

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO



THAYSE FARIAS DE BARROS

**Produção de metano a partir da codigestão do caldo do capim
elefante e vinhaça.**

Maceió

2022

THAYSE FARIAS DE BARROS

**Produção de metano a partir da codigestão do caldo do capim
elefante e vinhaça.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Hídricos e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim

Coorientador: Dr. Anderson Carlos Marafon

Maceió

2022

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

B277p Barros, Thayse Farias de.
Produção de metano a partir da codigestão do caldo do capim elefante e vinhaça /
Thayse Farias de Barros. – 2022.
87 f. : il. color.

Orientador: Eduardo Lucena Cavalcante de Amorim.
Co-orientador: Anderson Carlos Marafon.
Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Universidade
Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 79-87.

1. Codigestão anaeróbia. 2. Metano. 3. Planejamento Box-Behnken. 4. Reatores em
batelada. I. Título.

CDU: 620.91

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, sem ele esse sonho não seria realizado a Ele toda a honra e toda a glória.

Aos meus pais, Edilene Farias e Lucas Barros pois sem eles não teria forças nem condições de continuar na caminhada. Ao meu noivo Valdo Fausto, por ser meu porto seguro me dando todo carinho, conselhos e ajuda. Vocês sempre acreditaram e me fazem acreditar no meu potencial e na minha força. A vocês todo o meu amor e eterna gratidão.

À Universidade Federal de Alagoas (UFAL), ao Centro de Tecnologia (CTEC) e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento (PPGRHS) e a todo corpo docente que de alguma forma colaboraram para a realização dessa dissertação.

Ao meu orientador Dr. Eduardo Lucena pela sua paciência e toda sua sabedoria em me ajudar durante esses anos de mestrado, acredito que foi Deus que me guiou até o senhor, não consigo imaginar orientador mais adequado para me orientar nessa caminhada.

A EMBRAPA pela concessão da bolsa de estudos durante um período do mestrado. Ao meu Coorientador Anderson Marafon por todo suporte e apoio.

A professora Dayse Oliveira e Dayana Coelho pelo auxílio científico que colaborou para o produto final apresentado.

A graduanda Maria Kelyane, que não só contribuiu na pesquisa como também se tornou uma grande amiga.

A minha amiga, Heloisa Vital que foi um dos grandes presentes que ganhei no mestrado, sempre me apoiando, escutando e me incentivando em todos os momentos do mestrado e na vida, serei sempre grata pela sua amizade.

Aos meus amigos Ana Leticia, Genisson Penta, Heloize Maria, Marccone Correia, Nicolas Wesley e Sara Louyse por toda amizade, apoio, conselhos, conversas e por compartilhar momentos bons e ruins no mestrado e na pandemia.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, minha eterna gratidão.

Os sonhos não determinam o lugar que você vai estar, mas produzem a força necessária para o tirar do lugar em que está.

Augusto Cury

RESUMO

BARROS, T. F. **Produção de metano a partir da codigestão do caldo do capim elefante e vinhaça**. 2022. 86 f. Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em recursos hídricos e saneamento. Universidade Federal de Alagoas, 2022.

A produção de energia por fontes fósseis acarreta grandes danos ao meio ambiente. Uma forma de diminuir esses danos é usando fontes de biomassa na geração de energia como por exemplo o caldo de capim elefante (CCE) e vinhaça. No entanto, o uso dessas biomassas em conjunto na produção de metano, ainda possuem desafios a serem superados. Um destes obstáculos é a redução abrupta de pH provocada pelo CCE. Dessa forma, o presente estudo visou avaliar o potencial de produção de metano através da codigestão anaeróbia do CCE e vinhaça em reator batelada utilizando como inóculo lodo de um reator do tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) provenientes de uma ETE. Os experimentos para estudo deste sistema foram realizados de acordo com o planejamento estatístico do tipo Box-Behnken e Metodologia de Superfície de Resposta. Esse planejamento consiste em três fatores, sendo eles a adição de bicarbonato de sódio, proporção de mistura e porcentagem de inóculo. Foram escolhidos três níveis de cada fator: 0,05, 0,15 e 0,25 gHCO₃:gCOD, para adição de bicarbonato; 25:75, 50:50 e 75:25, para a proporção de CCE e Vinhaça (CCE/V); e 10, 15 e 20% de concentração de inóculo, referente ao volume de reação. Através do planejamento foi possível fornecer uma superfície de respostas a fim de avaliar a interação entre os fatores e a produção de metano (CH₄). Os reatores foram operados por 33 dias o que resultou em uma produção acumulada de CH₄ variando entre 372 e 1092 mLCH₄/gSV. O planejamento experimental forneceu uma equação de regressão quadrática com R² de 0,9213. O fator bicarbonato se destacou dentre os outros, o que mostra a necessidade do mesmo para garantir o tamponamento do pH. Através do modelo foi possível obter os pontos ótimos de cada fator a produção de CH₄ acumulado, sendo eles 0,19 gHCO₃:gDQO, 50,78:49,22 (CCE/V) e 15,60% para bicarbonato, proporção mistura e taxa de inóculo respectivamente, esses pontos ótimos se assemelham a um dos reatores que mais produziram CH₄ acumulado. As maiores produções de CH₄ acumulado tiveram a adição de bicarbonato próximo ao ótimo sendo assim, pode-se compreender que o bicarbonato é um fator limitante no aumento da produção de CH₄ acumulado.

Palavras-chave: Metano, Codigestão anaeróbia, Planejamento Box-Behnken, Reator batelada.

ABSTRACT

BARROS, T. F. **Methane production from the co-digestion of elephant grass juice and vinasse in a batch reactor**. 2022. 86 p. M.Sc Dissertation – Programa de pós-graduação em recursos hídricos e saneamento. Universidade Federal de Alagoas, 2022.

The production of energy by fossil sources can lead to great damages to environment. One way to reduce these damages is to use biomass as an energy source, such as elephant grass broth (EGB) and vinasse. However, the use of these biomasses together in the production of methane still has challenges to be overcome. One of these obstacles is the abrupt reduction of pH by EGB. Thus, the present study aimed to evaluate the potential for methane production through anaerobic co-digestion of EGB and vinasse in a batch reactor using sludge from a UASB reactor (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) as inoculum from an STP. The experiments to study this system were performed according to the Box-Behnken statistical design of experiment and Response Surface Methodology. This design consists of three factors: addition of sodium bicarbonate; the proportion of substrates mix and inoculum concentration. Three levels of each factor were chosen: 0.05, 0.15 and 0.25 gHCO₃:gCOD, for addition of sodium bicarbonate; 25:75, 50:50 and 75:25, for the proportion of EGB and Vinasse (EGB/V); and 10, 15 and 20% of inoculum concentration, in reference to the reaction volume. Through Box-Behnken planning, it was possible to provide a response surface to evaluate the interaction between the factors and the production of methane (CH₄). The reactors were operated for 33 days, which resulted in an accumulated production of CH₄ varying between 372 and 1092 mLCH₄/gSV. The experimental design provided a quadratic regression equation with R² of 0.9213. Through the model was possible to obtain the optimal points of each factor for the production of accumulated CH₄, being 0.19 gHCO₃:gCOD, 50.78:49.22 (EGB/V) and 15.60% for bicarbonate, mixing ratio and inoculum rate respectively, these optimal points resemble one of the reactors that most produced accumulated CH₄. The highest production of accumulated CH₄ had bicarbonate addition close to optimal point, so it can be understood that bicarbonate is a limiting factor in increasing the production of accumulated CH₄.

Keywords: Methane, Anaerobic codigestion, Box-Behnken design, Batch reactor.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição físico-química da vinhaça	38
Tabela 2: Estudos comparativos da produção de metano a partir dos substratos de capim elefante de vinhaça.....	39
Tabela 3: Fatores e níveis de interesse utilizados para o planejamento.	46
Tabela 4: Matriz experimental utilizada para o planejamento.....	47
Tabela 5: Tabela com as nomenclaturas e configuração dos reatores	48
Tabela 6: Volume dos substratos em diferentes variações do inóculo.....	49
Tabela 7: Configuração de montagem dos reatores	50
Tabela 8: Resultados físico-químicos iniciais dos reatores.	52
Tabela 9: Equação e modelo de regressão não lineares ajustados à produção acumulada de biogás.	54
Tabela 10: Resultados das análises físico-químicas iniciais dos substratos e inóculo	55
Tabela 11: Comparativo de sólidos voláteis totais nos reatores.....	64
Tabela 12: Fatores, interações e valores de f e p correspondentes.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processos da digestão anaeróbia e rotas metabólicas envolvidas	20
Figura 2: Taxa de crescimento e constante de saturação dos gêneros Methanosaetaceae e Methanosarcinaceae.....	22
Figura 3: Processo de produção de vinhaça a partir da cana-de-açúcar	36
Figura 4: Reatores montados para operação em batelada.	51
Figura 5: pH final dos *reatores.....	58
Figura 6: Comparativo da DQO dos *reatores e sua taxa de remoção.	60
Figura 7:Comparativo da DQO dos *reatores controles e sua taxa de remoção.....	61
Figura 8: Comparativo de carboidrato dos reatores do planejamento e sua taxa de remoção.	62
Figura 9: Comparativo de carboidrato totais nos reatores controles e sua taxa de remoção.	63
Figura 10:Produção acumulada dos reatores do planejamento com ajuste do Gompertz modificado.	66
Figura 11: Produção acumulada dos *reatores de maior produção com ajuste do Gompertz modificado.	67
Figura 12: Produção dos *reatores controles com ajuste do Gompertz modificado. .	68
Figura 13: Produção de metano por sólidos voláteis.....	69
Figura 14: Gráfico de Pareto dos Efeitos Padronizados. (Resposta= Produção de CH ₄ (mL); $\alpha = 0,05$).....	72
Figura 15: Superfície de resposta tridimensional da interação entre Proporção de Mistura e a Porcentagem de Inóculo (%)	73

Figura 16: Gráfico de contorno entre a proporção da mistura e a porcentagem de inóculo (%)	73
Figura 17: Superfície de resposta tridimensional da interação entre o bicarbonato e a porcentagem de inóculo (%).....	74
Figura 18: Gráfico de contorno entre o bicarbonato e a porcentagem de inóculo (%)	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV- Ácidos Graxos Voláteis de cadeia curta

bioCH₄- Biometano

bioH- Biohidrogênio

C:N- Relação Carbono:Nitrogênio

CCE- Caldo de Capim-elefante

CCE/V- Proporção de Caldo de capim-elefante e Vinhaça

CECA- Campus de Engenharias e Ciências Agrárias

CTEC- Centro de Tecnologia

DBO- Demanda Bioquímica de Oxigênio

DOE- *Desing of Experiments*

DQO- Demanda Química de Oxigênio

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária

HTR- Tempo de Retenção Hidráulica

LCA- Laboratório de Controle Ambiental

LSA- Laboratório de Saneamento Ambiental

OD- Oxigênio Dissolvido

pH- Potencial Hidrogeniônico

ppm- Partes Por Milhão

R²- Coeficiente de Determinação

SF- Sólidos Fixos

SS- Sólidos Suspensos

ST- Sólidos Totais

SV- Sólidos Voláteis

TOC- Carbono Orgânico Total

TRS- Tempo de Retenção de Sólidos

UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*

UFAL- Universidade de Alagoas

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	OBJETIVOS E METAS	18
2.1	Objetivo Geral	18
2.2	Objetivos Específicos.....	18
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	Fundamentação da digestão e codigestão anaeróbia.....	19
3.1.1	Digestão anaeróbia.....	19
3.1.2	Fatores que influenciam a digestão anaeróbia	23
3.1.3	Codigestão.....	25
3.1.4	Inóculo	26
3.2	Biomassa e Biogás	28
3.2.1	Biomassa	28
3.2.2	Biogás.....	30
3.3	Reator em batelada.....	31
3.4	Planeamento experimental e superfície de resposta.....	32
3.5	Aspectos gerais dos substratos e do cosubstrato.....	33
3.5.1	Capim elefante (substrato).....	33
3.5.2	Vinhaça (co-substrato).....	35
3.5.3	Produção de metano a partir do capim elefante e vinhaça na digestão anaeróbia e seus obstáculos.....	39
3.6	Considerações finais.....	43
4.	METODOLOGIA	45
4.1	Caracterização dos substratos e inóculo	45
4.2	Planejamento experimental	46
4.3	Montagem do ensaio, acompanhamento e monitoramento.....	48

4.3.1	Caracterização inicial dos reatores.....	51
4.3.2	Cromatografia.....	52
4.4	Análise de dados	53
4.4.1	Análise estatística de dados	54
4.4.2	Análise da variância.....	55
4.5	Caracterização dos substratos.....	55
5.	RESULTADOS.....	57
5.1	Caracterização físico-química dos reatores.....	57
5.1.1	Caracterização final dos reatores	57
5.2	Análise da produção de CH₄ acumulado nos reatores.....	65
5.3	Teste de otimização.....	70
6.	CONCLUSÃO	76
7.	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	78
	REFERÊNCIAS.....	79

1. INTRODUÇÃO

A demanda por energia está entrelaçada ao desenvolvimento da humanidade, onde a partir dessa evolução se faz necessário o aumento da produção de energia. Atualmente, a geração de energia por fontes fósseis é um dos principais causadores do aumento de concentrações globais de dióxido de carbono, que causa grandes problemas ambientais irreversíveis, sentidos em todo o mundo. Dados mostram que a média de crescimento de dióxido de carbono na atmosfera de 2012 a 2014, atingiu o valor máximo registrado com valor de 395 partes por milhão (ppm). Em 2015 esse valor foi superado pela marca de 400ppm, sendo o maior valor atingido desde o início da medição global (NOAA, 2020).

Ao analisar o progresso econômico e tecnológico seguido da necessidade de conservação do meio ambiente, pode-se compreender a necessidade de novas fontes de geração de energia mais sustentável e limpa. Com essa crescente necessidade, os estudos e desenvolvimento de novas fontes têm sido impulsionado mundialmente nos últimos tempos.

Atualmente, fontes derivadas de biomassa vem sendo bastante estudadas devido seu grande potencial em ser uma fonte de energia renovável dentro do médio e curto prazo (MME, 2018). Por definição, ela pode ser entendida como toda ou qualquer matéria orgânica de origem vegetal e animal ou gerada por humanos e animais, em setores agrícolas e industriais, podendo ser usada a fim de gerar energia (CARPENTIERI, LARSON & WOODS, 1993; FERREIRA et al., 2018).

Ao utilizar a biomassas, na geração de energia, pode-se obter o biogás através da digestão anaeróbia, a mesma pode ser compreendida como um processo biológico que ocorre na ausência de oxigênio onde a matéria orgânica é metabolizada por diversos microrganismos gerando metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), que por sua vez, são os principais componentes do biogás (CARVALHO et al., 2016).

Já o biogás, trata-se de um gás com conteúdo energético elevado, semelhante ao gás natural constituído, principalmente, por 50-75% de CH_4 e 50-25% de CO_2 , que pode ser utilizado para gerar energia elétrica, térmica ou mecânica em propriedades rurais a fim de contribuir com a redução de custos de produção e, como consequência, tratar os resíduos produzidos, causando a diminuição dos impactos ambientais (SOUZA et al., 2004; BATISTA, 2014; CARVALHO et al., 2016).

No Brasil, esse tipo de geração de energia possui grande potencial para diminuir o uso de fontes não renováveis, como por exemplo a energia derivada de hidrelétricas, já que o país possui grande geração de resíduos agroindustriais contendo diversas matérias orgânicas de fácil acesso para seu uso na geração de energia.

Uma das matérias orgânicas que pode ser usada como biomassa para geração de energia são as derivadas de substratos lignocelulósicos, pois apresentam as maiores fontes de matéria-prima para gerar energia. (RAMOS-SUARÉZ et al., 2017). Apesar do alto potencial dos substratos lignocelulósicos para fins de digestão anaeróbia, sua estrutura possui grande resistência à hidrólise, como forma de proteção contra os microrganismos, ocasionando baixo rendimento na produção de metano (CH_4), instabilidade do sistema operacional devido seu alto teor de sólidos, e difícil biodegradabilidade. (YANG et al., 2015).

O uso de substratos lignocelulósicos em sua forma líquida tanto pode superar os obstáculos, ocorridos quando usado a sua forma sólida, quanto pode servir como um pré-tratamento eficaz, contribuindo assim para o processo de digestão anaeróbia (Huang et al., 2017).

Desse modo, juntando o potencial do uso de substrato em sua forma líquida com a possibilidade de usar resíduos agroindustriais para geração de energia, pode-se chegar aos resíduos derivados da cana de açúcar, como por exemplo a Vinhaça que é um dos principais resíduos oriundos da etapa de destilação na produção do etanol que chega a produzir 10-15L de vinhaça a partir de 1L de etanol gerado (PARSAEE, KIANI DEH KIANI & KARIMI, 2019; WESTERHOLM, HANSSON & SCHNÜRER, 2012). Esse resíduo é usado principalmente na fertirrigação, devido a sua grande quantidade de nutrientes, no entanto, ele possui teor de poluição 100 vezes maior que o esgoto doméstico, de forma que, se descartado inadequadamente, pode causar graves problemas ao meio ambiente (MORAES, ZAIAT & BONOMI, 2015).

De forma a mitigar estes problemas, o processo de biodigestão anaeróbio permite elevar o pH da vinhaça biodigerida trazendo vantagens como a produção de metano e o tratamento do resíduo, o que pode acarretar a economia ao setor e melhoria ao meio ambiente. Eskicioglu et al. (2011), por exemplo, estudaram o uso da

vinhaça na digestão anaeróbia em reator batelada em condições mesofílica e termofílica, concluindo que o substrato em ambas as condições possuiu um grande potencial de produção de metano, gerando cerca de 49 ± 5 LCH₄ em condições mesofílicas e termofílica. Sendo assim, pode-se especular que a vinhaça possui um grande potencial para ser usada como substrato na geração de energia.

Da mesma forma, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) é um perene originário da África, considerado um biorrecurso atrativo para aplicação em diversos campos, como agricultura, energia e materiais (HUANG et al., 2019). Ele se destaca entre as gramíneas tropicais pelo seu maior rendimento na produção de biomassa, que pode superar 72 t/ha de matéria seca por ano, e pela sua excelente adaptabilidade à diversas condições edafoclimáticas (EGWU, 2021). Seu uso como substrato para geração de energia é bastante estudado devido a sua grande capacidade de acumular matéria seca rica em fibras e seu alto teor de carboidratos, o que o evidencia como uma fonte com grande potencial para a produção de biogás (HE, KUO & LI, 2017).

Ojediran et al. (2021) estudaram a codigestão do capim elefante com esterco de porco e concluíram que a codigestão pode aumentar a produção de biogás do capim elefante com geração média entre 11,07 e 4,98 m³CH₄/kgVS/dia. Borges et al. (2021) analisaram diversos cenários tanto da monodigestão como da codigestão da vinhaça com glicerol destilado onde obteve o maior rendimento e melhor eficiência (97%) na codigestão, chegando a gerar, no seu maior rendimento, cerca de 352 mLCH₄/gDQO de metano na codigestão.

Um estudo recente de Silva (2020) destacou o uso do capim elefante em forma de caldo junto a uma codigestão com vinhaça sem uso de pré-tratamento, o que resultou na eficácia máxima da produção de biogás no valor de 370,94 mLCH₄/gSV. No entanto, neste trabalho, a codigestão do capim-elefante com vinhaça apresentou decaimento significativo do pH, o que acarretou uma menor produção de metano, porém, em condições com adição de alcalinizante, foi observado que além de diminuir a queda do pH, pode contribuir com o aumento significativo na produção de metano, por isso, foi sugerida a adição de alcalinizantes, para aumento e estabilização do pH e maior produção de biogás. Contudo, cogita-se que esse último estudo citado foi o primeiro a utilizar o capim elefante em forma de caldo, fazendo-se necessário novas investigações sobre seu uso na produção de metano.

Em suma, apesar da codigestão do capim elefante com a vinhaça serem favoráveis para a produção de metano, pouco são os estudos correlacionando esses substratos em conjunto, podendo ser de grande valor científico e tecnológico o estudo aprofundado deles.

Foi observado em estudos anteriores, poucas análises foram feitas sobre a adição ideal de um alcalinizante na codigestão do CCE com vinhaça, a fim de avaliar o grau de significância e a melhor proporção da adição do alcalinizante em diferentes proporções dos substratos. Dessa forma, a presente pesquisa avaliou como as diferentes proporções dos substratos, as diferentes adições de bicarbonato e diferentes proporções de inóculo interagem no sistema, a fim de conseguir identificar qual condição é a ideal para uma maior geração de metano.

Essa pesquisa foi uma continuação dos estudos de Silva (2020) em parceria com um projeto de pesquisa nacional liderado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) junto com outras instituições, dentre elas a Universidade Federal de Alagoas, o qual possui uma de suas atividades o estudo da produção de metano utilizando caldo do capim elefante e vinhaça como substratos, que se destaca como foco da presente dissertação.

2. OBJETIVOS E METAS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial de produção de metano durante a codigestão anaeróbia do CCE e vinhaça, variando a adição de bicarbonato, a proporção dos substratos (CCE e vinhaça) e a concentração do inóculo.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a eficiência de produção de CH₄ em função da adição de bicarbonato em diferentes proporções;
- Avaliar o rendimento de CH₄ através das diferentes proporções de substrato, co-substrato e inóculo;
- Quantificar a produção de metano durante os ensaios;
- Realizar o estudo estatístico através do planejamento experimental do tipo Box-Behnken;
- Avaliar a significância tanto do modelo estatístico como dos fatores;
- Otimizar a produção de metano da codigestão anaeróbia do CCE e vinhaça utilizando Metodologia de Superfície de Resposta.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

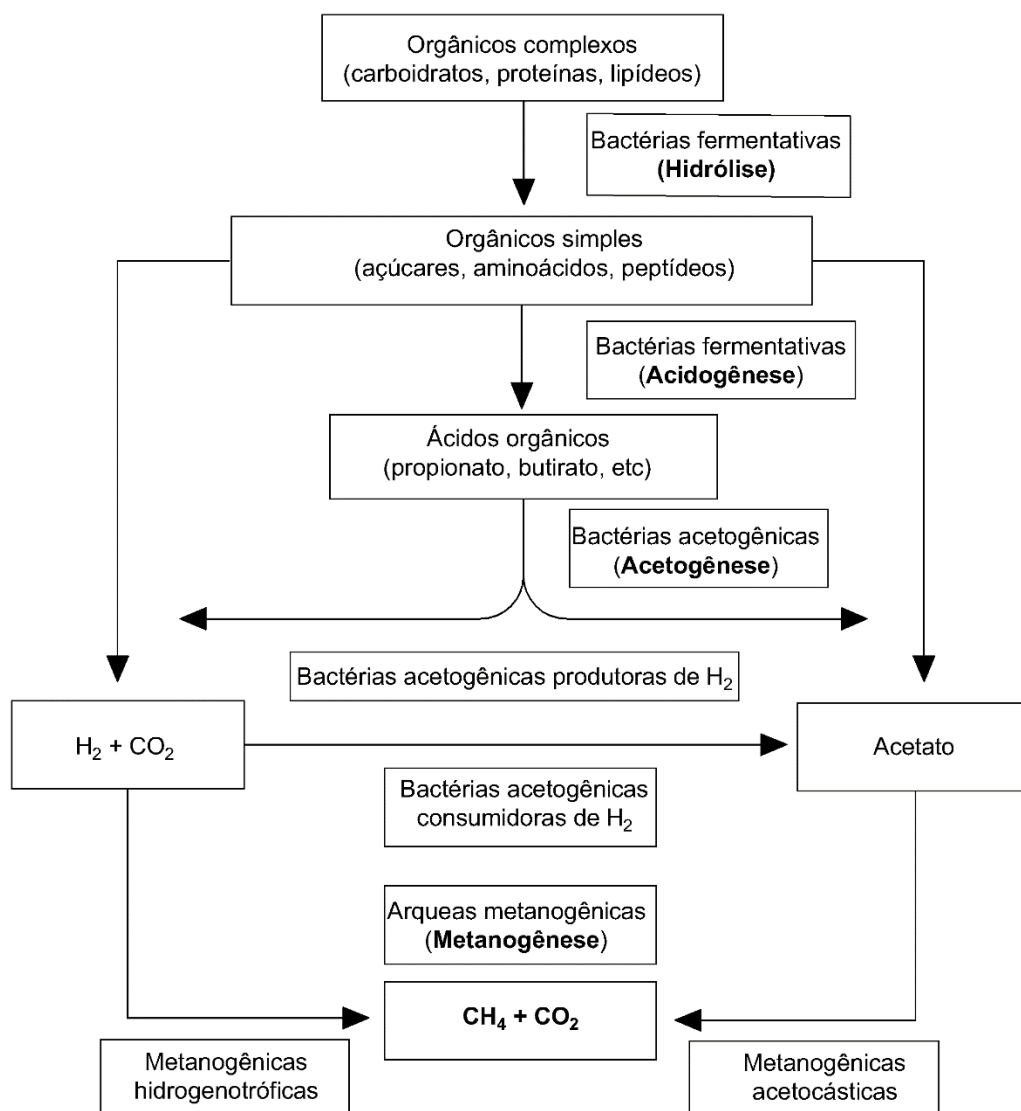
3.1 Fundamentação da digestão e codigestão anaeróbia

O processo de geração de metano ocorre, preferencialmente, em ambientes anaeróbios, onde o oxigênio, o nitrato e o sulfato não estejam prontamente disponíveis como aceptores de elétrons. Isso se dá pelo fato de que, na presença desses compostos, a matéria orgânica é oxidada pelo processo aeróbio. Com isso, para a produção de metano, se faz necessário um ambiente que possua macro e micronutrientes em condições ideais já estabelecida, o que nos leva a digestão anaeróbia.

