



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE TECNOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO

Heloisa Vital Domingos

**Produção metanogênica a partir da codigestão anaeróbia de silagem de capim-  
elefante com vinhaça em reator em batelada**

Maceió

2022

Heloisa Vital Domingos

**Produção metanogênica a partir da codigestão anaeróbia de silagem de capim-elefante com vinhaça em reator em batelada**

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

D671p Domingos, Heloisa Vital.

Produção metanogênica a partir da codigestão anaeróbia de silagem de capim-elefante com vinhaça em reator em batelada / Heloisa Vital Domingos. – 2022.  
109 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. 84-93.

Apêndices: f. 94-109.

1. Codigestão anaeróbia. 2. Capim-elefante. 3. Vinhaça. 4. Silagem. 5. Planejamento Box-Behnken. I. Título.

CDU: 662.767

## DEDICATÓRIA

A meus pais,  
Francisco e Rosimar.

## AGRADECIMENTOS

Escrever esta seção de agradecimentos significa refletir sobre os últimos dois anos e tentar expressar em palavras a gratidão que sinto por minha rede de apoio. A conclusão de trabalhos como este não é fruto apenas de diligência pessoal, pois compreende um conjunto de fatores que vão muito além de um indivíduo: família e amigos que nos apoiam e acreditam em nosso potencial; professores e colegas que transmitem seus conhecimentos e nos inspiram; órgãos e instituições que nos proporcionam as condições necessárias; e, não menos importante, uma sociedade que acredita no poder transformador da Educação.

Dessa forma, primeiramente agradeço imensamente aos meus pais, Francisco e Rosimar, pelo amor incondicional, por sempre incentivarem meus estudos, e por me apoiarem em cada etapa da minha trajetória. A educação e os ensinamentos que me dedicaram têm sido o pilar fundamental para que eu possa crescer como pessoa e buscar meus sonhos.

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Eduardo Lucena, por sua confiança e paciência no desenvolvimento deste trabalho, e por praticar a empatia e a serenidade, mesmo nos momentos difíceis. Agradeço ao meu coorientador Dr. Anderson Marafon (Embrapa), por fornecer com prontidão muitos dos materiais necessários para a execução deste projeto. Também agradeço à Dr.<sup>a</sup> Dayana Gusmão e à Dr.<sup>a</sup> Juliana Martins pelas contribuições de imenso valor que permitiram o aprimoramento deste trabalho.

Agradeço à Thayse, amiga que o PPGRHS me deu e com quem compartilhei os desafios e vitórias deste trabalho; a Taciana, Lourenço, Kely, Georgia, Antônio, Nadjane, e demais colegas do LCA/LSA, que nos auxiliaram e acolheram no desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço também aos docentes deste Programa, que enfrentaram as adversidades decorrentes do momento atípico que vivemos e se adaptaram para continuar nos ensinando.

Agradeço aos amigos Ana, Genisson, Heloize, Marcone, Nicolau, Sarah e Thayse, que tanto me inspiraram e ajudaram ao longo desse mestrado. Dedicar-se à Ciência em um país devastado por uma pandemia, por discursos de ódio, e com diversos cortes em nossa área não é uma tarefa fácil, mas seguimos insistindo e tentando.

Agradeço àqueles que tenho a alegria de chamar de amigos: Ana, pelas palavras que ajudam quando mais preciso; Nicolli, por me inspirar a estar sempre em evolução; Nathacha, por colorir a amizade com seu afeto e sua força. Agradeço também a Ingrid, Isabella, Lorena, Alicia, Renan, Augusto e Adelson, por toda amizade e carinho.

Agradeço à Nathacha, Leticia, Ysley, Anna, Priscilla, Clara, Uly, Michely, ao BTS e à comunidade ARMY, que me encontraram no pior momento de isolamento social; por me lembrarem que as manhãs virão novamente, porque nenhuma escuridão, nenhuma estação, pode durar para sempre.

Agradeço ao IFAL, onde se iniciou uma parte importante da minha trajetória acadêmica, e aonde retornei como profissional. Agradeço ao Daniel, Lorena, Chico, Antônio, e todos os colegas de trabalho por me ensinarem tanto e pela compreensão nesse período em que precisei conciliar minhas atividades.

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

## EPÍGRAFE

Fomos, durante muito tempo, embalados com a história de que somos a humanidade. Enquanto isso [...], fomos nos alienando desse organismo de que somos parte, a Terra, e passamos a pensar que ele é uma coisa e nós, outra: a Terra e a humanidade. Eu não percebo onde tem alguma coisa que não seja natureza. Tudo é natureza. O cosmos é natureza. Tudo em que eu consigo pensar é natureza.

- Ideias para adiar o fim do mundo, de Ailton Krenak

## RESUMO

A utilização de biomassa como substrato na digestão anaeróbia para fins de produção energética tem se destacado nas últimas três décadas, considerando a emergência climática e os impactos advindos de fontes energéticas não-renováveis. Nesse contexto, a vinhaça da cana-de-açúcar e o capim-elefante apresentam potencial significativo de produção de biogás, mas a sua aplicação via codigestão anaeróbia ainda foi pouco investigada na literatura. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o rendimento metanogênico da codigestão desses substratos em reatores em batelada, por meio de um planejamento experimental Box-Behnken. Os fatores adotados foram tempo de ensilagem do capim-elefante (40, 80 e 120 dias), proporção silagem:vinhaça (25:75, 50:50 e 75:25), e concentração do pré-tratamento alcalino do capim-elefante (NaOH 0,5%, 2,25% e 4%). A maioria dos reatores apresentou remoção de DQO e de carboidratos superior a 60%, indicando remoção expressiva da matéria orgânica e eficiência da digestão anaeróbia. Os dados de produção acumulada de metano foram ajustados adequadamente ao modelo modificado da sigmoide de Gompertz ( $R^2 \approx 0,99$ ). Os valores de rendimento acumulado de metano variaram entre 190,77 e 1729,80 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>SV</sub>. Os melhores rendimentos foram observados nos reatores que utilizaram proporção Silagem:Vinhaça igual a 25:75, tempo de ensilagem entre 80 e 120 dias, e solução de pré-tratamento com NaOH 2,25%<sub>m/v</sub> a 4,00%<sub>m/v</sub>. Segundo a ANOVA, a proporção entre substratos foi o único fator com efeito significativo ( $p < 0,05$ ) sobre o rendimento metanogênico acumulado. O modelo de regressão proposto para estimativa do rendimento, em função dos fatores adotados, apresentou alto coeficiente de regressão ( $R^2 = 0,93$ ). Espera-se que os resultados contribuam para a otimização e a implantação, em maior escala, de projetos de geração de bioenergia a partir do tratamento anaeróbio de vinhaça de cana-de-açúcar e silagem de capim-elefante.

**Palavras-chave:** Codigestão anaeróbia. Capim-elefante. Vinhaça. Ensilagem. Box-Behnken.

## ABSTRACT

The use of biomass as a substrate in anaerobic digestion for energy production purposes has been highlighted in the last three decades, considering climate emergency and the impacts arising from non-renewable energy sources. In this context, sugarcane vinasse and elephant grass have significant potential for biogas production, but their application via anaerobic co-digestion has been little investigated. Therefore, the aim of this study was to evaluate the methane yield of the co-digestion of these substrates in batch reactors, using Box-Behnken experimental design. The adopted factors were ensiling time of elephant grass (40, 80 and 120 days), silage:vinasse ratio (25:75, 50:50 and 75:25), and concentration of alkaline pretreatment of elephant grass (NaOH 0.5%, 2.25% and 4%<sub>w/v</sub>). Most reactors showed COD and carbohydrate removal greater than 60%, indicating significant removal of organic matter and efficiency of anaerobic digestion. Cumulative methane production data was properly fitted to the modified Gompertz sigmoid model ( $R^2 \approx 0.99$ ). Cumulative methane yield values ranged from 190.77 to 1,729.80 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>SV</sub>. The highest yields were observed in the reactors which used silage:vinasse ratio equal to 25:75, ensiling time between 80 and 120 days, and pre-treatment solution of NaOH 2.25%<sub>w/v</sub> to 4.00%<sub>w/v</sub>. According to ANOVA, proportion between substrates was the only factor with a significant effect ( $p < 0.05$ ) on cumulative methane yield. The regression model proposed to estimate the yield as a function of the adopted factors showed a high regression coefficient ( $R^2 = 0.93$ ). It is expected that the results will contribute to the optimization and implementation, on a larger scale, of bioenergy generation projects from the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and elephant grass silage.

**Keywords:** Anaerobic codigestion. Napier grass. Vinasse. Ensilage. Box-Behnken.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Rotas metabólicas e microrganismos da digestão anaeróbia .....	22
Figura 2 - Curva típica de crescimento bacteriano e de arqueas .....	26
Figura 3 - Esquematização da produção de etanol a partir da cana-de-açúcar .....	27
Figura 4 - Estrutura da celulose .....	29
Figura 5 - Estrutura de um tipo de hemicelulose .....	30
Figura 6 - Estrutura dos lignóis, elementos formadores da lignina .....	30
Figura 7 - Complexo lignocelulósico em paredes celulares vegetais .....	31
Figura 8 - Pré-tratamento de compostos lignocelulósicos .....	32
Figura 9 - Fluxograma da metodologia desenvolvida .....	34
Figura 10 - Minissilos utilizados na ensilagem .....	36
Figura 11 - Amostras de silagem de capim-elefante fornecidas pela Embrapa, com diferentes períodos de ensilagem .....	36
Figura 12 - Amostras de capim-elefante após pesagem, antes da adição de solução alcalina .....	38
Figura 13 - Aquecimento da mistura de silagem de capim-elefante e solução de NaOH .....	39
Figura 14 - Filtração a vácuo da mistura de silagem de capim-elefante e solução de NaOH .....	39
Figura 15 - Silagens após pré-tratamento, filtração e neutralização do pH.....	39
Figura 16 - Reatores fechados após montagem .....	47
Figura 17 - Reatores armazenados em câmara agitadora .....	47
Figura 18 - Variação do teor de fibras nas silagens de capim-elefante.....	52
Figura 19 - <i>Boxplot</i> das concentrações iniciais e finais de DQO nos reatores R1–R15, em g/L.....	54
Figura 20 - Concentrações iniciais e finais e remoção de DQO (g/L) nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25). .....	55

Figura 21 - Concentrações iniciais e finais e remoção de DQO (g/L) nos reatores de controle C1–C5 (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (vinhaça); C5 (inóculo).....	57
Figura 22 - <i>Boxplot</i> das concentrações iniciais e finais de carboidratos nos reatores R1–R15, em g/L .....	58
Figura 23 - Concentrações iniciais e finais de carboidratos (g/L) nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25). .....	58
Figura 24 - Concentrações iniciais e finais de carboidratos (g/L) nos reatores de controle (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo).....	59
Figura 25 - <i>Boxplot</i> das concentrações iniciais e finais de sólidos voláteis (SV) nos reatores R1–R15, em g/L .....	62
Figura 26 - Concentrações iniciais e finais de Sólidos Voláteis (g/L) nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25). Valores negativos de remoção indicam aumento de SV. ....	62
Figura 27 - Concentrações iniciais e finais de Sólidos Voláteis (g/L) nos reatores de controle (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo).....	64
Figura 28 - <i>Boxplot</i> dos valores iniciais e finais de pH nos reatores R1–R15 .....	65
Figura 29 - Valores iniciais e finais de pH nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50);	

R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25).....66

Figura 30 - Valores iniciais e finais de pH nos reatores de controle (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo). ....66

Figura 31 - Produção acumulada de metano (CH<sub>4</sub>) no *headspace* (mL), ajustada à sigmoide modificada de Gompertz para os reatores: R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25); C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo). ....68

Figura 32 - Rendimento acumulado da produção de metano (CH<sub>4</sub>), em mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>, nos reatores: R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25); C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo). ....71

Figura 33 - Rendimento de metano nos reatores, em mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>, em função do tempo. ....72

Figura 34 - Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados t(2) .....74

Figura 35 - Gráfico normal de probabilidade dos resíduos.....76

Figura 36 - Superfície de resposta para o rendimento de metano (mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>) devido à interação entre os fatores: Proporção entre substratos (Silagem: Vinhaça) e Tempo de ensilagem (dias). ....78

Figura 37 - Superfície de resposta para o rendimento de metano (mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>) devido à interação entre os fatores: Concentração da solução de NaOH para pré-tratamento (% m/v) e Tempo de ensilagem (dias).....79

Figura 38 - Superfície de resposta para o rendimento de metano (mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>) devido à interação entre os fatores: Concentração da solução de NaOH para pré-tratamento (% m/v) e Proporção entre substratos (Silagem: Vinhaça).....80

Figura 39 - Curva padrão para conversão de área cromatográfica em quantidade de metano (mmol) .....94

Figura 40 - Produção acumulada de metano (CH<sub>4</sub>) no *headspace* (mL), ajustada à sigmoide modificada de Gompertz para os reatores: (a) R1; (b) R2; (c) R3; (d) R4; (e) R5; (f) R6; (g) R7; (h) R8; (i) R9; (j) R10; (k) R11; (l) R12; (m) R13; (n) R14; (o) R15; (p) C1; (q) C2; (r) C3; (s) C4 e (t) C5..... 100

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção de biomassa e umidade de algumas variedades de capim-elefante.....	35
Tabela 2 - Análises elementar e bromatológica das amostras de silagem de capim-elefante.....	37
Tabela 3 - Condições experimentais de pré-tratamento alcalino aplicado às amostras de silagem de capim-elefante.....	38
Tabela 4 - Análises de DQO, carboidratos e sólidos totais das amostras de silagem de capim-elefante após pré-tratamento, utilizadas como substrato na montagem dos reatores .....	40
Tabela 5 - Análises físico-químicas da vinhaça e do inóculo .....	41
Tabela 6 - Fatores de interesse adotados no planejamento experimental e seus respectivos níveis.....	42
Tabela 7 - Planejamento Experimental Box-Behnken .....	43
Tabela 8 - Matriz experimental do estudo com valores não codificados .....	44
Tabela 9 - Composição dos reatores .....	46
Tabela 10 - Concentrações e variações percentuais de Sólidos Totais (g/L), incluindo as parcelas de Sólidos Voláteis e Fixos, nos reatores R1–R15 e C1–C5, em fase inicial e final.....	60
Tabela 11 - Parâmetros do modelo modificado de Gompertz para as curvas de ajuste dos reatores.....	69
Tabela 12 - Planejamento experimental e rendimento acumulado de metano.....	71
Tabela 13 - Efeitos, significâncias estatísticas e coeficientes do modelo polinomial de segundo grau para as variáveis independentes, sobre o rendimento de metano. ....	73
Tabela 14 - Valores observados, preditos e resíduos do modelo.....	75
Tabela 15 - Análise de variância (ANOVA) para o rendimento de metano .....	77
Tabela 16 - Análises físico-químicas dos reatores em fase inicial .....	95
Tabela 17 - Análises físico-químicas dos reatores em fase final.....	95
Tabela 18 - Resultados da cromatografia para os reatores R1–R15, em que T é o tempo, em horas, e M é a produção acumulada de metano, em mL. ....	97
Tabela 19 - Resultados da cromatografia para os reatores C1–C5, em que T é o tempo, em horas, e M é a produção acumulada de metano, em mL .....	98

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
BAGCE	Banco Ativo de Germoplasma de Capim-Elefante da Embrapa
C/N	Carbono/Nitrogênio
CEL	Celulose
CNTP	Condições Normais de Temperatura e Pressão
DA	Digestão Anaeróbia
DQO	Demanda Química de Oxigênio
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FDA	Fibras em Detergente Ácido
FDN	Fibras em Detergente Neutro
HCEL	Hemiceluloses
LIG	Lignina
MS	Matéria Seca
ST	Sólidos Totais
STF	Sólidos Totais Fixos
STV	Sólidos Totais Voláteis
UASB	Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	Objetivo Geral .....	20
2.2	Objetivos Específicos .....	20
3	REVISÃO TEÓRICA .....	21
3.1	Microbiologia da digestão anaeróbia.....	21
3.2	Aplicação da digestão anaeróbia e produção do biogás .....	23
3.3	Cinética de crescimento dos microrganismos .....	25
3.4	Contextualização sobre a vinhaça.....	26
3.5	Contextualização sobre o capim-elefante .....	28
3.6	Pré-tratamentos de biomassas lignocelulósicas.....	31
4	METODOLOGIA .....	34
4.1	Pré-tratamento do capim-elefante .....	35
4.2	Caracterização dos substratos e do inóculo.....	40
4.3	Planejamento experimental.....	41
4.4	Montagem e operação dos reatores.....	44
4.5	Análise da produção do biogás .....	47
4.6	Análise estatística dos dados.....	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	51
5.1	Análise de eficiência da ensilagem .....	51
5.2	Variação de parâmetros físico-químicos nos reatores .....	53
5.2.1	Variação de DQO nos reatores.....	53
5.2.2	Variação de carboidratos nos reatores .....	57
5.2.3	Variação de sólidos nos reatores.....	60
5.2.4	Variação de pH nos reatores .....	65

5.3	Produção de metano .....	67
5.4	Análise estatística .....	73
6	CONCLUSÕES.....	82
	REFERÊNCIAS.....	84
	APÊNDICE A - Curva Padrão de Metano.....	94
	APÊNDICE B - Tabela Geral de Caracterização dos Reatores.....	95
	APÊNDICE C - Resultados da Cromatografia.....	97
	APÊNDICE D - Curvas de Produção Ajustadas .....	100

## 1 INTRODUÇÃO

O suprimento da demanda energética deverá passar por mudanças estruturais no século XXI, haja vista o desafio imposto pelo estado de emergência climática global (KILKIŞ *et al.*, 2019), associado principalmente à utilização indiscriminada de combustíveis fósseis (IPCC, 2014), que representam atualmente 84% das fontes energéticas mundiais (BP PLC, 2020). A depleção dos recursos energéticos não-renováveis e os impactos ambientais advindos de seu uso têm impulsionado pesquisas científicas em fontes de energia limpas (RITTMANN, 2008; CANTARERO, 2020). Dentre essas, destaca-se a biomassa, definida como um recurso energético produzido biologicamente, excluindo os materiais armazenados em formações geológicas, ou seja, os combustíveis fósseis (FARDIN; BARROS; DIAS, 2018).

Por meio do processo da digestão anaeróbia (DA), a biomassa é degradada por microrganismos na ausência de oxigênio, gerando o biogás, o qual é composto principalmente de metano (CH<sub>4</sub>) (40–70%), hidrogênio (H<sub>2</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (VASCO-CORREA *et al.*, 2018). O biogás contribui significativamente para a produção de bioenergia a partir da biomassa (RASAPOOR *et al.*, 2020) e pode ser obtido com diversos substratos, tais como culturas agrícolas energéticas, resíduos agroindustriais, esgoto sanitário, fração orgânica de resíduos sólidos, entre outros (VASCO-CORREA *et al.*, 2018). Em paralelo ao agravamento da crise climática, os setores da agropecuária e da agroindústria têm crescido mundialmente nas últimas décadas (CREMONEZ *et al.*, 2021), o que acarreta uma maior produção de resíduos desses setores, na ordem de 3,7 bilhões de toneladas/ano para os principais resíduos da agricultura no mundo (BENTSEN; FELBY; THORSEN, 2014).

Por conseguinte, a produção de biogás a partir de resíduos agroindustriais consiste simultaneamente em: um processo de tratamento de materiais poluentes quando descartados inadequadamente no ambiente (FERREIRA *et al.*, 2018); um método de geração de energia, com potencial significativo de diminuir a dependência da sociedade em combustíveis fósseis (RITTMANN, 2008); e uma forma de obtenção de produtos com valor agregado para a cadeia produtiva da agroindústria (CREMONEZ *et al.*, 2021), como biometano, bio-hidrogênio, ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico) e álcoois.

A vinhaça da cana-de-açúcar é um dos principais resíduos agroindustriais produzidos no Brasil que podem ser empregados como substratos na DA. Esse

efluente líquido do processo de produção do etanol tem potencial altamente poluente, especialmente devido a seu elevado teor de matéria orgânica, necessitando de tratamento e disposição final adequados (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015; SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007).

Diante desse cenário, o aproveitamento da vinhaça para produção de metano representa tanto uma forma de tratamento visando a remoção de matéria orgânica, bem como uma alternativa de geração de energia. Cremonez *et al.* (2021) compilaram resultados de estudos sobre o potencial metanogênico desse resíduo, citando valores desde 249 (FUSS *et al.*, 2017) a 302 mL CH<sub>4</sub>/g<sub>DQO</sub> (ALMEIDA *et al.*, 2017).

Similarmente, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) — espécie de gramínea forrageira tropical — destaca-se como cultura agrícola energética, sobretudo devido às seguintes características: elevado potencial de produção de biomassa; baixa demanda de insumos para produção; alta relação carbono/nitrogênio (C/N); e alta concentração de componentes com elevado poder calorífico, como a celulose e a lignina (MORAIS *et al.*, 2012; PATERLINI *et al.*, 2013). Resultados anteriores sobre o rendimento metanogênico associado ao uso do capim-elefante como substrato variam entre 190 e 372 mL CH<sub>4</sub>/g de Sólidos Voláteis (RAPOSO *et al.*, 2012; TONG; SMITH; MCCARTY, 1990; GUNASEELAN, 2004; CHYNOWETH *et al.*, 1993).

Pesquisas realizadas no Brasil indicam que a produtividade anual dessa espécie é de aproximadamente 30 a 40 toneladas de matéria seca por hectare (BOTREL *et al.*, 2000; MORAIS *et al.*, 2009), ao passo que novas cultivares que apresentam produtividades ainda maiores vêm sendo desenvolvidas recentemente. No estado de Alagoas, estudos realizados em usinas locais por uma Unidade de Execução de Pesquisas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) apontam um elevado potencial produtivo do capim-elefante nessa região (SALOMON *et al.*, 2017).

Quanto à sua composição, o capim-elefante contém aproximadamente 46% de celulose, 34% de hemicelulose, 21% de lignina (REDDY *et al.*, 2012), em percentual de matéria seca, e uma relação C/N de 26:1 (JANEJADKARN; CHAVALPARIT, 2014); contudo, esses valores podem variar significativamente de acordo com variantes da espécie e condições de cultivo (SAWATDEENARUNAT *et al.*, 2015). Devido à complexidade estrutural de suas moléculas, tais substâncias lignocelulósicas reduzem a eficiência das bactérias hidrolíticas que atuam no primeiro estágio da DA,

consequentemente afetando todo o processo. Dessa forma, para promover a decomposição desses substratos, costuma-se aplicar algum tipo de pré-tratamento, geralmente envolvendo processos físicos, químicos e/ou biológicos. Pré-tratamentos físico-químicos mais severos, como os tratamentos ácido e alcalino, podem gerar altos custos operacionais e subprodutos inibidores (WEN *et al.*, 2015), portanto as condições de sua aplicação devem ser estudadas e otimizadas.

Nesse contexto, a ensilagem — um método de armazenamento tradicionalmente utilizado na agricultura — tem sido investigada quanto ao seu potencial como pré-tratamento biológico, uma vez que promove condições ácidas no meio, inibindo a proliferação de microrganismos e aumentando a digestibilidade de substratos lignocelulósicos (ABRAHAM *et al.*, 2020). Como exemplo de investigações dessa natureza, Zhang *et al.* (2019) avaliaram o efeito da ensilagem como pré-tratamento do capim-elefante, considerando diferentes alturas de corte e partes da planta, obtendo o valor de 361 mL CH<sub>4</sub>/gSV como máxima produção metanogênica. Pardang *et al.* (2020), por sua vez, analisaram o efeito da idade de colheita, temperatura e ensilagem sobre a produção de biogás, usando como substrato a espécie híbrida *P. purpureum* × *P. typhoideum*; sob condições mesofílicas, as amostras que passaram por ensilagem tenderam a apresentar desempenho superior, alcançando rendimento específico de metano de 154 mL CH<sub>4</sub>/gSV.

No contexto local, Silva (2020) estudou a produção de biogás a partir da codigestão do capim-elefante e vinhaça, utilizando biodigestor em batelada e inóculo composto por lodo de reator UASB, em um projeto desenvolvido em parceria com a Embrapa Tabuleiros Costeiros — projeto que visa agregar valor aos resíduos da agroindústria e explorar a capacidade energética de variedades do capim-elefante. Contudo, a codigestão anaeróbia da silagem de capim-elefante com a vinhaça ainda foi pouco estudada. Desse modo, o objetivo do presente estudo — uma continuidade da parceria com a Embrapa Tabuleiros Costeiros — é avaliar como o tempo de ensilagem, a proporção entre os cosubstratos acima mencionados e a concentração do pré-tratamento alcalino afetam a produção de biogás a partir da digestão anaeróbia.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Quantificar e avaliar a produção metanogênica a partir da codigestão anaeróbia de silagem de capim-elefante e vinhaça.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Os objetivos específicos deste trabalho consistem em:

- a) Avaliar a eficiência da ensilagem como pré-tratamento do capim-elefante;
- b) Investigar a viabilidade de aplicação da silagem de capim-elefante, bem como a relação capim-elefante e vinhaça como substratos para produção de metano;
- c) Quantificar a produção metanogênica e determinar o ajuste estatístico dos dados experimentais ao modelo da sigmoide de Gompertz;
- d) Analisar a influência de diferentes condições experimentais sobre a produção de metano, por meio da técnica de planejamento experimental.

