg/L)	COT (%)	Data	NTK (mg/L)	N-NH₄⁺ (mg/L)
08/02	66,44	08/02	167,85	34,95	6/09	288,945	118,670
13/02	72,01	13/02	172,44	39,65	13/09	389,300	236,793
20/02	44,37	15/02	183,18	27,73	23/09	364,053	290,490
22/02	36,74	20/02	158,86		27/09	360,317	317,867
26/02	39,32	22/02	149,76		04/10	317,440	294,533
28/02	43,59	26/02	157,38		11/10	400,370	315,783
05/03	45,92	28/02	183,92		14/10	372,333	307,960
08/03	46,42	05/03	229,6	29,75	25/10	334,340	267,530
12/03	46,79	08/03	207,46		01/11	455,617	223,180
15/03	53,05	12/03	196,49	19,84	08/11	274,317	176,370
18/03	45,36	15/03	183,30		15/11	326,835	255,437
21/03	44,12	18/03	174,00	22,69	22/11	288,025	151,510
25/03	49,57	21/03	170,34		29/11	227,310	124,350
28/03	43,86	25/03	151,3		06/12	180,575	105,793
01/04	48,53	28/03	183,53	29,33	16/12	180,943	92,980
04/04	45,488	04/04	252,83	19,13			
08/04	52,25	08/04	242,75	24,8			
11/04	52,16	11/04	233,49				
03/05	84,74	03/05	418,89				
06/05	65,70	06/05	474,41				
09/05	78,07	09/05	567,40	35,03			
13/05	71,35	13/05	568,14				
17/05	90,30	17/05	628,63	35,6			
20/05	68,35	20/05	626,38				
23/05	102,67	23/05	586,46	38,36			
27/05	105,6023	27/05	550,36				
31/05	71,55	31/05	577,55	29,19			
03/06	72,20	03/06	564,95				
07/06	62,21	07/06	511,11	35,27			
10/06	74,44	10/06	457,91				
14/06	90,89	14/06	414,80	33,58			
17/06	97,10	17/06	379,55				
20/06	91,37	20/06	385,37	31,88			
24/06	96,74	28/06	465,89				
01/07	107,60	01/07	432,24	30,31			
05/07	105,43	05/07	405,68				
		08/07		31,79			

APÊNDICE 2 – RESULTADOS DOS ENSAIOS DE GERMINAÇÃO

Tabela dos resultados do ensaio de germinação do dia 08/04

Diluições	Branco	5%	10%	25%	50%	100%
GRS	-	103,95	97,94	93,22	102,26	87,01
Média raízes	30,24	26,26	23,55	28,78	24,68	7,48
CRR	-	86,95	77,88	95,19	81,63	24,74
IG	-	90,29	76,12	88,74	83,47	21,52

Legenda: GRS – germinação relativa das sementes; Média raízes – média de comprimento das raízes das alfases; CRR – crescimento relativo das raízes; IG – índice de germinação.

Tabela dos resultados do ensaio de germinação do dia 28/06

Diluições	Branco	5%	10%	25%	50%	100%
GRS	-	99,44	90,96	92,09	96,61	0
Média raízes	29,10	30,34	28,68	20,44	12,87	0
CRR	-	104,25	98,53	70,24	44,23	0
IG	-	103,67	89,62	64,68	42,73	0

Legenda: GRS – germinação relativa das sementes; Média raízes – média de comprimento das raízes das alfases; CRR – crescimento relativo das raízes; IG – índice de germinação.

Tabela dos resultados do ensaio de germinação com o digestato acumulado

Diluições	Branco	5%	10%	25%	50%	100%
GRS	-	101,04	97,92	96,88	95,31	0
Média raízes	36,77	36,75	32,61	19,60	16,08	0
CRR	-	99,95	88,69	53,30	43,73	0
IG	-	100,99	86,84	51,63	41,68	0

Legenda: GRS – germinação relativa das sementes; Média raízes – média de comprimento das raízes das alfases; CRR – crescimento relativo das raízes; IG – índice de germinação.

Tabela dos resultados do ensaio de germinação com o digestato sólido

Diluições	Branco	5%	10%	25%	50%	100%
GRS	-	95,31	81,77	54,17	0	0
Média raízes	36,77	15,91	7,86	2,44	0	0
CRR	-	43,27	21,38	6,63	0	0
IG	-	41,24	17,49	3,59	0	0

Legenda: GRS – germinação relativa das sementes; Média raízes – média de comprimento das raízes das alfases; CRR – crescimento relativo das raízes; IG – índice de germinação.