3.1.1 Digestão anaeróbia

Compreende-se que a digestão anaeróbica é um processo natural onde a matéria orgânica é decomposta por vários micróbios em um meio sem presença de oxigênio, onde diversos grupos de microrganismos trabalham interativamente na conversão da matéria orgânica complexa em metano (CH_4), gás carbônico (CO_2), água, gás sulfídrico (H_2S) e amônia (NH_3) além de novas células bacterianas, dentre esses, podemos destacar o metano e dióxido de carbono que são usados para produção de biogás. Tal processo ocorre em quatro etapas conhecidas por hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, além dessas quatro existe uma etapa indesejável e concorrente da metanogênese chamada de sulfetogênese (BROWN; SHI; LI, 2012; CHERNICHARO, 2019; SILVA et.al, 2019). O esquema das etapas pode ser observado na Figura 1:

Figura 1: Processos da digestão anaeróbia e rotas metabólicas envolvidas



Fonte: Chernicharo (2019) adaptado de Lettinga et al. (1996).

Na primeira etapa, hidrólise, ocorre a conversão de materiais complexos, de grande massa molecular, em materiais simples e solúveis, através de ação de enzimas extracelulares secretadas pelas bactérias hidrolíticas (bactérias fermentativas). Tal etapa está diretamente relacionada com a velocidade do processo e pode-se dizer que é uma etapa limitante na digestão anaeróbia pois, caso possua materiais muito complexos e difícil degradação, a mesma necessitará de um maior tempo para a conversão da matéria onde o tempo irá variar de horas (caso dos carboidratos) a dias (que é o caso de lipídios e proteínas) a depender do substrato (KUNZ, STEINMETZ & AMARAL, 2019).

Os materiais simples, convertido na etapa anterior, são então absorvidos nas células das bactérias fermentativas em uma etapa chamada de acidogênese e em seguida, depois da acidogênese, excretadas como substâncias orgânicas simples como ácidos graxos voláteis de cadeia curta (AGV), álcoois, ácidos lácticos, compostos minerais etc. Essa etapa é executada por um grande e diverso grupo de bactérias em que a sua maioria é anaeróbia obrigatória, além disso, o produto gerado por bactérias acidogênicas, são substratos importantes para as seguintes bactérias da digestão anaeróbia (bactérias acetogênicas e arqueas metanogênicas) (PROSAB, 1999).

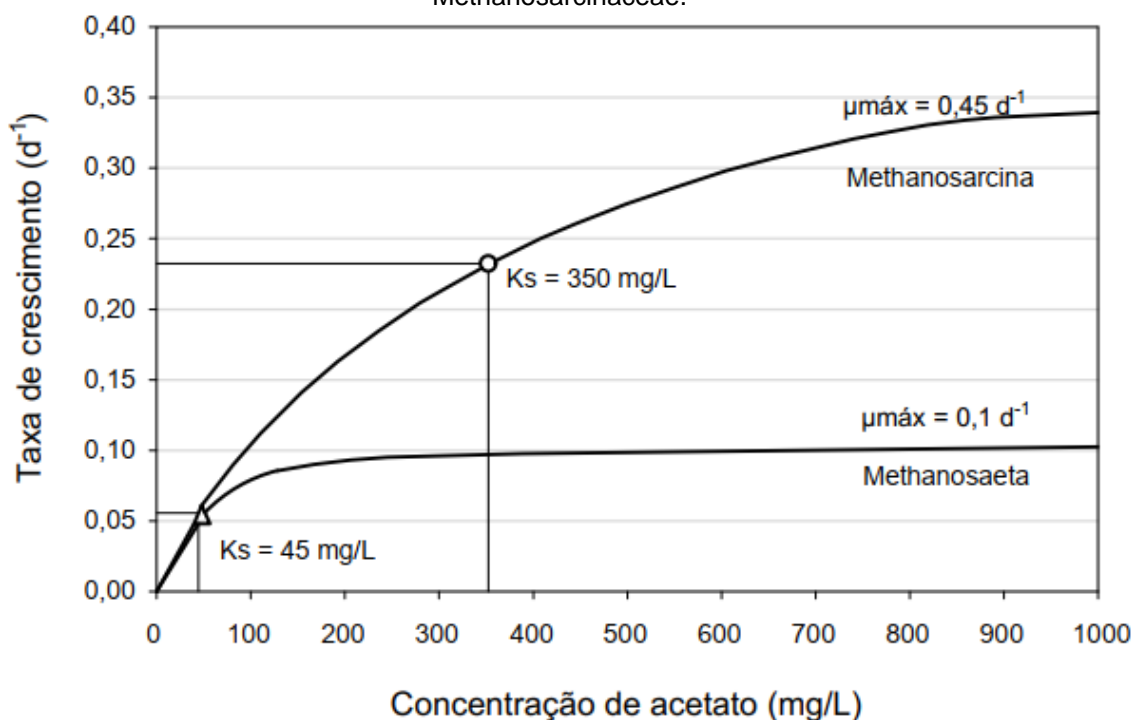
A etapa seguinte, acetogênese, é responsável pela oxidação dos compostos orgânicos intermediários, propionato e butirato, em substratos específicos dos microrganismos metanogênicos (acetato, hidrogênio e dióxido de carbono) através das bactérias sintróficas acetogênicas, sendo os gêneros encontrados em digestores anaeróbios as *Syntrophobacter* e *Syntrophomonas*. Entretanto, a formação de acetato ocasiona uma grande produção de H_2 o que faz o pH no meio aquoso diminuir, além disso, a produção de acetato a partir do propionato e butirato é inibida pela baixa presença de hidrogênio dissolvido e de acetato, sendo assim, para que ocorram as reações acetogênicas, se faz necessário que as concentrações dos produtos (hidrogênio e acetato) sejam mantidas baixas e essa condição pode ser facilmente conseguida através dos microrganismos consumidores de acetato e hidrogênio. Além disso, vale destacar que aproximadamente 70% da DQO (Demanda Química de Oxigênio) digerida é convertida em ácido acético, com grande importância dos organismos cetogênicos na digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2019).

A metanogênese, etapa final para a geração de metano, é realizada através dos microrganismos metanogênicos classificados dentro do domínio das Arqueas, assim, o carbono contido na biomassa é convertido a dióxido de carbono e metano por ação das arqueas metanogênicas, essas, utilizam um número limitado de substratos, constituído somente por ácido acético, hidrogênio/dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas e monóxido de carbono. A metanogênese pode ser considerada como uma forma de respiração anaeróbia que executa um papel vital em ambientes anaeróbios onde as arqueas metanogênicas fazem a remoção do excesso de hidrogênio e os produtos da fermentação, proporcionando assim a redução parcial do hidrogênio no meio fazendo com que seja possível as reações realizadas pelas bactérias acetogênicas. Além disso, as arqueas metanogênicas

podem ser divididas em dois principais grupos, de acordo com suas vias metabólicas, que podem ser as Metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas (CHERNICHARO, 2019; KUNZ, STEINMETZ & AMARAL, 2019).

As Metanogênicas acetoclásticas utilizam o acetato como fonte de carbono e energia para produzir gás carbônico (CO₂) e metano (CH₄). Elas são responsáveis por cerca de até 70% de toda produção de metano, através do grupo metil do ácido acético. Além disso, dentre as cinco ordens, a única que possui as arqueas acetoclásticas são as Methanosarcinales que por sua vez, se dividem em duas famílias, as Methanosaetaceae e Methanosarcinaceae. A primeira possui uma alta afinidade pelo acetato, porém uma taxa máxima de crescimento específico relativamente baixa de 0,1 por dia, já a outra, se mostra generalista (também podem usar hidrogênio e metilaminas), por não possui grande afinidade com o acetato, porém, possui uma alta taxa máxima de crescimento específico dado pelo valor de 0,45 por dia. Se tratando de competição entre as famílias, podemos dizer que a Methanosaetaceae é predominantemente favorita em baixa concentração de acetato enquanto a Methanosarcinaceae predomina em concentrações mais altas como mostra a figura 2 (CHERNICHARO, 2019).

Figura 2: Taxa de crescimento e constante de saturação dos gêneros Methanosaetaceae e Methanosarcinaceae.



Fonte: CHERNICHARO, 2019

O segundo grupo das arqueas metanogênicas são chamadas de arqueas metanogênicas hidrogenotróficas que convertem hidrogênio e dióxido de carbono a metano, praticamente todas as espécies são capazes de produzir metano que resulta em uma liberação maior de energia. Podemos destacar que as arqueas metanogênicas acetoclásticas são mais sensíveis às mudanças de pH e elevadas concentrações de amônia, o que são características de substrato agropecuário o que pode implicar no predomínio das arqueas metanogênicas hidrogenotróficas (KUNZ; STEINMETZ & AMARAL, 2019).

3.1.2 Fatores que influenciam a digestão anaeróbia

A degradação de compostos orgânicos na digestão anaeróbia, pode ser influenciada negativamente ou positivamente, por uma série de fatores que em sua maioria, podem ser controlados.

A presença de um desequilíbrio na digestão anaeróbia ocasionado por um fator pode, por exemplo, interferir na fase metanogênica, principalmente pela sensibilidade das arqueas metanogênicas que ao deixar de produzir metanos, ocasiona um aumento na concentração de ácidos orgânicos voláteis, o que inibe a produção de biogás. Alguns fatores que podem influenciar a digestão anaeróbia estão relacionados com o tipo de substrato (tipo e quantidade de nutrientes, composição físico-química e pré-tratamento) assim como a caracterização do biodigestor e as condições de operação do sistema (CHERNICHARO, 2019).

3.1.2.1 Temperatura

A temperatura é um dos fatores físicos que afetam o crescimento microbiano em que sua variação pode refletir em uma inibição no crescimento dos microrganismos atuantes. Além disso, ela influencia diretamente as propriedades físico-químicas de componentes presentes nos substratos. Vale destacar que a digestão anaeróbia pode acontecer em três diferentes faixas de temperatura (BATSTONE et al., 2002):

- Faixa psicrófila: entre 4 e 15 °C
- Faixa mesófila: entre 20 e 40 °C
- Faixa termófila: entre 45 e 70 °C

Pode ser considerado como níveis ótimos de temperatura as faixas mesofílica e termofílica, porém, apesar de possuir duas faixas consideradas ótimas, a maioria dos digestores anaeróbios tem sido projetados na faixa mesofílica. No entanto, operações feitas de digestores anaeróbios desta faixa, não possuem resultados totalmente satisfatórios, principalmente por possuir outras questões como o tipo de suplemento energético, para aquecer os digestores, a má qualidade dos sobrenadantes e a instabilidade do processo (CHERNICHARO, 2019).

3.1.2.2 pH, alcalinidade e ácidos voláteis

O pH, a alcalinidade e os ácidos voláteis são fatores que além de estarem intimamente relacionados entre si, eles influenciam na estabilidade do processo completo da biodigestão anaeróbia. As bactérias metanogênicas em biodigestores, atuam em uma faixa ótima variando entre 6,8 e 7,5, por outro lado, as bactérias hidrolíticas possuem desenvolvimento em meios ácidos (pH entre 5,2 e 6,3) porém, não apresentam sensibilidade, conseguindo assim, trabalhar na conversão do substrato mesmo em condições de pH mais elevados do que a sua faixa ideal (CHERNICHARO, 2019; SARUFO, 2019).

O acúmulo de ácidos voláteis podem causar queda do pH em valores inferiores a 6,6 o que causa a inibição do crescimento das arqueas metanogênicas, porém, não afetam a atividade das bactérias acidogênicas as quais continuam suas funções até valores de pH próximo a 4,5. Em suma, o acúmulo de ácidos voláteis leva a interrupção do processo completo de digestão anaeróbia (SERUFO, 2019).

Existe ainda uma interação entre a alcalinidade e os ácidos voláteis que se baseia na capacidade da alcalinidade do sistema neutralizar os ácidos formados no processo, além do tamponamento do pH quando se há acúmulo de ácidos voláteis. Como resultado da interação desses fatores, a alcalinidade bicarbonato é convertida em alcalinidade de ácidos voláteis pelo fato de os ácidos voláteis serem mais fortes que o bicarbonato. É importante destacar que tanto a alcalinidade como os ácidos voláteis derivam da decomposição dos compostos orgânicos durante a digestão. (CHERNICHARO, 2019).

A inibição do processo anaeróbio por ácidos voláteis está diretamente relacionada com o pH, quando há baixos valores de pH, na maioria das vezes, está relacionado com altas concentrações de ácidos graxos voláteis, que por sua vez

levam à interrupção do processo (KUS; WISMANN, 1995). Dessa forma, para garantir a estabilidade do sistema e evitar o acúmulo de ácidos voláteis, é necessário garantir uma suplementação de alcalinidade bicarbonato perdida na interação com os ácidos voláteis.

Existem variados produtos químicos que podem ser usados para suplementação da alcalinidade. Eles podem ser divididos entre os que fornecem alcalinidade bicarbonato diretamente (que é o caso do hidróxido de sódio (NaOH), bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e bicarbonato de amônia (NH₄HCO₃)) e os que reagem como gás carbônico para formar a alcalinidade bicarbonato (são esses a cal virgem (CaO), a cal hidratada (Ca (OH)₂) e o hidróxido de amônia (NH₃). Dentre esses, podemos destacar o bicarbonato de sódio pelo seu fácil manuseio, fácil acesso e por ser um produto muito solúvel, além de não elevar o pH substancialmente. (CHERNICHARO, 2019).

Torres et al. (2005) em seu estudo, avaliou os efeitos de três tipos de alcalinizantes: cal hidratada (Ca (OH)₂), hidróxido de sódio (NaOH) e bicarbonato de sódio (NaHCO₃) a fim de neutralizar a acidez de um fluido residual do processamento de mandioca e analisar a melhor substância, em custo/benefício, para garantir o tampão do sistema anaeróbio. O autor concluiu que, comparada as demais, o bicarbonato de sódio era a alternativa mais economicamente viável para garantir o tampão do sistema.

3.1.3 Codigestão

A codigestão é uma estratégia que possui grande eficiência na melhoria da digestão anaeróbia proporcionado pela sua capacidade de atingir eficácia em diversos pontos, como a melhoria do equilíbrio de macro e micronutrientes, a sua colaboração na diversificação nas comunidades microbianas, a redução da concentração de compostos tóxicos com base no co-metabolismo, a capacidade de tamponamento aumentada, a melhoria na taxa de digestão e o aumento da produção de biogás etc. (ZHANG et al., 2021). Dessa forma, quando mais de um resíduo é tratado simultaneamente, maior é o desempenho do processo e conseqüentemente, favorece o aumento da produção de biogás (POCHWATKA et al., 2020). Porém, quando não usado as proporções ou substratos adequados para a codigestão, ele pode não ser

benéfico, acarretando a instabilidade do sistema e por consequência, a diminuição da produção de metano (XIE *et al.*, 2016; SILVA, 2020).

Em continuidade, a escolha dos substratos a serem usados na codigestão, deve ser feita através das suas análises química. Com isso, temos na codigestão de CCE e Vinhaça, os o alto valor de carboidrato vinda do substrato lignocelulósicos e as altas concentrações de proteínas vinda do resíduo do etanol, podem colaborar com a maior produção de metano durante o processo (SILVA, 2020).

No entanto, apesar dos carboidratos serem uma das principais matéria orgânica na digestão anaeróbia com alto potencial para a produção de biogás, o mesmo possui rápida conversão em ácidos voláteis o que ocasiona a queda do pH no sistema, podendo prejudicar todo o processo e consequentemente reduzir as taxas de produção de biogás (JAIN *et al.*, 2015). Por outro lado, apesar das proteínas não serem consideradas matéria orgânica ideais para a geração de biogás, por ocasionar altas produções de compostos tóxicos e efeito inibitório (BRAUN *et al.*, 2003), sua capacidade de produzir moles equivalentes de nitrogênio amoniacal e alcalinidade do bicarbonato é essencial para o equilíbrio do sistema, fazendo com que sua degradabilidade seja indispensável na digestão anaeróbia (MA *et al.*, 2018). Por estes e outros fatores, a codigestão é vista como um importante processo para equilibrar as propriedades dos substratos na digestão anaeróbia (CREMONEZ *et al.*, 2021; KARKI *et al.*, 2021; SIDDIQUE & WAHID, 2018).

De forma paralela, a escolha dos substratos devem considerar a sua disponibilidade local e sua proporção mais adequada. Para isso, deve ser analisado o custo de transporte entre o ponto de geração até seu destino para seu uso na codigestão (MATA-ALVAREZ *et al.*, 2014) assim como a sua proporção ideal que por sua vez, é essencial para favorecer a sinergia e otimizar a produção de metano (SIDDIQUE & WAHID, 2018).

3.1.4 Inóculo

O inóculo é uma população de microrganismos ou células que são introduzidas em meio a fermentação. Ele pode desempenhar um papel fundamental na eficiência de degradação de substrato, especialmente quando existem misturas complexas de substratos, por causa da composição diferente dos consórcios microbianos. Esses microrganismos são preparados e otimizados no início do

processo de fermentação onde a otimização é necessária para que ocorra um melhor desempenho (SOOD *et al.*, 2011; DECHRUGSA, KANTACHOTE & CHAIPRAPAT, 2013).

Além disso, a utilização do inóculo adequado pode acarretar a maior produção de biogás influenciando diretamente no teor de metano, no aumento da taxa de desintegração, na diminuição da fase lag, na influência nas atividades enzimáticas, na comunidade microbiana e nos parâmetros físico-químico como sólidos totais (ST), sólidos voláteis (VS), pH e nos teores de carbono e nitrogênio, além de trazer estabilidade da digestão anaeróbia (QUINTERO *et al.*, 2012; GU *et al.*, 2014; SUKSONG *et al.*, 2019). Vale ressaltar que a maior contribuição para superar as etapas mais limitantes nas fases iniciais da digestão anaeróbia deve ser dada ao inóculo (DEMICHELIS *et al.*, 2022).

Existe diversas comunidades microbianas que podem ser usada como inóculo, dentre elas, se destaca a comunidade mista, especificamente o lodo anaeróbio que é considerado o inóculo mais eficiente e prático por causa da sua disponibilidade na natureza, sua capacidade de sobreviver em condições ambientais adversas e extremas assim como habituar diversos substratos diferentes (KARIM *et al.*, 2021).

A influência do inóculo no aumento do biogás vem sendo bastante estudada nas últimas décadas, como por exemplo o estudo de Saidu *et al.*, (2013) que analisou a influência da adição de moinho de óleo de palma como inóculo na digestão anaeróbia de esterco bovino para geração de biogás e conclui que o reator que possuía inóculo, obteve uma produção 23% maior de gás metano comparada ao reator sem inóculo. Já Li, *et al.*, (2018) estudou a influência de três tipos de inóculos, sendo eles um efluente de uma digestão anaeróbia de uma fazenda de porco, o lodo ativado de uma estação municipal de tratamento de águas residuais e o lodo anaeróbio derivado de uma cervejaria em três razões de substrato / inóculo (2, 4 e 6), com isso, constataram que a melhor produção de metano se deu através do efluente da digestão anaeróbia na maior razão substrato / inóculo.

Além disso, o inóculo pode ser usado como um pré-tratamento em substratos lignocelulósicos a fim de quebrar sua estrutura, trazendo uma melhoria na digestão (JIN, XU & YANG, 2014). Em suma, pode-se observar que o inóculo possui uma

grande relevância no potencial da geração e que, a depender da proporção, ele pode melhorar ou reduzir a produção do metano além de ser eficaz no pré-tratamento de substrato.

3.2 Biomassa e Biogás

3.2.1 Biomassa

A biomassa é um insumo energético de fonte vegetal, animal, industrial ou humano que possui maiores vantagens comparado a outras fontes de energia, dentre eles a sua flexibilidade de se adequar, tecnologicamente, a depender da sua necessidade, um exemplo disso é a sua conversão que pode gerar combustível sólido, líquido ou gasoso. Tal insumo energético, se torna atraente por ser uma fonte renovável, diferente das fontes fósseis que possuem uma perspectiva de esgotamento das suas reservas mundiais e causa problemas ambientais como emissões de gases poluentes e contribuição nas mudanças climáticas. Além disso, vale destacar que a biomassa gera oportunidades de trabalho e economia no meio rural (FERREIRA et al., 2018). É sabido que a biomassa desempenha um fator chave no processo de fermentação, ela influencia diretamente o desempenho do sistema de fermentação e com isso se relaciona diretamente com a qualidade e rendimento do produto (SOOD et al., 2011).

3.2.1.1 Composição de biomassa lignocelulósica

A biomassa de fonte vegetal, pode ser usada como matéria-prima para produção de biocombustível. No entanto, existe a necessidade de analisar algumas características para avaliar seu potencial, como teor de umidade, valor calorífico, carbono fixo, razão celulose/lignina etc. (DUKU, GU & HAGAN, 2011). A maioria dos substratos lignocelulósicos possuem celulose (38–50%), hemicelulose (23–32%) e lignina (10–25%) (PAUL, 2018), tais características implicam em uma necessidade de um pré-tratamento de biomassa pois os materiais lignocelulósicos são estruturados que protegem e dá resistência a ataques biológicos, físicos e químicos dificultando assim, a quebra da sua estrutura para a fase de hidrólise (FERREIRA-LEITÃO et al, 2010).

A estrutura da celulose tem como formação final uma estrutura cristalinas e amorfas constituídas por intra e interligações de hidrogênio que garante à celulose uma resistência a hidrólise, no entanto essa composição cristalina oferece fácil

assimilação para o consórcio microbiano na digestão anaeróbia (MONTGOMERY & BOCHMANN, 2014). Já a hemicelulose possui maior facilidade em ser hidrolisada do que a celulose, além disso, o conjunto formado por celulose e hemicelulose é chamado de holocelulose (CARDOSO, 2017).

Podemos classificar a lignina em dois tipos, a *core* e a *não core* de acordo com sua susceptibilidade relativa à hidrólise. A do tipo *core* consiste em compostos fenólicos de baixo peso molecular liberados da parede celular através da hidrólise. Já a do tipo *não core* consiste em polímeros fenilpropanóides de parede celular elevadamente condensados e demasiadamente resistente a degradação (LAPIERRE, 1993). É por causa da parede celular, constituída pela lignina, que se dá a maior resistência para as plantas contra-ataques de microrganismos, representando um fator limitante na degradação da holocelulose.

3.2.1.2 Pré-tratamento da biomassa

Existem inúmeras formas de fazer o pré-tratamento da biomassa, como o tratamento mecânico que ao aplicado pode aumentar o rendimento de CH₄ em substratos lignocelulósicos em até 25%; o tratamento a vapor que em alguns estudos, chegou a obter rendimento de glicose de 98% após a hidrólise; o tratamento químico que foi executado em vários estudos e se mostrou viável para o tratamento com ácidos, bases e oxidantes, além de possuir sucesso em tratar materiais lignocelulósicos como palha ou madeira dura; ou até o tratamento com microrganismos aeróbios, como bactérias e fungos que podem degradar seletivamente a lignina ou a hemicelulose, podendo melhorar o rendimento de CH₄, assim como melhorar a hidrólise enzimática (ZHONG et al., 2011).

Existe vários métodos comumente usados para realizar o pré-tratamento de materiais lignocelulósicos em que ocorre a erosão da estrutura, porém a maioria não se apresenta viável economicamente e são desfavoráveis ambientalmente (SAWATDEENARUNAT *et al.*, 2015) além de não trazerem mudanças quanto a sua forma sólida que, por sua vez, traz problemas para a digestão anaeróbia.