### 3 REVISÃO TEÓRICA

#### 3.1 Microbiologia da digestão anaeróbia

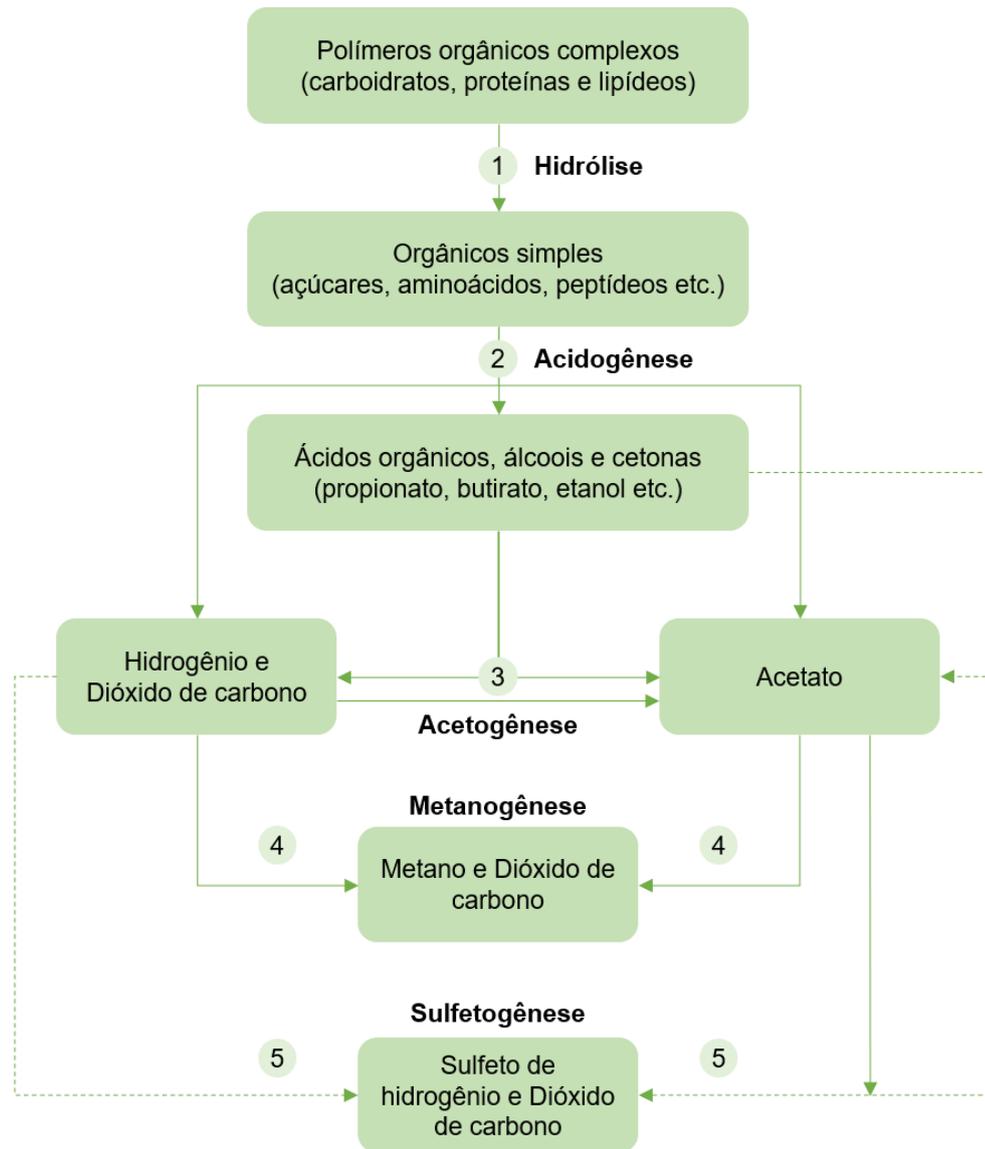
A digestão anaeróbia consiste em uma série de reações bioquímicas, realizadas por diferentes grupos de microrganismos que atuam conjuntamente para degradar compostos orgânicos complexos em substâncias mais simples, tais como metano, gás carbônico e sulfeto de hidrogênio, bem como para promover o crescimento de novas células de microrganismos (KIRK; GOULD, 2020; CHERNICHARO, 2016).

Esse processo ocorre naturalmente em ambientes como pântanos, solos, sedimentos de corpos hídricos e no sistema digestivo de animais ruminantes — ambientes onde há baixa ou nenhuma disponibilidade de oxigênio ( $O_2$ ), nitrato ( $NO_3^-$ ) e sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) como aceptores de elétrons (CHERNICHARO, 2016). Por meio de tecnologias ambientais, o processo de digestão anaeróbia tem sido aplicado para degradar diferentes tipos de biomassa e, conseqüentemente, produzir biogás, bioenergia e biocombustíveis (KIRK; GOULD, 2020).

Conforme ilustrado na Figura 1, o processo de digestão anaeróbia é subdividido nas seguintes rotas metabólicas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, cada uma executada por diferentes grupos de microrganismos; na presença de sulfato, ocorre ainda a sulfetogênese, uma rota metabólica alternativa que afeta a produção de metano.

Durante a hidrólise, bactérias fermentativas hidrolíticas liberam exoenzimas capazes de degradar polímeros orgânicos complexos — como carboidratos, proteínas e lipídeos — em substâncias orgânicas mais facilmente assimiladas pelas paredes celulares bacterianas — como açúcares, aminoácidos e peptídeos (CHERNICHARO, 2016). A hidrólise é limitada e incompleta quando a biomassa utilizada contém substâncias como lignina, celulose e hemicelulose, uma vez que tais moléculas são de difícil degradação, exigindo pré-tratamentos físico-químicos e/ou biológicos mais intensos (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2010).

Figura 1 - Rotas metabólicas e microrganismos da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Chernicharo (2016), Annamalai *et al.* (2020) e Kirk e Gould (2020)

Na acidogênese, os produtos gerados após a hidrólise são metabolizados por bactérias fermentativas acidogênicas em substâncias como ácidos orgânicos, álcoois, cetonas, dióxido de carbono e hidrogênio. Dessa forma, essa rota metabólica fornece os substratos necessários para os microrganismos das etapas seguintes.

Na acetogênese, bactérias acetogênicas oxidam compostos como os ácidos propiônico e butírico, produzindo acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Destaca-se que as reações acetogênicas não são espontâneas termodinamicamente, de forma que é necessário existir uma relação sintrófica entre bactérias acetogênicas e os microrganismos das etapas subsequentes, por intermédio do consumo contínuo de hidrogênio e acetato (CHERNICHARO, 2016).

Por fim, a última rota metabólica da digestão anaeróbia é realizada por um grupo de microrganismos anaeróbios estritos pertencentes ao domínio *Archaea*, capazes de produzir metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). As arqueas metanogênicas se subdividem em: metanogênicas acetoclásticas (responsáveis pela produção de 60–70% de  $\text{CH}_4$ ), as quais utilizam acetato ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) ou metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) para gerar  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ ; e metanogênicas hidrogenotróficas, que utilizam hidrogênio ( $\text{H}_2$ ) e dióxido de carbono para produção de  $\text{CH}_4$  (CHERNICHARO, 2016).

Uma rota metabólica concorrente — a sulfetogênese — pode ocorrer devido à presença de compostos sulfurados no meio. Nesse processo, bactérias sulforedutoras promovem a redução de tais compostos a sulfetos, como o sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Considerando que tais bactérias são competidoras das arqueas metanogênicas e são capazes de utilizar diversos substratos diferentes (ácidos orgânicos, hidrogênio, etanol, açúcares etc.), uma concentração elevada de sulfatos no meio pode afetar significativamente a produção metanogênica (CHERNICHARO, 2016).

### **3.2 Aplicação da digestão anaeróbia e produção do biogás**

A tecnologia anaeróbia vem sendo desenvolvida desde o século XIX, especialmente com a aplicação de digestores anaeróbios para fins de tratamento de esgoto sanitário e de resíduos. A partir da emergência climática no século XXI, as novas metas de sustentabilidade determinadas em acordos multilaterais e o crescente interesse em fontes energéticas renováveis impulsionaram a pesquisa e o desenvolvimento dessa área (CHENG, 2017).

No Brasil, houve grande disseminação da tecnologia anaeróbia nas últimas décadas, particularmente para o tratamento de esgoto sanitário; tal fato se deve principalmente às condições climáticas favoráveis para utilização de biodigestores anaeróbios, bem como à deficiência estrutural de serviços de saneamento básico no país, o que propicia a implantação de sistemas simplificados, descentralizados e/ou individuais de saneamento (CHERNICHARO, 2016).

Nesse contexto, a literatura sobre a digestão anaeróbia e as condições que interferem sobre esse processo está em constante evolução, bem como as experiências práticas associadas à sua implantação. Destacam-se como fatores interferentes do processo de digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2016):

- a temperatura operacional do reator, sendo mais utilizados valores nas faixas mesofílica (25–40 °C) e termofílica (45–60 °C);
- o pH do meio, o qual deve estar próximo da neutralidade para fins de atividade metanogênica;
- o tempo de detenção hidráulica e a taxa de carregamento orgânico do substrato, parâmetros importantes para a operação de reatores contínuos e que são inversamente proporcionais;
- a composição do substrato, que pode indicar a necessidade de pré-tratamento;
- e a concentração de produtos da hidrólise, que pode afetar o equilíbrio entre as comunidades de microrganismos presentes no reator, entre outros.

Quanto aos reatores comumente utilizados para produção de biogás, estes são subdivididos entre reatores anaeróbios de baixa taxa e reatores anaeróbios de alta taxa. Os reatores de baixa taxa, como o reator contínuo (CSTR, do inglês *continuously stirred tank reactor*) e o reator anaeróbio sequencial em batelada (ASBR, *anaerobic sequencing batch reactor*), possuem a biomassa suspensa e valores elevados de tempo de detenção hidráulica (TDH), conseqüentemente ocupando grandes volumes. Por sua vez, os reatores de alta taxa são caracterizados pela retenção da biomassa, apresentando valores baixos de TDH, enquanto mantêm valores maiores de tempo de retenção celular, o que torna estes reatores mais compactos.

Entre os principais reatores de alta taxa, destacam-se: os que promovem a retenção da biomassa pela granulação, como o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB, *upflow anaerobic sludge blanket reactor*), o reator de leito de lodo granular expandido (EGSB, *expanded granular sludge bed reactor*) e o reator de circulação interna (IC, *internal circulation reactor*); e aqueles que retêm a biomassa por meio da adesão, formando biofilmes, tais como os filtros anaeróbios (AF, *anaerobic filter*) e o reator de leito fluidificado (FBR, *fluidized bed reactor*) (DE LA RUBIA; VILLAMIL; MOHEDANO, 2019).

Após sua geração nos reatores anaeróbios, o biogás tipicamente contém concentrações de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e umidade. Tais substâncias são consideradas impurezas, visto que podem causar corrosões e diminuir a eficiência de equipamentos de conversão energética — tais como motores de combustão interna, turbinas, microturbinas e células a combustível —, sendo

necessária a remoção dessas substâncias visando à purificação do biogás (SALOMON, 2007; RAFIEE *et al.*, 2021). Posteriormente à purificação e ao melhoramento do biogás, suas aplicações finais incluem: aquecimento, por combustão direta; sistemas combinados de calor e eletricidade; combustível para veículos; injeção em gasodutos; entre outros (RAFIEE *et al.*, 2021).

Destaca-se ainda a possibilidade de utilização simultânea de mais de um substrato para geração do biogás — processo denominado de codigestão anaeróbia — a qual pode promover uma maior diversidade da comunidade microbiana e uma relação carbono/nitrogênio (C/N) mais equilibrada, entre outras vantagens. Para uma operação adequada do reator e produção ótima de biogás, recomenda-se manter a relação C/N no intervalo de 20–30:1 (KHANAL; NINDHIA; NITAYAVARDHANA, 2019).

Valores altos da relação C/N indicam que o nitrogênio existente no meio será consumido rapidamente por microrganismos metanogênicos, resultando em baixa produção de biogás. Valores baixos, por sua vez, acarretam um acúmulo do nitrogênio excedente na forma de amônia, prejudicando a metanogênese (LI; CHEN; WU, 2019).

A codigestão pode ser empregada para solucionar limitações frequentemente associadas à monodigestão anaeróbia, tais como instabilidade do reator, indisponibilidade de substratos e baixo rendimento da produção de biogás. Todavia, a composição dos cosubstratos deve ser analisada adequadamente, bem como a proporção de mistura entre eles, de forma a evitar problemas como sobrecarga orgânica e acidificação do reator (KARKI *et al.*, 2021).

### **3.3 Cinética de crescimento dos microrganismos**

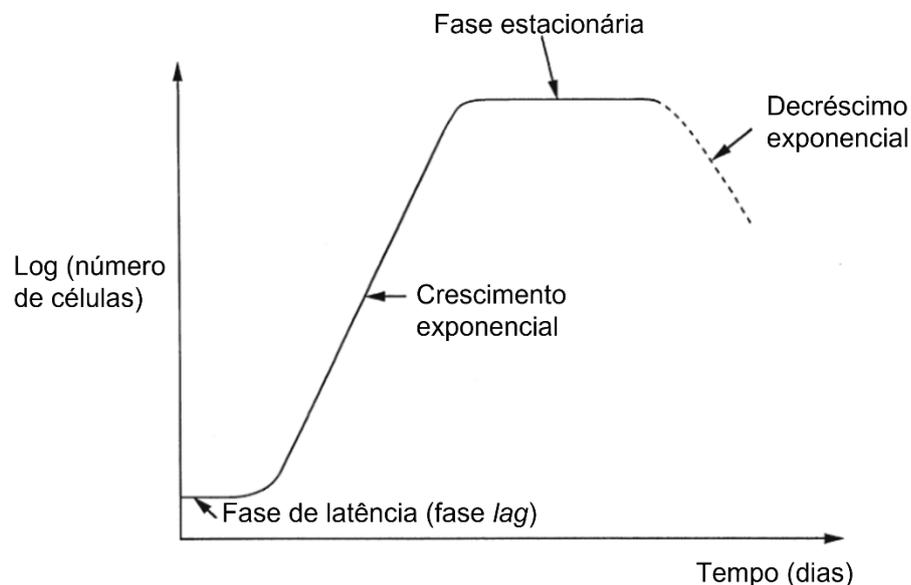
O crescimento de uma comunidade de microrganismos ocorre naturalmente de forma exponencial, até o ponto de esgotamento dos nutrientes presentes no meio. De modo geral, durante o período de síntese, os microrganismos oxidam a matéria orgânica disponível para reprodução de suas células e liberam energia. Inicialmente, na fase de latência (*lag phase*), os microrganismos inoculados adaptam-se às condições do meio. Em seguida, na fase de crescimento exponencial, não há restrição de nutrientes disponíveis, de modo que a taxa específica de crescimento ( $\mu$ ) é máxima (DORAN, 2013; VON SPERLING, 2016).

Posteriormente, a fase estacionária é determinada pelo início da depleção de nutrientes no meio, de forma que as taxas de crescimento e de mortalidade dos

microrganismos se anulam, mantendo a quantidade de células constante. Por fim, segue-se a fase do metabolismo endógeno, na qual os microrganismos utilizam suas próprias células para funções metabólicas e, conseqüentemente, há um declínio da comunidade microbiológica (DORAN, 2013; VON SPERLING, 2016).

Em reatores anaeróbios em batelada, a quantidade de substrato fornecida ao meio e de microrganismos presentes no inóculo é limitada, de forma que a curva de crescimento da comunidade microbiológica tipicamente segue a progressão apresentada na Figura 2.

Figura 2 - Curva típica de crescimento bacteriano e de arqueas



Fonte: Adaptado de Doran (2013)

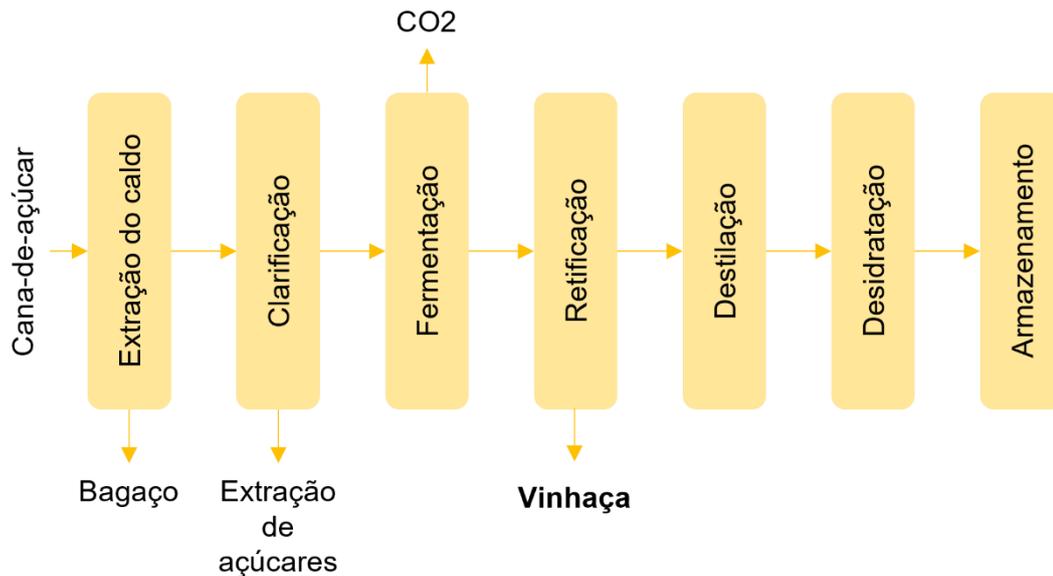
### 3.4 Contextualização sobre a vinhaça

Desde a década de 1970, com a crise global do petróleo e a instituição do Programa Nacional do Álcool (Decreto nº 76.593/1975), o Brasil tem se destacado como o principal produtor de etanol a partir da cana-de-açúcar no mundo, com uma produção estimada na safra 2021/2022 de quase 25 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2021).

Embora a utilização do etanol como combustível veicular apresente a vantagem, em comparação com os combustíveis fósseis, de emitir menos gases de efeito estufa, o processo produtivo desse biocombustível apresenta a desvantagem de gerar grandes volumes de vinhaça — um efluente líquido com alto teor de carga

orgânica —, na ordem de 10 a 15 L por litro de etanol produzido (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015; CRUZ; SOUZA; CORTEZ, 2014). A vinhaça é produzida através da destilação do vinho e é obtida na seção de retificação da coluna de destilação, conforme apresentado na esquematização da Figura 3.

Figura 3 - Esquematização da produção de etanol a partir da cana-de-açúcar



Fonte: Adaptado de Reis e Hu (2017)

Quanto às suas características físico-químicas, a vinhaça destaca-se por apresentar uma alta demanda química de oxigênio (DQO), podendo alcançar cerca de 300 kg/m<sup>3</sup>, e um teor de matéria orgânica de aproximadamente 75%; além da elevada carga orgânica, a vinhaça é rica em nutrientes como potássio, manganês, ferro, cobre, zinco, alumínio, cloretos, cálcio, enxofre, entre outros. Dessa forma, os parâmetros de DQO e de nutrientes devem ser bem monitorados em processos de digestão anaeróbia que utilizam a vinhaça como substrato, uma vez que podem acarretar o desequilíbrio das comunidades microbiológicas envolvidas.

A vinhaça possui ainda um pH ácido, na faixa de 3,25–4,97, o que indica a necessidade de tratamentos alcalinos para aumentar o pH, tornando-o mais adequado à digestão anaeróbia. Suas principais substâncias constituintes são etanol, glicerol, ácido acético e ácido lático, contendo também compostos recalcitrantes, como fenóis, e possivelmente metais pesados (PARSAEE; KIANI; KARIMI, 2019).

Devido às características citadas anteriormente, esse efluente pode causar graves impactos ambientais caso sua disposição final não seja adequada. Entre as soluções mais empregadas para a disposição final desse efluente, destaca-se a fertirrigação, isto é, a aplicação da vinhaça no solo como fertilizante, a qual consiste numa prática que pode ocasionar a poluição do solo, do ar e das águas subterrâneas, caso seja realizada de forma indiscriminada. Diante desse cenário, a utilização da vinhaça como substrato para a digestão anaeróbia representa uma alternativa sustentável de tratamento desse efluente, possibilitando ainda a geração de produtos de valor agregado, como o biogás.

Em um estudo recente acerca desse tema, Fuess *et al.* (2017) aplicaram a vinhaça da cana-de-açúcar como substrato em um processo de digestão anaeróbia de dois estágios; na fase acidogênica, utilizou-se um reator de leito fixo empacotado (APBR, *anaerobic packed-bed reactor*), operando na faixa de temperatura termofílica (55 °C); enquanto na fase metanogênica foram utilizados um reator UASB e um reator de leito fixo estruturado (ASTBR, *anaerobic structured-bed reactor*), ambos inoculados com lodo proveniente de reator em condições termofílicas. As taxas de remoção de DQO foram superiores a 80% e a produção metanogênica obtida no reator ASTBR variou entre 249 e 301 mL CH<sub>4</sub>/gDQO.

Almeida *et al.* (2017) por sua vez, utilizaram um reator anaeróbio de batelada sequencial com biomassa imobilizada (AnSBBR, *anaerobic sequencing batch biofilm reactor*), com agitação mecânica, operado a temperaturas mesofílicas (30–45 °C), para tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar e geração de biometano. O reator foi inoculado com lodo de um reator UASB utilizado no tratamento de efluentes da avicultura e a taxa de carregamento orgânico aplicada foi de 1 a 10 gDQO/L. Os autores obtiveram valores de rendimento de metano variando entre 109 e 302 mL CH<sub>4</sub>/gDQO.

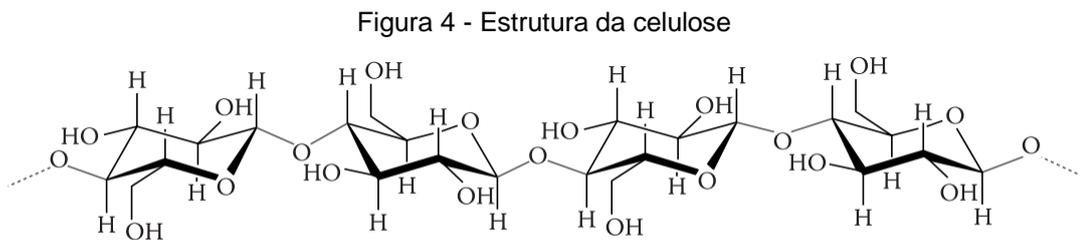
### 3.5 Contextualização sobre o capim-elefante

O capim-elefante (também denominado de capim-napier) é uma espécie de gramínea nativa da África tropical, introduzida no Brasil no início do século XX (PATERLINI *et al.*, 2013) e utilizada tradicionalmente como forragem animal. Desde a década de 1980, essa espécie vem sendo estudada para fins de aplicação como cultura energética, isto é, uma cultura agrícola dedicada ao fornecimento de insumos

para a cadeia produtiva de bioenergia, visando à geração de calor e/ou eletricidade por intermédio da digestão anaeróbia.

O capim-elefante apresenta características favoráveis para tal aplicação, como alta produtividade anual de biomassa, podendo chegar a 50 toneladas/hectare/ano; ciclo produtivo curto, que permite mais de uma colheita por ano; baixa demanda de insumos para produção, diminuindo custos operacionais; e alta relação carbono/nitrogênio, entre outros (MORAIS *et al.*, 2009; MORAIS *et al.*, 2012; PATERLINI *et al.*, 2013).

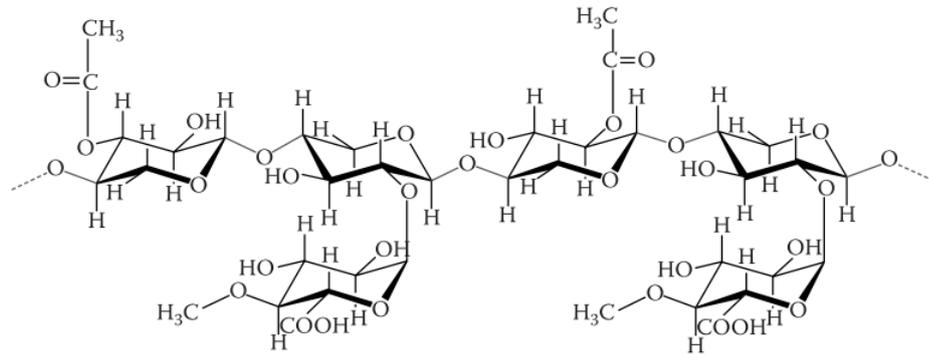
O capim-elefante é composto principalmente por fibras, nomeadamente a celulose, a hemicelulose e a lignina (REDDY *et al.*, 2012). Conforme ilustrado na Figura 4, a celulose  $[(C_6H_{10}O_5)_n]$  é um polissacarídeo linear formado pela união de unidades de  $\beta$ -glicose, consistindo no principal elemento estruturante de paredes celulares vegetais (CHENG, 2017).



Fonte: Cheng (2017)

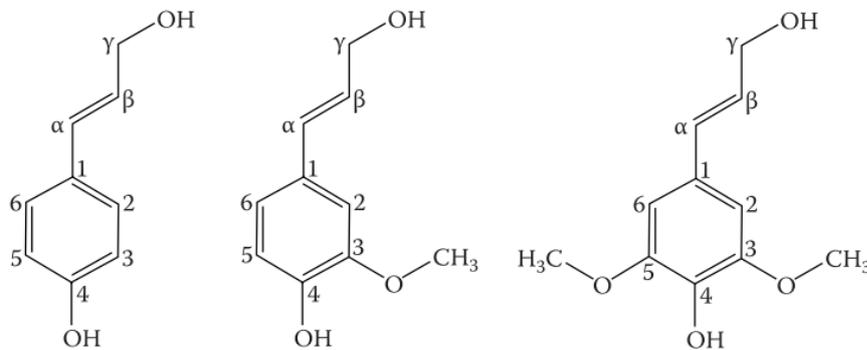
Por sua vez, a terminologia “hemicelulose” designa todos os polissacarídeos, com exceção da celulose e da pectina, que compõem as paredes celulares vegetais; as hemiceluloses (Figura 5) são polímeros compostos por unidades de pentoses, hexoses e ácidos urônicos (CHENG, 2017). Quanto à lignina (Figura 6), esta consiste em um polímero aromático reticulado, com a capacidade de conferir resistência mecânica à parede celular dos vegetais (CHENG, 2017).

Figura 5 - Estrutura de um tipo de hemicelulose



Fonte: Cheng (2017)

Figura 6 - Estrutura dos lignóis, elementos formadores da lignina



Fonte: Cheng (2017)

Essas moléculas possuem elevado poder calorífico, indicando alto potencial energético, porém suas estruturas moleculares são de difícil degradação pelos microrganismos participantes da digestão anaeróbia, de forma que usualmente precisam ser degradadas por meio de outros processos, visando à liberação de carboidratos presentes na estrutura das fibras. Além da composição alta em fibras, outra importante característica físico-química do capim-elefante é sua relativa deficiência em nutrientes como nitrogênio e fósforo, necessitando de adição dessas substâncias para seu cultivo (KOMMULA *et al.*, 2013).

Entre os estudos que investigaram a produção metanogênica a partir do capim-elefante, Sawasdee e Pisutpaisal (2014) conduziram experimentos em reatores anaeróbios em batelada, com volume de 500 mL e agitação mecânica, e sob condições mesofílicas (37 °C). O rendimento máximo de metano obtido pelos autores nessas condições foi de 122,4 mL CH<sub>4</sub>/gSV. Wen *et al.* (2015), por sua vez, obtiveram

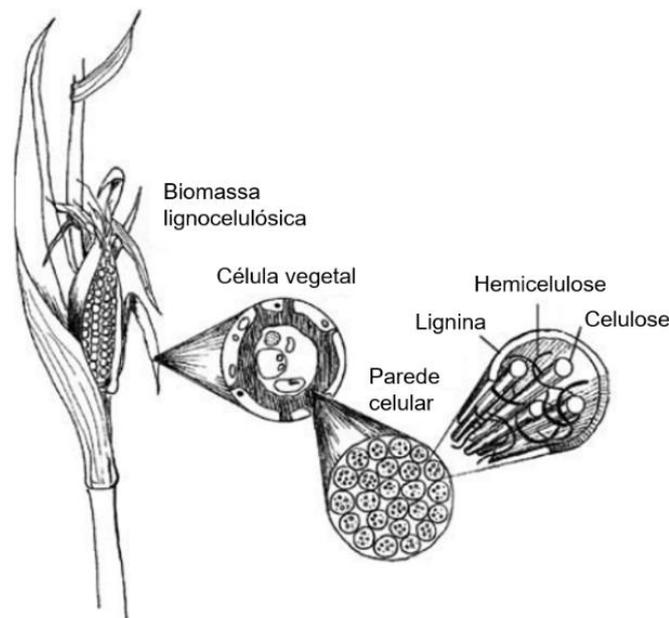
valores de rendimento de metano variando entre 147 e 279 mL CH<sub>4</sub>/gSV. Os autores aplicaram sobre o capim-elefante um pré-tratamento biológico, sucedido por um tratamento enzimático para promoção da hidrólise do substrato e, por fim, realizou-se a digestão anaeróbia em reatores anaeróbios em batelada, sob temperatura na faixa mesofílica (35 °C).

Carvalho *et al.* (2016) analisaram a codigestão anaeróbia de lodo de esgotamento sanitário com capim-elefante hidrolisado em um reator anaeróbio contínuo (CSTR) de 16 L, operado sob temperatura mesofílica (37 °C), obtendo como rendimento máximo de metano o valor de aproximadamente 200 mL CH<sub>4</sub>/gSV. Os autores identificaram que os resultados de rendimento de metano na codigestão foram superiores — de 23 a 38% — aos resultados obtidos na monodigestão do lodo de esgotamento sanitário.

### 3.6 Pré-tratamentos de biomassas lignocelulósicas

Conforme citado anteriormente, biomassas lignocelulósicas — como o capim-elefante — são de difícil degradação, especialmente devido às ligações formadas por cadeias de celulose, hemicelulose e lignina (Figura 7).

Figura 7 - Complexo lignocelulósico em paredes celulares vegetais

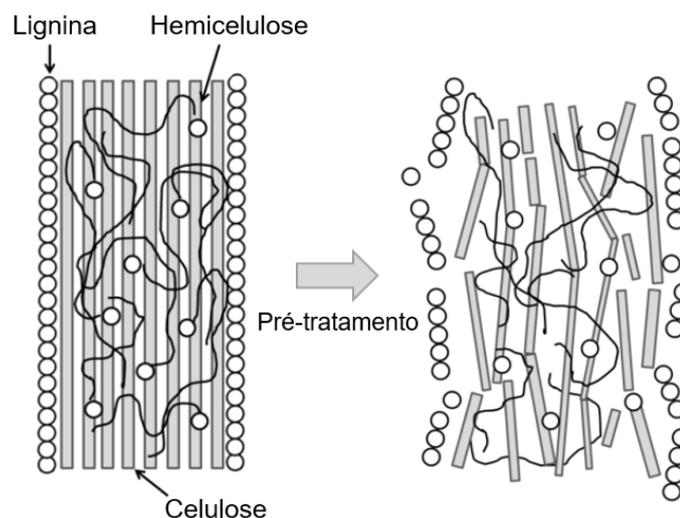


Fonte: Adaptado de Wellinger, Murphy e Baxter (2013)

Tais moléculas tipicamente se configuram em estruturas cristalinas ou apresentam baixa área superficial, de forma que não são facilmente acessíveis aos microrganismos hidrolíticos e suas enzimas (MONTGOMERY; BOCHMANN, 2014). Assim, elas limitam a eficiência da hidrólise e, por conseguinte, de todo o processo de digestão anaeróbia.

Dessa forma, a conversão de compostos lignocelulósicos em substâncias mais simples é uma etapa importante no processo de geração de biogás (Figura 8). Dentre os tipos de pré-tratamentos comumente utilizados para promover a degradação de tais compostos, destacam-se: pré-tratamentos físicos, como os tratamentos mecânico, térmico, ultrassônico, e de desintegração eletrocinética; pré-tratamentos químicos, que incluem os tratamentos alcalino, ácido e oxidativo; pré-tratamentos biológicos, como os tratamentos microbiológicos e o de adição de enzimas; e os processos combinados, que incluem o tratamento à explosão de vapor, a extrusão e o termoquímico. O pré-tratamento alcalino, em especial, pode ser realizado por meio da adição de substâncias como hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de cálcio [Ca(OH)<sub>2</sub>] e hidróxido de potássio (KOH), promovendo a quebra dos grupos acetato presentes nas hemiceluloses (WELLINGER; MURPHY; BAXTER, 2013).

Figura 8 - Pré-tratamento de compostos lignocelulósicos



Fonte: Adaptado de Capári, Dörgő e Dallos (2016)

Nesse contexto, a ensilagem tem sido estudada quanto ao seu potencial como pré-tratamento biológico, devido às alterações que ela promove em substratos

lignocelulósicos. Nesse processo, a biomassa com uma certa umidade é ensilada na ausência de oxigênio, inibindo a proliferação de microrganismos aeróbios. Dessa forma, bactérias ácido-lácticas têm condições apropriadas para se desenvolver mais rapidamente que outros microrganismos anaeróbios, ocorrendo a produção de ácidos a partir dos carboidratos presentes na biomassa, e a consequente diminuição do pH no meio (WELLINGER; MURPHY; BAXTER, 2013).

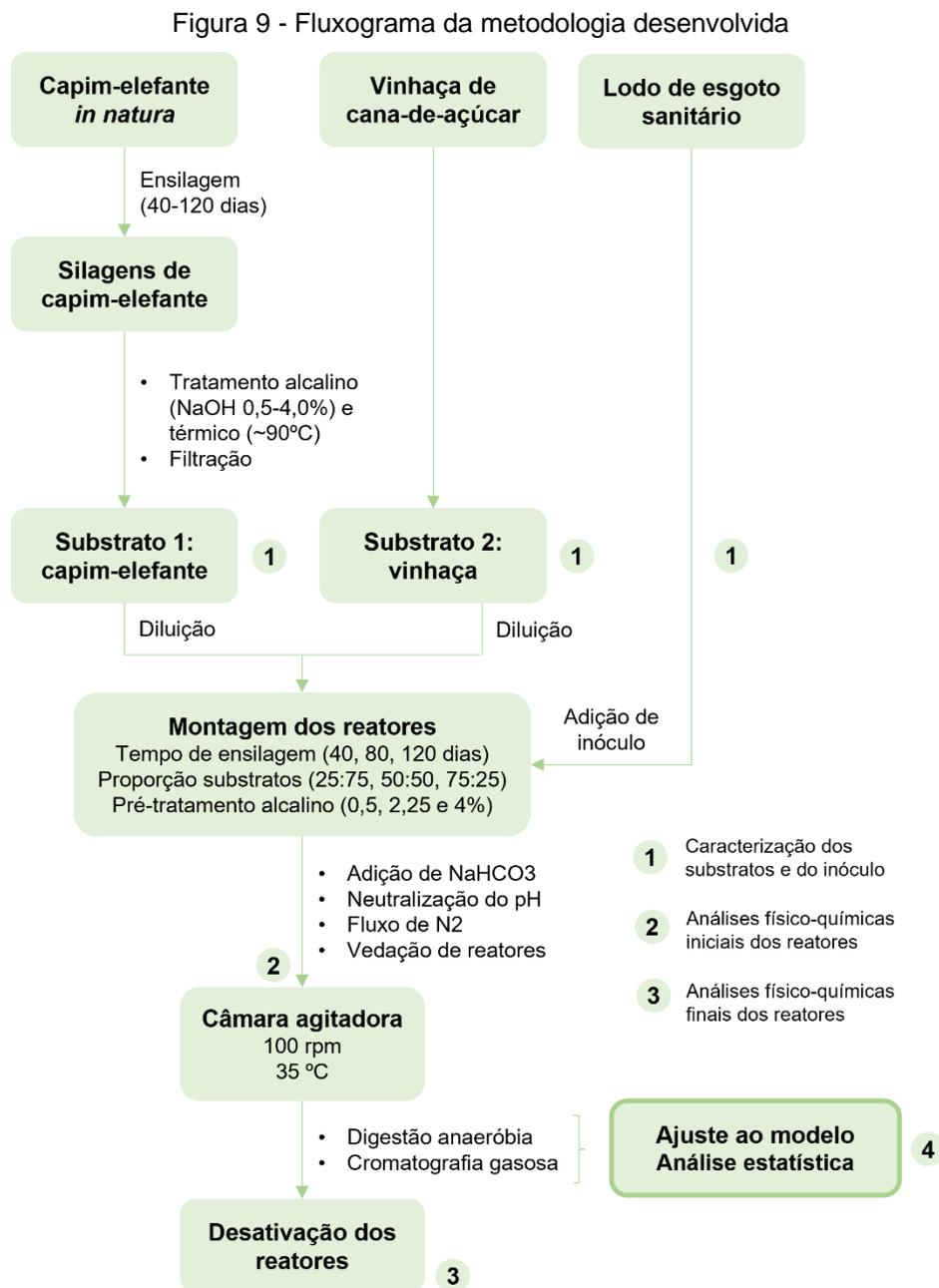
Segundo Sun *et al.* (2021), a ensilagem provoca um aumento na biodigestibilidade de substâncias lignocelulósicas devido a reações brandas de hidrólise ácida que ocorrem nesse meio, promovidas pelos ácidos orgânicos produzidos durante o processo. Ainda de acordo com Sun *et al.* (2021), diversos estudos apontam a degradação de substâncias lignocelulósicas durante a ensilagem; entretanto, ainda não foram definidos critérios específicos e padronizados nessa área de estudo, visando à comparação de resultados da ensilagem para produção eficiente de biometano.

Entre os estudos recentes acerca desse tema, Zhang *et al.* (2019) utilizaram como substrato a espécie *Pennisetum hybrid*, coletada em diferentes períodos, correspondendo às alturas de 70, 100 e 150 cm. O material foi ensilado em embalagens plásticas de silagem à temperatura ambiente, durante 30 dias, e os ensaios de digestão foram realizados em reatores anaeróbios em batelada, com volume total de 500 mL. Os autores obtiveram os melhores resultados para a silagem do capim com altura de 100 cm, o qual produziu os seguintes rendimentos de metano: 316 mL CH<sub>4</sub>/gSV, considerando apenas as folhas; 361 mL CH<sub>4</sub>/gSV, para os caules; e 356 mL CH<sub>4</sub>/gSV para toda a planta. Tais resultados apontam a influência do tempo de corte das plantas usadas como substrato sobre a produção metanogênica final.

Pardang *et al.* (2020), por sua vez, usaram como substrato a espécie híbrida *P. purpureum* × *P. typhoideum*, analisando os efeitos da idade de colheita (45, 70 e 90 dias), da temperatura (35 °C e 55 °C) e da ensilagem sobre a produção de biogás. Os autores utilizaram reatores em batelada de 1 L, sob temperaturas nas faixas mesofílica (39 °C) e termofílica (55 °C), cujos inóculos foram coletados em reatores CSTR sob condições mesofílica (35,5 °C) e termofílica (54,8 °C), respectivamente. Sob condições mesofílicas, as amostras tratadas por meio da ensilagem tenderam a apresentar desempenho superior, alcançando rendimento específico de metano de 154 mL CH<sub>4</sub>/gSV, ao passo que, em condições termofílicas, o efeito da ensilagem sobre o rendimento de metano não foi significativo.

## 4 METODOLOGIA

Foi investigado, no presente estudo, a produção metanogênica resultante da codigestão anaeróbia de silagem de capim-elefante e vinhaça, a partir de ensaios com reatores em batelada e em escala de bancada, considerando composições variadas conforme os fatores de interesse. A Figura 9 apresenta o fluxograma das principais etapas e procedimentos da metodologia desenvolvida.



Fonte: Autora (2022)

#### 4.1 Pré-tratamento do capim-elefante

As amostras de capim-elefante foram fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), que tem entre suas principais variedades: a Cultivar BRS Capiaçú; os clones Madeira (BAGCE 145), King Grass (BAGCE 64) e Pasto Panamá (BAGCE 91); bem como dois novos cruzamentos, T\_HE1 e T\_HE7. Todas essas variedades são cultivadas no Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), localizado em Rio Largo – AL, a partir de material propagativo proveniente do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante da Embrapa (BAGCE) Gado de Leite, de Juiz de Fora – MG.

Utilizaram-se plantas com idade de corte de 6 meses e suas respectivas produtividades de biomassa e valores de teor de umidade são apresentados na Tabela 1, cujos dados foram fornecidos pela Embrapa Tabuleiros Costeiros. No presente estudo, aplicaram-se apenas amostras da variedade BRS Capiaçú, visto que esta é a mais consolidada e apresenta alta produtividade.

Tabela 1 - Produção de biomassa e umidade de algumas variedades de capim-elefante

<b>Variedade</b>	<b>Produtividade - Biomassa Fresca (t/ha)</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Produtividade - Biomassa Seca (t/ha)</b>
<b>T_HE1</b>	178,75	72,98	48,30
<b>T_HE7</b>	148,75	69,3	45,67
<b>BRS Capiaçú</b>	156,2	69,3	47,95
<b>Madeira</b>	120,3	67,9	38,62
<b>King Grass</b>	130	72,66	35,54
<b>Pasto Panamá</b>	153,75	72,58	42,16

Fonte: Embrapa (2021)

As amostras de capim-elefante utilizadas neste trabalho foram inicialmente processadas em triturador forrageiro e ensiladas em minissilos de PVC, com diâmetro de 200 mm e altura de 45 cm (Figura 10). As partículas das amostras ensiladas apresentavam tamanho entre 1 e 2 cm, e não foram utilizados aditivos químicos ou biológicos durante o processo de ensilagem. Os minissilos foram vedados com tampa

e cola de silicone para impedir a entrada de ar. O valor de pH das amostras após 40 dias de ensilagem foi de aproximadamente 3,50 e todos os minissilos foram armazenados à temperatura ambiente, de aproximadamente 30 °C. Foram coletadas amostras do capim-elefante após três períodos diferentes de ensilagem, de 40, 80 e 120 dias (MUCK *et al.*, 2018), e foram obtidas também amostras da forragem *in natura* (não submetidas ao processo de ensilagem) (Figura 11).

Figura 10 - Minissilos utilizados na ensilagem



Fonte: Embrapa (2021)

Figura 11 - Amostras de silagem de capim-elefante fornecidas pela Embrapa, com diferentes períodos de ensilagem



Fonte: Autora (2022)

A Tabela 2 apresenta a caracterização preliminar de fibras presentes nas amostras de forragem *in natura* e de silagens de capim-elefante (variedade BRS Capiaçú), incluindo valores de teor de celulose, hemiceluloses, lignina e cinzas, em percentual de matéria seca total. As análises seguiram a metodologia adaptada de Van Soest, Robertson e Lewis (1991), para determinação de fibras em detergente neutro (FDN) e fibras em detergente ácido (FDA), e foram realizadas pela Embrapa Tabuleiros Costeiros - Unidade de Execução de Pesquisa de Rio Largo/AL.

Tabela 2 - Análises elementar e bromatológica das amostras de silagem de capim-elefante

<b>Nome</b>	<b>FDN (%)</b>	<b>FDA (%)</b>	<b>HCEL (%)</b>	<b>CEL (%)</b>	<b>LIG (%)</b>	<b>Cinzas (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>N (%)</b>
<b>BRS Capiaçú 1 Forragem</b>	76,9351	48,6256	28,3095	40,1751	8,451	5,3280	42,246	0,702
<b>BRS Capiaçú 1 Silagem 40 dias</b>	76,3121	49,5142	26,7979	40,1533	9,361	6,0651	42,217	0,680
<b>BRS Capiaçú 2 Silagem 80 dias</b>	76,6376	51,0364	25,6012	41,3497	9,687	3,4313	42,000	0,611
<b>BRS Capiaçú 3 Silagem 120 dias</b>	77,4638	51,5775	25,8863	40,9340	10,644	2,0769	41,863	0,644

Legenda: FDN – Fibras em Detergente Neutro; HCEL – Hemiceluloses; FDA - Fibras em Detergente Ácido; CEL – Celulose; LIG – Lignina; C – Carbono; N – Nitrogênio. Os valores apresentados estão em percentual de Matéria Seca Total.

Fonte: Embrapa (2021)

Considerando os dados da caracterização preliminar e visando a quebra mais eficiente do material lignocelulósico que compõe esse substrato, as amostras também foram submetidas a um pré-tratamento térmico-alcálico, conforme metodologia adaptada de Cui e Shen (2012). Nesse processo de pré-tratamento, adotou-se uma proporção de mistura de 1,0 g de silagem de capim-elefante para 20 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH), em diferentes concentrações, conforme as condições experimentais apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições experimentais de pré-tratamento alcalino aplicado às amostras de silagem de capim-elefante

Código	Tempo de ensilagem da amostra de capim-elefante (dias)	Concentração da solução de NaOH aplicada (% m/v)
1.1	40	0,50
1.2	40	2,25
1.3	40	4,00
2.1	80	0,50
2.2	80	2,25
2.3	80	4,00
3.1	120	0,50
3.2	120	2,25
3.3	120	4,00

Fonte: Autora (2022)

Figura 12 - Amostras de capim-elefante após pesagem, antes da adição de solução alcalina

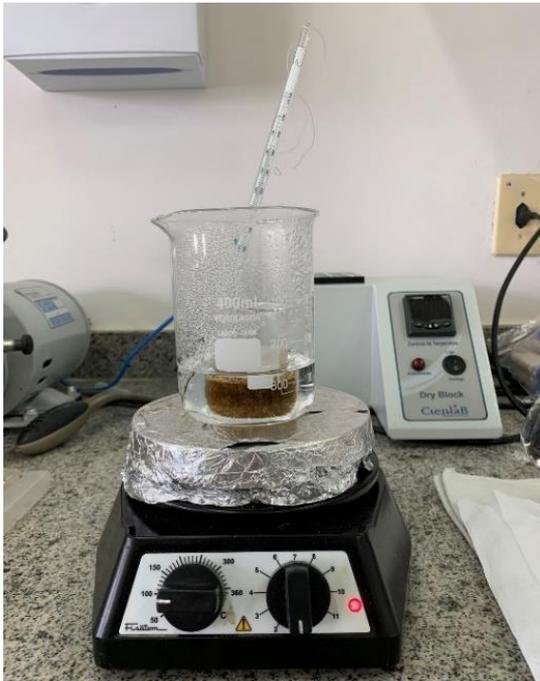


Fonte: Autora (2022)

Após a adição de solução alcalina, cada amostra foi aquecida em chapa de aquecimento (Figura 13), à temperatura de aproximadamente 90 °C durante 10 min e, em seguida, resfriada em banho de gelo durante cerca de 3 min, de forma que o procedimento de tratamento térmico fosse uniforme em todas amostras. Posteriormente, cada amostra foi filtrada, com auxílio de bomba a vácuo (Figura 14). Por fim, o pH das amostras foi neutralizado utilizando solução de ácido clorídrico (HCl)

a 15% v/v e de NaOH a 4% m/v, e uma parte de cada amostra foi armazenada em freezer para as análises posteriores de caracterização físico-química.

Figura 13 - Aquecimento da mistura de silagem de capim-elefante e solução de NaOH



Fonte: Autora (2022)

Figura 14 - Filtração a vácuo da mistura de silagem de capim-elefante e solução de NaOH



Fonte: Autora (2022)

Figura 15 - Silagens após pré-tratamento, filtração e neutralização do pH



Fonte: Autora (2022)

## 4.2 Caracterização dos substratos e do inóculo

As análises de caracterização físico-química da silagem de capim-elefante após pré-tratamento térmico-alcálico foram realizadas nos Laboratórios de Controle Ambiental (LCA), de Saneamento Ambiental (LSA) e de Reuso de Águas (LRA), localizados no Centro de Tecnologia (CTEC), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Consideraram-se os seguintes parâmetros físico-químicos e metodologias: demanda química de oxigênio (DQO), determinada por meio do método colorimétrico, de refluxo fechado (APHA, 2017); carboidratos totais, pelo método colorimétrico (DUBOIS *et al.*, 1956); e sólidos totais (fixos e voláteis), pelo método gravimétrico (APHA, 2017). A Tabela 4 apresenta a caracterização das amostras conforme os parâmetros supracitados, para cada uma das condições experimentais descritas previamente na Tabela 3.

Tabela 4 - Análises de DQO, carboidratos e sólidos totais das amostras de silagem de capim-elefante após pré-tratamento, utilizadas como substrato na montagem dos reatores

<b>Código</b>	<b>DQO (g/L)</b>	<b>Carboidratos (g/L)</b>	<b>Sólidos Totais (g/L)</b>	<b>Sólidos Totais Voláteis (g/L)</b>	<b>Sólidos Totais Fixos (g/L)</b>
<b>1.1</b>	11,84	8,97	18,940	9,180	9,760
<b>1.2</b>	15,36	10,58	37,140	11,640	25,500
<b>1.3</b>	17,55	12,93	54,840	13,300	41,540
<b>2.1</b>	14,79	8,90	15,660	9,340	6,320
<b>2.2</b>	18,78	10,31	35,860	11,920	23,940
<b>2.3</b>	20,87	12,01	57,380	13,580	43,800
<b>3.1</b>	13,84	8,66	15,580	8,600	6,980
<b>3.2</b>	23,63	11,60	30,640	10,520	20,120
<b>3.3</b>	16,31	12,03	50,540	8,600	41,940

Fonte: Autora (2022)

Quanto à vinhaça utilizada como substrato nos reatores, esta foi coletada na destilaria de uma usina de açúcar e álcool, situada em São Miguel dos Campos – AL, e posteriormente armazenada em freezer, à temperatura de - 4 °C. O inóculo, por sua vez, foi proveniente de um reator anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), que trata esgoto sanitário em um condomínio residencial de Maceió – AL.

A vinhaça e o inóculo foram caracterizados por meio das seguintes análises físico-químicas (Tabela 5): série de sólidos (APHA, 2017), DQO (APHA, 2017), pH (APHA, 2017), nitrogênio total (APHA, 2017) e carboidratos totais (DUBOIS *et al.*, 1956).

Tabela 5 - Análises físico-químicas da vinhaça e do inóculo

<b>Código</b>	<b>Vinhaça</b>	<b>Inóculo</b>
<b>DQO (g/L)</b>	39,93	-
<b>Carboidratos (g/L)</b>	10,23	-
<b>Sólidos Totais (g/L)</b>	33,35	30
<b>Sólidos Totais Voláteis (g/L)</b>	23,90	24
<b>Sólidos Suspensos Totais (g/L)</b>	2,07	20,7
<b>Sólidos Suspensos Voláteis (g/L)</b>	1,19	16,75
<b>NTK (mg/L)</b>	364	-
<b>pH</b>	3,98	6,38

Fonte: Chaves (2022)

### 4.3 Planejamento experimental

O planejamento experimental, associado à análise de variância (ANOVA), é uma técnica estatística empregada para determinar a influência e significância de fatores de interesse sobre o resultado (variável dependente) de um processo; essa técnica se fundamenta nos princípios de aleatoriedade e replicação, permitindo a otimização dos experimentos (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

No presente estudo, para investigar a produção de metano a partir da codigestão anaeróbia dos substratos propostos, foram adotados os seguintes fatores de interesse:

( $x_1$ ) tempo de ensilagem do capim-elefante, fator adotado com a finalidade de avaliar o efeito da ensilagem como pré-tratamento e seu impacto sobre a produção;

( $x_2$ ) proporção entre substratos, fator fundamental para o equilíbrio operacional de reatores anaeróbios; e

( $x_3$ ) concentração da solução alcalina utilizada como pré-tratamento da silagem de capim, fator escolhido para indicar o nível mais econômico e eficiente desse tratamento.

Conforme exposto na Tabela 6, foram selecionados três níveis diferentes (codificados como “-1”, “0” e “1”), para cada um dos três fatores mencionados. Foram considerados valores aplicados em estudos similares de produção de biogás e as respectivas condições experimentais que resultaram em melhores valores de produção metanogênica.

Os níveis do fator tempo de ensilagem foram selecionados considerando tanto a literatura (MUCK et al., 2018) como também os valores tipicamente adotados para preservação de cultivares. Os valores de proporção entre substratos, por sua vez, foram adaptados de Silva (2020), que utilizou vinhaça e caldo de capim-elefante em seu estudo. Por fim, as concentrações do tratamento alcalino foram adaptadas de Cui e Shen (2012), que também adotaram valores de NaOH entre 0,5 e 4% para produção de hidrogênio a partir do capim.

Tabela 6 - Fatores de interesse adotados no planejamento experimental e seus respectivos níveis

Níveis	Fatores		
	x <sub>1</sub> : Tempo de ensilagem (dias)	x <sub>2</sub> : Proporção entre substratos (Silagem: Vinhaça)	x <sub>3</sub> : Concentração da solução de NaOH para pré-tratamento (% m/v)
-1	40	25:75	0,50
0	80	50:50	2,25
+1	120	75:25	4,00

Fonte: Autora (2022)

O efeito dessas variáveis independentes sobre a produção metanogênica foi avaliado por ensaios laboratoriais, sistematizados de acordo com um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, cuja distribuição é apresentada na Tabela 7. Essa classe de planejamento experimental equivale a um planejamento fracionário incompleto de três níveis (BOX; BEHNKEN, 1960), e tem sido aplicado em diversos estudos recentes para estimativa de coeficientes de modelos quadráticos por meio da metodologia de superfície de resposta (FERREIRA *et al.*, 2007; JIN *et al.*, 2018).

Tabela 7 - Planejamento Experimental Box-Behnken

Ensaio	Fatores		
	$x_1$	$x_2$	$x_3$
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	0	0
15	0	0	0

Fonte: Box e Behnken (1960)

Vale ressaltar que os níveis dos fatores são organizados nos ensaios de forma a diminuir possíveis erros experimentais e que os ensaios numerados por 13, 14 e 15 correspondem à triplicata do ponto central do planejamento experimental. Optou-se por esse tipo de planejamento porque ele possibilita investigar a otimização das condições experimentais a partir de um número reduzido de ensaios (15), em comparação aos planejamentos fatorial completo e composto central. Por fim, a Tabela 8 apresenta a matriz experimental completa do presente estudo, com os valores não codificados dos níveis adotados para cada fator de interesse.