Existem diversas desvantagens quanto ao uso de materiais lignocelulósicos em sua forma física, como por exemplo o baixo rendimento de metano, a instabilidade do sistema de fermentação devido a transferência de massa ineficiente causada pelos altos teores de sólido, bem como o desequilíbrio de nutrientes e acúmulo de

intermediários de digestão, como amônia e ácidos graxos voláteis (AGV) que pode levar ao desequilíbrio do sistema, além da fraca biodegradabilidade de alguns compostos presente nos substratos lignocelulósicos, ocasionando um retardo da produção de biogás (HUANG et al., 2017; YANG et al., 2015).

3.2.2 Biogás

É sabido que o biogás é uma fonte de energia sustentável com capacidade de ser produzido por diversas vias, uma delas é pela digestão anaeróbia. Em sistemas anaeróbios, cerca de 70-90% do material degradado é transformado em biogás e somente 10-30% resulta em lodo não biodegradável (FERREIRA, 2018; RAFIEE et al., 2021). Geralmente, o biogás bruto possui 65% de CH₄ e 35% de CO₂, sendo a concentração de metano o fator que mensura a quantidade energética do biogás, ou seja, quanto mais metano, maior é a energia calorífica. Além disso, a quantidade de metano também pode ditar se é viável ou não, economicamente, a utilização do substrato (NGUYEN et al., 2020).

Uma forma para reduzir os custos de produção de metano de uma forma sustentável, é usando substratos oriundos de produção agrícola. Atualmente, a atenção está virada para o resíduo lignina-celulose, pois possuem uma disponibilidade ampla com pequeno custo o que o torna uma opção viável, além disso, estudos apontam que resíduos que possuem lignina-celulose apresentam as maiores fontes de matéria-prima para gerar energia através da digestão anaeróbia (PRZYBYŁ et al., 2017)

Pode-se dizer que a bioenergia (energia gerada a partir da biomassa) é um tipo de energia quase neutra em relação a emissões. Isso se dá pelo fato de o metano ser 20 vezes mais prejudicial para o aquecimento global do que o CO₂, portanto, o uso do metano para produção de biogás diminui a quantidade devido o mesmo, quando queimado, liberar CO₂ (RAFIEE et al, 2021), além disso, podemos destacar alguns benefícios do uso do biogás, como:

- Fator importante na conservação do meio ambiente, principalmente pela substituição do uso de resíduos como fertilizantes ou queima, evitando assim a poluição no solo, ar, água etc. (SOUZA et al., 2004; BATISTA, 2014; POCHWATKA et al., 2020).

- Elimina uma grande porcentagem de matéria orgânica resultante dos resíduos domésticos, industriais e agrícolas (KUNZ, STEINMETZ & AMARAL, 2019; MA et al., 2020; ZHANG et al., 2021;).
- Pode substituir fontes fósseis e assim, reduzir as emissões de gases que contribuem para o efeito estufa (MME, 2018).
- Viabiliza a geração de energia de forma que ajuda economicamente as comunidades rurais (BATISTA, 2014).

3.3 Reator em batelada

Pode-se dizer que o reator em batelada é aquele que trabalha sem entrada ou saída de materiais, ou seja, em regime fechado. Os ensaios de digestão anaeróbia podem ser feitos em batelada ou contínuo, sendo o contínuo mais complexo e de maior duração, o que faz o método em bateladas mais utilizado. Vale destacar que o método em batelada pode ser usado para várias finalidades onde a principal é baseada no propósito de medir a produção de biogás/metano (RAPOSO, 2012). Ele é usado para eliminar poluentes orgânicos e inorgânicos de alta resistência, também pode ser usado tanto em tratamento de águas residuais de diversos setores (como por exemplo, indústria, agropecuário, esgoto doméstico) assim como para produção de biogás e no tratamento de resíduos sólidos (como por exemplo esterco, alimentos, resíduos de vinícola, sistemas de aquicultura) (JAGABA et al., 2021).

O crescimento bacteriano no reator de batelada pode ser dividido em quatro distintas fases conforme o substrato é consumido, são elas (METCALF & EDDY, 2016):

- A fase de retardo (fase lag), em que representa o tempo requerido para os micro-organismos se habituar ao seu novo ambiente, antes de ocorrer a divisão celular e produção de biomassa significativa
- A fase de Crescimento exponencial, na qual as células de bactéria se multiplicam nas suas taxas máximas.
- Fase estacionária, onde as concentrações de biomassa permanecem constantes com o tempo. Nessa fase, a quantidade de crescimento é compensada pela morte de células.
- Fase de morte, nessa, o crescimento já não ocorre, porém existe uma mudança de concentração de biomassa devido a morte das células.

Esse tipo de reator se destaca pela sua flexibilidade, uma delas é a capacidade de permitir ajustar um produto prolongando, ou interrompendo, uma reação com finalidade de mudar para outro grau de produto, ou um novo produto, ou até mesmo aumentar a capacidade do reator (WORSTELL, 2015). Sua eficiência e o seu consumo de energia está diretamente relacionada com as condições ambientais (pH, temperatura, oxigênio dissolvido (OD), potencial de redução de oxidação etc.) e operacionais (padrão alimentar, tempo de retenção, duração do ciclo etc.) (JARAMILLO et al., 2018). Uma das principais vantagens do seu uso é por produzir efluentes com baixo teor de compostos orgânicos e por isso, pode ser utilizado para contemplar padrões rígidos de efluentes, além de possuir maior retenção de biomassa, um consumo de energia reduzido no processo e uma grande resistência a toxicidade. (NIAOUNAKIS & HALVADAKIS, 2006).

Vale ressaltar que a eficiência do sistema pode ser influenciada por vários fatores como a características dos efluentes, a taxa de carga orgânica, as fontes de carbono, pH, OD, tempo de retenção hidráulica (TRH), tempo de retenção sólido (TRS), padrão de alimentação, duração do ciclo, sedimentação e temperatura. As baixas temperaturas são um grande desafio no processo, pois em sistemas de remoção de N e P, simultaneamente, ocorre um impacto que prejudica as atividades microbianas (JAGABA et al., 2021).

3.4 Planejamento experimental e superfície de resposta

O planejamento experimental (*Design of Experiments*- DOE) é uma técnica de planejamento de experimentos que define quais dados, quantidades e condições devem ser coletados durante um determinado experimento, principalmente para atender a dois objetivos principais: a maior precisão estatística possível na resposta e testar simultaneamente múltiplas variáveis que afetam a resposta (PRATAMA, SUPIJO & SUTOPO, 2020).

Os dados obtidos pelo planejamento são separados em variações que são geradas pelo próprio método com suas respectivas incertezas ou erros de forma empírica. Dessa forma, os experimentos são realizados para maximizar as informações que podem ser extraídas de um número limitado de experimento. Assim, uma vez determinado um modelo satisfatório, pode-se ser usado para prever observações futuras dentro da faixa de projeto original (MÄKELÄ, 2017).

Entende-se que a superfície de resposta está correlacionada com o planejamento experimental. Enquanto o planejamento experimental guia para o planejamento de experimento dando combinações entre os fatores, níveis e a quantidade de ensaios, a superfície de resposta apresenta a otimização de resposta em uma modelagem bi e tridimensional. De modo geral, a metodologia de superfície de resposta é uma técnica estatística aplicada a modelagem e análise de problemas em que a variável da resposta é influenciada por vários fatores que visam otimizar essa resposta (PRATAMA, SUPIJO & SUTOPO, 2020).

Tanto o planejamento experimental quanto a superfície de respostas podem ser aplicados no modelo criado por Box e Behnken (1960) conhecido como *Box-Behnken*. Esse modelo permite selecionar pontos de arranjos fatoriais com três ou mais níveis, o que permite estimar a eficiência dos coeficientes de primeira e segunda ordem do modelo. O modelo se assemelha ao modelo 3^k porém com menor número de ensaios e sem pontos extremos além de possuir um ponto central, além disso, ele se mostra mais eficiente e otimizado do que outros de três níveis. Em suma, o *Box-Behnken* é usado em sistemas com três ou mais fatores onde a condição ótima é conhecida por estar no meio das faixas dos fatores (RISWANTO *et al.*, 2019; HIBBERT, 2012).

3.5 Aspectos gerais dos substratos e do cosubstrato.

3.5.1 Capim elefante (substrato)

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) ou capim *napier* cultivado é um capim perene originário da África, de crescimento rápido e com elevado potencial de produção de biomassa (NARINTHORN, CHORIT & CHISTI, 2019)

Apesar de ser uma espécie nativa da África ela é amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, desenvolvendo-se melhor em áreas onde as chuvas são superiores a 1.000 mm anual. Essa forragem tem uma ampla gama de usos e pode ser fornecida para os animais em sua forma picado verde no cocho, ensilados e pastejo (PEREIRA *et al.*, 2021). Além do seu principal uso como forragem, o capim elefante é considerado como um grande potencial para a produção de biogás, por crescer em várias condições de solo e clima e requerer o mínimo de fertilizantes (NARINTHORN, CHORIT & CHISTI, 2019).

Apesar de resistir a várias condições, seu clima ideal varia entre 25° a 40° C em que, nas condições ideais de clima e ambiente, podem render de 30 a 40 toneladas métricas de biomassa por hectare (OJEDIRAN *et al.*, 2021), podendo chegar a 78 toneladas de matéria seca/ha/ano, permitindo-se a execução de múltiplos ciclos de corte anuais (SANTOS *et al.*, 2021; BASSO *et al.*, 2014). Quanto à composição da sua biomassa lignocelulósica, ela varia entre 30-42% de celulose, 19-31% de hemicelulose e 8-24% de lignina (SILVA *et al.*, 2016; SANTOS, SILVA & QUEIROZ, 2001) e essa composição varia devido aos diferentes tipos de cultivares onde, ao decorrer do tempo, sofreram alterações em sua composição ou até mesmo foram desenvolvidas ou aprimoradas pela indústria do agronegócio.

A alta eficiência fotossintética (metabolismo C4) do capim-elefante resulta na sua grande capacidade de acumular matéria seca e nos seus altos percentuais de fibras, semelhantes a cana-de-açúcar. Em suma, a sua riqueza em fibra e lignina, sua alta razão de C:N (>100) e alta produção de biomassa faz com que ele esteja entre as principais matérias primas para formação de biomassa na produção de biogás (QUESADA *et al.*, 2004; SILVA, 2020).

Existe um novo tipo de cultivar que vem sendo estudado principalmente por possuir um grande potencial para geração de energia, é a cultivar BRS Capiaçú que foi desenvolvida pela EMBRAPA em parceria com outras instituições e registrada no RNC (Registro Nacional de Cultivares) em 2015. Trata-se de um clone do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) que possui um alto rendimento e alto potencial de produção (50 toneladas/hectare/ano) (EMBRAPA, 2021). Em um estudo recente que traz 100 amostras de cultivar dividida em 6 grupos de similaridade genética do capim elefante, a cultivar BRS Capiaçú apresentou a maior produção de biomassa seca total (ROCHA *et al.*, 2017). Além disso, a nova cultivar apresenta umidade acima de 800 g/kg quando jovem e carboidratos pouco solúveis inferiores a 30 g/kg na maturidade (4 a 6 meses), o que promove a lenta redução do pH (AMARAL *et al.*, 2020). Essa condição de lenta redução é um fator importante e desejável para digestão anaeróbia já que a redução brusca do pH pode inibir o processo. Dessa forma, tais características fazem com que o capim-elefante seja atrativa para a produção de biomassa energética.

Um dos desafios tecnológicos para aumentar a eficiência energética da biomassa do capim-elefante no processo de geração de energia termelétrica é a necessidade de redução do conteúdo de água da forragem do capim-elefante, cujos teores chegam à 80% nos estádios iniciais de crescimento e entre 50 e 75% na fase de maturidade (4 a 6 meses), a depender do solo e do clima da região, da época de corte e da variedade cultivada. Neste contexto, uma das práticas que pode ser adotadas pelo setor industrial é a extração do caldo do capim-elefante para seu aproveitamento no processo de digestão anaeróbia para produção de biogás, resultando na redução do conteúdo de água do bagaço do capim-elefante, que irá apresentar aumento no seu poder calorífico útil. O caldo do capim-elefante pode ser utilizado como substrato para a produção de biogás por ser um substrato líquido rico em carbono e minerais. Além da produção de metano, ao final do processo de digestão anaeróbia, produz-se um fertilizante organomineral de excelente qualidade (MARAFON; MACHADO, 2021).

3.5.2 Vinhaça (co-substrato)

A necessidade de ampliar o uso de fontes renováveis de energia de forma mais sustentável vem crescendo nos últimos anos e isso tem impulsionado a produção de biocombustíveis em todo o mundo. Nesse contexto, o Brasil destaca-se pelo uso de etanol produzido a partir da cana-de-açúcar.

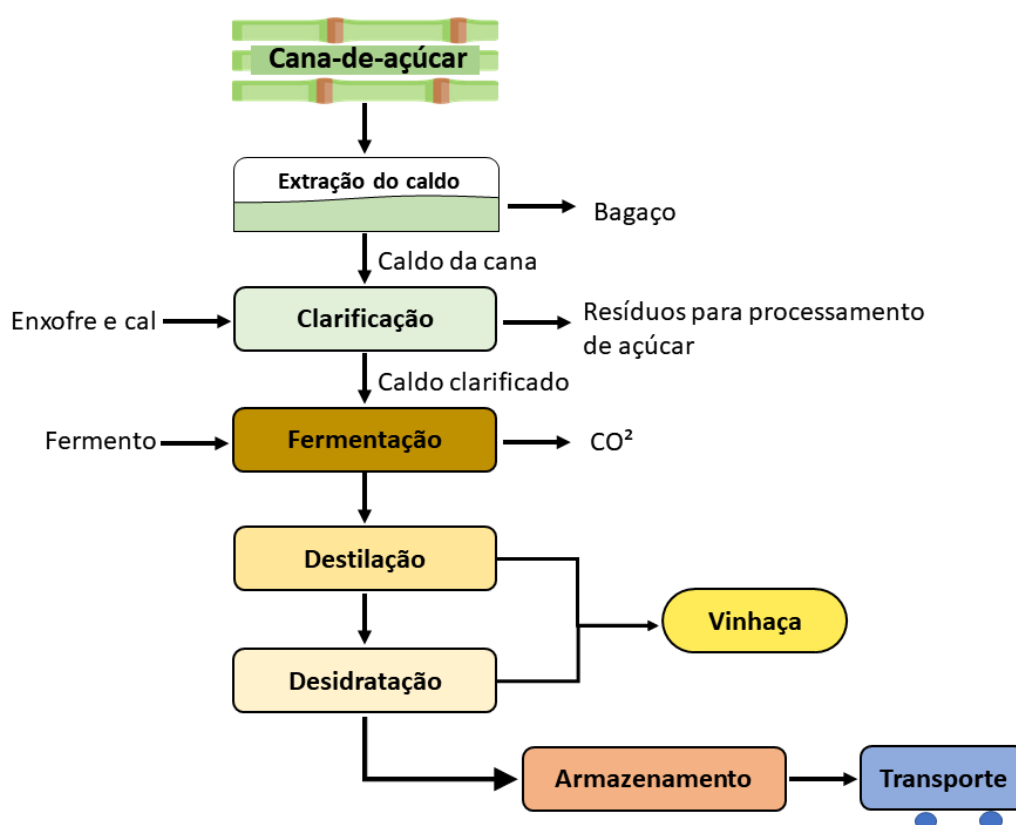
As biorrefinarias brasileiras desempenham um papel importante, onde a cana-de-açúcar é a principal matéria prima utilizada, tornando o país o segundo maior produtor de etanol do mundo, com cerca de 35,6 milhões de litros de etanol produzido em 2019/2020, vale destacar que esse número atingiu a maior produção histórica do país (CONAB, 2020). Essa produção além de trazer benefício para economia do país também é visto como um colaborador para melhoria do meio ambiente já que se trata de uma fonte de energia renovável e limpa.

Pensando no meio ambiente, apesar da substituição dos combustíveis de fontes fósseis por etanol reduzir as emissões de gases de efeito estufa, essa produção tem como derivado um grande volume de efluentes, destacando-se a vinhaça, em que a partir de 1L de etanol produzido é gerado cerca de 10-15L deste efluente (MORAES, ZAIAT & BONOMI, 2015; FUESS & GARCIA, 2014). Dessa forma, a destinação final

inadequada desse grande volume de efluente, pode trazer sérios problemas ambientais, principalmente da vinhaça que possui uma grande carga poluidora.

A vinhaça é um líquido residual recalcitrante gerado a partir da etapa de destilação do etanol que ocorre a uma temperatura de 65-107°C e em um pH de 3-5 (PARSAEE, KIANI DEH KIANI & KARIMI, 2019), essa etapa ocorre após a fermentação do caldo de cana como mostra a Figura 3.

Figura 3: Processo de produção de vinhaça a partir da cana-de-açúcar



Fonte: Autora (2021) adaptado de (Rodrigues Reis e Hu, 2017)

Quanto ao seu uso, a vinhaça é usada como ração animal, porém seu uso mais comumente é na fertirrigação que consiste na aplicação do líquido residual no solo, geralmente sem nenhum tratamento, com finalidade de trazer nutrientes para as lavouras. (WESTERHOLM, HANSSON & SCHNÜRER, 2012; SILVA *et al.*, 2021). Estima-se que o volume de vinhaça despejada no solo chega a 325 bilhões de litros anualmente somente no Brasil (FUESS & GARCIA, 2014). Esse despejo, como dito anteriormente, pode acarretar grandes danos ambientais e então transformar uma

geração limpa de combustível em outro problema ambiental já que a vinhaça é um subproduto do etanol altamente poluidor.

A vinhaça é um efluente de alta resistência que possui um conteúdo orgânico 100 vezes maior que o esgoto doméstico, apresenta características ácida e corrosivas e grandes concentrações de macro e micronutrientes (PARSAEE, KIANI DEH KIANI & KARIMI, 2019), além disso, a aplicação da vinhaça ocorre, comumente, sem um tratamento prévio eficaz o que intensifica ainda mais os impactos ambientais. Além disso, essa prática pode acarretar a salinização do solo, lixiviação de metais e sulfato e contaminação das águas subterrâneas, além da liberação de odores e atração de insetos (MORAES, ZAIAT & BONOMI, 2015).

Apesar do alto potencial poluente, a vinhaça também possui uma composição química vantajosa para a produção de biohidrogênio (bioH₂) e biometano (bioCH₄) a partir da digestão anaeróbia (SILVA *et al.*, 2021). Além disso, a vinhaça *in natura* possui altos níveis de proteínas, o que a torna um material rico com alta aceitabilidade e potencial para ser usada como substrato na produção de energia como o biogás. Outro fato que vale destaque é que se a vinhaça inteira não processada fosse usada na degradação anaeróbica isso reduziria significativamente a necessidade de energia total na produção de etanol (WESTERHOLM, HANSSON & SCHNÜRER, 2012).

Sobre sua caracterização, a vinhaça é constituída por sólidos orgânicos e minerais em suspensões, que contêm altas concentrações de compostos de baixo peso molecular como álcoois, açúcares, ácidos orgânicos e baixa biodegradabilidade (MORAES, ZAIAT & BONOMI, 2015; SILVA *et al.*, 2021). Ela possui entre 93-97% de água, 5% de matéria orgânica (açúcares e carboidratos) e 2% de sólidos insolúveis inorgânicos o que a faz ser muito solúvel em água. Podemos compreender melhor sua composição físico-química através da Tabela 1.

Tabela 1: Composição físico-química da vinhaça

Parâmetros	Abreviação	Unidade	Valores
Poder Hidrogênico	pH	-	3,25-4,97
Demanda de química de oxigênio	DQO	kg / m ³	27,5-299,250
Demanda de bioquímica de oxigênio	DBO	kg / m ³	5.046-47.636
Carbono orgânico total	TOC	kg / m ³	20,16
Carbono / nitrogênio	C / N	-	11-15 / 1
Sólidos Voláteis	VS	kg / m ³	46,39
Sólidos totais	TS	kg / m ³	27-81,5
Carboidratos	CHO	mg / L	9117

Fonte: Autora (2021) adaptado de (PARSAEE, KIANI DEH KIANI & KARIMI, 2019)

Além dessa composição, a vinhaça também é rica em nutrientes como potássio, nitrogênio, ferro, cobre, zinco, alumínio, cloretos, cálcio, enxofre, entre outros (BARROS *et al.*, 2020). Essa composição pode ser benéfica quando usada na digestão anaeróbia, principalmente pela sua alta carga orgânica biodegradável que, como dito anteriormente, pode ser convertida em biometano (bioCH₄), biohidrogênio (bioH₂) e ácidos graxos voláteis (AGV) (SILVA *et al.*, 2021). Além disso, das bactérias encontradas na vinhaça, *Coccus*, *Curve rod*, *Filament*, *Methanosate*, *Methanosarcina*, *Fluorescent Rods* e *S. cerevisiae*, as duas últimas são microrganismos metanogênicos os quais são considerados os melhores microrganismos metanogênicos para a produção de metano a partir da vinhaça. (PARSAEE, KIANI DEH KIANI & KARIMI, 2019)

Diante dos fatos mencionados, pode-se concluir que o uso da vinhaça como substrato na digestão anaeróbia é uma destinação viável no ponto de vista econômico e ambiental, uma vez que seu uso na fertirrigação pode ocasionar grandes danos ao meio ambiente, diferente do seu uso na digestão anaeróbia que não só trata o substrato como também gera uma energia sustentável, trazendo economia ao setor agroindustrial.

3.5.3 Produção de metano a partir do capim elefante e vinhaça na digestão anaeróbia e seus obstáculos.

O capim-elefante e a vinhaça são substratos com grande potencial para produção de metano, tanto em mono quanto em codigestão, conforme relataram diversos trabalhos científicos representados na Tabela 2.

Tabela 2: Estudos comparativos da produção de metano a partir dos substratos de capim elefante de vinhaça.

(Continua)

Substrato	Tipo de digestão	Resultado	Produção	Fonte
Capim elefante	Monodigestão	A mono digestão do capim elefante utilizando pré-tratamento alcalino obteve um rendimento cumulativo maior do que o capim sem um pré-tratamento.	O capim elefante com pré-tratamento teve um rendimento de aproximadamente 71-77% do potencial teórico. A proporção de metano partir do capim tratado estava na faixa de 74-83% em volume, enquanto o do não tratado era de 57-68%.	(NARINTH ORN, CHOORIT & CHISTI, 2019)
Capim elefante e esterco suíno	Codigestão	A codigestão do capim elefante (tratado e não tratado) com esterco de porco resultou em um aumento da capacidade de produção de biogás do capim elefante. A produção de biogás iniciou-se no 5º e 7º dias e foi progressiva até o 30º e 24º.	A produção de biogás total registrado nos experimentos pré-tratados e não tratados foram 409,5 e 184,1 m ³ CH ₄ /kg VS com média de 11,07 e 4,98 m ³ CH ₄ /kg.VS/dia, respectivamente.	(OJEDIRA N et al., 2021)
hidrolisado ácido de capim elefante	Monodigestão	Dentro de um curto período (dez dias), os materiais orgânicos no hidrolisado de capim elefante puderam ser utilizados de forma eficiente para a produção de biogás, a digestão anaeróbia manteve o pH de saída estável (7,3 ± 0,1). Além disso houve a produção de biogás e metano.	O rendimento de biogás e teor de CH ₄ foram 91,3 ± 2,0%; 0,561 ± 0,014 m ³ / kg DQO consumo e 68,1 ± 4,6%, respectivamente, ao longo do bioprocessamento.	(HUANG et al., 2019)
Lodo de esgoto e hidrolisado de capim elefante	Codigestão	A codigestão resultou na eficiência de remoção da demanda química de oxigênio solúvel em torno de 77% e 86% assim como no aumento do rendimento de metano chegando a 62% na proporção 1:1 na codigestão.	A produção de metano foi expressa em 0,13 ± 0,03LCH ₄ /gSV alimentados (alimentado no início do reator)	(CARVALHO et al., 2016)

Tabela 2: Estudos comparativos da produção de metano a partir dos substratos de capim elefante de vinhaça.