Tabela 8 - Matriz experimental do estudo com valores não codificados

Ensaio	Fatores		
	x <sub>1</sub> : Tempo de ensilagem (dias)	x <sub>2</sub> : Proporção entre substratos (Silagem:Vinhaça)	x <sub>3</sub> : Concentração da solução de NaOH para pré-tratamento (% m/v)
1	40	25:75	2,25
2	120	25:75	2,25
3	40	75:25	2,25
4	120	75:25	2,25
5	40	50:50	0,50
6	120	50:50	0,50
7	40	50:50	4,00
8	120	50:50	4,00
9	80	25:75	0,50
10	80	75:25	0,50
11	80	25:75	4,00
12	80	75:25	4,00
13	80	50:50	2,25
14	80	50:50	2,25
15	80	50:50	2,25

Fonte: Autora (2022)

#### 4.4 Montagem e operação dos reatores

A montagem dos reatores foi realizada no Laboratório de Controle Ambiental (LCA) do CTEC, seguindo o planejamento experimental exposto anteriormente na Tabela 8, consistindo em 15 combinações diferentes das seguintes condições experimentais: tempo de ensilagem (dias), proporção entre substratos e concentração do pré-tratamento alcalino (% m/v). O experimento também incluiu reatores de controle, contendo apenas os substratos ou o inóculo isolados.

Foram utilizados como reatores frascos de vidro (frascos tipo penicilina) com volume reacional de 120 mL, sendo o volume útil de 60 mL, que é representativo e já

foi utilizado em estudos similares (LIMA, 2020; SILVA, 2020); conseqüentemente, o volume de *headspace* (fase gasosa) foi de 60 mL. Para suplementação da alcalinidade no sistema e efeito de tamponamento do pH, foi adicionado aos reatores o bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ), na razão de 0,5 g  $\text{NaHCO}_3$ /gDQO, conforme metodologia proposta por Vuitik *et al.* (2019). Logo, a quantidade de bicarbonato adicionado a cada um dos reatores R1–R15 foi 2,5 g; os reatores de controle não tiveram adição de bicarbonato.

O tratamento do capim-elefante foi feito seguindo a metodologia descrita no tópico 4.1. A vinhaça e as silagens de capim tratadas foram diluídas nas proporções necessárias para que todos os reatores fossem alimentados com uma concentração inicial de aproximadamente 5 g/L de DQO, considerando os valores iniciais de DQO obtidos na caracterização dos substratos (Tabela 4 e Tabela 5).

Para introdução de microrganismos com metabolismo por digestão anaeróbia, foi adicionado o lodo de reator UASB como inóculo aos reatores do estudo. Como a concentração do inóculo não foi definida como um fator de interesse no planejamento experimental, e sim um parâmetro operacional fixo, tal qual a DQO inicial, adotou-se a concentração de inóculo de 10%<sub>v/v</sub> em todos os reatores, valor correspondente à faixa tipicamente utilizada em estudos similares (SILVA, 2020). Portanto, considerando o volume útil total de 60 mL, foram adicionados 6 mL de lodo de esgoto sanitário em cada reator (exceto no reator de controle C5, ao qual foram adicionados 54 mL de inóculo), restando 54 mL para a mistura de substratos.

A Tabela 9 apresenta a composição inicial de cada reator, conforme as definições do planejamento experimental, incluindo os reatores de controle. Os reatores de controle C1–C3 continham silagem de capim-elefante e inóculo; o reator C4 continha vinhaça e inóculo; e o reator C5 foi composto por inóculo. Destaca-se que o volume adotado para a mistura dos substratos (54 mL) é composto por diferentes proporções das diluições das silagens de capim e de vinhaça (S:V), a saber: 25:75, equivalente a 13,5 mL de silagem e 40,5 mL de vinhaça; 50:50, equivalente a 27 mL de silagem e 27 mL de vinhaça; e 75:25, equivalente a 40,5 mL de silagem e 13,5 mL de vinhaça.

Tabela 9 - Composição dos reatores

Reator	Tempo de ensilagem (dias)	S:V	Concentração NaOH (%m/v)	Silagem de capim tratada e diluída (mL)	Vinhaça diluída (mL)
R1	40	25:75	2,25	13,5	40,5
R2	120	25:75	2,25	13,5	40,5
R3	40	75:25	2,25	40,5	13,5
R4	120	75:25	2,25	40,5	13,5
R5	40	50:50	0,50	27	27
R6	120	50:50	0,50	27	27
R7	40	50:50	4,00	27	27
R8	120	50:50	4,00	27	27
R9	80	25:75	0,50	13,5	40,5
R10	80	75:25	0,50	40,5	13,5
R11	80	25:75	4,00	13,5	40,5
R12	80	75:25	4,00	40,5	13,5
R13	80	50:50	2,25	27	27
R14	80	50:50	2,25	27	27
R15	80	50:50	2,25	27	27
C1	40	-	2,25	54	-
C2	80	-	2,25	54	-
C3	120	-	2,25	54	-
C4	-	-	-	-	54
C5	-	-	-	-	-

Fonte: Autora (2022)

Após a mistura dos substratos, os reatores tiveram o pH ajustado para  $7 \pm 0,05$  com o auxílio de soluções de HCl 15% e de NaOH 4% e, em seguida, foram fechados com lacre tipo *crimp*, acoplado a uma válvula para coleta de gás. Os reatores também receberam fluxo de nitrogênio para remoção de oxigênio e, conseqüentemente, garantir um ambiente anaeróbio para a comunidade microbológica presente no meio. Em seguida, os reatores foram tampados (Figura 16) e colocados em uma câmara agitadora, sendo mantida a temperatura de operação na faixa mesofílica, a 35 °C, e rotação de aproximadamente 100 rpm (Figura 17). Os reatores foram mantidos nessas condições durante o tempo de operação de 59 dias (entre fevereiro e abril de 2022), e monitorados frequentemente para avaliação da produção de biogás.

Figura 16 - Reatores fechados após montagem



Fonte: Autora (2022)

Figura 17 - Reatores armazenados em câmara agitadora



Fonte: Autora (2022)

#### 4.5 Análise da produção do biogás

A produção de biogás foi monitorada periodicamente por meio da técnica de cromatografia gasosa, seguindo a metodologia adaptada de Maintinguer *et al.* (2008). Nessas análises, amostras de 0,3 mL da fase gasosa produzida nos reatores foram injetadas manualmente no cromatógrafo a gás, com o auxílio de uma seringa adaptada com válvula tipo Mininert™. O cromatógrafo utilizado, modelo Shimadzu GC-2010, é equipado com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna Supelco Carboxen 1010 PLOT (30 m x 0,53 mm), e operado com fluxo do gás de arraste de

21,9 cm/s e temperaturas do injetor, detector e coluna de 30, 200 e 230 °C, respectivamente.

Os resultados da cromatografia gasosa possibilitam a quantificação indireta do metano, por meio da conversão dos valores de área do cromatograma em quantidade de metano (mols de CH<sub>4</sub>) presente na amostra de biogás. Para essa finalidade, foi elaborada uma reta padrão de calibração do metano (APÊNDICE A - Curva Padrão de Metano), descrita na Eq. (1) abaixo, considerando injeções de volumes conhecidos desse gás e suas respectivas áreas cromatográficas nas CNTP.

$$n_{CH_4 amostra} = (1,32 * 10^{-9}) * A + 1,423 * 10^{-4} \quad (1)$$

Em que:

$n_{CH_4 amostra}$ : quantidade de metano na amostra (mmol)

A: área da banda cromatográfica (pico) do metano

Subsequentemente, calcula-se o número de mols de metano no *headspace* por meio da metodologia proposta por Oliveira (1997) e Araújo (1995), conforme citados por Steil (2001), que envolve a relação de proporção apresentada na equação seguinte:

$$\frac{n_{CH_4 amostra}}{n_{CH_4 headspace}} = \frac{V_{amostra}}{V_{headspace}}$$

$$n_{CH_4 headspace} = \frac{n_{CH_4 amostra} * V_{headspace}}{V_{amostra}} \quad (2)$$

Em que:

$n_{CH_4 headspace}$ : quantidade de metano no *headspace* do reator (mmol);

$n_{CH_4 amostra}$ : quantidade de metano coletado na amostra (mmol);

$V_{headspace}$ : volume do *headspace* do reator (mL);

$V_{amostra}$ : volume da amostra coletada (mL).

Por fim, após o cálculo do número de mols de metano no *headspace*, é possível converter este valor em volume de metano por meio da Equação Geral dos Gases, conforme apresentado na Eq. (3):

$$PV = nRT$$

$$V_{CH_4 \text{ headspace}} = \frac{n_{CH_4 \text{ headspace}} RT}{P} \quad (3)$$

Em que:

$V_{CH_4 \text{ headspace}}$ : volume de metano produzido no *headspace* do reator (L);

$n_{CH_4 \text{ headspace}}$ : quantidade de metano no *headspace* do reator (mol);

R: constante universal dos gases reais (0,082 L.atm.K<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>)

T: temperatura de operação (35 °C = 308,15 K)

P: pressão (1 atm)

A partir desses cálculos, foram obtidas curvas da produção metanogênica acumulada em função do tempo transcorrido, para cada um dos reatores operados no experimento.

#### 4.6 Análise estatística dos dados

Os dados de produção metanogênica acumulada foram ajustados utilizando o modelo da sigmoide modificada de Gompertz (LAY; LI; NOIKE, 1996), apresentado na Eq. (4). Essa regressão não linear foi executada no *software* gráfico e de análise de dados OriginPro, da Originlab.

$$M(t) = P * \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_m * \exp(1)}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (4)$$

Em que:

M(t): produção acumulada de metano após o tempo *t* (mL);

P: potencial de produção metanogênica (mL);

$R_m$ : taxa de produção de metano (mL/h);

$\lambda$ : fase *lag*, isto é, tempo mínimo para produção de biogás (h);

t: tempo de incubação dos reatores (h).

Esse modelo desenvolvido por Lay, Li e Noike (1996) é amplamente utilizado na literatura para descrever a curva de produção cumulativa de metano em reatores em batelada. Por meio deste modelo, é possível estimar com precisão os principais parâmetros da produção de metano a partir de dados experimentais.

Por fim, foram calculados por meio do *software* Statistica, da StatSoft, os efeitos dos fatores sobre a variável de resposta (rendimento metanogênico), bem como os erros padrões, efeitos padronizados, valores  $p$  e coeficientes do modelo de regressão não linear. Além disso, a análise de variância (ANOVA) também foi executada no Statistica, de forma a verificar a significância estatística dos fatores de interesse e avaliar o ajuste do modelo proposto aos dados experimentais.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos durante a realização do presente estudo, bem como as discussões pertinentes. Inicialmente, são relatados os resultados observados nas análises de fibras do capim-elefante, antes e depois da ensilagem, embasando a discussão sobre o efeito desse processo como pré-tratamento. Em seguida, a caracterização físico-química dos reatores, em suas etapas inicial e final, permitiu uma melhor compreensão acerca do potencial dos substratos utilizados.

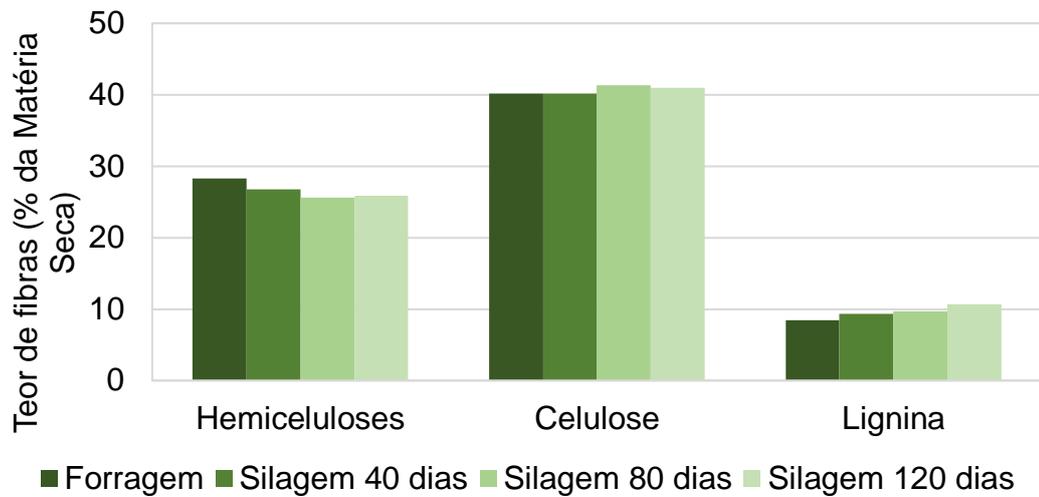
As análises de cromatografia gasosa, por sua vez, geraram dados de produção metanogênica, os quais foram ajustados ao modelo adaptado da sigmoide de Gompertz. Os valores de produção acumulada de metano para cada reator foram analisados sob a perspectiva das técnicas estatísticas de planejamento experimental e de análise de variância (ANOVA).

### 5.1 Análise de eficiência da ensilagem

O efeito da ensilagem sobre a quebra de substâncias lignocelulósicas foi investigado por meio das análises bromatológica e elementar da biomassa do capim-elefante, conforme metodologia adaptada de Van Soest, Robertson e Lewis (1991). As análises foram realizadas para uma amostra de capim-elefante sem pré-tratamento, isto é, a amostra de forragem *in natura*; e para amostras que passaram por períodos de ensilagem de 40, 80 e 120 dias.

A caracterização das fibras presentes nessas amostras foi apresentada previamente na Tabela 2. A variação dos teores de fibras em percentual de matéria seca (MS) total, para cada uma das amostras de silagem, é exposta na Figura 18.

Figura 18 - Variação do teor de fibras nas silagens de capim-elefante



Fonte: Autora (2022)

Observa-se que, de acordo com as análises realizadas, o teor de hemiceluloses apresentou uma pequena diminuição, passando de 28,31% da matéria seca na amostra de forragem para 25,89% na amostra de silagem de 120 dias. O teor de lignina, por sua vez, aumentou de 8,45% para 10,64% da MS, enquanto o de celulose aumentou de 40,18% para 40,93% da MS.

Analisando os valores iniciais e finais do teor de fibras nessas amostras, observa-se que todas as variações são inferiores a 3% da Matéria Seca, podendo ser considerados como estando dentro da faixa de erro inerente às análises e, conseqüentemente, não significativos.

Moore e Jung (2001) ressaltam que a determinação de ligninas em forragens é de difícil execução em decorrência da estrutura complexa dessa molécula, frequentemente levando à subestimação de seu teor, especialmente para espécies de gramíneas. Portanto, os resultados advindos da referida análise podem não corresponder ao teor real de fibras presente no substrato, indicando necessidade de análises adicionais.

Considerando a baixa variação observada dos teores de fibras, é possível inferir que a aplicação unicamente do processo de ensilagem foi insuficiente para quebra desejada das moléculas que compõem a biomassa utilizada. Tais resultados corroboram a conclusão de Ambye-Jensen *et al.* (2013), que ressalta a baixa convertibilidade da celulose após a ensilagem e sugere ainda a aplicação de aditivos enzimáticos para otimização do processo.

Dessa forma, os resultados indicaram que a ensilagem durante 120 dias não produziu um efeito expressivo de degradação de fibras, comparável a outras opções mais consolidadas de pré-tratamento. Montgomery e Bochmann (2014) destacam que a aplicação primordial da ensilagem é para a preservação de biomassas, processo de extrema relevância para a agroindústria, pois permite o armazenamento das espécies por longos períodos; seu efeito sobre a eficiência de processos de digestão anaeróbia, no entanto, é limitado. Segundo Shrestha *et al.* (2017), os efeitos desse processo sobre a produção de metano via digestão anaeróbia são baixos, em comparação com outros métodos.

Portanto, no presente estudo, optou-se por associar a ensilagem do capim-elefante a um pré-tratamento mais intenso, o tratamento térmico-alcálico (com solução de NaOH), cujos resultados serão abordados nos itens seguintes.

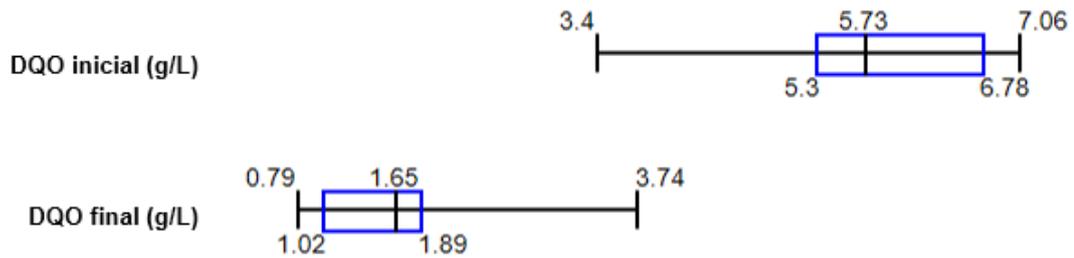
## **5.2 Variação de parâmetros físico-químicos nos reatores**

Durante a montagem inicial dos 20 reatores, cada um composto por diferentes condições experimentais, foram coletadas amostras representativas para as análises dos parâmetros físico-químicos, cujos resultados serão apresentados nas seções seguintes. Ao fim dos ensaios de biodigestão, que duraram cerca de dois meses, também foram coletadas amostras dos reatores em sua fase final, para realização das mesmas análises (APÊNDICE B - Tabela Geral de Caracterização dos Reatores). Tais análises foram utilizadas para investigar a eficiência do processo de digestão anaeróbia.

### **5.2.1 Variação de DQO nos reatores**

A Figura 19 apresenta os gráficos *boxplot* dos dados de concentrações iniciais e finais de DQO (g/L) nos reatores R1–R15, elaborados utilizando o software Statdisk, da Triola Stats. Nota-se que, no início do experimento, o valor mediano das concentrações de DQO foi 5,73 g/L, isto é, 15% maior que o valor teórico adotado de 5 g/L; a concentração mínima inicial foi de 3,40 g/L, observada no reator R8, enquanto a máxima inicial foi 7,06 g/L, no reator R4, indicando uma amplitude considerável dos valores.

Figura 19 - *Boxplot* das concentrações iniciais e finais de DQO nos reatores R1–R15, em g/L



Fonte: Autora (2022)

Vale ressaltar que, na montagem inicial dos reatores, foi considerada a caracterização dos substratos (Tabela 4 e Tabela 5) para o cálculo das diluições necessárias, visando obter uma concentração inicial de DQO de 5 g/L. Entretanto, é possível que erros experimentais na análise dos substratos tenham influenciado nessas diluições e, conseqüentemente, na composição inicial dos reatores.

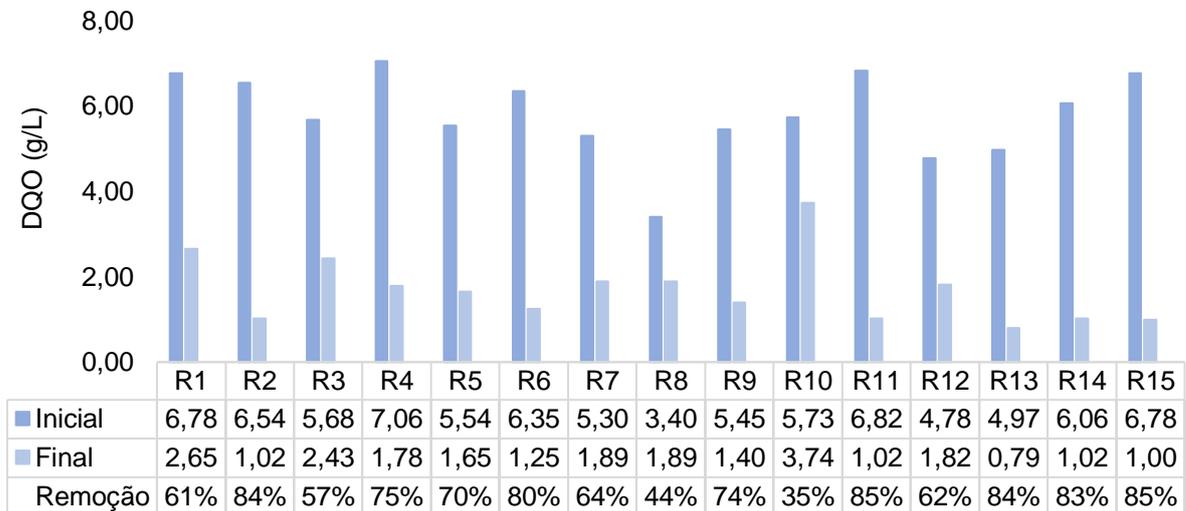
Contudo, conforme será exposto nas seções seguintes, os resultados de produção metanogênica consideraram a disponibilidade inicial de matéria orgânica em cada reator, isto é, o rendimento de metano em cada ensaio. Dessa forma, é possível minimizar o efeito das discrepâncias nas condições iniciais e realizar as análises estatísticas dos resultados do experimento de forma mais uniforme.

Na Figura 19 também se observa que, ao final do experimento, a mediana das concentrações de DQO nos reatores R1–R15 foi de 1,65 g/L. O menor valor observado foi 0,79 g/L, no reator R13, e o maior valor igual a 3,74 g/L, no reator R10. Portanto, os resultados demonstram um consumo expressivo da matéria orgânica presente nos reatores, apontando uma boa eficiência da digestão anaeróbia (KAINTHOLA; KALAMDHAD; GOUD, 2019).

A Figura 20 apresenta todos os valores de concentrações iniciais e finais de DQO, em g/L, nos reatores R1–R15, bem como as respectivas reduções em termos percentuais. Nota-se que os valores de remoção percentual de DQO variaram entre 35% (R10) e 85% (R11 e R15), com a maioria dos reatores apresentando remoção de DQO superior a 60%.

Silva (2020) utilizou o caldo de capim-elefante em codigestão anaeróbia com a vinhaça em reatores em batelada, obtendo os valores máximos de 76,04% e 77,46% de consumo de DQO, em reatores com proporção Vinhaça/Caldo de 50/50 e 75/25, respectivamente. Parsaee, Kiani e Karimi (2019) citam valores de aproximadamente 70% para a remoção de DQO proveniente da vinhaça por meio da digestão anaeróbia.

Figura 20 - Concentrações iniciais e finais e remoção de DQO (g/L) nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25).



Fonte: Autora (2022)

A baixa remoção de DQO observada no reator R10 (35%) destoa das performances dos demais reatores e pode ser atribuída a uma combinação das seguintes condições experimentais desfavoráveis: proporção entre substratos Silagem:Vinhaça equivalente a 75:25 e concentração da solução de pré-tratamento de NaOH igual a 0,50%*m/v*.

Essas condições indicam que o reator foi constituído com maior quantidade de silagem de capim-elefante, correspondente a 75% do volume útil, e que essa silagem foi tratada com a solução menos concentrada dentre as adotadas no planejamento experimental. Assim, pode-se deduzir que o material lignocelulósico que compõe esse substrato não foi devidamente degradado para liberação de moléculas mais simples que seriam consumidas via digestão anaeróbia. Logo, a remoção de DQO foi mais baixa e, provavelmente, a maior parte da DQO removida nesse reator foi proveniente da fração de vinhaça.

Também se observa na Figura 20 que os reatores R2, R11 e R13–R15 (triplicata do ponto central do planejamento experimental) apresentaram valores de remoção de DQO superior a 80%. Esses resultados indicam que os reatores com

maior consumo de DQO apresentavam, de modo geral, as seguintes condições experimentais: a) substrato capim-elefante previamente submetido a um período de ensilagem de 80 a 120 dias; b) proporção silagem:vinhaça entre 25:75 e 50:50, ou seja, o volume de vinhaça igual ou superior ao de silagem de capim-elefante; e c) concentração da solução aquosa de pré-tratamento do capim-elefante entre 2,25 e 4,00% de NaOH.

Um período de ensilagem maior pode indicar uma maior digestibilidade das moléculas lignocelulósicas que compõem o capim-elefante (SUN *et al.*, 2021), o que, por sua vez, favorece a etapa posterior de hidrólise que ocorre durante a digestão anaeróbia. Desse modo, a matéria orgânica proveniente do capim pode ser consumida de forma mais eficiente, o que foi observado por meio das análises de DQO apresentadas.

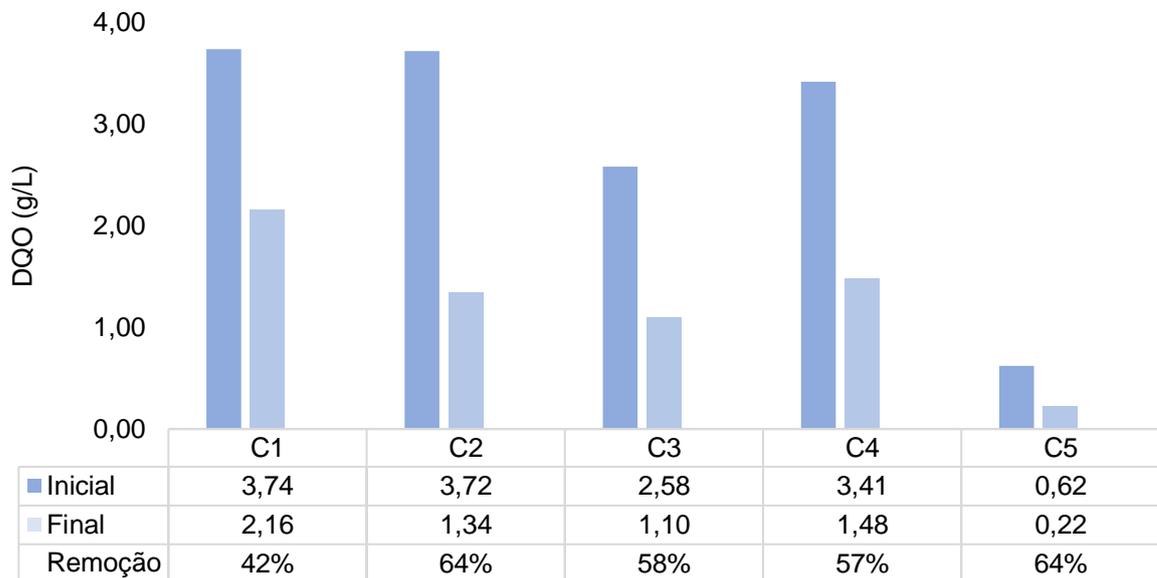
A matéria orgânica presente na vinhaça, por sua vez, é facilmente acessível para a ação das bactérias hidrolíticas que iniciam o processo da digestão anaeróbia (PARSAEE; KIANI; KARIMI, 2019). Dessa forma, reatores contendo maiores quantidades de vinhaça facilitam a remoção de DQO, como foi demonstrado a partir dos dados da Figura 20.

Quanto ao pré-tratamento alcalino do capim-elefante, é possível inferir que a aplicação de soluções mais concentradas de hidróxido de sódio promove uma quebra mais intensa de substâncias como as hemiceluloses (WELLINGER; MURPHY; BAXTER, 2013). Portanto, similarmente ao aumento do tempo do ensilagem, essa condição experimental melhora a digestibilidade do capim-elefante e, por conseguinte, favorece o consumo de DQO no meio.

Destaca-se ainda que a utilização de solução de hidróxido de sódio a 2,25% produziu resultados similares aos obtidos a partir da concentração de 4,00%, quanto à remoção de DQO. Isso representa uma possibilidade de economia no processo, demonstrando que não são necessárias concentrações maiores dessa substância para produzir um efeito satisfatório de consumo de matéria orgânica.

Quanto aos reatores de controle C1–C5, a Figura 21 apresenta o gráfico de variação da concentração de DQO (g/L) ao longo do experimento. A remoção mínima foi observada no reator C1 (42%), o qual continha inóculo e silagem de capim (40 dias de ensilagem e tratamento com NaOH 2,25%). A remoção máxima (64%) foi observada no reator C2, que continha inóculo e silagem de capim (80 dias de ensilagem e tratamento com NaOH 2,25%), e no reator C5, contendo apenas inóculo.

Figura 21 - Concentrações iniciais e finais e remoção de DQO (g/L) nos reatores de controle C1–C5 (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (vinhaça); C5 (inóculo).



Fonte: Autora (2022)

Nos reatores C1–C3 as silagens receberam o mesmo pré-tratamento alcalino (NaOH 2,25%) e não houve efeito de interação com a vinhaça, variando apenas o tempo de ensilagem do capim utilizado. Portanto, como os reatores C2 e C3 apresentaram remoções maiores de DQO, os resultados apontam que a aplicação de tempo de ensilagem do capim entre 80 e 120 dias favorece a digestão de matéria orgânica, ratificando o que foi observado nos reatores R1–R15. Também é possível inferir que o inóculo tem uma parcela de contribuição no consumo da DQO, considerando o nível de remoção observado no reator C5.

### 5.2.2 Variação de carboidratos nos reatores

Na Figura 22 são apresentados gráficos do tipo *boxplot* referentes às concentrações iniciais e finais de carboidratos (g/L) nos reatores R1–R15. A mediana das concentrações iniciais de carboidratos foi 1,24 g/L; a menor concentração foi identificada no reator R11, igual a 1,02 g/L; e a maior concentração no reator R9, igual a 1,36 g/L. Nota-se uma pequena amplitude dos dados das concentrações finais de carboidratos, variando entre 0,36 (R4 e R12) e 0,42 g/L (R1), com a mediana igual a 0,38 g/L. Tal fato indica um consumo satisfatório de carboidratos presentes no meio e

uma uniformidade desse parâmetro físico-químico nos reatores ao início e ao final do experimento.

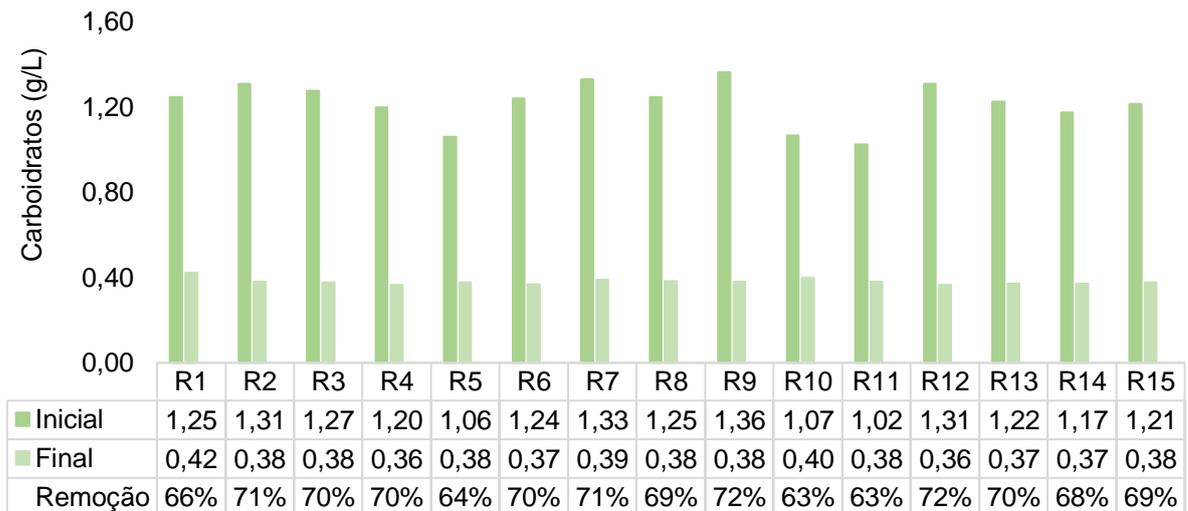
Figura 22 - *Boxplot* das concentrações iniciais e finais de carboidratos nos reatores R1–R15, em g/L



Fonte: Autora (2022)

A Figura 23 apresenta a caracterização quanto ao parâmetro de concentração de carboidratos (g/L) em todos os reatores R1–R15 em fase inicial e final, bem como as respectivas variações percentuais.

Figura 23 - Concentrações iniciais e finais de carboidratos (g/L) nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25).



Fonte: Autora (2022)

Destaca-se que a maioria dos reatores apresentou valores de remoção de carboidratos superior a 65%, à exceção dos reatores R5 (64%), R10 (63%) e R11 (63%). Contudo, diferentemente dos resultados de caracterização de DQO, não foi possível identificar relações diretas entre as condições experimentais dos reatores e os respectivos valores de consumo de carboidratos.

Os reatores que apresentaram as menores (R5, R10 e R11) e maiores (R9 e R12) eficiências de consumo de carboidratos eram compostos, respectivamente, por diferentes combinações dos níveis do planejamento experimental, não sendo identificado um padrão que justificasse a performance diferenciada nesses casos. Além disso, houve uma relativa uniformidade de consumo de carboidratos em todos os reatores, com os valores inclusos no intervalo 63–72%, em contraste com os valores de remoção de DQO, que variaram entre 35% e 85%, conforme exposto anteriormente.

Quanto aos reatores de controle C1–C5, a Figura 24 apresenta o gráfico de variação da concentração de carboidratos (g/L) entre o início e o fim do experimento.

Figura 24 - Concentrações iniciais e finais de carboidratos (g/L) nos reatores de controle (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo).



Fonte: Autora (2022)

Na maioria dos reatores de controle, o consumo de carboidratos foi superior a 50%, à exceção do reator C5, que continha apenas o inóculo e apresentou o valor de consumo de carboidratos igual a 2%, isto é, aproximadamente nulo. Tal resultado

pode indicar que o inóculo utilizado no experimento praticamente não tinha fonte de carboidrato.

Observa-se que os reatores C1, C3 e C4 apresentaram níveis similares de consumo de carboidratos. Contudo, analogamente aos dados de remoção de DQO nos reatores de controle, nota-se que o consumo máximo de carboidratos (56%) foi identificada no reator de C2, que continha inóculo e silagem de capim (80 dias de ensilagem e tratamento com NaOH 2,25%).

Tais resultados indicam que o aumento do tempo de ensilagem do capim-elefante de 80 para 120 dias não provoca necessariamente uma melhoria no consumo de matéria orgânica no meio, conforme quantificada pelas análises de DQO e de carboidratos.

Isso seria vantajoso do ponto de vista operacional pois significa que o período de 80 dias de ensilagem é suficiente para finalidade de aumento da disponibilidade da matéria orgânica presente na biomassa. Entretanto, os resultados também devem ser analisados considerando a produção de biogás em cada caso e os efeitos das interações com os demais fatores, conforme será discutido nas seções seguintes.

### 5.2.3 Variação de sólidos nos reatores

A Tabela 10 apresenta a caracterização de todos os reatores do experimento, em fase inicial (i) e final (f), quanto aos parâmetros de concentração de Sólidos Totais (ST) (g/L), de Sólidos Totais Voláteis (STV) (g/L) e de Sólidos Totais Fixos (STF) (g/L), bem como as respectivas variações percentuais. Valores negativos de variação percentual indicam diminuição da concentração de sólidos, enquanto valores positivos representam um aumento de sólidos no reator.

Tabela 10 - Concentrações e variações percentuais de Sólidos Totais (g/L), incluindo as parcelas de Sólidos Voláteis e Fixos, nos reatores R1–R15 e C1–C5, em fase inicial e final

Reator	ST <sub>i</sub>	ST <sub>f</sub>	%	STV <sub>i</sub>	STV <sub>f</sub>	%	STF <sub>i</sub>	STF <sub>f</sub>	%
R1	17,120	14,456	- 16%	4,312	3,344	- 22%	12,808	11,112	- 13%
R2	14,068	13,368	- 5%	2,880	3,492	+ 21%	11,188	9,876	- 12%
R3	20,100	17,840	- 11%	4,952	3,740	- 24%	15,148	14,100	- 7%
R4	16,516	16,068	- 3%	4,208	4,104	- 2%	12,308	11,964	- 3%
R5	15,844	12,928	- 18%	5,488	3,368	- 39%	10,356	9,560	- 8%

Reator	ST <sub>i</sub>	ST <sub>f</sub>	%	STV <sub>i</sub>	STV <sub>f</sub>	%	STF <sub>i</sub>	STF <sub>f</sub>	%
R6	14,380	12,800	- 11%	4,768	3,320	- 30%	9,612	9,480	- 1%
R7	18,712	18,728	0%	5,312	4,040	- 24%	13,400	14,688	+ 10%
R8	19,896	13,856	- 30%	5,080	2,624	- 48%	14,816	11,232	- 24%
R9	15,556	13,872	- 11%	5,320	3,140	- 41%	10,236	10,732	+ 5%
R10	17,548	16,036	- 9%	5,556	4,080	- 27%	11,992	11,956	0%
R11	15,296	14,492	- 5%	2,996	3,676	+ 23%	12,300	10,816	- 12%
R12	21,028	19,612	- 7%	3,728	4,372	+ 17%	17,300	15,240	- 12%
R13	16,948	14,692	- 13%	4,408	3,164	- 28%	12,540	11,528	- 8%
R14	17,452	15,056	- 14%	4,736	3,824	- 19%	12,716	11,232	- 12%
R15	16,908	15,236	- 10%	4,700	3,640	- 23%	12,208	11,596	- 5%
C1	12,652	11,848	- 6%	4,668	4,088	- 12%	7,984	7,760	- 3%
C2	11,492	10,212	- 11%	4,324	3,192	- 26%	7,168	7,020	- 2%
C3	8,916	9,132	+ 2%	3,376	3,268	- 3%	5,540	5,864	+ 6%
C4	6,504	6,648	+ 2%	4,484	4,068	- 9%	2,020	2,580	+ 28%
C5	2,404	2,492	+ 4%	1,808	1,820	+ 1%	0,596	0,672	+ 13%

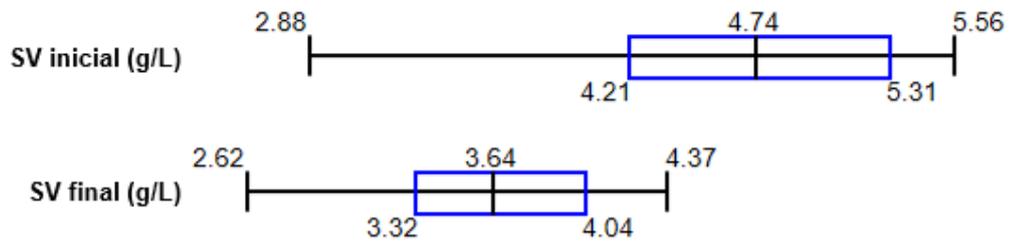
Fonte: Autora (2022)

Sabe-se que o teor de sólidos totais é subdividido nas seguintes frações: a) inorgânica, representada pelos Sólidos Totais Fixos; e b) orgânica, representada pelos Sólidos Totais Voláteis. Analogamente à DQO, o parâmetro de Sólidos Totais Voláteis é comumente aplicado como uma medida da matéria orgânica disponível no meio e seu consumo está diretamente associado à eficiência da digestão anaeróbia (MEEGODA *et al.*, 2018). Portanto, as discussões subsequentes são realizadas com foco nesse parâmetro, o qual será simplificado como “Sólidos Voláteis (SV)”.

Na Figura 25 são apresentados os gráficos *boxplot* das concentrações iniciais e finais de sólidos voláteis (g/L) nos reatores R1–R15. As concentrações iniciais estão contidas no intervalo de 2,88 (R2) a 5,56 g/L (R10), com mediana igual a 4,74 g/L. As concentrações finais, por sua vez, variaram entre 2,62 (R8) e 4,37 g/L (R12), com mediana igual a 3,64 g/L.

De modo geral, observa-se que os níveis de remoção de sólidos voláteis nos reatores R1–R15 são menores que aqueles observados para os parâmetros de DQO e de carboidratos, conforme exposto anteriormente na Figura 19 e na Figura 22, respectivamente.

Figura 25 - *Boxplot* das concentrações iniciais e finais de sólidos voláteis (SV) nos reatores R1–R15, em g/L

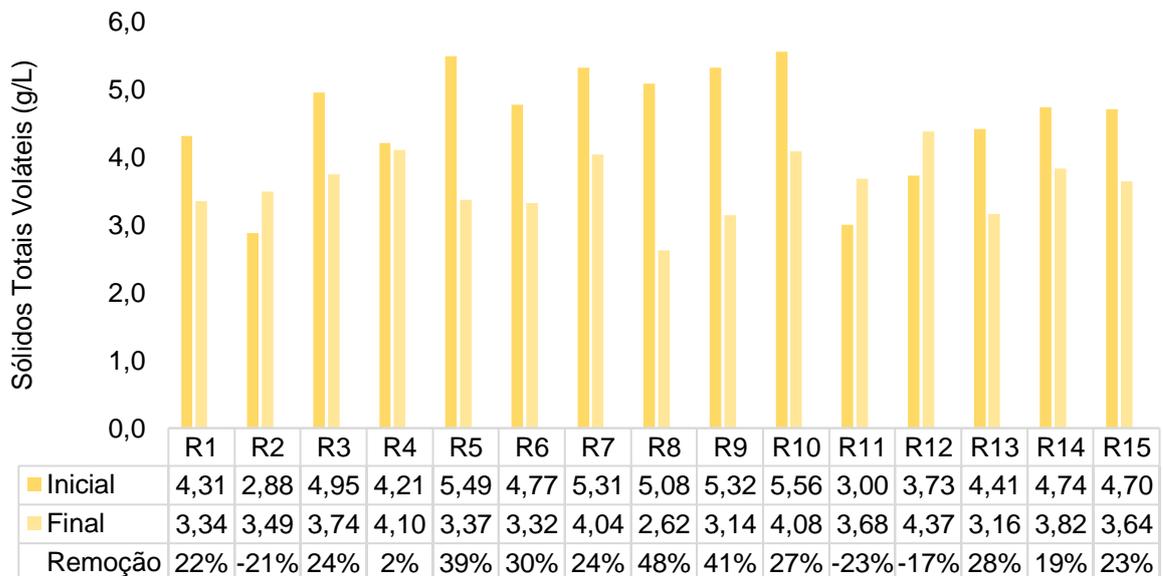


Fonte: Autora (2022)

A Figura 26 apresenta os valores das concentrações de sólidos voláteis, em g/L, nos reatores R1–R15, bem como as respectivas variações percentuais (no gráfico, valores negativos indicam que houve aumento de SV).

Figura 26 - Concentrações iniciais e finais de Sólidos Voláteis (g/L) nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25).

Valores negativos de remoção indicam aumento de SV.



Fonte: Autora (2022)

Nos reatores em que houve consumo de sólidos voláteis, a maioria apresentou remoção superior a 20%, sendo o valor mínimo identificado no reator R4 (2%) e o

máximo no reator R8 (48%). A baixa performance do reator R4 quanto à remoção de SV pode ser consequência da interação de suas condições experimentais específicas: tempo de ensilagem de 120 dias, proporção Silagem:Vinhaça de 75:25 e tratamento com NaOH 2,25%. Infere-se que, mesmo com o máximo tempo de ensilagem entre os níveis adotados, a biomassa adicionada ao sistema estava em maior quantidade em relação a vinhaça, não havendo um equilíbrio dos substratos; o tratamento alcalino aplicado, por sua vez, não foi capaz de degradar adequadamente as fibras presentes no meio.

Analisando os três reatores com maior remoção de SV (R5, R8 e R9), pode-se observar que estes apresentavam proporção silagem:vinhaça entre 25:75 a 50:50, ou seja, o volume de vinhaça igual ou maior que o de silagem de capim-elefante. Logo, esse resultado sugere que a utilização de capim em quantidades superiores a 50% do reator causa desequilíbrio da codigestão e afeta a remoção de matéria orgânica, o que foi igualmente observado com relação ao parâmetro da DQO. O tempo de ensilagem e a concentração de tratamento alcalino não demonstraram ter efeito significativo sobre a remoção de SV nos reatores R1–R15.

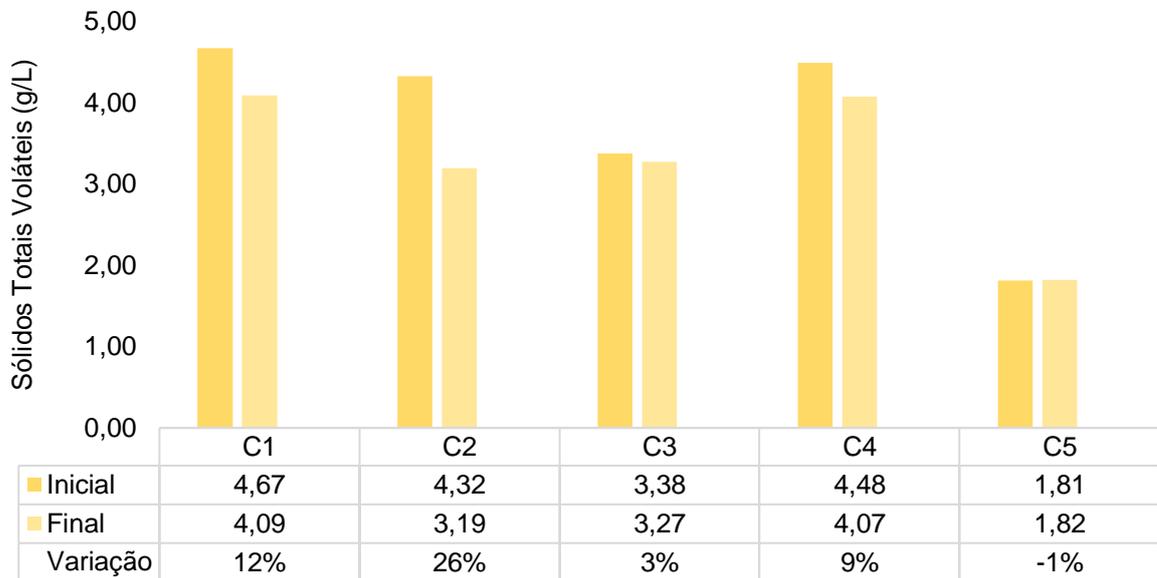
Observa-se que nos reatores R2, R11 e R12 houve aumento do teor de sólidos, o que pode ser compreendido considerando a função da curva típica de crescimento de microrganismos, exposta anteriormente na Figura 2. Sabe-se que o teor de sólidos indica não somente a matéria seca proveniente dos substratos utilizados (capim e vinhaça), mas também a matéria que compõe as células dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia (DORAN, 2013; VON SPERLING, 2016).

Nesse sentido, pode-se inferir que os reatores que apresentaram consumo de sólidos passaram pela fase de crescimento exponencial microbiológico e consumiram parte do substrato disponível, resultando num balanço geral de sólidos negativo. Os reatores R2, R11 e R12, por sua vez, provavelmente foram desativados em uma fase de multiplicação das células dos microrganismos, de forma que, no balanço final, os reatores apresentam aumento da concentração de sólidos.

Quanto aos reatores de controle C1–C5, a Figura 27 apresenta o gráfico de variação da concentração de SV (g/L) entre o início e o fim do experimento. O menor consumo foi observado no reator C3 (3%) e o maior no reator C2 (26%). No reator C5, que continha apenas o inóculo, houve aumento de 1% de sólidos voláteis, isto é, pode-se considerar uma variação aproximadamente nula, indicando que o inóculo não contribui para a variação de sólidos nos demais reatores.

Figura 27 - Concentrações iniciais e finais de Sólidos Voláteis (g/L) nos reatores de controle (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo).

Valores negativos de remoção indicam aumento de SV.



Fonte: Autora (2022)

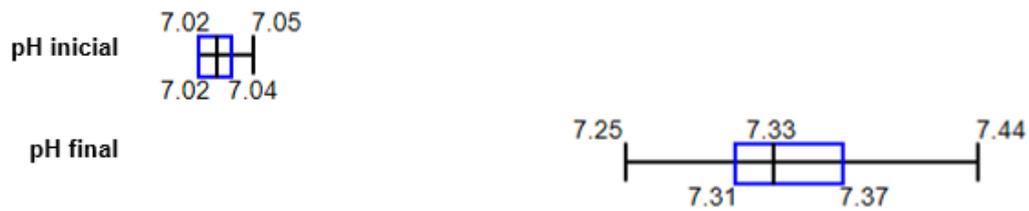
De forma semelhante aos dados de remoção de DQO e de carboidratos nos reatores de controle, observa-se que a remoção máxima de sólidos voláteis foi observada no reator de controle C2, que continha inóculo e silagem de capim (80 dias de ensilagem e tratamento com NaOH 2,25%). Portanto, considerando apenas a aplicação de pré-tratamento com NaOH 2,25% nas amostras de capim-elefante, observa-se que a adoção do tempo de ensilagem de 80 dias acarreta maior eficiência de remoção de todos os parâmetros que quantificam a matéria orgânica (DQO, carboidratos e sólidos voláteis).

Esses dados podem sinalizar uma vantagem econômica na configuração do processo, uma vez que os níveis médios dos fatores tempo de ensilagem e concentração de pré-tratamento, segundo o planejamento experimental (Tabela 6), são capazes de produzir resultados satisfatórios de remoção de matéria orgânica nos reatores de controle. Entretanto, vale ressaltar que a interação entre os fatores em diferentes níveis produz resultados diversos, conforme verificado nos reatores R1–R15, e que a análise deve considerar também os resultados da produção metanogênica.

### 5.2.4 Variação de pH nos reatores

A Figura 28 apresenta os gráficos *boxplot* referentes aos valores iniciais e finais de pH nos reatores R1–R15. Os valores iniciais de pH variaram entre 7,02 (R4, R7, R9, R11 e R14) e 7,05 (R10), com mediana igual a 7,03. Os valores finais variaram entre 7,25 (R3) e 7,44 (R1), com mediana igual a 7,33.

Figura 28 - *Boxplot* dos valores iniciais e finais de pH nos reatores R1–R15



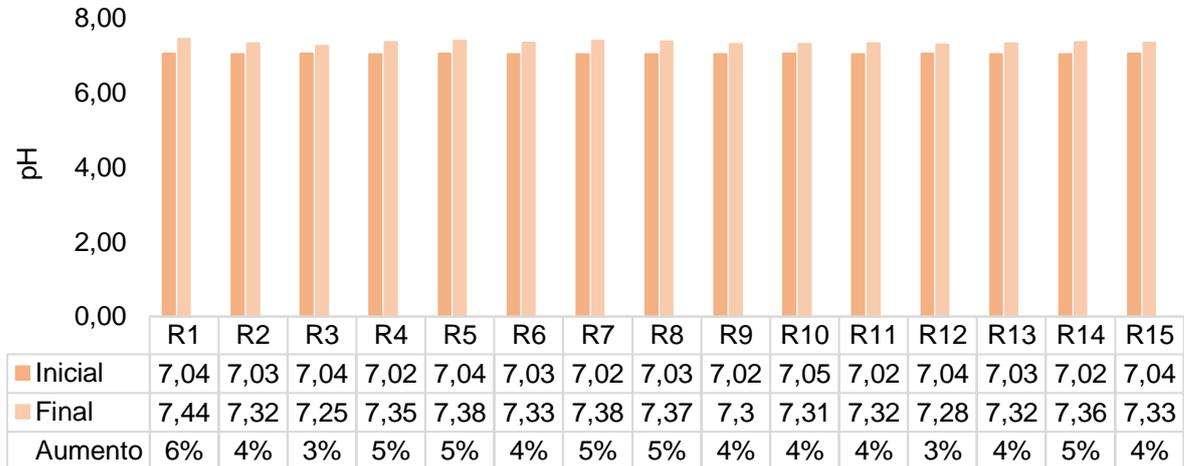
Fonte: Autora (2022)

Ressalta-se que o pH foi ajustado diretamente no início do experimento, com o auxílio de medidor de pH e soluções de NaOH 4% m/v e de HCl 15% v/v, de forma que seu valor estivesse precisamente dentro do intervalo 7,00–7,05, apropriado para a metanogênese. Consequentemente, os valores iniciais de pH não apresentaram variações significativas em comparação às que foram observadas nos valores iniciais de DQO (conforme apresentado anteriormente na Figura 19).

Na Figura 29 são apresentados os valores de pH nos reatores R1–R15, em fase inicial e final, bem como as respectivas variações percentuais. Em todos os reatores R1–R15 houve aumento de pH durante o experimento, em média de 4%, sendo o menor acréscimo identificado nos reatores R3 e R12 (3%), e o maior no reator R1 (6%).

Tendo isso em vista, pode-se considerar que os valores de pH se mantiveram aproximadamente estáveis em todos os reatores do início ao fim do processo, sem variações bruscas. Tal fato indica que o bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) aplicado no início do experimento realizou de forma satisfatória a função de suplementação da alcalinidade e de tamponamento do sistema. Logo, não é possível detectar efeitos significativos dos fatores de planejamento adotados sobre o parâmetro pH nos reatores R1–R15.