(Continua)

Substrato	Tipo de digestão	Resultado	Produção	Fonte
Caldo do capim elefante e vinhaça	Codigestão	A codigestão operada sob condições mesofílica, sem realização de pré-tratamento, resultou na eficiente no processo. A digestão da vinhaça reduziu 5,39% da DQO e o caldo de capim elefante 4,69%. O decaimento de até 50% do pH em relação ao pH inicial da operação na condição operacional contendo só vinhaça, chegou a valores finais de 3,5.	A melhor eficácia foi apresentada na proporção 50% a 50% dos substratos que resultou na produção máxima de biogás expressa em metano no valor de 370,94 mLCH ₄ /gSV. o que confirma a eficácia da codigestão.	(SILVA, 2020)
Vinhaça	Monodigestão	Na digestão da vinhaça operada em um reator de batelada em condições mesofílica e termofílica. Os testes bioquímicos preliminares de potencial de metano mostraram um significativo potencial de produção de metano tanto nas condições mesofílicas como na termofílica, porém, na operação de fluxo contínuo usado em plena força (254 g DQOT / L) o digestor termofílico foi incapaz de atuar com taxa de carregamento volumétrico orgânico de 4,25g DQOT/L em 60 dias, já o digestor mesofílico se manteve estável a de 60 dias tendo rendimento significativo de metano.	O potencial da produção de metano teve como resultado 88 ± 8 L (49 ± 5 L CH ₄) nas condições mesofílicas e termofílica. Na operação de fluxo contínuo, somente a mesofílica obteve sucesso, tendo um rendimento de metano de 58 L/kg de vinhaça.	(ESKICIOGLU e t al., 2011)
Vinhaça e esterco de bovino	Codigestão	Mono e codigestão da vinhaça com esterco bovino. A mono digestão resultou na instabilidade do processo, principalmente pela queda do pH, no entanto, a adição de esterco bovino após 333 dia de operação, estabilizou significativamente o processo.	O potencial de metano da mistura de substrato obtido após a degradação completa aconteceu em 130 dias de incubação e obteve valor de 0,49 N L CH ₄ / gSV	(WESTERHOLM, HANSSON & SCHNÜRER, 2012)

Tabela 2: Estudos comparativos da produção de metano a partir dos substratos de capim elefante de vinhaça.

(Conclusão)

Substrato	Tipo de digestão	Resultado	Produção	Fonte
Vinhaça	Monodigestão	A monodigestão foi realizada em condições meso e termofílica onde a segunda obteve melhores desempenho comparada a primeira. No entanto, a taxa de produção de metano no reator mesofílico atingiu níveis estáveis. Apesar dos valores pH final estarem constante em 5,57 e 5,8 para temperaturas mesofílica e termofílica, respectivamente, na temperatura mesofílica a flutuação diária do pH foram menores. A razão entre produção de metano e remoção de sólidos voláteis foram maiores em condições mesofílicas.	Os valores máximos de produção em temperatura mesofílica e termofílica foi de 434 e 433 LCH ₄ /kgSV, respectivamente. Já a produção máxima de metano por DQO obteve valores de 2.678 m ³ CH ₄ /kgDQO para termofílico e 2.722 m ³ CH ₄ /kgDQO para os mesofílicos.	(KIANI DEH KIANI, PARSAAE & MAHDAVIFAR, 2021)
Vinhaça e glicerol destilado	Codigestão	Foram analisados três cenários, a da monodigestão da vinhaça, a monodigestão do glicerol e a codigestão da vinhaça com glicerol, onde o maior rendimento metano obtido ocorreu na codigestão assim como a melhor eficiência de remoção de DQO chegando em 97%	O maior rendimento de metano foi de 352 LCH ₄ /gDQO em todas as condições experimentais ao longo do período de incubação	(BORGES <i>et al.</i> , 2021)

Fonte: AUTORA, 2021

Os estudos citados acima mostram as vantagens da codigestão em relação à monodigestão, podendo melhorar a eficiência do processo. Em suma, a codigestão permite superar os desafios encontrados com o uso de apenas um substrato, também pode potencializar a produção de metano em vários casos. No entanto, a mistura também pode acarretar um desequilíbrio no sistema, como o decaimento do pH fazendo necessário a adição de um alcalinizante.

Döll e Foresti (2010) avaliaram o efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em um reator anaeróbio em batelada sequencial. Foram avaliados os efeitos dos reatores mesofílicos em 35° e 55° com adição de bicarbonato na proporção de gHCO₃/gDQO em 1; 0,4; 0,3 e 0,2 a fim de identificar em qual proporção obtiveram o melhor desempenho dos reatores. Por fim, os autores concluíram que, ainda que

fosse pequena a quantidade de bicarbonato adicionado, este era essencial para garantir o tratamento da vinhaça nos reatores, destacando que o reator mesofílico apresentou melhor desempenho na proporção de 0,2 gHCO₃⁻/gDQO.

Silva (2020) estudou a produção de metano gerado do tratamento da codigestão do CCE e vinhaça em um reator de batelada, o qual foi operado em condições com e sem adição de bicarbonato, variando a proporção em 0; 0,05; 0,11 e 0,25 gHCO₃⁻. gDQO⁻¹. Com isso, concluiu-se que nos ensaios em que houve adição de bicarbonato foi possível manter a estabilidade comparado ao sem adição. A autora também destacou a importância da adição do bicarbonato para manter a estabilidade do pH, no entanto, as adições de valores maiores de bicarbonato não se mostraram tão eficientes, sendo a concentração de 0,05 gHCO₃⁻. gDQO⁻¹, a menor testada, aquela que apresentou a maior produção de metano.

É notória a importância da suplementação da alcalinidade bicarbonato para a melhoria e garantia de funcionamento de todo o sistema Vale ressaltar que, a melhor eficiência dessa suplementação, se dá, geralmente, para baixas concentrações de bicarbonato adicionadas.

Em se tratando da forma física dos substratos, a forma sólida pode ser menos favorável pois pode acarretar problemas que dificultam a digestão anaeróbia, como a baixa eficiência de transferência de massa, o longo período de inicialização, a rápida acidificação, o difícil aumento de escala, entre outros. Esses obstáculos podem ser facilmente superados usando os substratos em sua forma líquida, sendo o CCE uma das alternativas. Geralmente, o pré-tratamento é considerado uma estratégia eficiente para aumentar a eficiência e o desempenho da digestão anaeróbia, porém, a maioria dos pré-tratamentos de biomassa lignocelulósica ainda não alteram a sua forma física, tornando o problema da sua forma sólida ainda existente (CARVALHO *et al.*, 2016), sendo o uso do capim elefante em sua forma líquida uma solução para superar os problemas relatados anteriormente.

Dessa forma, podemos dizer que apesar da codigestão do CCE e da vinhaça podem ser promissores na produção de biogás, já que a eficiência do processo de digestão anaeróbia pode ser melhorado significativamente e a produção de biogás aumentada.

3.6 Considerações finais

A digestão anaeróbia é o principal processo da geração de metano que por sua vez constitui o biogás. Podemos destacar como principal etapa da digestão anaeróbia a metanogênese. É através dela que é formado o metano, no entanto todas as etapas são importantes para o processo, pois qualquer desequilíbrio nas etapas anteriores, podem inibir a metanogênese que é a etapa mais sensível do sistema.

Existem diversos fatores que influenciam na digestão, podendo melhorar ou desequilibrar o sistema, dentre eles, pode-se destacar a temperatura, que pode trazer a máxima produção e maior crescimento microbiano, ou a inibição do crescimento atuantes; e o pH, que ao se encontrar em baixos valores, pode ocasionar um acúmulo de ácidos graxos voláteis, que por sua vez inibem o processo da digestão. Para evitar a diminuição do pH e conseqüentemente as altas concentrações de ácidos graxos voláteis, se faz necessário a suplementação de alcalinidade de bicarbonato, sendo o de mais fácil acesso e manuseio o bicarbonato de sódio. É importante destacar que apesar da adição de bicarbonato ser favorável e necessária para o equilíbrio do sistema, pesquisas anteriores destacaram que valores altos de bicarbonato podem ser desfavoráveis à digestão e impedir que ela chegue ao seu maior potencial.

Quanto aos substratos, tanto o capim elefante como a vinhaça são substratos em destaque na digestão anaeróbia tanto na codigestão como na monodigestão como foi mostrado em tópicos anteriores, no entanto, o uso desses dois substratos juntos foi pouco estudado, nos permitindo aprofundar e investigar em vários aspectos essa codigestão, trazendo à tona os seus obstáculos e tentando superá-los a fim de levar a codigestão ao seu maior potencial.

A biomassa é um fator chave no processo de fermentação pois ela influencia diretamente o desempenho do sistema, além de relacionar diretamente a qualidade e rendimento do produto. A biomassa lignocelulósica é a biomassa que possui um dos maiores potenciais de geração de energia, no entanto, sua estrutura é muito complexa e resistente à degradação. O substrato lignocelulósicos possui uma estrutura composta de celulose, hemicelulose e lignina, essa última, é a responsável pela resistência a degradação, sendo necessário pensar em maneira viáveis para fazer a sua quebra, já a holocelulose (formado por celulose e hemicelulose) é facilmente degradada pela digestão anaeróbia.

Apesar do pré-tratamento ser uma estratégia eficaz para a quebra da estrutura hemicelulósica, ela dificilmente altera sua forma sólida que por sua vez é dificultosa para a digestão. Dessa forma, usar a biomassa em sua forma líquida, tanto fornece a quebra da estrutura lignocelulósica como também aumenta a eficiência de transferência de massa, assim como fornece uma difícil acidificação e maior eficiência e desempenho da digestão, sendo assim, o uso do capim elefante em caldo pode ser mais favorável para a digestão.

Em suma, é notório o potencial da investigação ao uso do CCE e vinhaça como substrato e co-substrato, respectivamente, em um sistema anaeróbico, principalmente para avaliar se a mistura realmente traz benefícios múltiplos e em qual razão de C/N é mais favorável para a produção de metano. Outro ponto a ser destacado é a respeito de qual quantidade adicionada de bicarbonato é mais eficiente para o equilíbrio e produção de metano, além de buscar a melhor proporção de inóculo para complementar o processo. Dessa forma, também pode ser questionado se todos os fatores mencionados foram significativos ou não para o sistema, se eles interagem entre si e qual interação é mais significativa para o processo, fazendo então necessário um planejamento experimental com suas análises estatísticas dos dados obtidos para melhor compreensão dos resultados.

4. METODOLOGIA

O trabalho experimental foi constituído pela investigação do efeito da adição de bicarbonato de sódio e melhor proporção dos substratos em determinada proporção de inóculo, utilizando reator em escala de bancada. Tal experimento foi baseado na pesquisa feita por JIN *et al.* (2018) que teve como finalidade avaliar produção de metano em proporções variadas da relação C/N.

Foram utilizados reatores anaeróbios operados em batelada, de volume total de 120 mL. Os experimentos foram baseados no planejamento Box-Behnken, para avaliar o efeito da adição de bicarbonato de sódio, proporção de mistura (CCE/V) e quantidade do inóculo na produção biológica de metano, fornecendo uma superfície de resposta. Vale ressaltar que esse planejamento foi escolhido por ser um modelo que otimiza as condições do processo. Tal planejamento vem sendo utilizado com diversas finalidades como a otimização da produção de metano (JIN *et al.*, 2018), em análises de tratamento e otimização de efluentes (EL SHAHAWY *et al.*, 2021), otimização da produção de bioetanol (PEREIRA, MILAN & TAPIA-BLÁCIDO, 2021) e etc.

4.1 Caracterização dos substratos e inóculo

As análises físico-químicas dos substratos (CCE e vinhaça) e inóculo (lodo de esgoto proveniente de um reator tipo UASB de ETE) foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) e no Laboratório de Controle Ambiental (LCA) do Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas (CTEC – UFAL).

Primeiramente foram coletados os substratos (CCE e vinhaça). A vinhaça foi fornecida pela Usina S/A produtora de açúcar e álcool, unidade Matriz, com localidade em São Miguel dos Campos. Já o caldo de capim-elefante foi obtido a partir da extração do caldo de colmos de capim-elefante BRS Capiáçu, cultivado em uma área experimental instalada na Unidade de Execução de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa Tabuleiros Costeiros, instalada no Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), situado no município de Rio Largo, Alagoas.

A moagem dos colmos do capim-elefante BRS Capiáçu foi realizada em uma moenda semi-industrial com rolos de inox, na Unidade de Execução de Pesquisa

e Desenvolvimento da Embrapa Tabuleiros Costeiros. O teor de umidade inicial da biomassa de 67,0% passou para 55 % após o processo de extração do caldo, cujo rendimento foi de 189,3 litros de caldo por tonelada de colmos.

Tanto no início como no fim do processo, foi realizada a caracterização dos reatores além nas análises iniciais dos substratos e inóculo. Essa caracterização consistiu em uma análise físico-química do pH, umidade, sólidos voláteis, e carboidrato. Todas essas análises foram feitas com base nos métodos de Apha (1999). Essas análises foram de suma importância para controle e monitoramento do processo, foi através delas que foi possível analisar a digestão anaeróbia através dos substratos.

O inóculo utilizado consistiu em um lodo obtido de um reator UASB procedente do tratamento de esgoto sanitário de um condomínio residencial localizado na parte alta de Maceió-AL. O lodo foi utilizado *in natura*, sem a realização de procedimento de pré-tratamento.

4.2 Planejamento experimental

Foi elaborado um planejamento experimental Box-Behnken, a fim de identificar a influência entre as variáveis. O planejamento possuiu como fatores: a adição de bicarbonato, proporção de mistura CCE e vinhaça (CCE/V) e a concentração do inóculo como indicado na Tabela 3.

Tabela 3: Fatores e níveis de interesse utilizados para o planejamento.

Nível	Fatores		
	Adição de bicarbonato (gHCO ₃ /gDQO)	Proporção de mistura (CCE/V)	Concentração de inóculo (V/V) (%)
-1	0,05	25:75	10
0	0,15	50:50	15
1	0,25	75:25	20

Fonte: AUTORA, 2021

Os níveis de adição de bicarbonato adotados neste estudo foram baseados nos estudos de Döll e Foresti (2010) e Silva (2020). O Fator seguinte (CCE/V) é cosntituido pela proporção da mistura CCE / vinhaça, que foram escolhidas afim compreender qual das proporções melhor interagem na produção de metano. Por fim, o fator concentração de inóculo foi escolhido com base no estudo de Silva (2020) sendo a porcentagem relacionada ao valor útil do reator.

Através do planejamento estatístico foi obtido a matriz experimental, conforme apresentada na Tabela 4 a seguir.

Tabela 4: Matriz experimental utilizada para o planejamento

Ensaio	Adição de bicarbonato (gHCO ₃ /gDQO)	Proporção de mistura (CCE/V)	Concentração de inóculo (%)
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	Ponto central	0
15	0	0	0

Fonte: AUTORA, 2022

Substituindo os níveis pelos valores correspondentes aos fatores, teremos a matriz completa para o estudo. Tal ensaio é feito de forma aleatória para evitar os erros dos experimentos, além disso, o método *Box-Behnken* possui os três últimos

ensaios em triplicata, chamada de ponto central (JIN, *et. al.*, 2018). Podemos compreender melhor a matriz observando a Tabela 5.

Tabela 5: Tabela com as nomenclaturas e configuração dos reatores

Nomenclatura	Adição de bicarbonato (gHCO ₃ /gDQO)	Proporção de mistura (C:V) (%)	Concentração de inóculo (%)
R.1	0,05	25:75	15
R.2	0,25	25:75	15
R.3	0,05	75:25	15
R.4	0,25	75:25	15
R.5	0,05	50:50	20
R.6	0,25	50:50	20
R.7	0,05	50:50	10
R.8	0,25	50:50	10
R.9	0,15	25:75	20
R.10	0,15	75:25	20
R.11	0,15	25:75	10
R.12	0,15	75:25	10
R.13	0,15	50:50	15
R.14	0,15	50:50	15
R.15	0,15	50:50	15

Fonte: AUTORA, 2021

4.3 Montagem do ensaio, acompanhamento e monitoramento

Foram utilizados biodigestores experimentais de bancada, modelo batelada, em frascos de vidro com 120 mL de volume total do reator, e 60 mL de volume reacional, correspondente a 50% do volume total. O volume da mistura, assim como a taxa de adição de inóculo, está relacionado ao valor do volume reacional. Dessa forma, teremos a taxa de adição de inóculo variando através do volume reacional e a proporção de mistura dos substratos variando referente o volume reacional restante, após a adição do inóculo. Por exemplo, quando a taxa de inóculo for 10% (6 mL, referente a 10% do volume reacional do reator) o volume para variação de proporção da mistura será de 54 mL, ou seja, será o volume reacional (60 mL) menos o volume

correspondente a taxa de inóculo a 10% (6 mL). A Tabela 6 mostra o volume de cada substrato nas condições de variação do inóculo.

Tabela 6: Volume dos substratos em diferentes variações do inóculo

Inóculo (10%)		Inóculo (15%)		Inóculo (20%)	
25:75 (C:V)	13,5 mL:40,5 mL	25:75 (C:V)	12,75 mL:38,25 mL	25:75 (C:V)	12 mL:36 mL
50:50 (C:V)	27 mL:27 mL	50:50 (C:V)	25,5 mL:25,5 mL	50:50 (C:V)	24 mL:24 mL
75:25 (C:V)	40,5 mL:13,5 mL	75:25 (C:V)	38,25 mL:12,75 mL	75:25 (C:V)	36 mL:12 mL

Fonte: AUTORA, 2021

Além disso, têm-se a adição de bicarbonato variando através da DQO onde 1g de bicarbonato (HCO_3) é adicionada para cada grama de DQO dos substratos ($\text{gHCO}_3/\text{gDQO}$). A DQO dos reatores foi fixada em 5g/L, dessa forma, garante-se tanto a padronização do planejamento, já que a adição de bicarbonato está diretamente relacionada ao volume de DQO, quanto a não influência na digestão, já que o crescimento de microrganismos está diretamente relacionado a carga orgânica encontrada no meio.

Ainda sobre os reatores, além dos constituídos no planejamento experimental, houve 4 reatores do tipo controle, sem nenhuma adição de bicarbonato, utilizados para avaliar a influência da codigestão na produção de metano. A configuração dos reatores controles foi dada da seguinte forma:

- Controle 1: constituído somente com CCE e 15% do volume útil de inóculo;
- Controle 2: constituído somente com vinhaça e 15% do volume útil de inóculo;
- Controle 3.1: Inóculo em 15% do volume útil e água destilada para completar o valor total do volume útil;
- Controle 3.2: duplicata do controle 3.1;

A Tabela 7 apresenta a esquematização das proporções em valores reais adicionada em cada reator, assim como a nomenclatura dada a cada um deles.

Tabela 7: Configuração de montagem dos reatores

Nº de ensaios	Nomenclatura dos reatores	Adição de bicarbonato (gHCO₃/5gDQO)	Proporção de mistura (mLC-mLV)	Concentração de inóculo (%)
1	R.1	0,25	12,75 - 38,25	9
2	R.2	1,25	12,75 - 38,25	9
3	R.3	0,25	38,25 - 12,75	9
4	R.4	1,25	38,25 - 12,75	9
5	R.5	0,25	27 - 27	6
6	R.6	1,25	27 - 27	6
7	R.7	0,25	24 - 24	12
8	R.8	1,25	24 - 24	12
9	R.9	0,75	13,5 - 40,5	6
10	R.10	0,75	40,5 - 13,5	6
11	R.11	0,75	12 - 36	12
12	R.12	0,75	36 - 12	12
13	R.13	0,75	25,5 - 25,5	9
14	R.14	0,75	25,5 - 25,5	9
15	R.15	0,75	25,5 - 25,5	9
16	C.1	0	51 mL C	9
17	C.2	0	51 mL V	9
18	C.3.1	0	51 H ₂ O	9
19	C.3.2	0	51 H ₂ O	9

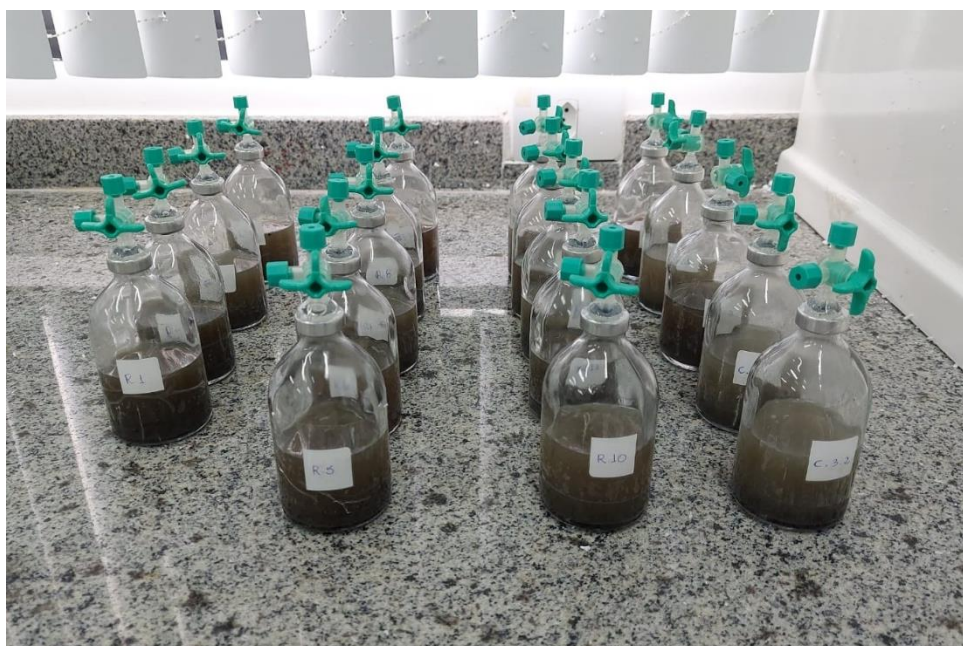
Fonte: AUTORA, 2021

No total, foram realizados 19 reatores os quais 15 constituíram o planejamento experimental e 4 constituíram os controles operacionais, tanto dos substratos como do inóculo.

Após adição de todos os elementos constituídos em cada reator, o pH foi ajustado para valores em torno de 7 através da adição de solução de NaOH a 0,6 mol/L ou HCl a 2 mol/L. O bicarbonato adicionado além de ser avaliado como um possível fator limitante para o desempenho da mistura, servirá como suplemento da alcalinidade, garantindo que ela seja suficiente para manter-se em níveis

consideravelmente seguros para o sistema (VUITIK et al., 2019). Após todos os processos anteriores, foi fluxionado nitrogênio nos frascos de reatores para a remoção do oxigênio (O_2) e garantir um meio anaeróbio favorável a digestão. A figura 4 apresenta todos os reatores montados.

Figura 4: Reatores montados para operação em batelada.



Fonte: Autora (2022)

Após a montagem dos experimentos, foi iniciado o acompanhamento através da coleta do biogás para sua caracterização. A coleta dos gases foi efetuada por meio da retirada de 300 μ L de amostra nos reatores e injeção manual na cromatografia.

4.3.1 Caracterização inicial dos reatores

Inicialmente, foram realizadas as análises de DQO, carboidratos totais e série de sólidos dos reatores antes da digestão. A Tabela 8 apresenta os valores encontrados na caracterização inicial dos reatores.

Tabela 8: Resultados físico-químicos iniciais dos reatores.

*Reatores	pH	DQO (mg/L)	Carboidratos totais (mg/L)	ST (g/L)	SF (g/L)	SV (g/L)
R.1	7,06	6511,63	2128,87	10,2	2,9	7,3
R.2	7,68	8107,98	2464,19	11,3	5,0	6,3
R.3	7,59	8583,13	3290,43	9,2	2,4	6,8
R.4	7,97	6188,37	3267,53	13,9	5,6	8,4
R.5	7,17	7062,65	2716,07	7,2	3,0	4,2
R.6	7,70	6758,55	2981,31	11,6	4,7	6,9
R.7	7,04	6758,55	2450,83	12,4	3,1	9,3
R.8	7,08	6796,57	2532,89	13,9	5,6	8,2
R.9	7,32	6758,55	2359,24	10,3	4,1	6,3
R.10	7,83	6454,46	2647,38	9,7	4,7	5,0
R.11	7,48	5998,31	2137,89	16,4	5,5	10,9
R.12	7,88	7689,85	2517,62	14,4	4,6	9,9
R.13	7,58	6131,36	2643,56	11,1	3,9	7,2
R.14	7,55	6340,42	2313,45	11,3	5,2	6,1
R.15	7,55	6131,36	2275,28	12,8	5,2	7,6

*(gHCO₃:gDQO/C:V/Inóculo%); R.1 (0,05/25:75/15), R.2 (0,25/25:75/15), R.3 (0,05/75:25/15) R.4 (0,25/75:25/15) R.5(0,05/50:50/10), R.6 (0,25/50:50/10), R.7 (0,05/50:50/20), R.8 (0,25/50:50/20), R.9 (0,15/25:75/10), R.10 (0,15/75:25/10), R.11 (0,15/25:75/20), R.12 (0,15/75:25/20), R.13 (0,15/50:50/15), R.14 (0,15/50:50/15), R.15 (0,15/50:50/15).