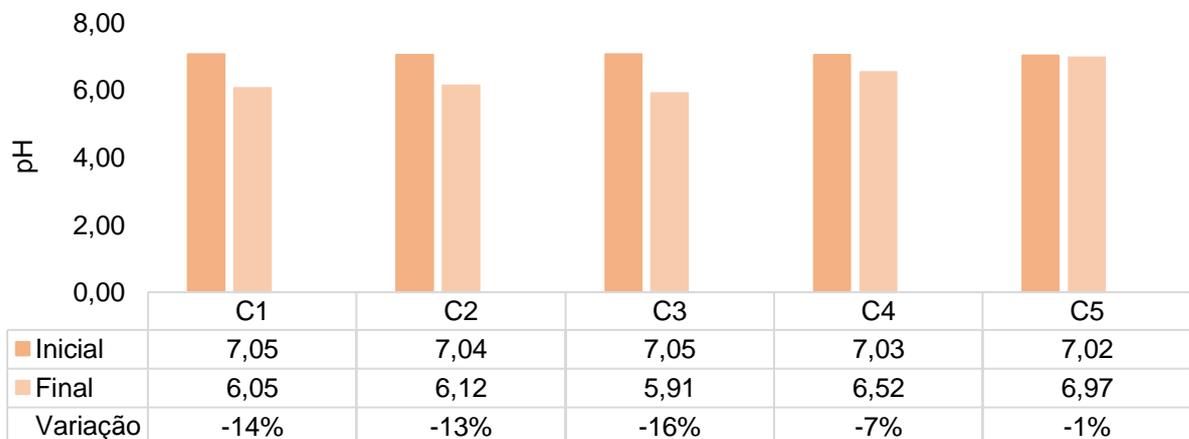
Figura 29 - Valores iniciais e finais de pH nos reatores (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25).



Fonte: Autora (2022)

Nos reatores de controle C1–C5, por sua vez, não houve aplicação de bicarbonato de sódio, de forma que as variações do pH foram maiores, como apresentado na Figura 30.

Figura 30 - Valores iniciais e finais de pH nos reatores de controle (tempo de ensilagem / proporção silagem:vinhaça / concentração NaOH %): C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo).



Fonte: Autora (2022)

A menor variação (-1%) foi identificada no reator C5, composto apenas por inóculo, indicando que o pH se manteve estável nesse reator, mesmo sem adição de bicarbonato. Tal fato pode ser justificado pela ausência de substratos que alteram o pH, como a silagem de capim-elefante, que apresenta o remanescente da solução alcalina de pré-tratamento; e a vinhaça, cujo pH é ácido. Além disso, a ausência de substratos neste reator pode indicar que a atividade de digestão anaeróbia foi baixa ou praticamente nula, promovendo a estabilidade do pH.

Nota-se ainda que, ao contrário dos reatores R1–R15, em que houve um leve aumento do pH, os reatores de controle C1–C5 apresentaram diminuição desse parâmetro. Conforme explanado na Tabela 9, os reatores de controle não receberam bicarbonato de sódio para tamponamento durante sua montagem, de forma que estavam mais suscetíveis a flutuações de pH. Portanto, a redução de pH nesses reatores era esperada devido a: a) ausência de alcalinizante no sistema; b) formação de ácidos voláteis durante a digestão anaeróbia; e c) acidez de um dos substratos, isto é, a vinhaça.

Vale ainda ressaltar que o pH ideal para a metanogênese está na faixa de 6,6 a 7,4, sendo possível obter estabilidade na faixa de 6,0 a 8,0 (CHERNICHARO, 2016). No reator C3, que continha inóculo e silagem de capim (120 dias de ensilagem e tratamento com NaOH 2,25%), foi observado o pH final abaixo de 6,0, indicando que a produção de metano provavelmente foi afetada nesse reator. Como todos os reatores, exceto o C5, apresentaram valores finais de pH fora da faixa ideal, pode-se atestar a importância da adição de alcalinizante, de forma a garantir as condições mais favoráveis para a formação de metano.

### 5.3 Produção de metano

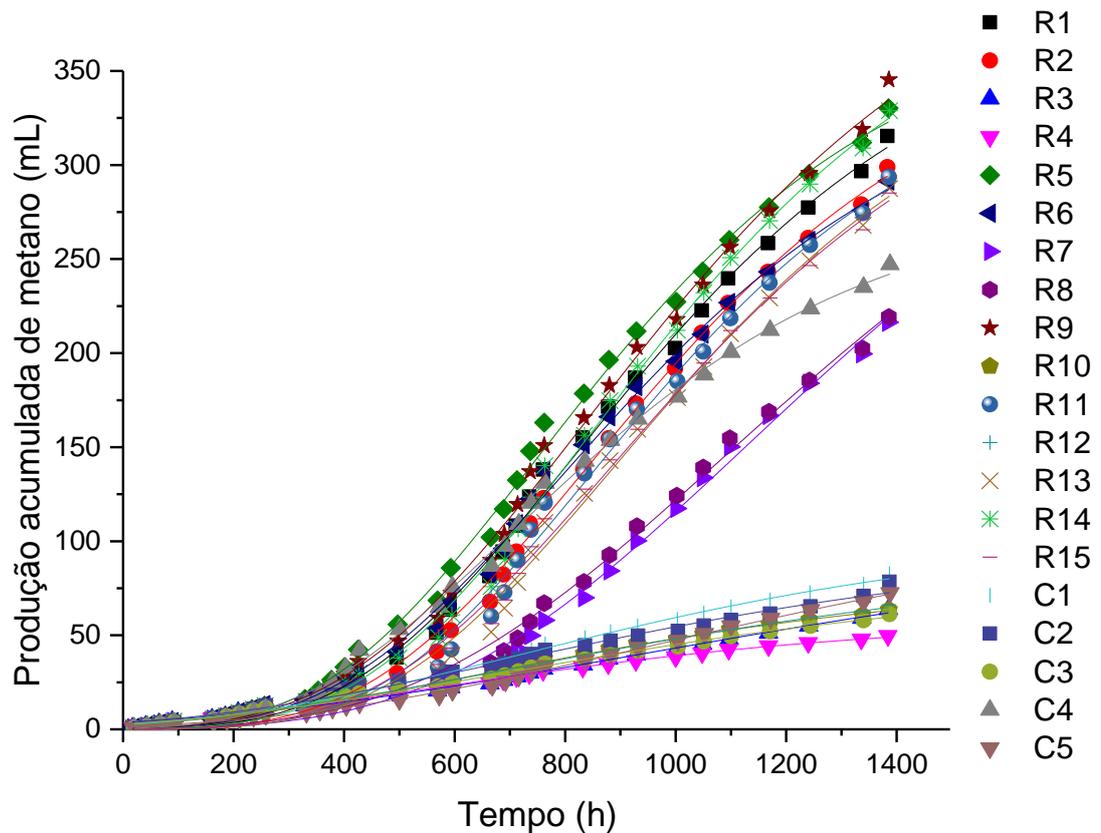
Os reatores foram operados durante dois meses (entre 7 de fevereiro e 6 de abril de 2022), totalizando aproximadamente 1400 horas de duração do experimento, com monitoramento frequente da produção de biogás por meio de análises de cromatografia gasosa (APÊNDICE C - Resultados da Cromatografia).

Durante esse período, em cada um dos 20 reatores operados foram coletadas 32 amostras de biogás produzido nos *headspaces*. Por meio das análises de cromatografia, foram identificados alguns dos gases produzidos durante a digestão anaeróbia, como metano (CH<sub>4</sub>), hidrogênio (H<sub>2</sub>) e gás carbônico (CO<sub>2</sub>). O foco da

presente análise, entretanto, é a produção de metano, que foi quantificada por meio da metodologia descrita anteriormente na seção 4.5 e ajustada ao modelo apresentado na seção 4.6.

Portanto, a Figura 31 apresenta a produção acumulada de metano ( $\text{mL}_{\text{CH}_4}$ ) durante os ensaios de biodigestão, para cada reator, bem como as curvas de ajuste dos dados experimentais à sigmoide modificada de Gompertz (APÊNDICE D - Curvas de Produção Ajustadas), descrita anteriormente na Eq. (4).

Figura 31 - Produção acumulada de metano ( $\text{CH}_4$ ) no *headspace* (mL), ajustada à sigmoide modificada de Gompertz para os reatores: R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25); C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo).



Fonte: Autora (2022)

Pode-se notar que, em termos apenas de produção acumulada (mL), os reatores R9, R5, R14 e R1 foram os que apresentaram melhor desempenho, com produção acumulada de metano superior a 300 mL. Contudo, visto que a concentração inicial de matéria orgânica nos reatores apresentou flutuações consideráveis (Figura 20 e Figura 26), a análise de produção de metano deve considerar também essas condições, conforme será discutido ainda nesta seção.

A partir do ajuste não linear dos dados experimentais, foram calculados os parâmetros  $P$ ,  $R_m$  e  $\lambda$  do modelo modificado de Gompertz para os reatores, bem como os coeficientes de determinação  $R^2$ , sendo estes apresentados na Tabela 11. Observa-se que os valores de  $R^2$  variaram entre 0,9909 e 0,9981, indicando que o modelo adotado descreve adequadamente os dados obtidos neste estudo.

De acordo com o ajuste dos parâmetros do modelo, o potencial de produção metanogênica ( $P$ ) mínimo é 59,73 mL, no reator R4, enquanto o máximo é 440,40 mL, no reator R9. A taxa estimada de produção de metano ( $R_m$ ) variou entre 0,04 mL/h (R4) e 0,38 mL/h (R5, R9 e R14). O tempo estimado de fase *lag*, por sua vez, variou entre 52,58 h (R4) e 580,54 h (R7).

Tabela 11 - Parâmetros do modelo modificado de Gompertz para as curvas de ajuste dos reatores

Reator	P - Potencial de produção metanogênica (mL)	$R_m$ - Taxa de produção de metano (mL/h)	$\lambda$ - Tempo da fase <i>lag</i> (h)	$R^2$
R1	392,83	0,36	417,21	0,9976
R2	377,75	0,35	446,24	0,9970
R3	106,60	0,05	164,11	0,9939
R4	59,73	0,04	52,58	0,9952
R5	387,98	0,38	367,67	0,9979
R6	358,54	0,33	386,33	0,9974
R7	413,54	0,28	580,54	0,9937
R8	392,97	0,26	538,76	0,9948
R9	440,40	0,38	404,73	0,9972
R10	79,98	0,06	138,09	0,9969
R11	363,77	0,36	467,38	0,9946
R12	88,84	0,06	128,88	0,9959
R13	378,56	0,35	485,27	0,9949
R14	419,49	0,38	437,09	0,9968
R15	375,93	0,34	469,31	0,9956

Reator	P - Potencial de produção metanogênica (mL)	R <sub>m</sub> - Taxa de produção de metano (mL/h)	λ - Tempo da fase lag (h)	R <sup>2</sup>
C1	105,64	0,07	177,42	0,9970
C2	97,87	0,06	119,78	0,9909
C3	79,19	0,05	111,91	0,9954
C4	284,63	0,28	327,17	0,9981
C5	119,32	0,07	301,39	0,9979

Fonte: Autora (2022)

Para analisar e comparar a produção de metano entre os reatores de forma mais padronizada, será considerada a disponibilidade inicial de matéria orgânica para consumo via digestão anaeróbia em cada reator. Para isso, os valores de produção acumulada final de metano (mL CH<sub>4</sub>) foram divididos pela quantidade de sólidos voláteis iniciais (g<sub>SV</sub>) em cada reator, considerando as concentrações iniciais de SV apresentadas anteriormente na Tabela 10 e o volume útil do reator, igual a 60 mL.

Vale ressaltar que a apresentação do rendimento de metano nas unidades mencionadas (mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>SV</sub>) é apenas uma das diversas formas adotadas na literatura dessa área para representar esse tipo de dados. A utilização dessas unidades é mais usual para resultados referentes ao uso de biomassas como substratos, visto que envolvem a quantificação de sólidos (ZHANG *et al.*, 2019; PARDANG *et al.*, 2020).

Por outro lado, rendimentos metanogênicos referentes à digestão de efluentes líquidos como a vinhaça costumam ser apresentados com mais frequência em termos de volume de metano por DQO inicial/adicionada (mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/gDQO<sub>added</sub>) ou por DQO removida (mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/gDQO<sub>rem</sub>) (FUESS *et al.*, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2017).

O presente estudo emprega a codigestão desses tipos diferentes de substratos e há limitação de publicações semelhantes na área para fins de comparação de resultados. Isto posto, optou-se por apresentar os valores de rendimento metanogênico em mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>SV</sub>, uma vez que, dessa forma, foi possível obter uma regressão adequada dos dados a um modelo polinomial de previsão, conforme será exposto na análise estatística da seção 5.4.

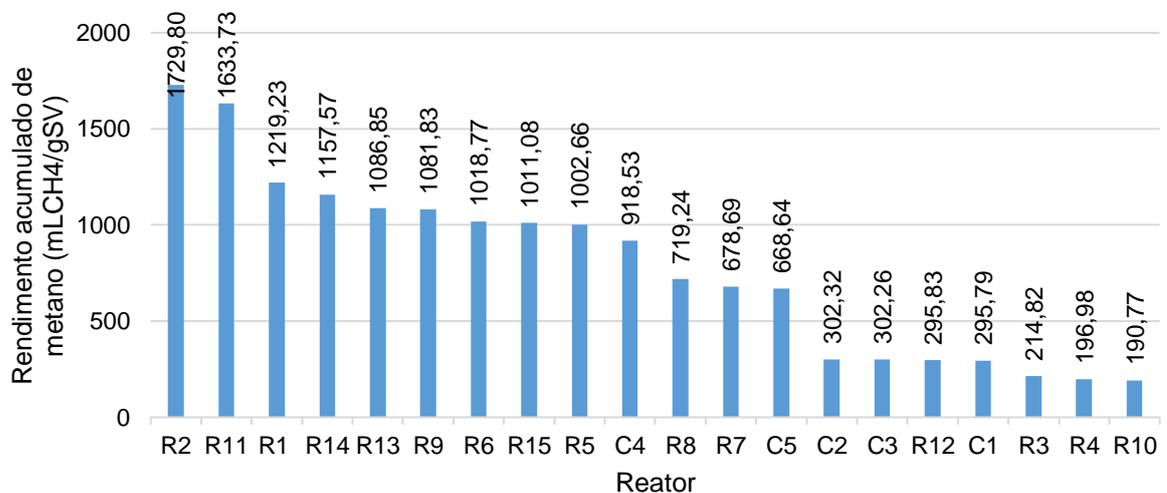
Dessa forma, a Tabela 12 apresenta os rendimentos acumulados finais de metano nos reatores R1–R15. Esses resultados são apresentados em ordem decrescente na Figura 32, a qual inclui também os valores de rendimento dos reatores de controle C1–C5. A Figura 33, por sua vez, apresenta a progressão temporal dos rendimentos de metano em cada reator.

Tabela 12 - Planejamento experimental e rendimento acumulado de metano

Reator	T (dias)	P	C (%)	Rendimento (mL <sub>CH<sub>4</sub></sub> /g <sub>SV</sub> )
1	40 (-1)	25:75 (-1)	2,25 (0)	1219,23
2	120 (+1)	25:75 (-1)	2,25 (0)	1729,80
3	40 (-1)	75:25 (+1)	2,25 (0)	214,82
4	120(+1)	75:25 (+1)	2,25 (0)	196,98
5	40 (-1)	50:50 (0)	0,50 (-1)	1002,66
6	120 (+1)	50:50 (0)	0,50 (-1)	1018,77
7	40 (-1)	50:50 (0)	4,00 (+1)	678,69
8	120 (+1)	50:50 (0)	4,00 (+1)	719,24
9	80 (0)	25:75 (-1)	0,50 (-1)	1081,83
10	80 (0)	75:25 (+1)	0,50 (-1)	190,77
11	80 (0)	25:75 (-1)	4,00 (+1)	1633,73
12	80 (0)	75:25 (+1)	4,00 (+1)	295,83
13	80 (0)	50:50 (0)	2,25 (0)	1086,85
14	80 (0)	50:50 (0)	2,25 (0)	1157,57
15	80 (0)	50:50 (0)	2,25 (0)	1011,08

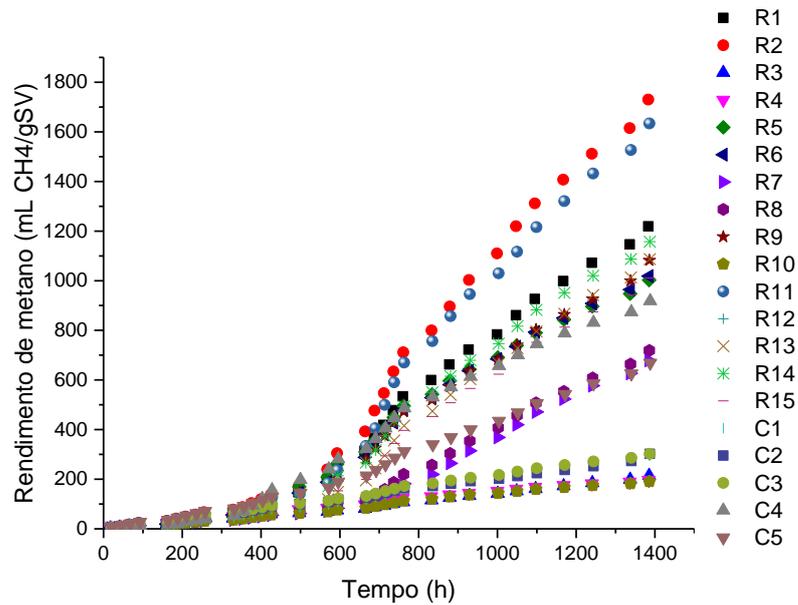
Fonte: Autora (2022)

Figura 32 - Rendimento acumulado da produção de metano (CH<sub>4</sub>), em mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>SV</sub>, nos reatores: R1 (40 / 25:75 / 2,25); R2 (120 / 25:75 / 2,25); R3 (40 / 75:25 / 2,25); R4 (120 / 75:25 / 2,25); R5 (40 / 50:50 / 0,50); R6 (120 / 50:50 / 0,50); R7 (40 / 50:50 / 4,00); R8 (120 / 50:50 / 4,00); R9 (80 / 25:75 / 0,50); R10 (80 / 75:25 / 0,50); R11 (80 / 25:75 / 4,00); R12 (80 / 75:25 / 4,00); R13 (80 / 50:50 / 2,25); R14 (80 / 50:50 / 2,25); R15 (80 / 50:50 / 2,25); C1 (40 / - / 2,25); C2 (80 / - / 2,25); C3 (120 / - / 2,25); C4 (apenas vinhaça); C5 (apenas inóculo).



Fonte: Autora (2022)

Figura 33 - Rendimento de metano nos reatores, em mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>, em função do tempo.



Fonte: Autora (2022)

Os valores observados de rendimento acumulado, para os reatores R1–R15, variaram entre 190,77 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub> (reator R10) e 1729,80 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub> (reator R2). A partir da Figura 32, observa-se que todos os reatores com maior quantidade de silagem, isto é, com proporção de mistura Silagem:Vinhaça igual a 75:25 (R3, R4, R10 e R12), apresentaram rendimento acumulado menor que 300 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>. Estes dados apontam uma possível forte influência do fator proporção de mistura sobre os resultados e serão investigados com o auxílio das técnicas de análise estatística na seção seguinte.

Nos reatores de controle C1–C5, os valores de rendimento acumulado variaram entre 295,79 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub> (C1) e 918,53 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub> (C4). Os reatores de controle que continham apenas silagem como substrato (C1, C2 e C3) apresentaram níveis de rendimento acumulado entre 295 e 302 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>, valores semelhantes aos apresentados em outros estudos que utilizaram capim-elefante para produção de biogás.

Gunaseelan (2007) obteve valores de rendimento de metano entre 0,372 L/g<sub>SV</sub> e 0,342 L/g<sub>SV</sub> ao aplicar diferentes partes do capim-elefante como substrato. Zhang *et al.* (2019) utilizaram diferentes alturas de corte e partes da planta, obtendo o valor de 361 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub> como máximo rendimento da produção metanogênica. Pardang *et al.* (2020), por sua vez, usaram como substrato a espécie híbrida *P. purpureum* × *P.*

*typhoideum*; sob condições mesofílicas, as amostras que passaram por ensilagem alcançaram rendimento específico de metano de 154 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>.

A partir da Figura 32 também é possível visualizar que o reator de controle C4 (apenas vinhaça diluída) apresentou rendimento de 918 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>, validando o potencial da vinhaça como substrato para produção metanogênica, mesmo em monodigestão. Contudo, observa-se que a codigestão com a silagem de capim-elefante promoveu um aumento do rendimento de metano para diversas condições experimentais, chegando até quase 90% de aumento (R2, 1729,80 mL<sub>CH4</sub>/g<sub>SV</sub>) em comparação com o rendimento obtido no reator C4.

Portanto, os resultados observados atestam a sinergia promovida pela codigestão desses substratos para produção de biogás e estão em consonância com estudos recentes sobre o tema. Volpi *et al.* (2022) investigaram a geração de metano por meio da aplicação de resíduos lignocelulósicos, vinhaça e outros efluentes da produção de etanol, concluindo que a codigestão anaeróbia possibilitou aumentos de quase 40% no potencial bioquímico de metano (BMP), em comparação aos substratos isolados; os autores citam o valor máximo de rendimento de 605 NmL<sub>CH4</sub>.g<sub>VS</sub><sup>-1</sup>.

#### 5.4 Análise estatística

A partir dos resultados de rendimento de metano obtidos (Tabela 12), foram calculados os efeitos de cada variável independente do experimento sobre a variável dependente, bem como os respectivos valores de erro padrão, efeito padronizado, valor *p* e coeficiente do modelo de regressão polinomial, conforme apresentado na Tabela 13. Os cálculos foram executados com o auxílio do software Statistica, considerando as interações entre dois fatores e um nível de confiança de 95%.

Tabela 13 - Efeitos, significâncias estatísticas e coeficientes do modelo polinomial de segundo grau para as variáveis independentes, sobre o rendimento de metano.

	Efeito	Erro padrão	Efeito padronizado t(2)	Valor <i>p</i>	Coeficiente do modelo
Média global	831,86	21,15	39,33	0,001	1085,166
(1) T (L)	137,35	51,80	2,65	0,118	68,674
(1) T (Q)	95,33	38,13	2,50	0,130	-95,331
(2) P (L)	-1191,55	51,80	-23,00	0,002	-595,773

	Efeito	Erro padrão	Efeito padronizado t(2)	Valor p	Coeficiente do modelo
(2) P (Q)	149,63	38,13	3,92	0,059	-149,627
(3) C (L)	8,36	51,80	0,16	0,887	4,181
(3) C (Q)	135,00	38,13	3,54	0,071	-134,995
T x P	-264,21	73,26	-3,61	0,069	-132,104
T x C	12,22	73,26	0,17	0,883	6,111
P x C	-223,42	73,26	-3,05	0,093	-111,711

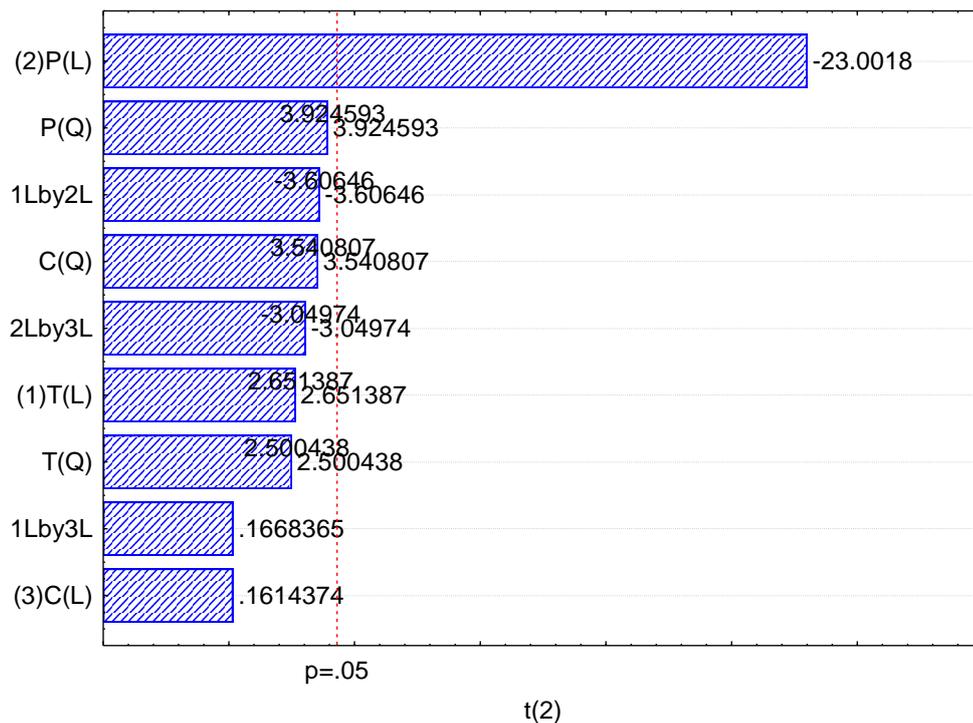
T: Tempo de ensilagem; P: proporção entre substratos; e C: concentração do pré-tratamento alcalino.

L: efeito linear; Q: efeito quadrático; Significância estatística:  $p < 0,05$ .

Fonte: Autora (2022)

Pode ser observado que apenas o efeito linear do fator Proporção entre substratos (P) apresentou valor  $p$  menor que 0,05, associado ao nível de confiança de 95%; ou seja, esse fator afetou o resultado de rendimento de metano de forma significativa estatisticamente. Isso também pode ser verificado por meio do gráfico do tipo Pareto (Figura 34) dos efeitos padronizados,  $t(2)$ , o qual mostra que apenas o efeito padronizado  $t(2)$  do efeito linear do fator P teve valor absoluto (23,00) superior ao valor do parâmetro  $t_2$  tabelado, igual a 4,30.

Figura 34 - Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados  $t(2)$



Fonte: Autora (2022)

Ainda que a influência dos demais fatores — tempo de ensilagem (T) e concentração de NaOH (C) — não seja considerada significativa estatisticamente pois  $p > 0,05$  e  $|t(2)| < 4,30$ , optou-se por não ignorar esses efeitos como parte do cálculo do erro. Portanto, o modelo preditivo para o rendimento de metano a partir dos fatores com valores codificados é apresentado na Eq. (5) a seguir, que utiliza os coeficientes já apresentados na Tabela 13.

$$R = 1085,16 + 68,67T - 95,33T^2 - 595,77P - 149,62P^2 + 4,18C - 134,99C^2 - 132,10TP + 6,11TC - 111,71PC \quad (5)$$

Em que:

R: rendimento de metano (mL CH<sub>4</sub>/g<sub>sv</sub>);

T: tempo de ensilagem (valores codificados entre -1 e 1);

P: proporção entre substratos (valores codificados entre -1 e 1); e

C: concentração do pré-tratamento (valores codificados entre -1 e 1).