Fonte: Autora (2022)

Os valores do pH mostrado na Tabela 8 são referentes aos valores antes do ajuste de pH. Apesar do pH dos substratos serem ácidos, a adição do bicarbonato elevou o pH antes do ajuste inicial. A mudança inicial do pH se dá tanto pela mistura que possui variações das proporções de substratos e inóculo, como a variação da adição de bicarbonato, que além de garantir tamponamento, pode aumentar o pH da mistura.

Apesar da fixação da DQO houve variação final da mistura, antes da digestão, que se deu pela adição de inóculo, uma vez que ele não possuiu DQO fixada. Dessa forma, a variação de DQO ocorreu de acordo com a configuração de cada reator, mantendo-se com valores esperados por sua mistura.

4.3.2 Cromatografia

A cromatografia foi usada para a determinação da produção de metano. Foi utilizado o cromatógrafo modelo *Shimadzu GC-2010- Plus*, equipado com detector de condutividade térmica. Quanto a coluna, foi utilizada a *Supelco Carboxen 1010 Plot*

(30 m de comprimento e diâmetro interno de 0,53 mm). Para a retirada do gás do reator, foi utilizado a seringa *gastight* com trava (300 μL ou 0,3 mL), durante toda a operação (MAINTINGUER et al, 2008). A cromatografia teve as seguintes condições:

- Gás de arraste: Hélio sob fluxo de 21,9 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$;
- Temperaturas do forno: 30 $^{\circ}\text{C}$;
- Temperatura da coluna: 200 $^{\circ}\text{C}$;
- Temperatura do detector: 230 $^{\circ}\text{C}$;

Após a finalização do processo, a caracterização físico-química do efluente final dos reatores foi refeita. Além da análise dos dados recolhido do experimento para analisarmos a superfície de resposta que foi fornecido no final do experimento.

4.4 Análise de dados

Após a desativação dos reatores, foram realizadas novas análises físico-química, que resultou em dados de eficiência final. Além disso, foi calculado a produção de metano produzido nos reatores.

Para calcular a produção de metano, foi usado o método utilizado por Santos Filho (2015) e Silva (2020). Inicialmente a área do metano (adquirida pela cromatografia) foi convertida utilizando a equação padrão da reta em Mol de CH_4 , em seguida, foi feito o acumulado das concentrações de metano nos tempos que foi determinado, por fim, os valores de metano obtidos da amostra (0,3 mL) referentes aos reatores, foram convertidos para *headspace* de cada frasco através da equação 1.

$$[\text{CH}_4]_{\text{no headspace}} (\text{mol}) = \frac{[\text{CH}_4]_{\text{na amostra}} * \text{volume do headspace}}{\text{volume de amostragem (0,3 mL)}} \quad (1)$$

Onde:

- $[\text{CH}_4]_{\text{no headspace}} (\text{mol})$ = Quantitativo de metano no *headspace*;
- $[\text{CH}_4]_{\text{na amostra}}$ = Quantidade de metano na amostra injetada no cromatógrafo;
- Volume do *headspace* = Volume total do *headspace* do reator;
- Volume de amostragem = Volume extraído do reator e injetado no cromatógrafo;

Já o volume acumulado de metano (obtido no *headspace* em mmol de cada reator) foi convertido em mL de CH₄ utilizando a equação geral dos gases.

$$PV = nRT \quad (2)$$

Onde:

- P = 1 atm
- V = Volume a ser convertido
- n = Número de mol do gás
- R = 0,082 atm.L.K⁻¹.mol⁻¹
- T = 273,15 + 35°C

Além disso, também foi calculada a produção específica de CH₄ a partir dos sólidos voláteis iniciais para que assim pudesse ser comparada com trabalhos recentes que o usam para expressar os valores de produção de metano. Para tal feito, é necessário dividir o valor acumulado de CH₄ pelo valor de sólidos dentro do reator como mostra a equação 3.

$$\text{mLCH}_4/\text{gSV} = \frac{\text{Produção acumulada de CH}_4 \text{ (mL)}}{\text{Sólidos voláteis no reator (g)}} \quad 3$$

Os ajustes dos dados experimentais foram obtidos através da apresentação dos dados referente à produção de metano CH₄ dos reatores, em que foi realizado através da aplicação das sigmóides de *Gompertz* (LIMA, 2019) em um software de métodos estatísticos.

4.4.1 Análise estatística de dados

Foi usado o modelo de regressão não linear no processo de codigestão a fim de modelar a produção de metano acumulado. Para isso, a quantidade de metano foi ajustada à sigmoide *Gompertz* Modificado (representada na Tabela 8) utilizado amplamente nos estudos de produção de metano e hidrogênio (LIMA, 2019; NGUYEN *et al.*, 2016; NEMESTÓTHY *et al.*, 2018). Essa análise foi feita com auxílio do *software Microsoft Excel*.

Tabela 9: Equação e modelo de regressão não lineares ajustados à produção acumulada de biogás.

Modelo	Equação
Gompertz Modificado	$H = P \cdot \exp [-\exp \{Rm/P \cdot (\lambda - t) \cdot e + 1\}]$

Onde:

- H= Produção acumulada de metano (mL)
- P= Potencial de produção de hidrogênio (mL)
- R_m = Taxa de produção de hidrogênio ($\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$)
- t= Tempo de incubação dos reatores (h)
- e= Número de Euler (2,71828)
- λ = fase lag (h)

4.4.2 Análise da variância

A análise de variância foi realizada para testar a importância do modelo ajustado aos dados experimentais e a significância dos termos de lineares, interação e quadráticos. Os parâmetros foram diagnosticados pelo coeficiente de correlação, R^2 , com limite de confiança de 95%, valor f e valor p. Geralmente, o valor de f e o coeficiente de correlação, estão diretamente relacionados na eficácia e na viabilidade do modelo (LIMA, 2019).

4.5 Caracterização dos substratos

A caracterização dos substratos e inóculo, assim como dos reatores operados em batelada, foi feita a fim de compreender como eles se comportam durante o experimento. A Tabela 9 seguir apresenta as análises isoladas de cada substrato e do inóculo, obtidas antes da montagem dos reatores.

Tabela 10: Resultados das análises físico-químicas iniciais dos substratos e inóculo

Parâmetros	Unidade	Caldo de Capim Elefante	Vinhaça	Inóculo (Iodo UASB)
DQO	mg-DQO/L	98.705	39.930	23780
Carboidratos totais	mg/L	71.182	10.230	-
Nitrogênio	mg/L	729	364	-
Carbono	mg/L	22.920	10.860	-
ST	mg/L	59.240	23.900	30.000
SS	mg/L	-	1900	20.700
pH	-	5,12	3,98	6,38
C/N	-	31,44	29,75	-

Fonte: Autora (2022)

A vinhaça apresentou uma DQO de 39.930 mg-DQO/L. Esse valor corresponde a aproximadamente 40% da DQO do CCE. Além disso, a vinhaça apresentou um pH de 3,98, o qual foi mais ácido que o CCE. Já o CCE, apresentou DQO, aproximadamente, de 98.705 mg-DQO/L e pH em torno de 5,12. Por sua vez, o inóculo apresentou DQO de 23.780 mg-DQO/ e pH em torno de 6,38.

Pelo fato do inóculo ser um composto de microrganismos já derivado de reator anaeróbio o qual já passou por todo o processo de digestão anaeróbia não foi necessário as análises de carboidratos.

O CCE obteve concentração de carboidratos totais acima de 70 g/L, dessa forma o caldo do capim se mostrou mais rico em carboidrato do que o capim *in natura* que, segundo a literatura, possui valor abaixo dos 30 g/L (FERREIRA et al., 2013). Possivelmente, tal constatação pode ter sido causada pela sua forma líquida, o qual passa por moagem que pode ser considerado como um tipo de pré-tratamento físico. (EMBRAPA, 2021)

Foi observado que o CCE e a vinhaça, possuem razão de C/N (carbono/Nitrogênio) semelhantes, o que impossibilita o uso do mesmo como um fator a ser variado na codigestão dos dois substratos juntos.

5. RESULTADOS

Os reatores foram operados por 33 dias o que também contabiliza os dias de coletas de dados de cromatografia. Após a desativação dos reatores, obtivemos as análises químicas iniciais e finais e valores de produção de metano acumulado de cada reator.

5.1 Caracterização físico-química dos reatores

Os resultados das análises físico-químicas dos reatores serão apresentados a seguir. Os reatores foram operados em condições mesofílicas com temperatura fixa em 35° e pH inicial ajustado em 7.

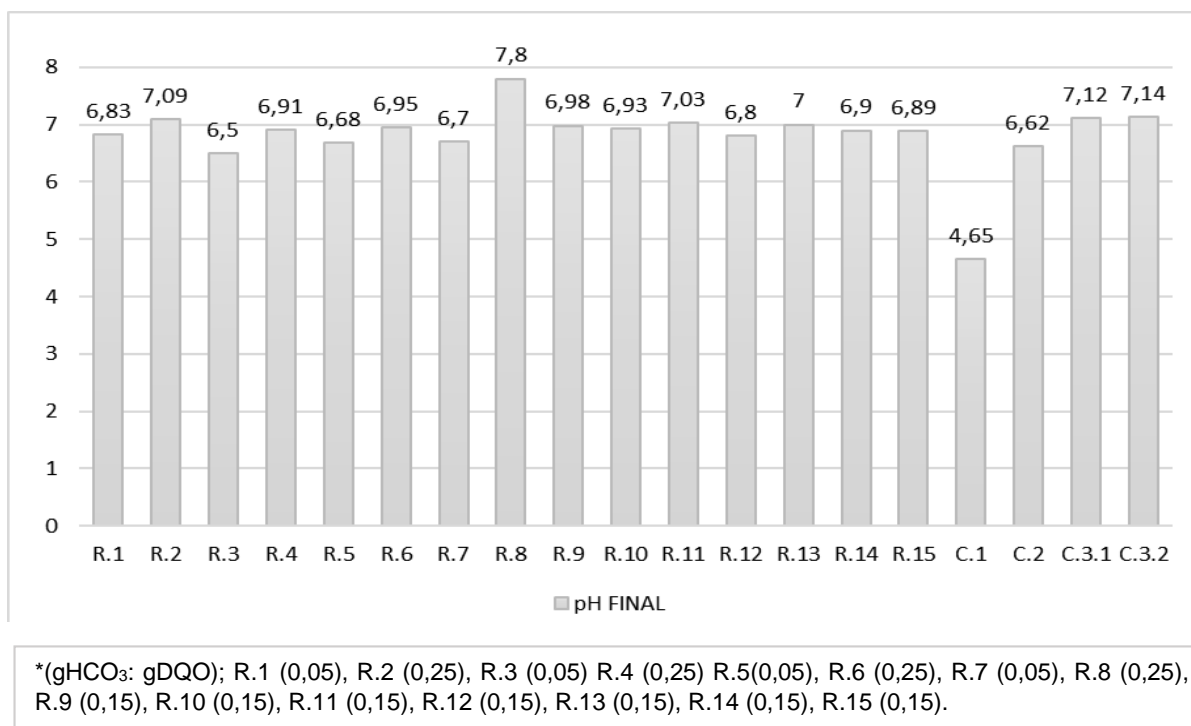
5.1.1 Caracterização final dos reatores

Os valores finais da caracterização dos reatores estão apresentados a seguir em forma comparativa com os valores expressos inicialmente antes da digestão.

5.1.1.1 Análise do pH

Houve uma queda não significativa no pH de até 2% nos reatores, porém, houve aumento de pH nos reatores R.2, R.8, R.11 e R13 além dos reatores controles que continham somente inóculo (C 3.1 e C 3.2). Esse aumento pode ser atribuído ao fato de que a maioria das atividades metanogênicas tendem a aumentar os valores de pH (OJEDIRAN *et al.*, 2021). No entanto, todos reatores do planejamento experimental mantiveram-se com pH ideal para a as atividades metanogênicas que possuem faixa de 6,5 a 7,5 (SARUFO, 2019). A Figura 5 apresenta os valores de pH dos reatores do planejamento no final do experimento.

Figura 5: pH final dos *reatores.



Fonte: Autora (2022)

Nos reatores do planejamento experimental, as menores reduções de pH assim como aumento do mesmo, ocorreu em sua maioria nos reatores que possuíam menor proporção de CCE. Além disso, as maiores quedas de pH ocorreram nos reatores que possuíam menor adição de bicarbonato.

Os reatores de controles não possuíam adição de bicarbonato, assim, as reduções e aumentos de pH foram mais bruscas do que os reatores do planejamento, uma vez que não possuíam algum elemento que garantisse o tamponamento. Desta forma, pode-se destacar o reator C.1 o qual apresentou redução do pH em torno de 33% em relação ao pH inicial, o que indica uma tendência de acidificação pelo CCE. Tal constatação também foi observada por Silva (2020) onde o pH do reator contendo somente CCE obteve redução de 46% do valor inicial. Além disso, a maioria das cepas de Capim elefante possuem uma predisposição na redução do pH ocasionado pelo seu poder fermentativo (AMARAL *et al.*, 2020).

Essa redução de pH pode ter prejudicado a produção de metano tornando-o o reator que menos produziu dentre todos que possuíam os substratos. A literatura afirma que valores de pH acima de 8 e abaixo de 6,5 pode ocasionar a diminuição

drástica da produção de metano (SPEECE, 1996), o que foi confirmado nesse reator controle.

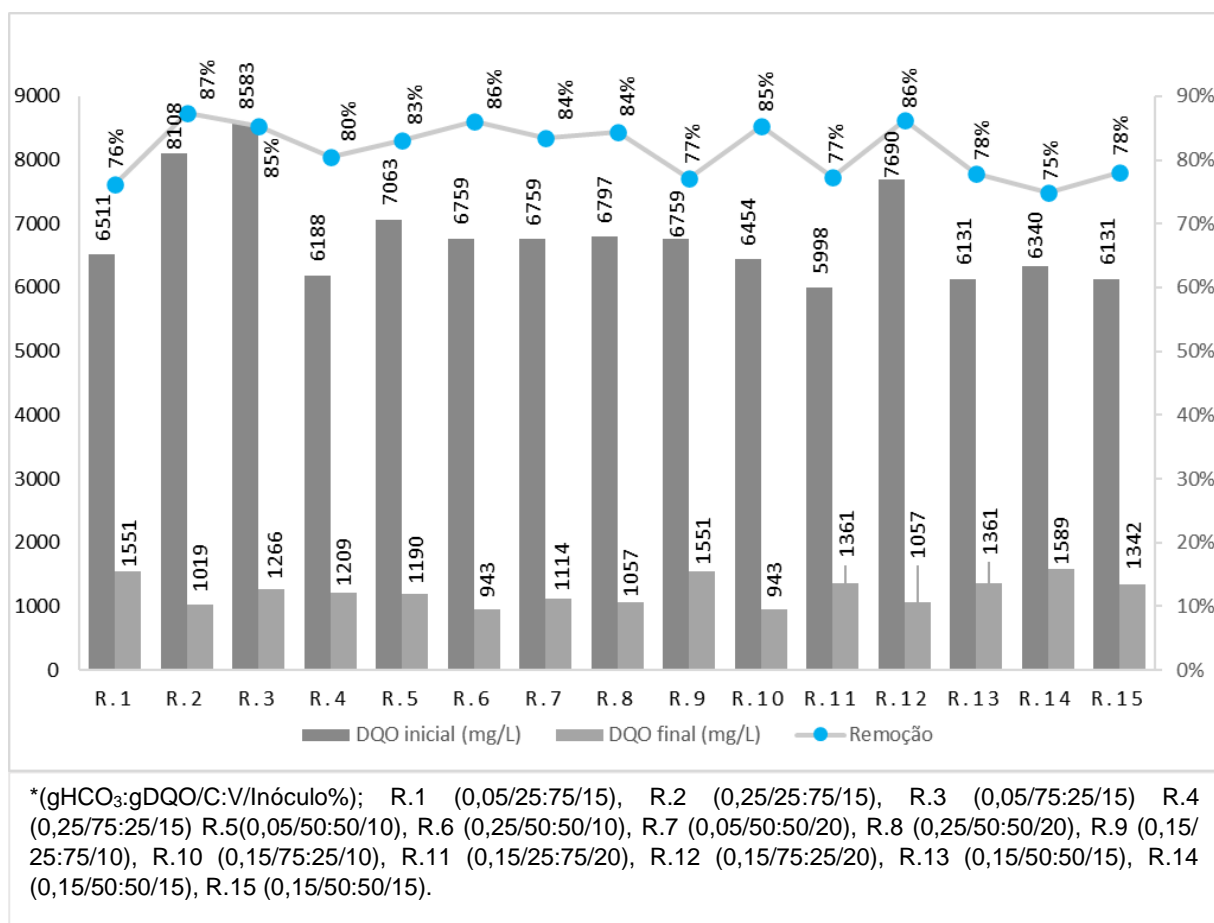
É importante destacar que a redução de pH pode ser ocasionada pelas etapas iniciais da digestão anaeróbia, especificamente nas etapas de hidrólise e acidogênese, a qual pode ocorrer a produção de ácidos, no entanto ele volta a elevar durante as atividades metanogênicas que atuam em meio alcalino. Dessa forma, apesar de haver queda do pH ocasionado pelas etapas iniciais, o mesmo tende novamente a subir na última etapa de produção de metano, o que ocasiona o equilíbrio do sistema (CHERNICHARO, 2019; SERUFO, 2019).

A adição de bicarbonato nos reatores foi de suma importância para garantir a baixa redução do pH, e com isso, houve a inibição da produção de H₂ já que as bactérias acetogênicas produtoras de H₂ atuam em pH ácidos em torno de 5,5 (SPEECE, 1996). Com isso, supõe-se que a produção de metano ocorreu em sua maior parte pela rota de acetato, através das metanogênicas acetoclásticas que utilizam acetato como fonte de carbono e energia para produzir gás carbônico (CO₂) e metano (CH₄). Além disso, o alcalinizante adicionado se mostrou essencial para a inibição da acidificação nas condições testadas, o que difere dos resultados encontrados por Silva (2020).

5.1.1.2 Análise de DQO

As análises de DQO foram feitas a fim de avaliar a eficiência da digestão, uma vez que a DQO é utilizada pelos microrganismos na geração de biogás. A Figura 6 mostra os valores iniciais e finais de DQO como comparativos, assim como a eficiência de remoções.

Figura 6: Comparativo da DQO dos *reatores e sua taxa de remoção.

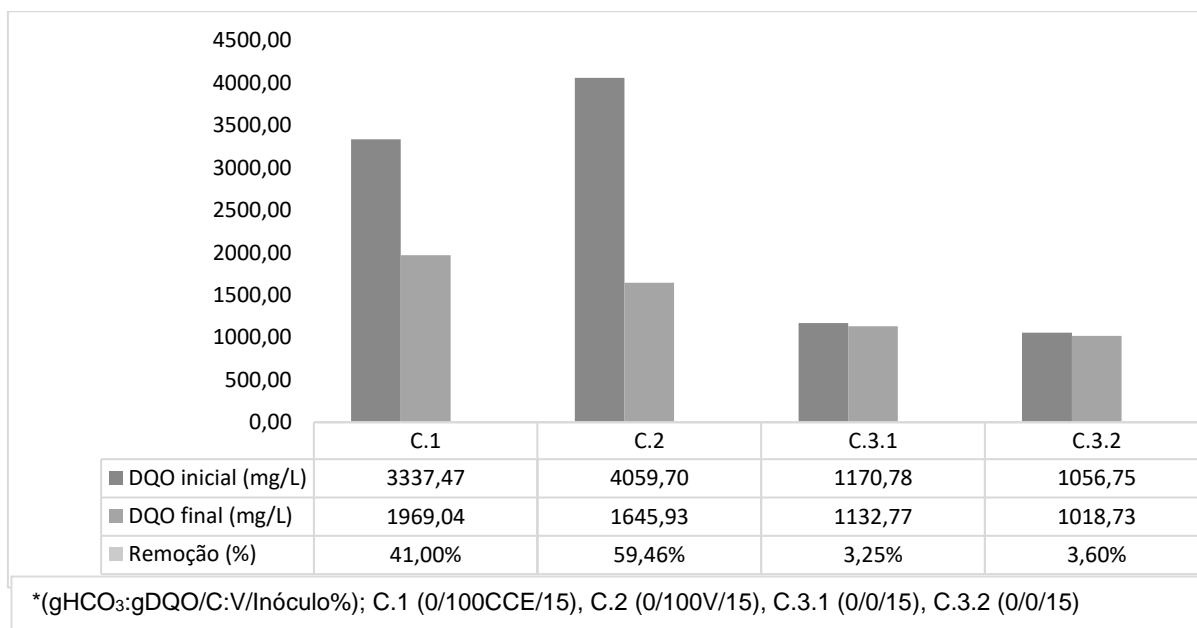


Fonte: Autora (2022)

Conforme observado na Figura 6, observa-se uma significativa eficiência de redução de DQO nos reatores. A eficiência de remoção dos reatores esteve entre 75% e 87%, sendo o reator R.2 a maior eficiência de remoção com valor de 87%. Valores inferiores na codigestão entre CCE e vinhaça operados em condições semelhantes, foram encontrados por Silva (2020), o qual a maior eficiência de remoção foi de 77%. Dessa forma, supõe-se que a mudança da configuração dos reatores pode aumentar a taxa de remoção. Vale ressaltar que valores de redução de DQO nos reatores de planejamento, obtiveram desvio padrão médio de 4%, não obtendo valores de variação relevantes a serem comparados.

Além dos reatores do planejamento, foram avaliados os reatores controle para melhor avaliarmos o grau de significância da codigestão. A Figura 7 a seguir mostra a eficiência de remoção dos reatores controles, os quais foram operados com os substratos isolados e inóculo ou somente inóculo, e todos sem adição de bicarbonato.

Figura 7:Comparativo da DQO dos *reatores controles e sua taxa de remoção.



Fonte: Autora (2022)

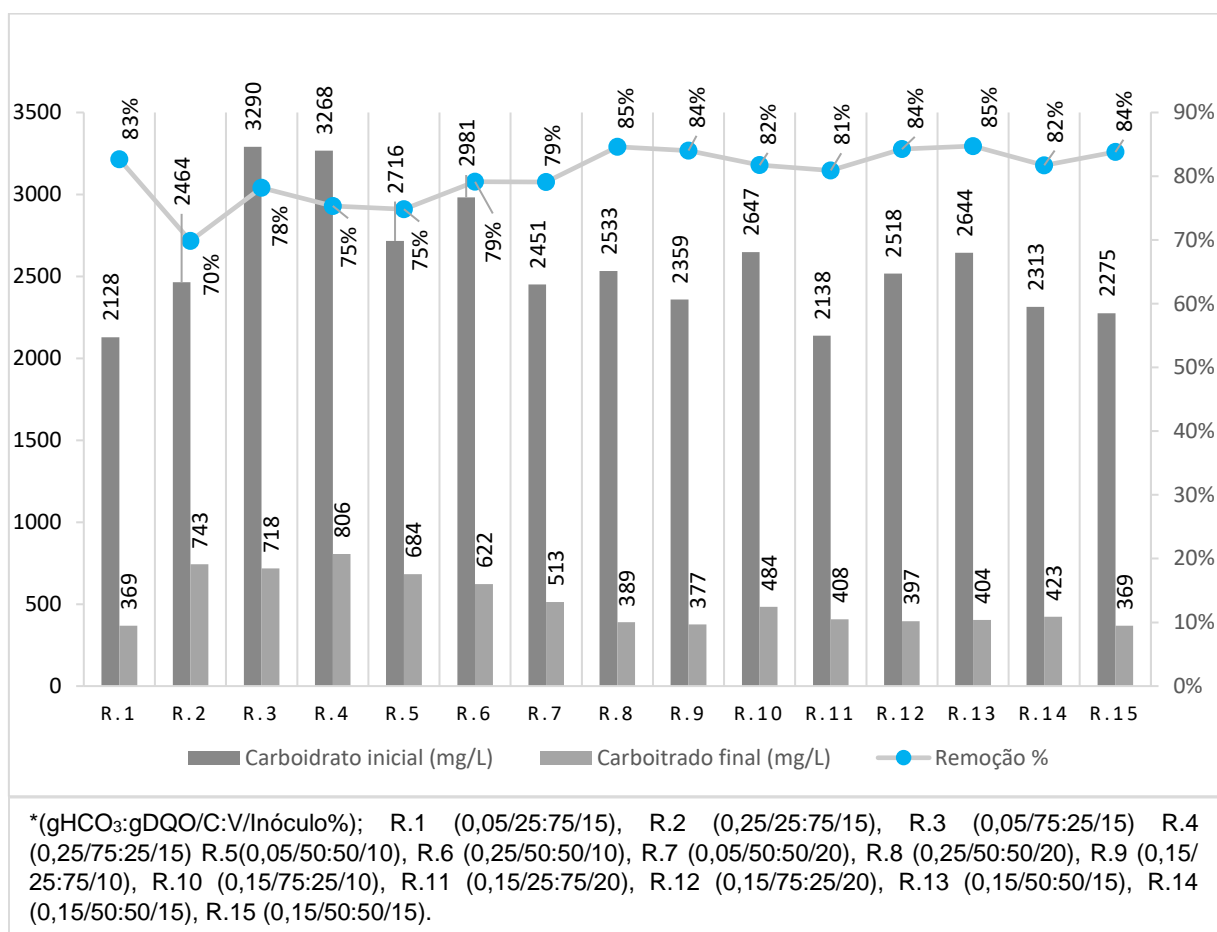
Pode-se observar que a eficiência de redução de DQO nos substratos isolados (C.1 e C.2) obtiveram valores inferiores aos reatores operados em codigestão, isso pode ser ocasionado pelo uso dos substratos em codigestão que supostamente pode aumentar a eficácia do consumo. Os reatores controle, contendo semente inóculo (C.3.1 e C.3.2), apresentaram uma remoção inferior a 4%. Esse valor pode ser atribuído ao uso isolado do inóculo já que o mesmo não possui altos valores de matéria orgânica a serem consumidas por se tratar de um grupo de microrganismos que já passaram pela digestão anaeróbia.

Valores inferiores de remoção em monodigestão, comparado ao presente trabalho, foram encontrados por Silva, (2020) com valor de remoção em 4,69% através do caldo de capim elefante, utilizando o mesmo tipo e volume de reator, porém com volume reacional e porcentagem de inóculo diferente. Dessa forma, supõe-se que o CCE pode obter remoção significativamente elevada, modificando a configuração do reator.

5.1.1.3 Análise de carboidrato totais

As análises de carboidrato totais foram realizadas para melhor compreender o processo de digestão anaeróbia, já que a conversão de matéria orgânica simples é um fator importante para a continuidade e a duração do processo. A Figura 8 mostra a eficiência de remoção de carboidrato totais nos reatores.

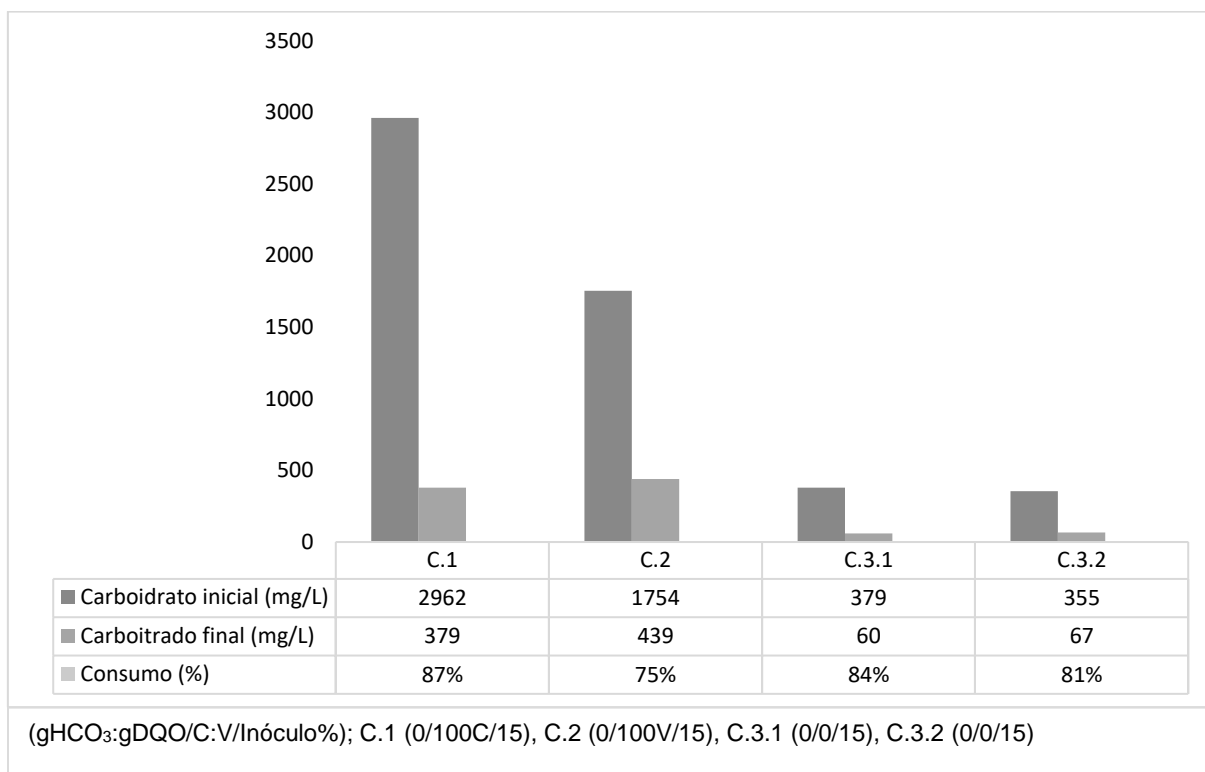
Figura 8: Comparativo de carboidrato dos reatores do planejamento e sua taxa de remoção.



Fonte: Autora (2022)

Os maiores consumos de carboidratos totais foram apresentados nos reatores R.8 e R.13 ambos com proporção CCE/V de 50/50, com eficiências de 84,64% e 84,74%, respectivamente. Os menores consumos ocorreram nos reatores R.2 e R.5, com porcentagem de 69,84% e 74,83%, respectivamente. As análises também foram realizadas nos reatores controles, conforme serão apresentadas na Figura 9.

Figura 9: Comparativo de carboidrato totais nos reatores controles e sua taxa de remoção.



Fonte: AUTORA (2022)

O consumo de carboidrato nos reatores controles foram semelhantes aos reatores do planejamento experimental. Em destaque, o reator controle contendo CCE que dentre todos os reatores, foi o que mais consumiu carboidratos totais, supostamente, essa elevada eficiência de consumo, pode ser atribuída a sua forma líquida, já que o capim passa por uma moagem para extração do caldo, funcionando como um pré-tratamento mecânico da biomassa que produz, de um lado, o bagaço desidratado, e de outro, o caldo do capim-elefante. Dessa forma, a transformação da matéria orgânica mais complexas em matérias orgânicas mais simples se tornam mais fácil de assimilar durante a digestão anaeróbia (ZHONG *et al.*, 2011; MARAFON & MACHADO, 2021).

Contudo, as eficiências de consumo de carboidrato obtiveram um desvio padrão médio de 4%, não apresentando assim indicativo de variação relevante.

5.1.1.4 Análise de sólidos voláteis totais

As análises de remoção de sólidos voláteis totais no presente trabalho, serviu como parâmetro demonstrativo da produção de metano. A Tabela 11 apresenta o

comparativo dos sólidos iniciais e finais dos reatores, assim como a sua eficiência de remoção ou de crescimento.

Tabela 11: Comparativo de sólidos voláteis totais nos reatores.

¹ Reator	SV Inicial (g/L)	SV Final (g/L)	Remoção/ aumento de SV (%)
R.1	7,3	4,5	39%
R.2	6,3	7,2	*14%
R.3	6,8	5,8	15%
R.4	8,4	5,3	36%
R.5	4,2	2,0	52%
R.6	6,9	2,6	63%
R.7	9,3	5,5	41%
R.8	8,2	8,3	*1%
R.9	6,3	4,3	31%
R.10	5,0	3,6	28%
R.11	10,9	6,5	40%
R.12	9,9	6,1	38%
R.13	7,2	4,7	35%
R.14	6,1	4,3	29%
R.15	7,6	4,0	47%
C.1	6,7	2,4	65%
C.2	7,7	5,2	33%
C.3.1	5,5	3,6	35%
C.3.2	5,3	4,0	24%

1. (gHCO₃:gDQO/C:V/Inóculo%); R.1 (0,05/25:75/15), R.2 (0,25/25:75/15), R.3 (0,05/75:25/15) R.4 (0,25/75:25/15) R.5 (0,05/50:50/10), R.6 (0,25/50:50/10), R.7 (0,05/50:50/20), R.8 (0,25/50:50/20), R.9 (0,15/ 25:75/10), R.10 (0,15/75:25/10), R.11 (0,15/25:75/20), R.12 (0,15/75:25/20), R.13 (0,15/50:50/15), R.14 (0,15/50:50/15), R.15 (0,15/50:50/15), C.1 (0/100C/15), C.2 (0/100V/15), C.3.1 (0/0/15), C.3.2 (0/0/15).

* correspondente aos valores de crescimento de sólidos.

Fonte: Autora (2022)

A Remoção de SV esteve entre 15 e 63% nos reatores do planejamento experimental, sendo a menor remoção no reator R.3, com CCE/V de 75/25 e a maior remoção no reator R.6, com CCE/V de 50/50.

A remoção nos controles variou de 24% a 65%, onde o reator controle de CCE (C.1) obteve remoção de 65% sendo esse, o que adquiriu maior eficiência de remoção dentre todos os reatores do experimento.

Houve ainda, reatores que apresentaram aumento de SV, que foi o caso do reator 2 (R.2) e reator 8 (R.8) com crescimento de 14% e 1% respectivamente.

Acredita-se que tal crescimento pode estar relacionado as fases de sínteses e endógena do crescimento da biomassa.

Os SV encontrados nos reatores podem ser entendidos como a matéria orgânica encontrada no meio, que por sua vez são usadas pelos microrganismos envolvidos no processo de digestão para realizar seus processos metabólicos, dessa forma, pode-se dizer que quando a quantidade de matéria orgânica é suficiente, os microrganismos se encontram em fase de crescimento, ocasionando assim um aumento da biomassa, já que os mesmos estão se multiplicando o que caracteriza a fase de síntese. No entanto, quando a quantidade de matéria orgânica se encontra escassa, microrganismos necessitam buscar outras fontes, com isso, elas passam a ter como substrato principal o próprio protoplasma celular, caracterizando assim a fase endógena (VON ESPERLING, 2016).

Sabendo que o nível de redução de DQO (acima de 84%), encontrada nos reatores com crescimento de SV estão entre os que mais removeram DQO, tais reatores podem ter sido desativados na fase síntese, impedido os mesmos a chegar na fase endógena, a qual qualifica a fase de remoção de SV. O reator 2, em que houve aumento de sólidos, possuía proporção de substrato em 25/75 (CCE/V), isso implica na disponibilidade de nutrientes para serem digeridos, já que o CCE é o substrato onde se encontra maiores níveis de carboidrato que por sua vez, são usados pelos microrganismos na digestão anaeróbica. De outra forma, a remoção de sólidos voláteis dos reatores restantes, pode ter ocorrido devido a entrada deles na fase endógena.

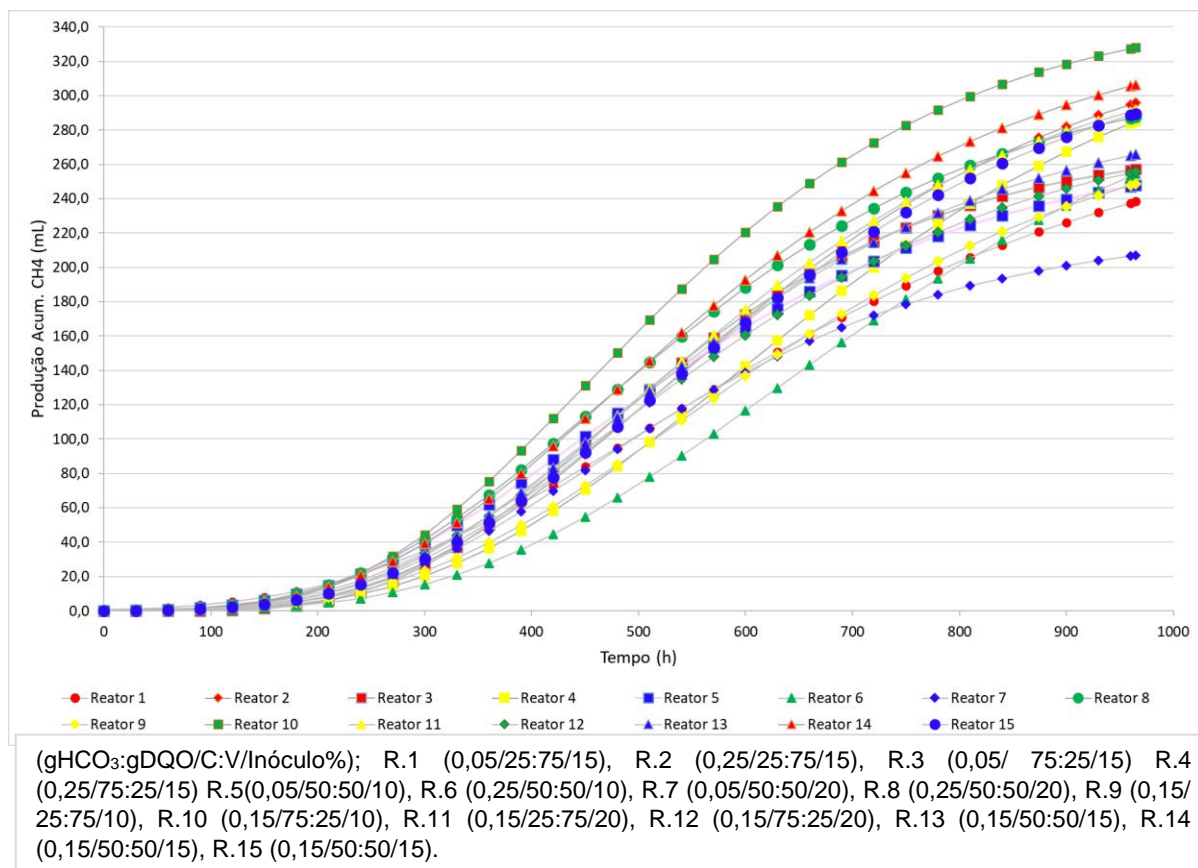
Todos os reatores do planejamento que obtiveram eficiência de remoção acima de 40% possuíam a mesma proporção de mistura, em 50/50 (CCE/V), porém com adição de bicarbonato e inóculo diferentes. Dessa forma supõe-se que o equilíbrio da codigestão esteja diretamente relacionada com a eficiência de remoção de SV.

5.2 Análise da produção de CH₄ acumulado nos reatores

A produção de metano foi estimada no período de 33 dias de operação dos reatores. Com isso, obteve-se os valores de produção acumulada de metano em cada reator usando o ajuste de curva do Gompertz modificado. A Figura 10 apresenta a produção acumulada (símbolos) dos reatores do planejamento experimental, bem

como o ajuste (linhas) dos dados observados através do modelo de Gompertz modificado.

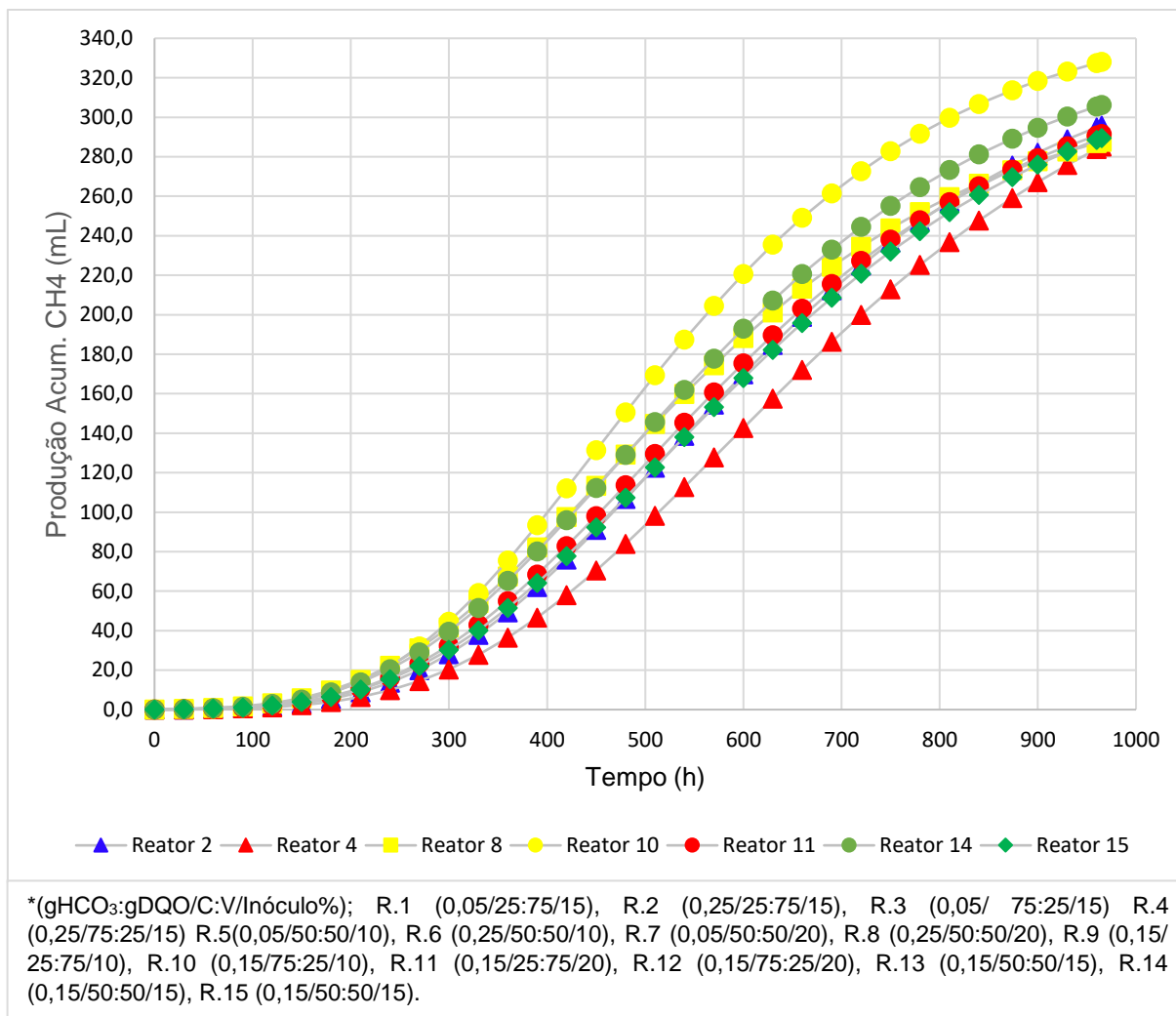
Figura 10: Produção acumulada dos reatores do planejamento com ajuste do Gompertz modificado.



Fonte: Autora (2022)

Observa-se que a produção acumulada de CH₄ variou de 207,1mLCH₄ (R.7) a 328,1 mLCH₄ (R.10). Para melhor compreensão dos dados, pode-se destacar os reatores os quais mais produziram CH₄ acumulado, como mostra a Figura 11.

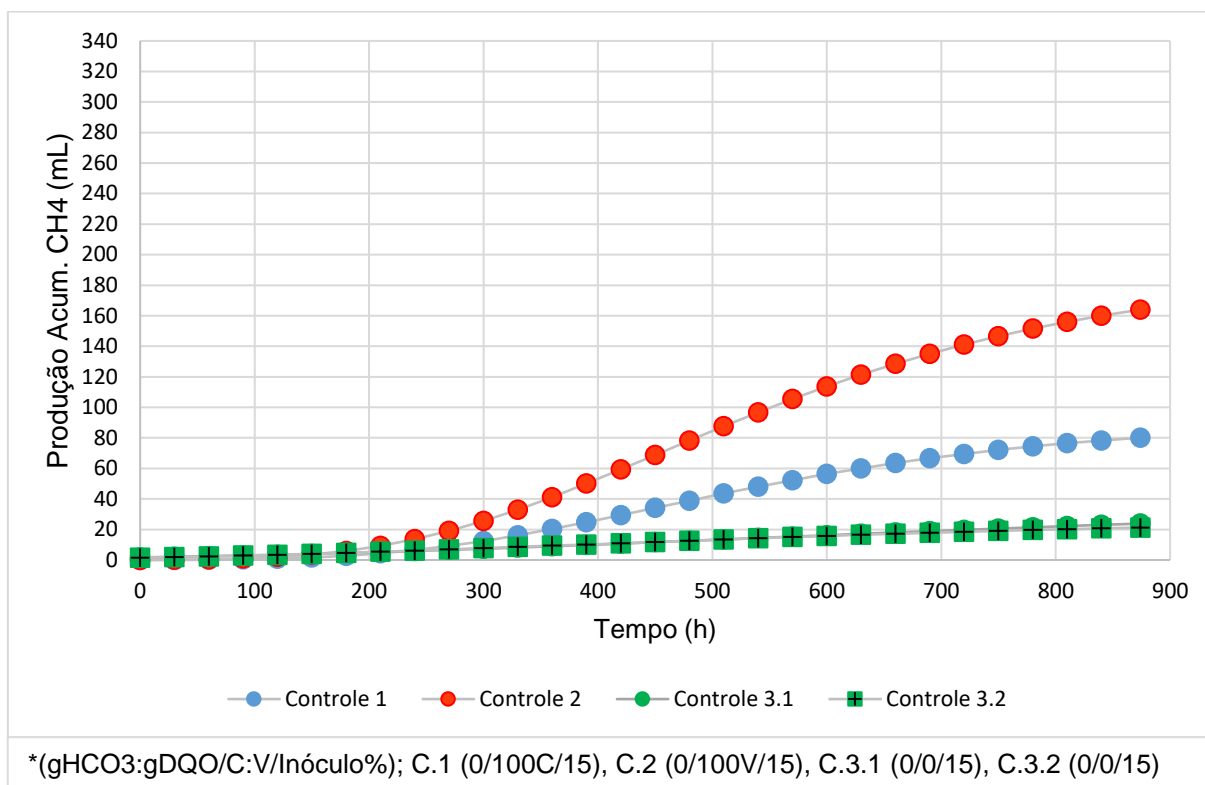
Figura 11: Produção acumulada dos *reatores de maior produção com ajuste do Gompertz modificado.



Fonte: Autora (2022)

Os reatores mostrados na Figura 11 obtiveram produção acumulada de CH₄ acima de 285 mLCH₄. Pode-se observar que a maior produção acumulada de metano se deu no reator 10 (328,1 mLCH₄). Para melhor compreender a significância dos substratos usados, pode-se destacar os reatores controles conforme mostra a Figura 12.

Figura 12: Produção dos *reatores controles com ajuste do Gompertz modificado.

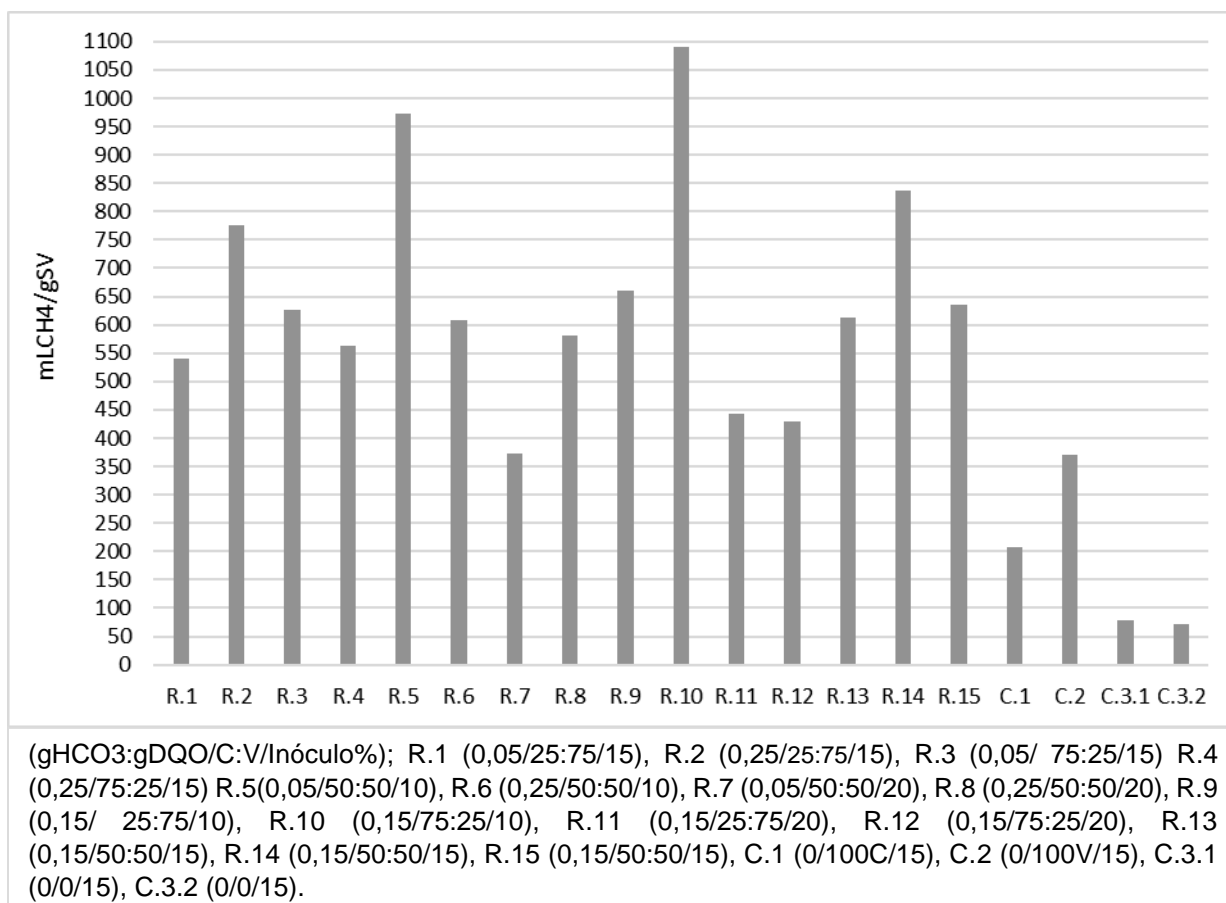


Fonte: Autora (2022)

Os reatores controles, que possuíam somente inóculo (C.3.1 e C.3.2), não obtiveram produção de metano tão significativa quanto os reatores operados com os substratos, possivelmente devido seu baixo nível de matéria orgânica. A produção acumulada de metano nos reatores controle, os quais só possuíam CCE (C.1) e vinhaça (C.2), tiveram produção de 84 mLCH₄ e 172,5 mLCH₄ respectivamente, porém, inferiores aos reatores operados em mistura.