Utilizando a Eq. (5) é possível calcular os valores preditos pelo modelo para os pontos do planejamento experimental e compará-los com os dados observados empiricamente (Tabela 14). Observa-se que, na maioria dos casos, o desvio dos valores preditos foi inferior a 20% em relação ao valor observado.

Tabela 14 - Valores observados, preditos e resíduos do modelo.

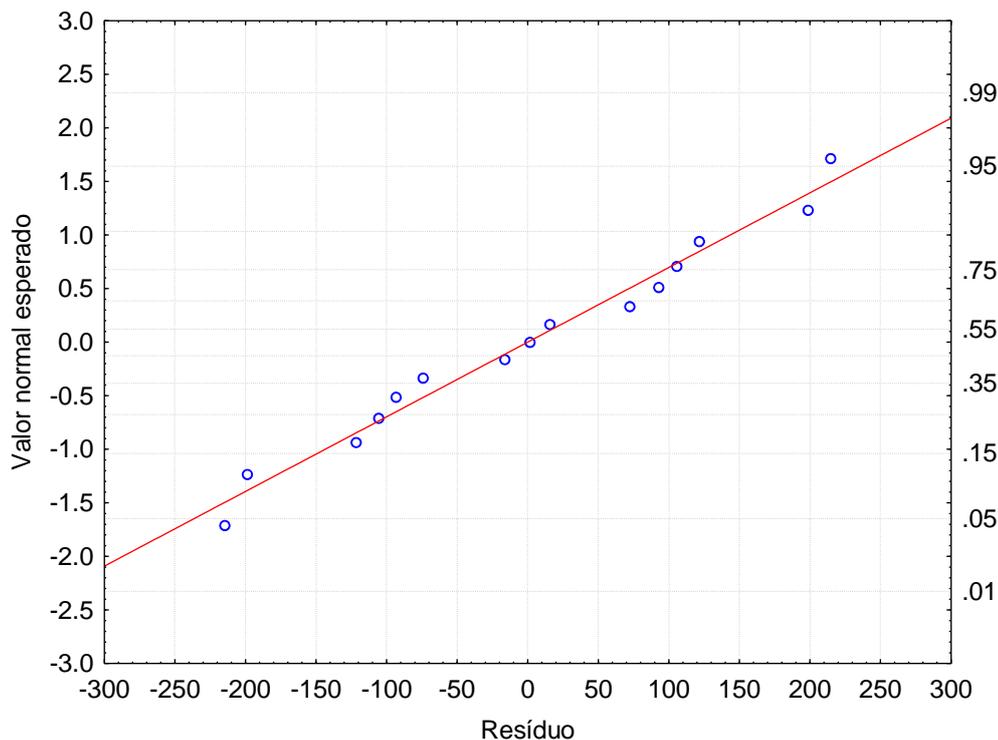
Ensaio	Observados	Preditos	Resíduos	Desvio
1	1219,227	1235,203	-15,976	1%
2	1729,802	1636,759	93,043	5%
3	214,822	307,865	-93,043	43%
4	196,980	181,005	15,976	8%
5	1002,664	788,096	214,568	21%
6	1018,771	913,221	105,550	10%
7	678,686	784,236	-105,550	16%
8	719,238	933,807	-214,568	30%
9	1081,830	1280,423	-198,593	18%
10	190,775	312,300	-121,526	64%
11	1633,735	1512,209	121,526	7%

Ensaio	Observados	Preditos	Resíduos	Desvio
12	295,833	97,240	198,593	67%
13	1086,851	1085,166	1,686	0%
14	1157,568	1085,166	72,402	6%
15	1011,078	1085,166	-74,088	7%

Fonte: Autora (2022)

A análise do modelo também pode ser complementada pelo gráfico normal de probabilidade dos resíduos (Figura 35). Esse gráfico mostra que os resíduos do modelo preditivo não se afastam muito de uma reta, indicando sua distribuição normal e, portanto, a validade do teste F.

Figura 35 - Gráfico normal de probabilidade dos resíduos.



Fonte: Autora (2022)

Considerando esse modelo, a análise de variância foi executada com o auxílio do software Statistica, sendo apresentada na Tabela 15. A partir das somas e médias quadráticas, calcula-se o valor  $F$ , um parâmetro utilizado para avaliar a significância estatística de uma regressão. Observa-se que o  $F_{cal}$  da regressão (6,98) é maior que o  $F_{9,5}$  tabelado (4,77), indicando que o modelo proposto é válido e descreve os dados

experimentais de forma adequada. Nota-se ainda que o  $F_{cal}$  da “falta de ajuste” (14,94) é inferior ao  $F_{3,2}$  tabelado (19,16), portanto essa fonte de variação pode ser considerada como não significativa. Por fim, o coeficiente de determinação da regressão ( $R^2$ ) é igual a 0,93, confirmando que a Eq. (5) descreve adequadamente o comportamento do processo em estudo, a um nível de confiança de 95%.

Tabela 15 - Análise de variância (ANOVA) para o rendimento de metano

Fonte de variação	SQ	g.l.	MQ	$F_{cal}$	$F_{tab}$	$R^2$
Regressão	3157609	9	350845,41	6,98	4,77	0,92627
Resíduos	251334	5	50266,87			
Falta de ajuste	240600	3	80200	14,94	19,16	
Erro puro	10734	2	5367			
Total	3408943	14				

SQ: soma quadrática; g.l.: graus de liberdade; MQ: média quadrática;  $F_{cal}$ : F calculado;  $F_{tab}$ : F tabelado;  $R^2$ : coeficiente de determinação; Nível de significância: 5%

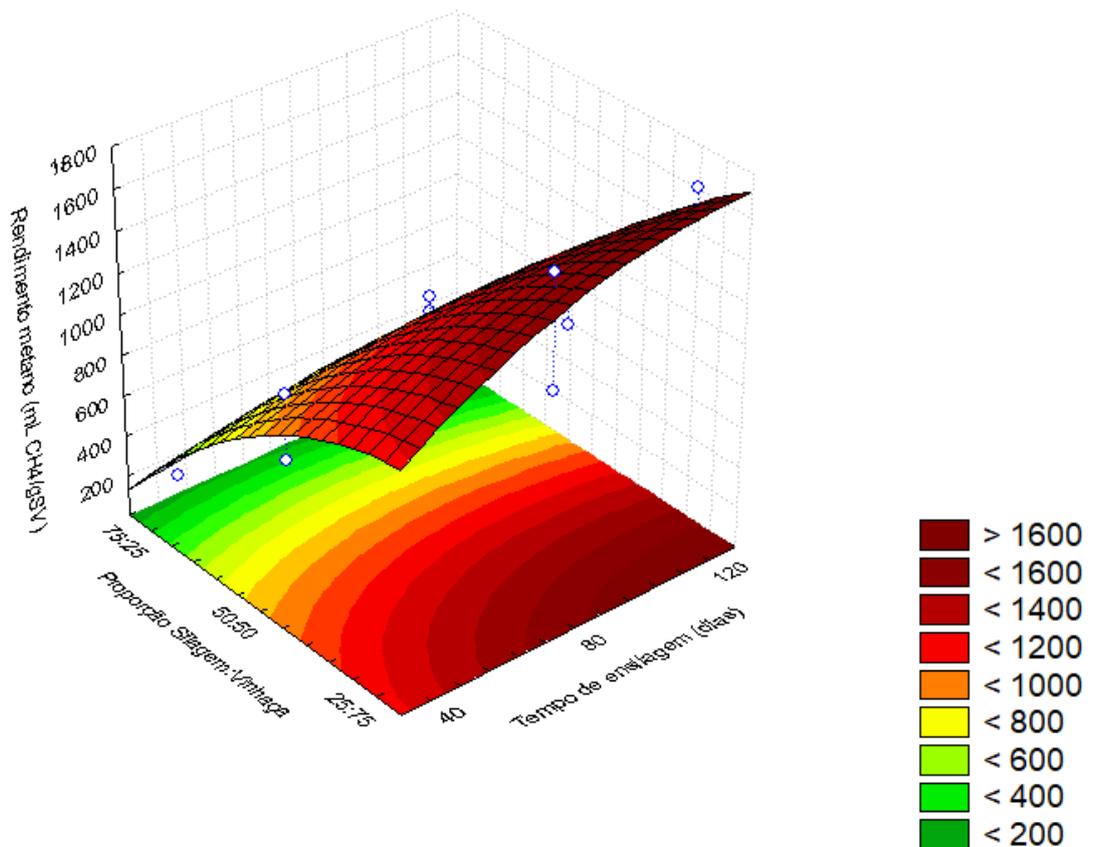
Fonte: Autora (2022)

A partir do modelo proposto na Eq. (5) e com o auxílio do Statistica, foram geradas as superfícies de resposta que apresentam o efeito dos fatores e suas interações sobre o rendimento acumulado de metano. Por meio desses gráficos, visualiza-se como variações dos fatores de planejamento afetam a resposta do experimento e de que forma essa resposta pode ser otimizada, isto é, quais condições experimentais promovem a melhor resposta desejada.

A Figura 36 apresenta a superfície de resposta para os fatores proporção entre substratos (P) e tempo de ensilagem (T), zerando o fator concentração da solução de pré-tratamento (C) na Eq. (5). A superfície apresenta curvatura no eixo correspondente ao fator P, com a aplicação do nível 75:25 de proporção silagem:vinhaça produzindo os menores resultados de rendimento de metano. Para o nível correspondente à proporção silagem:vinhaça de 25:75, a variável de resposta apresenta valores significativamente maiores.

Portanto, dentro dos limites do presente estudo, foi observado que a codigestão da vinhaça com a silagem de capim-elefante apresenta melhor rendimento metanogênico quando o volume de silagem equivale à aproximadamente 25% do volume útil do reator.

Figura 36 - Superfície de resposta para o rendimento de metano ( $\text{mL}_{\text{CH}_4}/\text{g}_{\text{SV}}$ ) devido à interação entre os fatores: Proporção entre substratos (Silagem: Vinhaça) e Tempo de ensilagem (dias).



Fonte: Autora (2022)

Biomassas lignocelulósicas são usualmente caracterizadas com uma alta razão C/N, enquanto esse parâmetro deve ser mantido no intervalo de 20–30:1 para operação adequada de reatores anaeróbios (ABRAHAM et al., 2020). Portanto, pode-se inferir que a proporção silagem:vinhaça equivalente a 25:75 proporcionou uma razão C/N mais adequada nos reatores e um melhor equilíbrio nutricional.

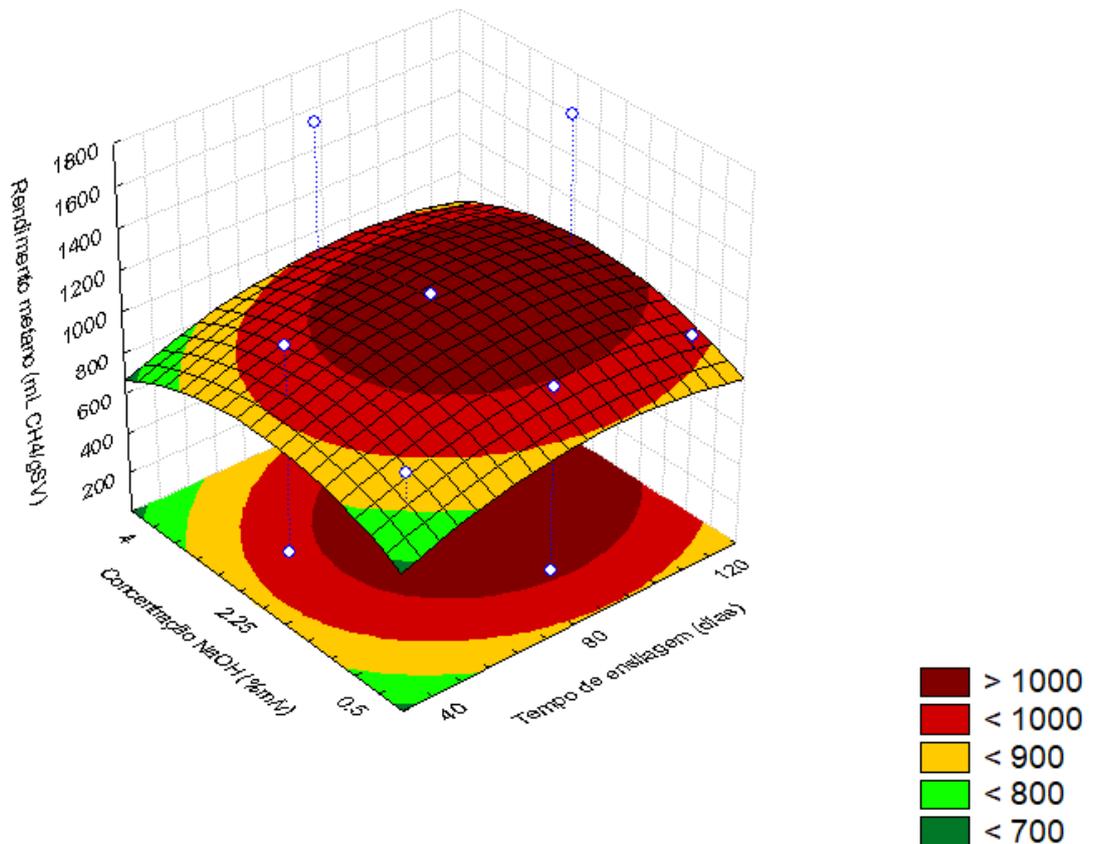
Além disso, também é possível argumentar que maiores quantidades de silagem significam uma sobrecarga de fibras no reator, afetando negativamente a produção de biogás caso estas fibras não tenham sido degradadas eficientemente nos processos de pré-tratamento. Nesse sentido, a observação do eixo referente ao fator T na superfície de resposta da Figura 36 mostra que o rendimento foi mais alto para o nível equivalente a 120 dias de ensilagem.

Além disso, nota-se uma interação positiva entre esses fatores, visto que o ponto mais alto da superfície se localiza na interação entre P igual a 25:75 e T igual a

120. Tais dados corroboram a discussão anterior sobre o efeito da degradação das fibras e do equilíbrio entre substratos no rendimento metanogênico.

A Figura 37 apresenta a superfície de resposta para os fatores concentração da solução de pré-tratamento (C) e tempo de ensilagem (T), zerando o fator proporção entre substratos na Eq. (5). Pela ANOVA, sabe-se que esses fatores não afetaram significativamente a variável de resposta, mas nota-se que a maior resposta foi obtida numa faixa de interação dos níveis médios do fator C e do fator T, isto é, utilizando solução de pré-tratamento a 2,25% e tempo de ensilagem de 80 dias. Isso pode indicar que, ignorando o efeito da proporção entre substratos e considerando apenas os pré-tratamentos do capim-elefante, não é necessário aplicar as condições mais intensas (concentração de 4% e ensilagem de 120 dias) para obter um resultado satisfatório de produção metanogênica.

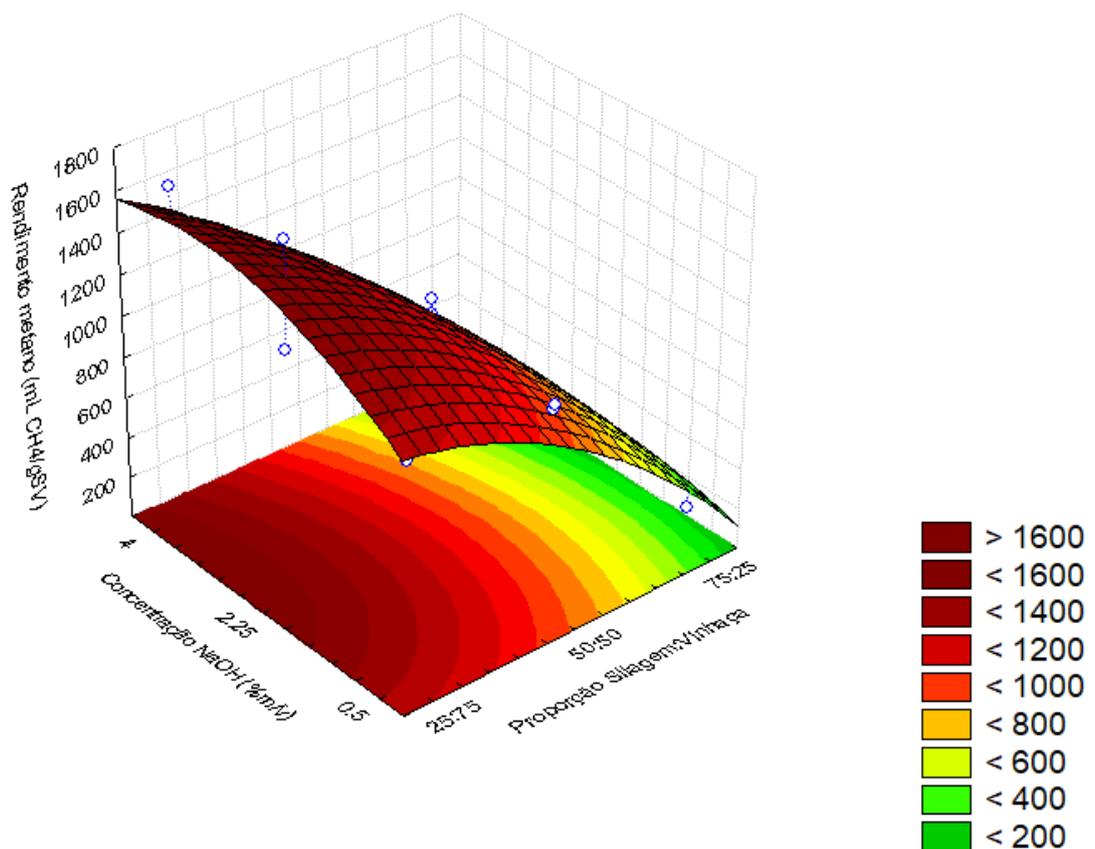
Figura 37 - Superfície de resposta para o rendimento de metano (mLCH<sub>4</sub>/gSV) devido à interação entre os fatores: Concentração da solução de NaOH para pré-tratamento (% m/v) e Tempo de ensilagem (dias)



Fonte: Autora (2022)

A Figura 38 apresenta a superfície de resposta para os fatores concentração da solução de pré-tratamento (C) e proporção entre substratos (P), zerando o fator tempo de ensilagem (T) na Eq. (5). O ponto ótimo nesse caso situa-se na interação entre C igual a 4%<sub>m/v</sub> e P igual a 25:75, reforçando as análises sobre o efeito do tratamento alcalino e do equilíbrio de substratos no rendimento de metano. Também é possível notar que a curvatura da superfície no eixo referente ao fator C não é muito acentuada na faixa [2,25; 4,00], ou seja, a alteração do nível intermediário para o máximo não provocou grandes aumentos no rendimento dos reatores.

Figura 38 - Superfície de resposta para o rendimento de metano (mLCH<sub>4</sub>/gSV) devido à interação entre os fatores: Concentração da solução de NaOH para pré-tratamento (% m/v) e Proporção entre substratos (Silagem: Vinhaça)



Fonte: Autora (2022)

A partir da Eq. (5), é possível ainda deduzir o ponto ótimo do processo e identificar quais os níveis ideais dos fatores independentes para obtenção do

rendimento máximo de metano. Os cálculos de otimização são apresentados nas equações seguintes.

$$d/dT(1085,16 + 68,67 T - 95,33 T^2 - 595,77 P - 149,62 P^2 + 4,18 C - 134,99 C^2 - 132,10 TP + 6,11 TC - 111,71 PC) = -190,66 T - 132,1 P + 6,11 C + 68,67 \quad (6)$$

$$d/dP(1085,16 + 68,67 T - 95,33 T^2 - 595,77 P - 149,62 P^2 + 4,18 C - 134,99 C^2 - 132,10 TP + 6,11 TC - 111,71 PC) = -132,1 T - 299,24 P - 111,71 C - 595,77 \quad (7)$$

$$d/dC(1085,16 + 68,67 T - 95,33 T^2 - 595,77 P - 149,62 P^2 + 4,18 C - 134,99 C^2 - 132,10 TP + 6,11 TC - 111,71 PC) = 6,11 T - 111,71 P - 269,98 C + 4,18 \quad (8)$$

$$\begin{cases} -190,66 T - 132,1 P + 6,11 C + 68,67 = 0 \\ -132,1 T - 299,24 P - 111,71 C - 595,77 = 0 \\ 6,11 T - 111,71 P - 269,98 C + 4,18 = 0 \end{cases} \quad (9)$$

$$\therefore T \approx 3,25; P \approx -4,09; C \approx 1,78$$

Considerando a escala dos níveis codificados [-1, +1], observa-se que o ponto ótimo seria correspondente a um ensaio com as seguintes condições de T, P e C: (+1, -1, +1), não incluso no planejamento Box-Behnken. No planejamento experimental adotado, os ensaios cujas condições mais se assemelham a esse ponto ótimo são os correspondentes aos reatores R2 (+1, -1, 0) e R11 (0, -1, +1), que apresentaram os maiores valores de rendimento do experimento.

## 6 CONCLUSÕES

No presente estudo, foram investigadas as potencialidades de dois substratos de relevância no setor agroindustrial brasileiro – a vinhaça e o capim-elefante – no processo de produção de metano via digestão anaeróbia. Também foi utilizada a técnica de ensilagem no capim-elefante visando analisar sua performance como pré-tratamento.

Foi observado que a ensilagem com duração entre 40 e 120 dias não promoveu uma degradação desejada das fibras presentes no capim-elefante, visto que as variações identificadas foram inferiores a 3% da Matéria Seca, em relação à forragem *in natura*. Dessa forma, foi necessário incorporar o pré-tratamento térmico-alcálico ao processo.

Quanto aos parâmetros físico-químicos que indicam eficiência da digestão, observou-se que os valores de remoção percentual de DQO variaram entre 35% e 85%, com a maioria dos reatores apresentando remoção superior a 60%. Quanto aos carboidratos, o consumo percentual situou-se no intervalo 63–72%. O consumo de sólidos voláteis, por sua vez, foi superior a 20% na maioria dos reatores. Tais resultados indicam que ocorreu uma remoção expressiva da matéria orgânica presente nos reatores, apontando que a digestão anaeróbia promoveu um tratamento satisfatório da vinhaça.

O pH manteve-se estável e na faixa da neutralidade nos reatores do planejamento devido ao tamponamento produzido pela adição de bicarbonato de sódio. A queda de pH nos reatores de controle (que não receberam bicarbonato) confirma a importância do alcalinizante para estabilidade do processo.

Os dados experimentais de produção metanogênica apresentaram ajuste adequado ao modelo da sigmoide de Gompertz ( $0,9909 \leq R^2 \leq 0,9981$ ). Os valores de rendimento acumulado de metano variaram entre 190,77 e 1729,80 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>SV</sub>, com os menores rendimentos sendo observados nos reatores com maior proporção de silagem.

Os melhores rendimentos foram observados nos reatores com as seguintes condições experimentais: reator R2, com proporção Silagem:Vinhaça igual a 25:75, contendo capim-elefante ensilado por 120 dias e tratado com solução de NaOH a 2,25%<sub>m/v</sub>; e R11, com proporção Silagem:Vinhaça também igual a 25:75, contendo capim-elefante ensilado por 80 dias e tratado com solução de NaOH a 4,00%<sub>m/v</sub>. A

codigestão promoveu aumentos de até 90% no rendimento metanogênico, em comparação com os substratos isolados.

A análise estatística indicou que, a um nível de 95% de confiança, a proporção entre substratos foi o único fator com efeito estatisticamente significativo sobre o rendimento metanogênico. Um modelo polinomial de segunda ordem foi proposto para estimar o rendimento do processo a partir dos fatores adotados, com um coeficiente de regressão satisfatório ( $R^2 = 0,93$ ).

A partir do modelo proposto, o teste de otimização indicou o ponto ótimo para o experimento, equivalente à seguinte combinação de condições experimentais: 120 dias de ensilagem; proporção Silagem:Vinhaça igual a 25:75; e concentração de NaOH igual a 4%<sub>m/v</sub>.

Como perspectivas para futuros estudos, recomenda-se:

- Validação experimental do ponto ótimo proposto pela metodologia de superfície de resposta;
- Realização de mais análises sobre a eficiência da ensilagem, visando uma melhor compreensão sobre o processo de degradação de fibras e a produção metanogênica associada;
- Aclimação do lodo utilizado como inóculo no processo, de forma a diminuir o período de adaptação dos microrganismos ao meio durante a fase *lag*;
- Realização de ensaios de biodigestão sem a utilização de alcalinizante, a fim de verificar o potencial de produção de hidrogênio e ácidos orgânicos a partir desses substratos;
- Revisão sistemática da literatura, visando definir as unidades mais adequadas de representação do rendimento metanogênico em casos de codigestão de efluentes com biomassas.

## REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K.; PARK, H.; CHOI, O.; SINDHU, R.; PARAMESWARAN, B.; PANDEY, A.; PARK, J. H.; SANG, B. I. Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 301, n. December 2019, p. 122725, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122725>.
- ALMEIDA, W. A.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D. AnSBBR applied to biomethane production for vinasse treatment: effects of organic loading, feed strategy and temperature. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 759–773, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150584>.
- AMBYE-JENSEN, M.; JOHANSEN, K. S.; DIDION, T.; KÁDÁR, Z.; SCHMIDT, J. E.; MEYER, A. S. Ensiling as biological pretreatment of grass (*Festulolium Hykor*): The effect of composition, dry matter, and inocula on cellulose convertibility. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 58, p. 303–312, 2013.
- ANNAMALAI, N.; ELAYARAJA, S.; OLESKOWICZ-POPIEL, P.; SIVAKUMAR, N.; BAHRY, S. Al. Volatile fatty acids production during anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. In: **Recent Developments in Bioenergy Research**. [s.l.] : BV, 2020. p. 237–251.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23. ed. [s.l.] : American Water Works Association, 2017. Disponível em: <http://ajph.aphapublications.org/doi/10.2105/AJPH.51.6.940-a>.
- BENTSEN, N. S.; FELBY, C.; THORSEN, B. J. Agricultural residue production and potentials for energy and materials services. **Progress in Energy and Combustion Science**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 59–73, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2013.09.003>.
- BOTREL, M. D. A.; PEREIRA, A. Vander; FREITAS, V. D. P.; XAVIER, D. F. Potencial forrageiro de novos clones de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 334–340, 2000. Disponível em:

<https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000200003>.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some New Three Level Design for Study of quantitative variables Box Behnken.pdf. **Technometrics**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 455–475, 1960. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00401706.1960.10489912>.