A representação da produção específica de metano pode ser dada por sólidos voláteis, essa expressão vem sendo usada em diversos trabalhos recentes (SILVA,2020; OJEDIRAN et al., 2021 CARVALHO et al., 2016). No entanto, utilizando-se a produção por SV. A Figura 13 mostra a produção acumulada de CH₄ por SV.

Figura 13: Produção de metano por sólidos voláteis.



Fonte: AUTORA (2022)

Dessa forma, pode-se observar que a produção de mLCH₄/gSV ficou entre 372 e 1093mLCH₄/g SV nos reatores operados em codigestão. Dentre eles, destaca-se com maiores produções os reatores R.2, R.5, R.9, R.10 e R.14 com valores de 776,50, 972,1, 661, 1091,56, 837,40 mLCH₄/gSV, respectivamente. Valores próximos de produção de metano foram encontrados por Silva (2020) o qual obteve a maior produção de metano, operado em mistura de CCE e vinhaça, com valor de 836,18 mL CH₄/gSV.

Já a produção nos reatores controles, a produção ficou em torno de 71 a 371 mLCH₄/gSV, destacando-se a produção no reator controle C.1 e C.2 que tiveram produção com valores de 208 e 371mLCH₄/gSV respectivamente. Os controles de Inóculo, C.3.1 e C.3.2, por sua vez, não possuíram produção de metano tão significativa quanto aos reatores operados com substratos, isso pode ser ocasionado devido o inóculo ser somente um suplemento de microrganismos (SOOD et al., 2011)

que não possui altos valores de matéria orgânica para serem consumidos na digestão anaeróbia.

A produção de mLCH₄/gSV ocorrida em codigestão superou significativamente a produção em monodigestão. Valor encontrado no reator de maior produção (R.10) chegou a ser entorno de três a cinco vezes maior comparado aos reatores C.1 e C.2, respectivamente.

Essa constatação pode ser ocasionada pelos fatores inseridos no sistema, como a codigestão onde possui o aumento de matéria orgânica (carboidrato) dada pelo CCE, e a alta carga orgânica biodegradável da vinhaça (SILVA *et al.*, 2021); a suplementação de microrganismos vinda do inóculo, que pode ter aumentado a taxa de desintegração, tornando a digestão anaeróbia mais estável o que favorece o aumento da produção de CH₄ (QUINTERO *et al.*, 2012) e por fim, à adição de bicarbonato que, supostamente, garantiu o tamponamento necessário para o sistema, assegurando o equilíbrio e as condições favoráveis para atuação das arqueas metanogênicas (DÖLL e FORESTI, 2010).

5.3 Teste de otimização

O efeito dos fatores variados foi realizado a fim de otimizar as condições operacionais e assim determinar as relações de interatividade entre as variáveis. Através disso, pode-se obter um modelo de regressão quadrática, de significância 95%, a partir dos resultados do planejamento experimental em relação à produção de CH₄ (mL), representada na equação 4. Além disso, o alto valor do coeficiente de regressão (R²=0,9210) indica que o modelo de regressão é uma representação precisa dos dados experimentais.

$$\text{Produção CH}_4 \text{ (mL)} = 1,6 + 559X_1 + 3,06X_2 + 20,65 X_3 - 2493X_1^2 + 0,0110X_2^2 - 0,520X_3^2 - 2,94X_1X_2 + 36,8X_1X_3 - 0,2302X_2X_3 \quad (4)$$

Em que x₁, x₂ e x₃ corresponde aos fatores bicarbonato, proporção mistura e porcentagem de inóculo respectivamente.

Os valores f e p, mostrados na Tabela 12, foram analisados para compreender a interação e o nível de significância dos fatores.

Tabela 12: Fatores, interações e valores de f e p correspondentes.

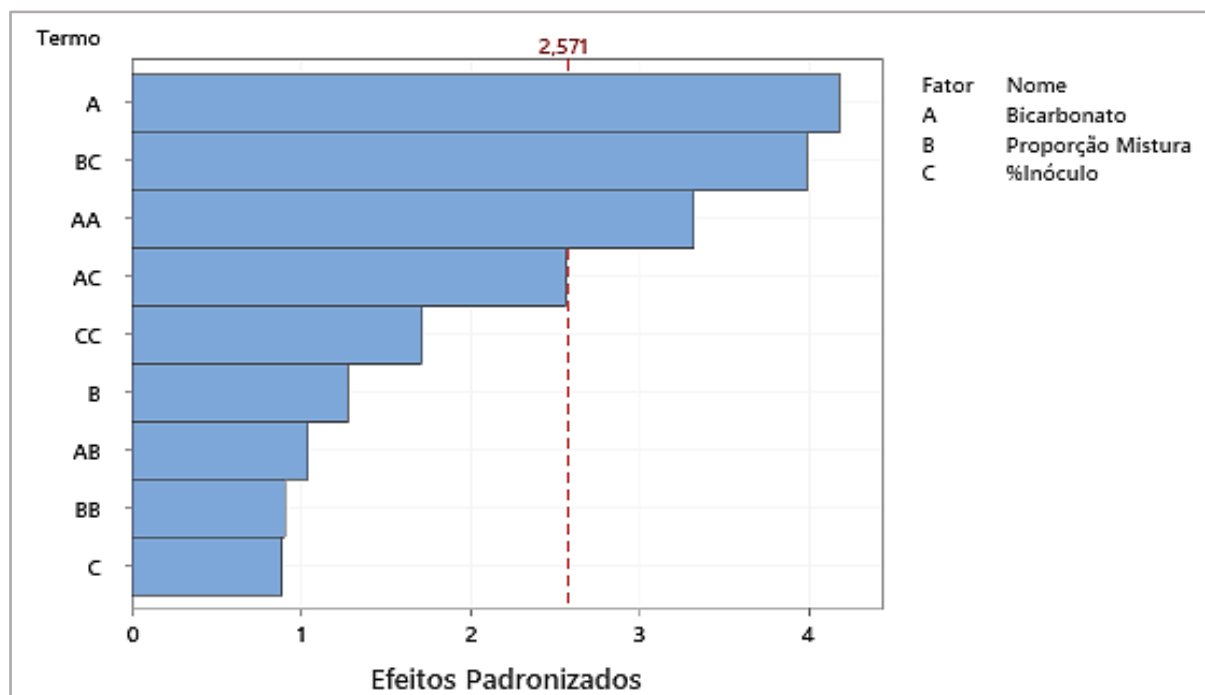
TERMO	VALOR f	VALOR p
Bicarbonato	17,47	0,009
Proporção Mistura	1,63	0,258
%Inóculo	0,79	0,415
Bicarbonato*Bicarbonato	4,93	0,021
Proporção Mistura*Proporção Mistura	11,04	0,407
%Inóculo*%Inóculo	0,82	0,146
Bicarbonato*Proporção Mistura	2,95	0,345
Bicarbonato*%Inóculo	7,87	0,050
Proporção Mistura*%Inóculo	1,09	0,010

Fonte: Autora (2022)

Apesar do bicarbonato ter sido o único fator significativo, as curvas do gráfico indicam que há uma interação relativamente forte entre as variáveis de bicarbonato e inóculo e a proporção de mistura e inóculo, como também evidenciado pelos baixos valores p correspondentes ($<0,05$), com isso, pode-se dizer que tanto o bicarbonato como a proporção de mistura e inóculo foram significativos para o modelo.

O valor f é utilizado também para avaliar a significância, tanto dos fatores como da interação entre si. Através da Figura 14 pode-se analisar quais fatores e combinações dentre eles são significantes para o modelo.

Figura 14: Gráfico de Pareto dos Efeitos Padronizados. (Resposta= Produção de CH₄ (mL); $\alpha = 0,05$).

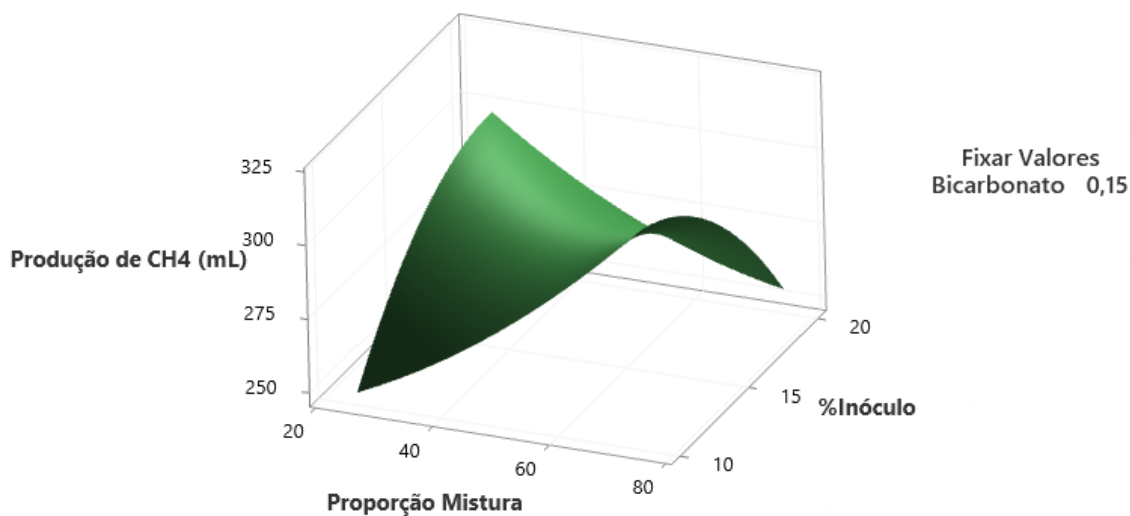


Fonte: Autora (2022)

Dessa forma, todos os termos antes do valor f do modelo (linha tracejada) são entendidos como não significativos, portanto, obteve-se somente o fator bicarbonato e as interações proporção de mistura e %inóculo, bicarbonato e bicarbonato e bicarbonato e %inóculo como significativas, o que foi também confirmado pelo valor p descrito anteriormente.

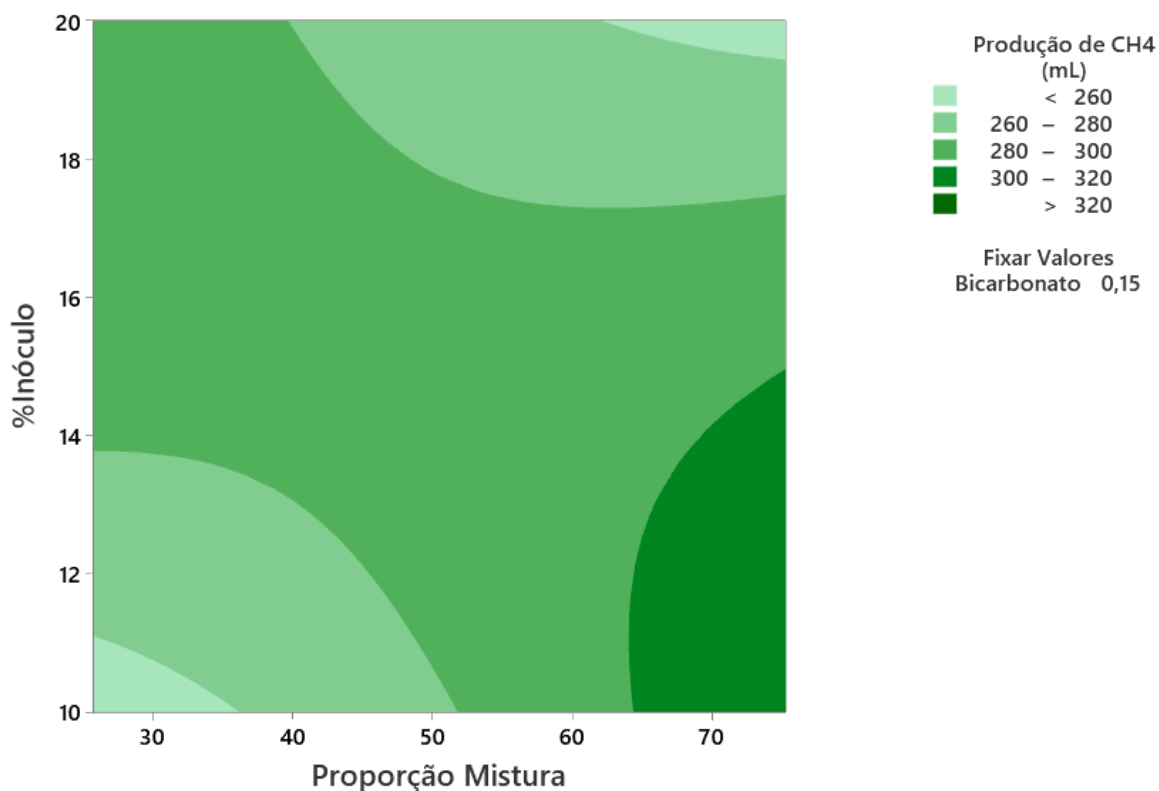
As superfícies de resposta tridimensionais e linhas de contorno bidimensionais foram plotadas para melhor compreender a relação dos fatores e a produção de CH₄. As figuras 15 a 18 apresentam a relação entre as interações significativas e a produção de CH₄.

Figura 15: Superfície de resposta tridimensional da interação entre Proporção de Mistura e a Porcentagem de Inóculo (%)



Fonte: Autora (2022)

Figura 16: Gráfico de contorno entre a proporção da mistura e a porcentagem de inóculo (%)

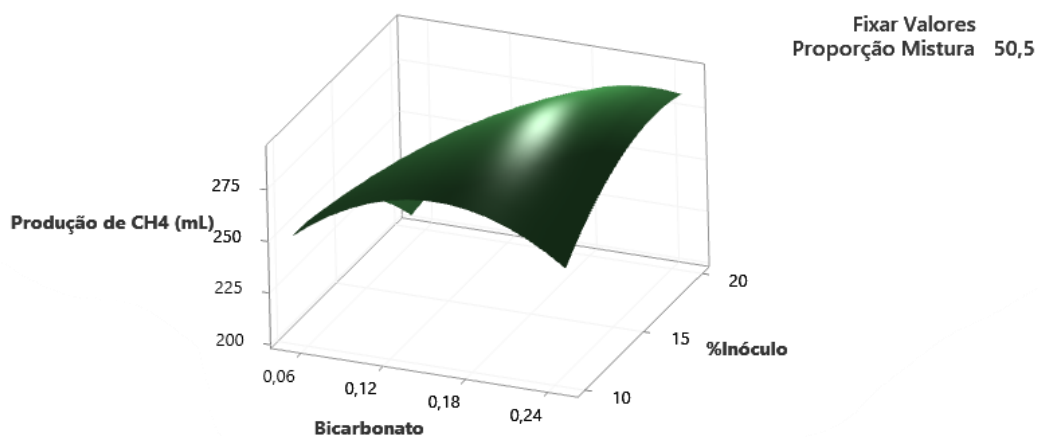


Fonte: Autora (2022)

Analisando as Figuras 15 e 16, pode-se observar que a faixa ótima de produção de CH₄ está entre 20 e 60 da proporção mistura, entre 15 e 20% de inóculo.

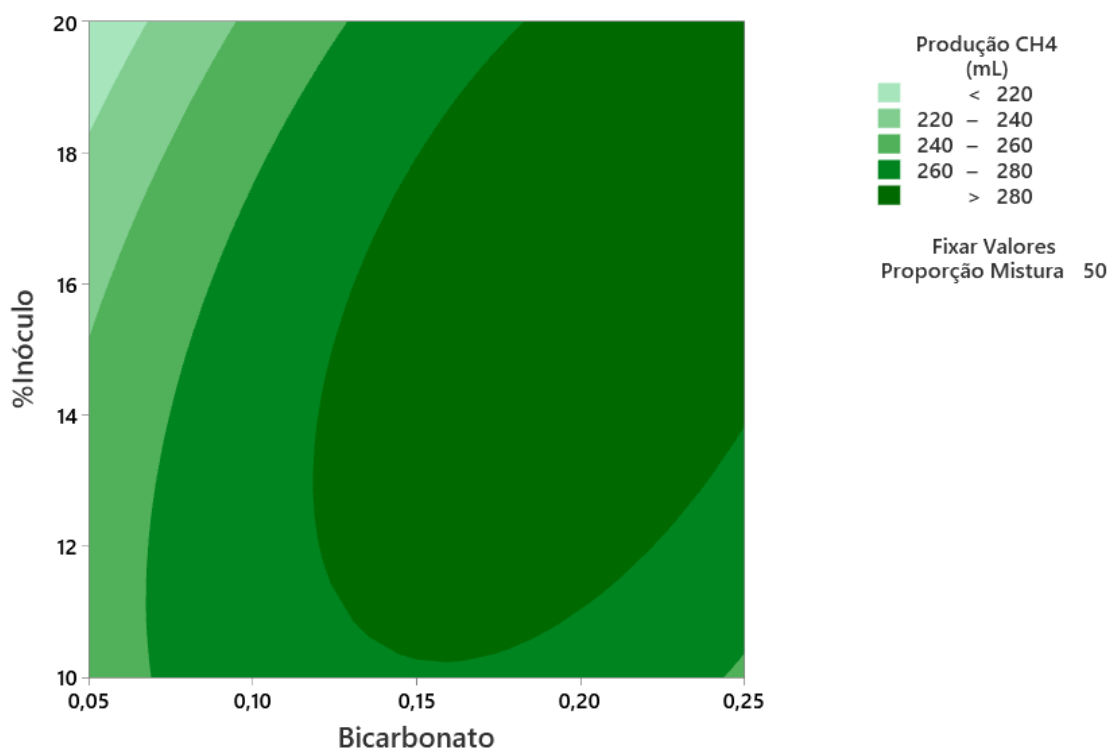
Dessa forma, entende-se que quanto maior a proporção de mistura e menor porcentagem de inóculo, maior será a produção de metano.

Figura 17: Superfície de resposta tridimensional da interação entre o bicarbonato e a porcentagem de inóculo (%).



Fonte: Autora (2022)

Figura 18: Gráfico de contorno entre o bicarbonato e a porcentagem de inóculo (%)



Fonte: Autora (2022)

Já para a interação de bicarbonato e inóculo, apresentada na figura 17 e 18, a faixa ótima de bicarbonato fica entre 0,15 e 0,25 e a faixa do inóculo está entre 15 e 20%.

Através da derivação da equação dada pelo modelo, pode-se encontrar os pontos ótimos para cada fator. Com isso, obtém-se o ponto ótimo de 0,19; 50,78:49,22 e 15,60 para bicarbonato, proporção mistura e taxa de inóculo respectivamente. Com isso, pode-se observar que o reator que mais se aproximou da condição ótima dos fatores, foi o reator 14 (0,15/50:50/15), que por sua vez, está entre os que mais produziram CH_4 no sistema. O reator que mais produziu (R.10) possui a adição de bicarbonato próximo ao ponto ótimo, em 0,15 $\text{gHCO}_3\text{:gDQO}$, porém a proporção de mistura e taxa de inóculo estiveram fora da faixa ótima, o que confirma a análise estatística de que o fator bicarbonato possui alto grau significativo, dessa forma, ele influencia consideravelmente na produção de CH_4 .

Dentre todos os reatores em que mais produziram $\text{mLCH}_4\text{/gSV}$ (R.2, R.5, R.9, R.10 e R.14) somente o R.5 teve adição de bicarbonato abaixo de 0,15. Esse resultado diverge do encontrado por Silva (2020) onde o autor conclui que a maior produção de CH_4 foi encontrada na condição em que possuiu a menor adição de bicarbonato em 0,05 $\text{gHCO}_3\text{:gDQO}$. Com tudo, pode-se cogitar que os diferentes resultados encontrados no presente trabalho e por Silva (2020), pode ter sido ocasionado tanto pela adição do bicarbonato, como pela variação de inóculo e mistura, uma vez que o presente trabalho teve maior variação dos fatores. Além disso, ao utilizar o planejamento experimental, podemos compreender melhor as interações dos fatores na produção de CH_4 .

6. CONCLUSÃO

A codigestão entre capim elefante e vinhaça em condições mesofílicas se mostrou favorável a produção de CH_4 . A adição de bicarbonato nos reatores fez com que o pH do meio aumentasse. Além disso, o bicarbonato foi de suma importância para garantir o pH favorável para a metanogênese durante toda a digestão, já que ele garantiu o tamponamento além de ser essencial na inibição da acidificação, o que converge dos resultados encontrados na literatura. Em contrapartida, o reator controle de caldo de capim, que não possuiu adição de bicarbonato, teve uma redução brusca de 34% do pH, o que prejudicou a produção de CH_4 , por outro lado, a o reator controle da vinhaça sem adição de bicarbonato, conseguiu manter o pH dentro da faixa ótima para atividades metanogênicas, com isso, pode-se dizer que o caldo de capim elefante, necessariamente, necessita de uma solução tampão para garantir a eficácia da sua produção.

O consumo de DQO nos reatores operados em codigestão chegou a 87,44% (R.2 operado em condições de 0,25/25:75/15), diferentemente, os reatores de controle de caldo de capim e vinhaça ficaram em 41% e 59,46% respectivamente, dessa forma, houve um aumento de 46% e 18% (se comparado ao reator controle C.1 e C.2 respectivamente) de remoção de DQO quando usado mais de um substrato no sistema de digestão anaeróbica.

Houve uma remoção significativa de SV, com valor entre 24 e 65%, sendo a maior remoção dada no reator controle do CCE, com remoção de 65%, seguida do reator 6 com remoção de 63%. Apesar da maioria dos reatores conseguirem remover SV, houve ainda o crescimento de SV nos reatores R.2 e R.8 de 14 e 1% respectivamente, esse aumento está relacionado a desativação precoce dos reatores dada antes deles entrarem na fase endógena que caracteriza a fase de remoção de SV. Dessa forma, entende-se que a desativação dos reatores antes deles entrarem em fase estacionária pode prejudicar a remoção de SV.

A maior produção de CH_4 acumulado se deu nos reatores que possuíam adição de bicarbonato acima de 0,15 $\text{gHCO}_3\text{:gDQO}$, o mesmo ocorreu quando calculado a produção de CH_4 por SV. Entende-se então que a produção de CH_4 está diretamente relacionada com a adição e bicarbonato, isso também foi confirmado pela

análise estatística do planejamento experimental, onde somente o fator Bicarbonato foi significativo para o modelo.

O planejamento experimental resultou em um R^2 acima de 0,92 dando uma alta confiabilidade nos resultados, além disso, através dos resultados, pode-se observar que o fator bicarbonato foi significativo para o modelo assim como as interações entre proporção de mistura com inóculo e bicarbonato e inóculo também se mostraram significativos para o modelo. Através da equação quadrática, pode-se calcular os pontos ótimos de 0,19 gHCO₃:gDQO, 50,78:49,22 (C:V) e 15,60% para bicarbonato, proporção mistura e taxa de inóculo respectivamente que por sua vez, foram resultados próximos as condições dos reatores que mais produziram CH₄ acumulado.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Sugere-se:

- Estudos utilizando o CCE com outros substratos para compreender melhor a interação do capim com outras variedades de substrato.
- Estudos das rotas de produção de CH₄, para confirmação da hipótese da produção de CH₄ tenha ocorrido em sua maioria, na rota de acetato.
- Avaliar os metabólicos e solúveis produzidos no processo
- Avaliar o uso do CCE para a produção de hidrogênio
- Avaliar dados ANOVA

REFERÊNCIAS

- AMARAL, R. C.; CARVALHO, B. F.; COSTA, D. M.; MORENZ, M. J. F.; SCHWAN, R. F.; ÁVILA, C. L. DA S. Novel lactic acid bacteria strains enhance the conservation of elephant grass silage cv. BRS Capiacu. **Animal feed science and technology**, v. 264, n. 114472, p. 114472, 2020.
- APHA. Standard Methods For Examination Of Water And Wastewater. **American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environmental Federation**, [S. I.], v. 22, 1999.
- BARROS, L. B. M.; BRASIL, Y. L.; SILVA, A. F. R.; ANDRADE, L. H.; AMARAL, M. C. S. Potassium recovery from vinasse by integrated electrodialysis – precipitation process: Effect of the electrolyte solutions. **Journal of environmental chemical engineering**, v. 8, n. 5, p. 104238, 2020.
- BASSO, V.; MACHADO, J. C.; SILVA LÉDO, F. J. DA; COSTA CARNEIRO, J. DA; FONTANA, R. C.; DILLON, A. J. P.; CAMASSOLA, M. Different elephant grass (*Pennisetum purpureum*) accessions as substrates for enzyme production for the hydrolysis of lignocellulosic materials. **Biomass & bioenergy**, v. 71, p. 155–161, 2014.
- BATISTA, Eric Avelino. **Produção de hidrogênio e metano a partir de efluentes de suinocultura e manipueira em reatores anaeróbios**. 83p. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2014.
- BORGES, A. DO V.; FUESS, L. T.; ALVES, I.; TAKEDA, P. Y.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Co-digesting sugarcane vinasse and distilled glycerol to enhance bioenergy generation in biofuel-producing plants. **Energy conversion and management**, v. 250, n. 114897, p. 114897, 2021.
- BOX, G. E. P. & BEHNKEN, D. W. Some new three level designs for the study of quantitative variables. **Technometrics: a journal of statistics for the physical, chemical, and engineering sciences**, v. 2, n. 4, p. 455–475, 1960.
- BRAUN, R.; BRACHTL, E.; GRASMUG, M. Codigestion of proteinaceous industrial waste. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 109, n. 1–3, p. 139–153, 2003.
- BROWN, D.; SHI, J.; LI, Y. Comparison of solid-state to liquid anaerobic digestion of lignocellulosic feedstocks for biogas production. **Bioresource technology**, v. 124, p. 379–386, 2012.
- CARDOSO, Fernanda de Souza. **Elaboração de Roadmaps Tecnológicos da Produção de Biogás a partir de Palha e Vinhaça**. 328p. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química, Rio de Janeiro, 2017.
- CARPENTIERI, A. E.; LARSON, E. D.; WOODS, J. Future biomass-based electricity supply in Northeast Brazil. **Biomass & bioenergy**, v. 4, n. 3, p. 149–173, 1993.

CARVALHO, A. R.; FRAGOSO, R.; GOMINHO, J.; SARAIVA, A.; COSTA, R.; DUARTE, E. Water-energy nexus: Anaerobic co-digestion with elephant grass hydrolysate. **Journal of environmental management**, v. 181, p. 48–53, 2016.

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. **Reatores Anaeróbios**. 2° ed. ampl. e atual. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG, 2019.

CONAB. **Conab - País confirma recorde na produção de etanol: 35,6 bilhões de litros na safra 2019/20**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3342-pais-confirma-recorde-historico-na-producao-de-etanol-35-6-bilhoes-de-litros-na-safra-2019-20>>. Acesso em: 4 Nov. 2021.

CREMONEZ, P. A.; TELEKEN, J. G.; WEISER MEIER, T. R.; ALVES, H. J. Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. **Journal of environmental management**, v. 281, n. 111854, p. 111854, 2021.

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

DEMICHELIS, F.; TOMMASI, T.; DEORSOLA, F. A.; MARCHISIO, D.; FINO, D. Effect of inoculum origin and substrate-inoculum ratio to enhance the anaerobic digestion of organic fraction municipal solid waste (OFMSW). **Journal of cleaner production**, v. 351, n. 131539, p. 131539, 2022.

DEMICHELIS, F.; TOMMASI, T.; DEORSOLA, F. A.; MARCHISIO, D.; FINO, D. Effect of inoculum origin and substrate-inoculum ratio to enhance the anaerobic digestion of organic fraction municipal solid waste (OFMSW). **Journal of cleaner production**, v. 351, n. 131539, p. 131539, 2022.

DÖLL, M. M. R.; FORESTI, E. Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em AnSBBR operado a 55 e 35°C. **Engenharia sanitária e ambiental**, v. 15, n. 3, p. 275–282, 2010.

DOS-SANTOS, C. M.; NASCIMENTO, W. B. A.; NASCIMENTO, B. P. DO; SCHWAB, S.; BALDANI, J. I.; VIDAL, M. S. Temporal assessment of root and shoot colonization of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) host seedlings by *Gluconacetobacter diazotrophicus* strain LP343. **Microbiological research**, v. 244, n. 126651, p. 126651, 2021.

DUKU, M.H.; GU, S.; HAGAN, E.B. A comprehensive review of biomass resources and biofuels potential in Ghana. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 15, n. 1, p. 404-415, 2011.

EL SHAHAWY, A.; MOHAMADIEN, R. H.; EL-FAWAL, E. M.; MOUSTAFA, Y. M.; DAWOOD, M. M. K. Hybrid Photo-Fenton oxidation and biosorption for petroleum wastewater treatment and optimization using Box–Behnken Design. **Environmental technology & innovation**, v. 24, n. 101834, p.101834, 2021. PEREIRA, L. M. S.; MILAN, T. M.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Using Response Surface

Methodology (RSM) to optimize 2G bioethanol production: A review. **Biomass & bioenergy**, v. 151, n. 106166, p. 106166, 2021.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Secagem solar e extração do caldo do capim-elefante para uso bioenergético da biomassa**. Aracaju; 2021. 15 p. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/229522/1/CIRC-93-21-Embrapa-Tabuleiros-Costeiros.pdf>>. Acesso em: 26 abr. 2022.

ESKICIOGLU, C.; KENNEDY, K. J.; MARIN, J.; STREHLER, B. Anaerobic digestion of whole stillage from dry-grind corn ethanol plant under mesophilic and thermophilic conditions. **Bioresource technology**, v. 102, n. 2, p. 1079–1086, 2011.

FERREIRA, D. DE J.; LANA, R. DE P.; ZANINE, A. DE M.; SANTOS, E. M.; VELOSO, C. M.; RIBEIRO, G. A. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus bovis*. **Animal feed science and technology**, v. 183, n. 1–2, p. 22–28, 2013.

FERREIRA, L. R. A.; OTTO, R. B.; SILVA, F. P.; DE SOUZA, S. N. M.; DE SOUZA, S. S.; & JUNIOR, O. A. Review of the energy potential of the residual biomass for the distributed generation in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 94, p. 440–455, 2018.

FERREIRA-LEITÃO, V.; GOTTSCHALK, L. M. F.; FERRARA, M. A.; NEPOMUCENO, A. L.; MOLINARI, H. B. C.; BON, E. P. S. Biomass residues in Brazil: Availability and potential uses. **Waste and biomass valorization**, v. 1, n. 1, p. 65–76, 2010.

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Implications of stillage land disposal: a critical review on the impacts of fertigation. **Journal of environmental management**, v. 145, p. 210–229, 2014.

GU, Y.; CHEN, X.; LIU, Z.; ZHOU, X.; ZHANG, Y. Effect of inoculum sources on the anaerobic digestion of rice straw. **Bioresource technology**, v. 158, p. 149–155, 2014.

HE, C.-R.; KUO, Y.-Y.; LI, S.-Y. Lignocellulosic butanol production from Napier grass using semi-simultaneous saccharification fermentation. **Bioresource technology**, v. 231, p. 101–108, 2017.

HIBBERT, D. B. Experimental design in chromatography: a tutorial review. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 910, p. 2–13, 2012.

HUANG, C.; GUO, H.-J.; WANG, C.; XIONG, L.; LUO, M.-T.; CHEN, X.-F.; ZHANG, H.-R.; LI, H.-L.; CHEN, X.-D. Efficient continuous biogas production using lignocellulosic hydrolysates as substrate: A semi-pilot scale long-term study. **Energy conversion and management**, v. 151, p. 53–62, 2017.

HUANG, C.; XIONG, L.; GUO, H.-J.; LI, H.-L.; WANG, C.; CHEN, X.-F.; ZHAO, C.; CHEN, X.-D. Anaerobic digestion of elephant grass hydrolysate: Biogas production,

substrate metabolism and outlet effluent treatment. **Bioresource technology**, v. 283, p. 191–197, 2019.

JAGABA, A. H.; KUTTY, S.R.M.; LAWAL, I.M.; ABUBAKAR, S.; HASSAN, I.; ZUBAIRU, I.; ... & NOOR, A. Sequencing batch reactor technology for landfill leachate treatment: A state-of-the-art review. **Journal of Environmental Management**, v. 282, p. 111946, 2021.

JAIN, SIDDHARTH; JAIN, SHIVANI; WOLF, I. T.; LEE, J.; TONG, Y. W. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 142–154, 2015.

JARAMILLO, F.; ORCHARD, M.; MUÑOZ, C.; ZAMORANO, M.; & ANTILEO, C. Advanced strategies to improve nitrification process in sequencing batch reactors-A review. **Journal of environmental management**, v. 218, p. 154-164, 2018.

JIN, W.; XU, X.; GAO, Y.; YANG, F.; & WANG, G. Anaerobic fermentation of biogas liquid pretreated maize straw by rumen microorganisms in vitro, **Bioresource Technology**, v.153, p.8-14, 2014.

JIN, W.; XU, X.; YANG, F.; LI, C.; & ZHOU, M. Performance enhancement by rumen cultures in anaerobic co-digestion of corn straw with pig manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 115, p. 120-129, 2018.

KARIM, A.; ISLAM, M. A.; MISHRA, P.; YOUSUF, A.; FAIZAL, C. K. M.; KHAN, M. M. R. Technical difficulties of mixed culture driven waste biomass-based biohydrogen production: Sustainability of current pretreatment techniques and future prospective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 151, n. 111519, p. 111519, 2021.

KARKI, R.; CHUENHART, W.; SURENDRA, K. C.; SHRESTHA, S.; RASKIN, L.; SUNG, S.; HASHIMOTO, A.; KUMAR KHANAL, S. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. **Bioresource technology**, v. 330, n. 125001, p. 125001, 2021.

KUNZ, A; STEINMETZ, R; AMARAL, A. Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento da digestão. **Embrapa Suínos e Aves-Livro científico (ALICE)**, 2019.

KUS, F.; WIESMANN, U. Degradation kinetics of acetate and propionate by immobilized anaerobic mixed cultures. **Water research**, v. 29, n. 6, p. 1437–1443, 1995.

LAPIERRE, C. Application of new methods for the investigation of lignin structure. *In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p. 133–166, 2015.

LI, YANGYANG *et al.* Effect of inoculum and substrate/inoculum ratio on the performance and methanogenic archaeal community structure in solid state

anaerobic co-digestion of tomato residues with dairy manure and corn stover. **Waste management (New York, N.Y.)**, v. 81, p. 117–127, 2018.

LIMA, Gabriel Pontes. **Produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais residuais em reatores anaeróbios** 73 p. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2019.

MA, G.; NDEGWA, P.; HARRISON, J. H.; & CHEN, Y. Methane yields during anaerobic co-digestion of animal manure with other feedstocks: A meta-analysis. **Science of The Total Environment**, v. 728, p. 138224, 2020.

MA, H.; GUO, Y.; QIN, Y.; LI, Y.-Y. Nutrient recovery technologies integrated with energy recovery by waste biomass anaerobic digestion. **Bioresource technology**, v. 269, p. 520–531, 2018.

MAINTINGUER, S. I.; FERNANDES, B. S.; DUARTE, I. C.; SAAVEDRA, N. K.; ADORNO, M. A. T.; & VARESCHE, M. B. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **Hydrogen Energy**, [S.l.], v.33, p.4309–4317, 2008. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2008.06.053.

MÄKELÄ, M. Experimental design and response surface methodology in energy applications: A tutorial review. **Energy conversion and management**, v. 151, p. 630–640, 2017.

MARAFON, A. C.; MACHADO, J. C. **Secagem solar e extração do caldo do capim-elefante para uso bioenergético da biomassa**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 15 p. 2021 (Circular Técnica, 93). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/3745/capim-elefante---brs-capiacu>>. Acesso em: 27 out. 2021.

MATA-ALVAREZ, J.; DOSTA, J.; ROMERO-GÜIZA, M. S.; FONOLL, X.; PECES, M.; ASTALS, S. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 412–427, 2014.

METCALF, L & EDDY, P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. McGraw Hill Brasil, 2016.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA - MME. **Papel da Biomassa na Expansão da Geração de Energia Elétrica**, 2018. Disponível em: <<https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-227/topico-457/Biomassa%20e%20Expans%C3%A3o%20de%20Energia.pdf>>. Acesso em: 02 Mar. 2021.

MONTGOMERY, L.; BOCHMANN, G. Pretreatment of Feedstock for Enhanced Biogas Production. Dublin 9, Ireland: IEA Bioenergy, 2014.

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

NARINTHORN, R.; CHORIT, W.; CHISTI, Y. Alkaline and fungal pretreatments for improving methane potential of Napier grass. **Biomass & bioenergy**, v. 127, n. 105262, p. 105262, 2019.

NEMESTÓTHY, N.; BAKONYI, P.; RÓZSENBERSZKI, T.; KUMAR, G.; KOÓK, L.; KELEMEN, G.; KIM, S.-H.; BÉLAFI-BAKÓ, K. Assessment via the modified Gompertz-model reveals new insights concerning the effects of ionic liquids on biohydrogen production. **International journal of hydrogen energy**, v. 43, n. 41, p. 18918–18924, 2018.

NGUYEN, D. D.; CHANG, S. W.; JEONG, S. Y.; JEUNG, J.; KIM, S.; GUO, W.; NGO, H. H. Dry thermophilic semi-continuous anaerobic digestion of food waste: Performance evaluation, modified Gompertz model analysis, and energy balance. **Energy conversion and management**, v. 128, p. 203–210, 2016.

NGUYEN, L. N.; KUMAR, J.; VU, M. T.; MOHAMMED, J. A.; PATHAK, N.; COMMAULT, A. S.; SUTHERLAND, D.; ZDARTA, J.; TYAG V.K.; & NGHIEM, L. D. Biomethane production from anaerobic co-digestion at wastewater treatment plants: A critical review on development and innovations in biogas upgrading techniques. **Science of The Total Environment**, p. 142753, 2020.

NIAOUNAKIS, M.; & HALVADAKIS, C.P. Biological Processes. **Waste Management Series**. v.5, p-171-218. Elsevier 2006.

NOAA – National Oceanic and Atmospheric Administration. **Greenhouse gas benchmark reached**. Disponível em: <<https://research.noaa.gov/article/ArtMID/587/ArticleID/780/Greenhouse-gas-benchmark-reached->>. Acesso em: 14 Set 2020

OJEDIRAN, O. J.; DAHUNSI, S. O.; ADERIBIGBE, V.; ABOLUSORO, S.; ADESULU-DAHUNSI, A. T.; ODEKANLE, E. L.; ODEJOBI, O. J.; IBIKUNLE, R. A.; OGUNWOLE, J. O. Valorization of Pennisetum purpureum (Elephant grass) and piggery manure for energy generation. **Fuel (London, England)**, v. 302, n. 121209, p. 121209, 2021.

PARSAEE, M.; KIANI DEH KIANI, M.; KARIMI, K. A review of biogas production from sugarcane vinasse. **Biomass & bioenergy**, v. 122, p. 117–125, 2019.

PAUL, S & DUTTA, A. Challenges and opportunities of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 130, p. 164-174, 2018.

PEREIRA, A. V.; AUAD, A. M.; SANTOS, A. M. B.; MITTELMANN, A.; GOMIDE, C. A. M.; MARTINS, C. E.; . . . & ROCHA, W. S. D. **BRS Capiaçú e BRS Kurumi: cultivo e uso**. Brasília: Embrapa, 2021.

POCHWATKA, P.; KOWALCZYK-JUŚKO, A.; MAZUR, A.; JANCZAK, D.; PULKA, J.; DACH, J.; & MAZURKIEWICZ, J. **Energetic and Economic Aspects of Biogas Plants Feed with Agriculture Biomass**. 4th International Conference on Green Energy and Applications (ICGEA), pp. 130-133. Cingapura, 2020.

PRATAMA, H. B.; SUPIJO, M. C.; SUTOPO. Experimental design and response surface method in geothermal energy: A comprehensive study in probabilistic resource assessment. **Geothermics**, v. 87, n. 101869, p. 101869, 2020.

PROSAB. **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**. Prosab, [S. l.], n. 1, p. 436, 1999.

PRZYBYŁ, J.; DACH, J.; WOJCIESZAK, D.; MAZURKIEWICZ, J.; & ZABOROWICZ, M. The possibility of maize straw application as a substrate for biogas plants. **IX International Scientific Symposium - "Farm Machinery and Processes Management in Sustainable Agriculture"**, Lublin, Polônia, 2017.

QUESADA, D. M.; BODDEY, R. M.; REIS, V. M.; & URQUIAGA, S. Parâmetros Qualitativos de Genótipos de Capim Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) estudados para a produção de energia através da Biomassa. **Circular Técnica**, [S. l.], 2004.

QUINTERO, M.; CASTRO, L.; ORTIZ, C.; GUZMÁN, C.; ESCALANTE, H. Enhancement of starting up anaerobic digestion of lignocellulosic substrate: fique's bagasse as an example. **Bioresource technology**, v. 108, p. 8–13, 2012.

RAFIEE, A.; KHALILPOUR, KR.; PREST, J.; & SKRYABIN, I. Biogas as an energy vector. **Biomass and Bioenergy**, v. 144, p. 105935, 2021.

RAMOS SUÁREZ, J. L.; GÓMEZ, D.; REGUEIRO, L.; BAEZA, A.; HANSEN, F. Alkaline and oxidative pretreatments for the anaerobic digestion of cow manure and maize straw: Factors influencing the process and preliminary economic viability of an industrial application. **Bioresource technology**, v. 241, p. 10–20, 2017.

RAPOSO, F.; DE LA RUBIA, M. A.; FERNÁNDEZ-CEGRÍ, V.; BORJA, R. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 861–877, 2012.

RISWANTO, F. D. O.; ROHMAN, A.; PRAMONO, S.; MARTONO, S. Application of response surface methodology as mathematical and statistical tools in natural product research. **Journal of applied pharmaceutical science**, v. 9, n. 10, p. 125–133, 2019.

ROCHA, J. R. DO A. S. DE C.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. DA C.; RESENDE, M. D. V.; LÉDO, F. J. DA S.; CARNEIRO, J. E. DE S. Bioenergetic potential and genetic diversity of elephantgrass via morpho-agronomic and biomass quality traits. **Industrial crops and products**, v. 95, p. 485–492, 2017.

SAIDU, M.; YUZIR, A.; SALIM, M. R.; SALMIATI; AZMAN, S.; ABDULLAH, N. Influence of palm oil mill effluent as inoculum on anaerobic digestion of cattle manure for biogas production. **Bioresource technology**, v. 141, p. 174–176, 2013.

SANTOS FILHO, Elvan Nascimento do. **Produção de metano com resíduos de biotério utilizando fluido ruminal como inóculo**. 65p. Dissertação de

Mestrado- Programa de Pós-Graduação Profissional em Energia da Biomassa, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Alagoas, 2015.

SANTOS, E. A. DOS; SILVA, D. S. DA; QUEIROZ FILHO, J. L. DE. Composição química do capim-elefante cv. Roxo cortado em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 18–23, 2001.

SAWATDEENARUNAT, C.; SURENDRA, K. C.; TAKARA, D.; OECHSNER, H.; KHANAL, S. K. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. **Bioresource technology**, v. 178, p. 178–186, 2015.

SERUFO, Carla Vieira. **Potencial de produção de biogás a partir de resíduos lignocelulósicos**. 91p. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

SIDDIQUE, M. N. I.; WAHID, Z. A. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. **Journal of cleaner production**, v. 194, p. 359–371, 2018.

SILVA, A. F. R.; BRASIL, Y. L.; KOCH, K.; AMARAL, M. C. S. Resource recovery from sugarcane vinasse by anaerobic digestion - A review. **Journal of environmental management**, v. 295, n. 113137, p. 113137, 2021.

SILVA, C. A. L. DA; CAMPANHA, R. B.; MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, P. A. **Análise da composição química de cinco variedades de capim-elefante por métodos diferentes**. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151163/1/III-EnPI-2016-210-215.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2021.

SILVA, C.F.E.; GOIS, G. N. S. B.; ABUD, A. K. S.; AMORIM, N. C. S.; GIROTTO, F.; MARKOU, G.; CARVALHO, C. M.; TONHOLO, J.; AMORIM, E. L. Anaerobic digestion: Biogas production from Agroindustrial wastewater, food waste, and biomass. *In: Biofuel and Biorefinery Technologies*. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 431–470.

SILVA, Holga Eliza Rocha. **Produção de biogás a partir da co-digestão anaeróbia de capim elefante com vinhaça em reator em batelada**. 88p. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2020.

SOOD, S.; SINGHAL, R.; BHAT, S.; KUMAR, A. Inoculum Preparation. *In: MOO-YOUNG, M. (Ed.). Comprehensive Biotechnology*. San Diego, CA: Elsevier, 2011. p. 151–164.

SOUZA, S. D.; PEREIRA, W. C.; NOGUEIRA, C. E. C.; PAVAN, A. A.; & SORDI, A. Custo da eletricidade gerada em conjunto motor gerador utilizando biogás da suinocultura. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 26, n.2, p. 127-133, 2004. SPEECE, R.E. **Anaerobic Biotechnology for industrial Wasterwaters**. 1^o ed. Tennessee- USA: Archae Press, 1996.

SUKSONG, W.; MAMIMIN, C.; PRASERTSAN, P.; KONGJAN, P.; O-THONG, S. Effect of inoculum types and microbial community on thermophilic and mesophilic

solid-state anaerobic digestion of empty fruit bunches for biogas production. **Industrial crops and products**, v. 133, p. 193–202, 2019.

TORRES, P., CAJIGAS, A., PÉREZ, A., GONZÁLEZ, M., & OTERO, A. Evaluación de diferentes alcalinizantes en el tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Caso: agua residual del proceso de extracción de almidón de yuca*. In: TALLER Y SIMPOSIO LATINOAMERICANO SOBRE DIGESTION ANAEROBIA, 8, 2005, Punta del Este: Uruguay. **Anais** [...] Punta del Este, IWA. p. 571-575, 2005.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of dairy science**, v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991.

VON ESPERLING, M. **Princípio Básico do tratamento de esgoto**. 2º ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016.

VUITIK, G. A.; FUESS, L. T.; DEL NERY, V.; BAÑARES-ALCÁNTARA, R.; PIRES, E. C. Effects of recirculation in anaerobic baffled reactors. **Journal of water process engineering**, v. 28, p. 36–44, 2019.

WESTERHOLM, M.; HANSSON, M.; SCHNÜRER, A. Improved biogas production from whole stillage by co-digestion with cattle manure. **Bioresource technology**, v. 114, p. 314–319, 2012.

WORSTELL, J. **Batch and semi-batch reactors: Practical guides in chemical engineering**. Woburn, MA: Butterworth-Heinemann, 2015.

XIE, Sihuang et al. Anaerobic co-digestion: A critical review of mathematical modelling for performance optimization. *Bioresource Technology*, [S. l.], v. 222, p. 498–512, 2016.

YANG, L.; XU, F.; GE, X.; LI, Y. Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 824–834, 2015.

ZHANG, W.; WANG, X.; XING, W.; LI, R.; YANG, T.; YAO, N.; LV, D. Links between synergistic effects and microbial community characteristics of anaerobic co-digestion of food waste, cattle manure and corn straw. **Bioresource technology**, v. 329, n. 124919, p. 124919, 2021.

ZHONG, W.; ZHANG, Z.; LUO, Y.; SUN, S.; QIAO, W.; XIAO, M. Effect of biological pretreatments in enhancing corn straw biogas production. **Bioresource technology**, v. 102, n. 24, p. 11177–11182, 2011.