BP PLC. **BP Statistical Review of World Energy**. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<https://www.bp.com/content/dam/bp/business-sites/en/global/corporate/pdfs/energy-economics/statistical-review/bp-stats-review-2020-full-report.pdf>.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. 1. ed. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2003.

CANTARERO, M. M. V. Of renewable energy, energy democracy, and sustainable development: A roadmap to accelerate the energy transition in developing countries.

**Energy Research and Social Science**, [s. l.], v. 70, n. July, p. 101716, 2020.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.erss.2020.101716>.

CAPÁRI, D.; DÖRGŐ, G.; DALLOS, A. Comparison of the effects of thermal pretreatment, steam explosion and ultrasonic disintegration on digestibility of corn stover. **Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 107–126, 2016. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.13044/j.sdewes.2016.04.0010>.

CARVALHO, A. R.; FRAGOSO, R.; GOMINHO, J.; SARAIVA, A.; COSTA, R.; DUARTE, E. Water-energy nexus: Anaerobic co-digestion with elephant grass hydrolyzate. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 181, p. 48–53, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.012>.

CHENG, J. **Biomass to Renewable Energy Processes**. 2. ed. New York, NY: CRC Press, 2017. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781315152868>.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016.

CHYNOWETH, D. P.; TURICK, C. E.; OWENS, J. M.; JERGER, D. E.; PECK, M. W.

Biochemical methane potential of biomass and waste feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 95–111, 1993. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0961-9534\(93\)90010-2](http://dx.doi.org/10.1016/0961-9534(93)90010-2).

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, Safra 2021-22, n. 3 - Terceiro levantamento**. Brasília. v. 8 Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>.

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**, [s. l.], v. 281, n. December 2020, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111854>.

CRUZ, C. H.; SOUZA, G. M.; CORTEZ, L. A. Biofuels for Transport. In: **Future Energy**. [s.l.] : Elsevier, 2014. p. 215–244.

CUI, M.; SHEN, J. Effects of acid and alkaline pretreatments on the biohydrogen production from grass by anaerobic dark fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 1120–1124, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.02.078>.

DE LA RUBIA, M. A.; VILLAMIL, J. A.; MOHEDANO, A. F. Anaerobic digestion for methane and hydrogen production. In: **Wastewater Treatment Residues as Resources for Biorefinery Products and Biofuels**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2019. p. 67–83.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewables Energy: An Introduction**. 2. ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527621705>.

DORAN, P. M. **Bioprocess Engineering Principles**. 2. ed. [s.l.] : Elsevier, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20090223488>.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>.

FARDIN, J. F.; BARROS, O.; DIAS, A. P. F. Biomass: Some Basics and Biogas. In: **Advances in Renewable Energies and Power Technologies**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2018. v. 2p. 1–37.

FERREIRA, L. R. A.; OTTO, R. B.; SILVA, F. P.; DE SOUZA, S. N. M.; DE SOUZA, S. S.; ANDO JUNIOR, O. H. Review of the energy potential of the residual biomass for the distributed generation in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 94, n. June, p. 440–455, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.06.034>.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; DA SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; DOS REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; DOS SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 597, n. 2, p. 179–186, 2007.

FUESS, L. T.; KIYUNA, L. S. M.; FERRAZ, A. D. N.; PERSINOTI, G. F.; SQUINA, F. M.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. **Applied Energy**, [s. l.], v. 189, p. 480–491, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.071>.

GUNASEELAN, V. N. Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 389–399, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2003.08.006>.

GUNASEELAN, V. N. Regression models of ultimate methane yields of fruits and vegetable solid wastes, sorghum and napiergrass on chemical composition. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 98, n. 6, p. 1270–1277, 2007.

IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Geneva: IPCC, 2014. Disponível em: [https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/SYR\\_AR5\\_FINAL\\_full.pdf](https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/SYR_AR5_FINAL_full.pdf).

JANEJADKARN, A.; CHAVALPARIT, O. Biogas production from Napier grass (Pak Chong 1) (*Pennisetum purpureum* × *Pennisetum americanum*). **Advanced Materials**

**Research**, [s. l.], v. 856, p. 327–332, 2014. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.856.327>.

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**, [s. l.], v. 115, n. May, p. 120–129, 2018. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.05.001>.

KAINTHOLA, J.; KALAMDHAD, A. S.; GOUD, V. V. Enhanced methane production from anaerobic co-digestion of rice straw and hydrilla verticillata and its kinetic analysis. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 125, n. April, p. 8–16, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.04.011>.

KARKI, R.; CHUENCHART, W.; SURENDRA, K. C.; SHRESTHA, S.; RASKIN, L.; SUNG, S.; HASHIMOTO, A.; KUMAR KHANAL, S. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 330, n. January, p. 125001, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125001>.

KHANAL, S. K.; NINDHIA, T. G. T.; NITAYAVARDHANA, S. Biogas from wastes: Processes and applications. In: **Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches**. [s.l.] : Elsevier, 2019. p. 165–174.

KILKIŞ, Ş.; KRAJAČIĆ, G.; DUIĆ, N.; MONTORSI, L.; WANG, Q.; ROSEN, M. A.; AHMAD AL-NIMR, M. Research frontiers in sustainable development of energy, water and environment systems in a time of climate crisis. **Energy Conversion and Management**, [s. l.], v. 199, n. September, 2019. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2019.111938>.

KIRK, D. M.; GOULD, M. C. Bioenergy and anaerobic digestion. In: **Bioenergy**. 2. ed. [s.l.] : Elsevier, 2020. p. 335–360.

KOMMULA, V. P.; REDDY, K. O.; SHUKLA, M.; MARWALA, T.; RAJULU, A. V. Physico-chemical, Tensile, and Thermal Characterization of Napier Grass (Native African) Fiber Strands. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 303–314, 2013. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1080/1023666X.2013.784935>.

LAY, J.-J.; LI, Y.-Y.; NOIKE, T. EFFECT OF MOISTURE CONTENT AND CHEMICAL NATURE ON METHANE FERMENTATION CHARACTERISTICS OF MUNICIPAL SOLID WASTES. **Doboku Gakkai Ronbunshu**, [s. l.], v. 1996, n. 552, p. 101–108, 1996. Disponível em:

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jscej1984/1996/552/1996\\_552\\_101/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jscej1984/1996/552/1996_552_101/_article).

LI, Y.; CHEN, Y.; WU, J. Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. **Applied Energy**, [s. l.], v. 240, n. June 2018, p. 120–137, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.01.243>.

LIMA, G. P. **Produção de bio-hidrogênio a partir de frutas e vegetais residuais em reatores anaeróbios em batelada**. 2022. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.

MAINTINGUER, S. I.; FERNANDES, B. S.; DUARTE, I. C. S.; SAAVEDRA, N. K.; ADORNO, M. A. T.; VARESCHE, M. B. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 33, n. 16, p. 4309–4317, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.053>.

MEEGODA, J. N.; LI, B.; PATEL, K.; WANG, L. B. A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 15, n. 10, 2018.

MONTGOMERY, L.; BOCHMANN, G. **Pretreatment of feedstock for enhanced biogas production**. Dublin, Ireland: IEA Bioenergy, 2014. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/273632363\\_Pretreatment\\_of\\_Feedstock\\_for\\_Enhanced\\_Biogas\\_Production](https://www.researchgate.net/publication/273632363_Pretreatment_of_Feedstock_for_Enhanced_Biogas_Production).

MOORE, K. J.; JUNG, H. J. G. Lignin and fiber digestion. **Journal of Range Management**, [s. l.], v. 54, n. 4, p. 420–430, 2001.

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**, [s. l.], v. 44, p. 888–903, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.023>.

MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant and Soil**, [s. l.], v. 356, n. 1–2, p. 23–34, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-011-0944-2>.

MORAIS, R. F.; SOUZA, B. J.; LEITE, J. M.; SOARES, L. H. de B.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Elephant grass genotypes for bioenergy production by direct biomass combustion. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 133–140, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2009000200004>.

MUCK, R. E.; NADEAU, E. M. G.; MCALLISTER, T. A.; CONTRERAS-GOVEA, F. E.; SANTOS, M. C.; KUNG, L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 101, n. 5, p. 3980–4000, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13839>.

PARDANG, P.; SONWAI, A.; PHOLCHAN, P.; NUNTAPHAN, A.; JUANGJANDEE, P.; TOTARAT, N. Potential of Lignin-Rich Grass, *Pennisetum purpureum* × *Pennisetum typhoideum*, as a Feedstock for Biogas Production. **Journal of Environmental Engineering**, [s. l.], v. 146, n. 8, p. 04020074, 2020. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001741](http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001741).

PARSAEE, M.; KIANI, M.; KARIMI, K. A review of biogas production from sugarcane vinasse. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 122, n. December 2018, p. 117–125, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.034>.

PATERLINI, E. M.; ARANTES, M. D. C.; GONÇALVES, F. G.; VIDAURRE, G. B.; BAUER, M. D. O.; MOULIN, J. C. Avaliação do capim elefante para uso energético. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 126–133, 2013. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/article/view/401>.

RAFIEE, A.; KHALILPOUR, K. R.; PREST, J.; SKRYABIN, I. Biogas as an energy vector. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 144, n. December 2020, p. 105935, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105935>.

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**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 861–877, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.008>.

RASAPOOR, M.; YOUNG, B.; BRAR, R.; SARMAH, A.; ZHUANG, W. Q.; BAROUTIAN, S. Recognizing the challenges of anaerobic digestion: Critical steps toward improving biogas generation. **Fuel**, [s. l.], v. 261, n. July 2019, p. 116497, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116497>.

REDDY, K. O.; MAHESWARI, C. U.; SHUKLA, M.; RAJULU, A. V. Chemical composition and structural characterization of Napier grass fibers. **Materials Letters**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 35–38, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2011.09.027>.

REIS, C. E. R.; HU, B. Vinasse from sugarcane ethanol production: Better treatment or better utilization? **Frontiers in Energy Research**, [s. l.], v. 5, n. APR, p. 1–7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fenrg.2017.00007>.

RITTMANN, B. E. Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms. **Biotechnology and Bioengineering**, [s. l.], v. 100, n. 2, p. 203–212, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bit.21875>.

SALOMON, K.; MARAFON, A.; FERREIRA, I.; SANTOS, A.; MARQUES, L.; MENDONÇA, Z.; FUONKE, M.; SOUZA, J.; AMORIM, E.; MENEGHETTI, S. **Atlas de Bioenergia de Alagoas 2015**. Maceió: EDUFAL, 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/321084992\\_Atlas\\_de\\_Bioenergia\\_de\\_Alagoas](https://www.researchgate.net/publication/321084992_Atlas_de_Bioenergia_de_Alagoas).

SALOMON, K. R. **Avaliação técnico-econômica e ambiental da utilização do biogás proveniente da biodigestão da vinhaça em tecnologias para geração de eletricidade**. 2007. 219 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Instituto de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2007.

SAWASDEE, V.; PISUTPAISAL, N. Feasibility of biogas production from napier grass. **Energy Procedia**, [s. l.], v. 61, p. 1229–1233, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2014.11.1064>.

SAWATDEENARUNAT, C.; SURENDRA, K. C.; TAKARA, D.; OECHSNER, H.; KHANAL, S. K. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 178, p. 178–186, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.103>.

SHRESTHA, S.; FONOLL, X.; KHANAL, S. K.; RASKIN, L. Biological strategies for enhanced hydrolysis of lignocellulosic biomass during anaerobic digestion: Current status and future perspectives. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 245, n. August, p. 1245–1257, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.089>.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Use of stillage and its impact on soil properties and groundwater. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 108–114, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662007000100014>.

SILVA, O. E. R. **Produção de biogás a partir da co-digestão anaeróbia de capim-elefante com vinhaça em reator em batelada**. 2020. 88 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.

STEIL, L. **Avaliação do uso de inóculos na biodigestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frangos de corte e suínos**. Orientador: Jorge de Lucas Júnior. 2001. 109 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/88047>.

SUN, H.; CUI, X.; LI, R.; GUO, J.; DONG, R. Ensiling process for efficient biogas production from lignocellulosic substrates: Methods, mechanisms, and measures. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 342, n. August, p. 125928, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125928>.

TONG, X.; SMITH, L. H.; MCCARTY, P. L. Methane fermentation of selected lignocellulosic materials. **Biomass**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 239–255, 1990. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0144-4565\(90\)90075-U](http://dx.doi.org/10.1016/0144-4565(90)90075-U).

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**, [s. l.], v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).

VASCO-CORREA, J.; KHANAL, S.; MANANDHAR, A.; SHAH, A. Anaerobic digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 247, n. September 2017, p. 1015–1026, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.004>.

VOLPI, M. P. C.; BRENELLI, L. B.; MOCKAITIS, G.; RABELO, S. C.; FRANCO, T. T.; MORAES, B. S. Use of Lignocellulosic Residue from Second-Generation Ethanol Production to Enhance Methane Production Through Co-digestion. **Bioenergy Research**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 602–616, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10293-1>.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. 2. 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**, [s. l.], v. 28, n. July 2018, p. 36–44, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.12.013>.

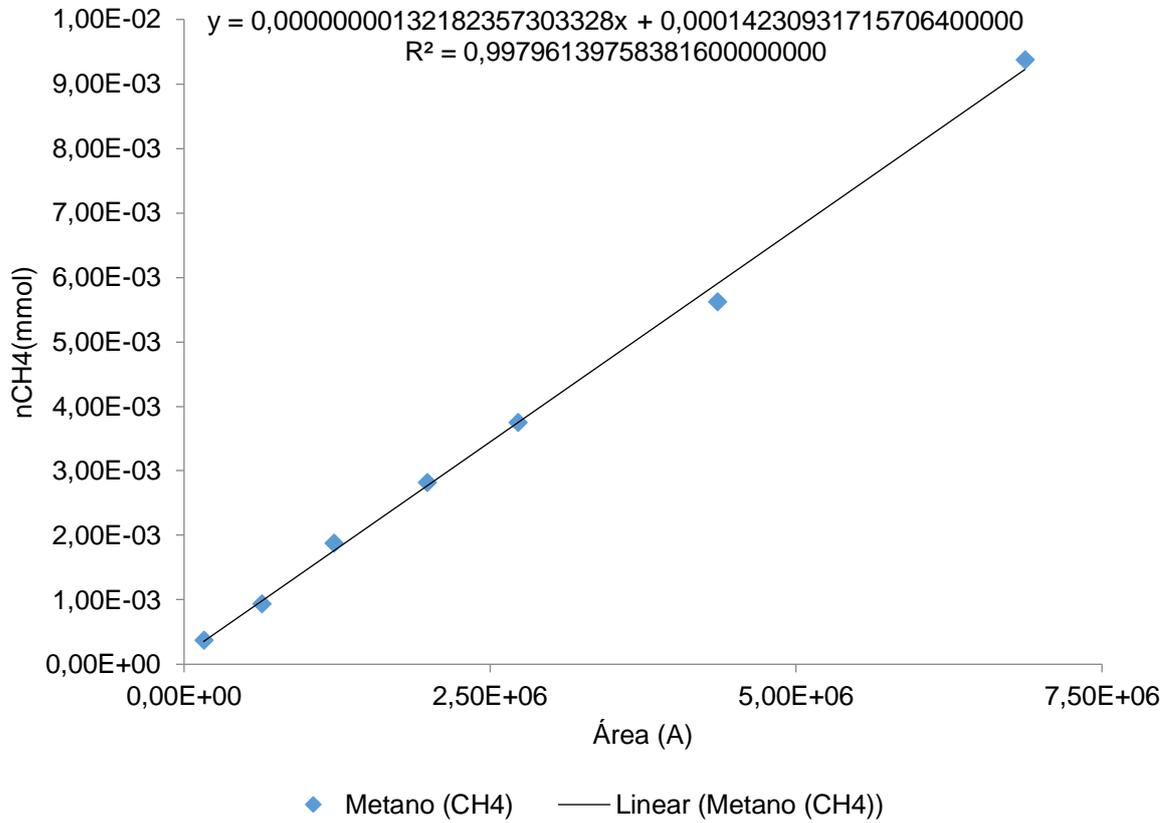
WELLINGER, A.; MURPHY, J.; BAXTER, D. **The Biogas Handbook: Science, Production and Applications**. Cambridge, England: Woodhead Publishing, 2013.

WEN, B.; YUAN, X.; LI, Q. X.; LIU, J.; REN, J.; WANG, X.; CUI, Z. Comparison and evaluation of concurrent saccharification and anaerobic digestion of Napier grass after pretreatment by three microbial consortia. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 175, p. 102–111, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.043>.

ZHANG, Y.; LI, L.; KANG, X.; SUN, Y.; YUAN, Z.; XING, T.; LIN, R. Improving methane production from Pennisetum hybrid by monitoring plant height and ensiling pretreatment. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 141, p. 57–63, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.03.084>.

## APÊNDICE A - CURVA PADRÃO DE METANO

Figura 39 - Curva padrão para conversão de área cromatográfica em quantidade de metano (mmol)



Fonte: Autora (2022)

## APÊNDICE B - TABELA GERAL DE CARACTERIZAÇÃO DOS REATORES

Tabela 16 - Análises físico-químicas dos reatores em fase inicial

Reator	pH	DQO (g/L)	Carboidratos (g/L)	Sólidos Totais (g/L)	Sólidos Totais Voláteis (g/L)	Sólidos Totais Fixos (g/L)
R1	7,04	6,78	1,25	17,120	4,312	12,808
R2	7,03	6,54	1,31	14,068	2,880	11,188
R3	7,04	5,68	1,27	20,100	4,952	15,148
R4	7,02	7,06	1,20	16,516	4,208	12,308
R5	7,04	5,54	1,06	15,844	5,488	10,356
R6	7,03	6,35	1,24	14,380	4,768	9,612
R7	7,02	5,30	1,33	18,712	5,312	13,400
R8	7,03	3,40	1,25	19,896	5,080	14,816
R9	7,02	5,45	1,36	15,556	5,320	10,236
R10	7,05	5,73	1,07	17,548	5,556	11,992
R11	7,02	6,82	1,02	15,296	2,996	12,300
R12	7,04	4,78	1,31	21,028	3,728	17,300
R13	7,03	4,97	1,22	16,948	4,408	12,540
R14	7,02	6,06	1,17	17,452	4,736	12,716
R15	7,04	6,78	1,21	16,908	4,700	12,208
C1	7,05	3,74	0,84	12,652	4,668	7,984
C2	7,04	3,72	0,86	11,492	4,324	7,168
C3	7,05	2,58	0,74	8,916	3,376	5,540
C4	7,03	3,41	0,84	6,504	4,484	2,020

Fonte: Autora (2022)

Tabela 17 - Análises físico-químicas dos reatores em fase final

Reator	pH	DQO (g/L)	Carboidratos (g/L)	Sólidos Totais (g/L)	Sólidos Totais Voláteis (g/L)	Sólidos Totais Fixos (g/L)
R1	7,44	2,65	0,42	14,456	3,344	11,112
R2	7,32	1,02	0,38	13,368	3,492	9,876
R3	7,25	2,43	0,38	17,840	3,740	14,100
R4	7,35	1,78	0,36	16,068	4,104	11,964
R5	7,38	1,65	0,38	12,928	3,368	9,560
R6	7,33	1,25	0,37	12,800	3,320	9,480
R7	7,38	1,89	0,39	18,728	4,040	14,688
R8	7,37	1,89	0,38	13,856	2,624	11,232

<b>Reator</b>	<b>pH</b>	<b>DQO (g/L)</b>	<b>Carboidratos (g/L)</b>	<b>Sólidos Totais (g/L)</b>	<b>Sólidos Totais Voláteis (g/L)</b>	<b>Sólidos Totais Fixos (g/L)</b>
<b>R9</b>	7,3	1,40	0,38	13,872	3,140	10,732
<b>R10</b>	7,31	3,74	0,40	16,036	4,080	11,956
<b>R11</b>	7,32	1,02	0,38	14,492	3,676	10,816
<b>R12</b>	7,28	1,82	0,36	19,612	4,372	15,240
<b>R13</b>	7,32	0,79	0,37	14,692	3,164	11,528
<b>R14</b>	7,36	1,02	0,37	15,056	3,824	11,232
<b>R15</b>	7,33	1,00	0,38	15,236	3,640	11,596
<b>C1</b>	6,05	2,16	0,41	11,848	4,088	7,760
<b>C2</b>	6,12	1,34	0,38	10,212	3,192	7,020
<b>C3</b>	5,91	1,10	0,36	9,132	3,268	5,864
<b>C4</b>	6,52	1,48	0,42	6,648	4,068	2,580

Fonte: Autora (2022)

## APÊNDICE C - RESULTADOS DA CROMATOGRAFIA

Tabela 18 - Resultados da cromatografia para os reatores R1–R15, em que T é o tempo, em horas, e M é a produção acumulada de metano, em mL.

R1		R2		R3		R4		R5		R6		R7		R8		R9		R10		R11		R12		R13		R14		R15			
T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M
17	0,86	17	0,79	17	0,74	18	0,87	18	0,80	18	0,76	18	0,78	18	0,77	19	0,82	19	0,75	19	0,80	19	0,76	19	0,79	20	0,78	20	0,77		
41	1,85	41	1,83	41	1,75	41	1,82	42	1,79	42	1,76	42	1,61	42	1,72	43	1,94	43	1,72	43	1,88	43	1,81	43	1,80	44	1,84	44	1,80		
64	2,95	64	2,98	65	3,04	65	3,05	65	2,93	65	2,92	65	2,75	66	2,92	66	3,13	66	2,86	66	3,07	66	3,04	67	3,00	67	3,10	67	3,03		
88	4,06	89	4,23	89	4,28	89	4,39	89	4,09	90	4,07	90	4,13	90	4,15	91	4,23	91	4,11	91	4,26	91	4,36	91	4,15	92	4,38	92	4,35		
159	5,22	161	5,58	161	5,55	161	5,71	161	5,37	161	5,56	162	5,31	162	5,33	162	5,46	162	5,39	162	5,58	163	5,80	163	5,39	163	5,66	163	5,58		
183	6,58	185	7,13	185	6,85	185	7,04	185	6,84	185	7,31	186	6,53	186	6,59	186	7,11	186	6,69	186	7,12	186	7,29	187	6,92	187	7,17	187	6,92		
206	8,04	208	8,59	208	9,07	208	8,36	208	8,73	209	9,25	209	7,70	209	7,74	209	8,52	209	7,87	210	8,49	210	8,69	210	8,28	210	8,98	210	8,26		
232	9,51	233	9,94	233	10,23	233	9,64	233	10,57	234	11,11	234	8,89	234	8,99	234	10,43	234	9,16	235	10,05	235	10,14	235	9,71	235	10,85	235	9,72		
254	11,16	255	11,58	255	11,46	255	11,03	256	12,54	256	13,10	256	10,08	256	10,38	256	12,37	257	10,44	257	11,47	257	11,65	257	11,20	257	12,59	258	11,31		
328	13,59	329	13,34	329	12,70	329	12,45	329	16,19	329	15,94	330	11,43	330	11,91	330	15,56	330	12,04	330	13,02	330	13,08	331	12,87	331	14,81	331	13,06		
352	16,02	353	15,18	353	13,93	353	13,87	353	20,63	353	19,34	354	12,79	354	13,47	354	19,29	354	13,62	354	14,68	355	14,67	355	14,53	355	17,79	355	15,05		
375	19,97	376	17,93	376	15,13	376	15,31	377	26,38	377	23,15	377	14,27	377	15,19	377	23,96	378	15,38	378	16,59	378	16,25	378	16,65	378	21,57	379	17,34		
399	23,85	400	20,66	400	16,47	400	16,71	401	33,13	401	27,33	401	15,81	401	17,21	401	29,35	402	17,19	402	18,59	402	17,84	402	18,76	402	25,36	403	19,78		
423	28,89	425	24,01	425	17,75	424	18,10	425	42,39	425	32,71	426	17,48	426	19,20	426	36,17	426	18,88	426	21,11	426	19,49	427	21,24	427	29,94	427	22,95		
495	38,18	496	29,93	497	19,05	496	19,72	497	55,73	497	41,16	497	19,71	498	21,98	498	46,91	498	20,99	498	25,23	498	21,27	498	25,39	499	37,90	499	27,44		
567	51,33	568	41,32	569	20,55	568	21,29	569	68,51	569	53,69	569	22,73	570	25,55	570	59,11	570	23,01	570	33,03	570	23,27	570	31,64	571	48,85	571	34,43		
591	63,59	593	52,73	593	22,33	592	22,92	593	85,84	593	67,55	593	26,42	594	29,39	594	72,45	594	25,49	594	42,50	595	25,46	595	39,30	595	60,87	595	43,17		
663	81,44	664	67,83	664	24,28	664	24,55	665	102,17	665	82,46	665	31,15	665	35,36	666	89,81	666	27,76	666	60,04	666	27,58	666	51,68	666	75,85	667	56,29		
687	94,54	688	82,35	689	26,16	688	26,20	689	117,10	689	96,13	689	36,59	689	41,58	690	103,76	690	30,13	690	72,85	690	29,90	690	64,41	691	90,31	691	68,75		
711	108,33	712	94,50	713	27,99	712	27,86	713	132,43	713	109,26	713	42,76	714	48,42	714	119,62	714	32,54	714	89,81	714	32,10	714	78,06	715	106,46	716	82,95		
735	123,70	736	109,55	736	30,02	735	29,46	737	147,93	737	122,46	737	49,79	737	57,08	737	136,96	738	35,01	738	106,13	738	34,72	738	94,16	738	123,42	739	97,07		
760	138,10	761	122,99	761	32,13	760	31,14	762	163,03	762	137,59	762	57,92	762	67,02	762	150,83	762	37,60	763	120,50	763	37,31	763	109,92	763	140,21	763	111,95		

R1		R2		R3		R4		R5		R6		R7		R8		R9		R10		R11		R12		R13		R14		R15			
T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M
832	155,14	833	138,15	833	34,30	832	32,84	834	178,50	834	151,30	834	69,90	834	78,38	834	165,77	834	40,20	835	136,00	835	39,69	835	125,44	835	156,33	835	127,65		
878	171,44	879	154,79	879	37,45	878	34,70	879	196,43	880	166,13	880	84,20	880	92,67	880	182,90	880	43,04	881	154,12	881	42,25	881	142,90	881	174,77	881	143,25		
927	186,91	928	173,30	929	39,62	928	36,43	929	211,56	929	182,22	929	100,30	930	108,00	930	203,13	930	45,80	930	170,06	931	44,97	931	159,61	931	193,04	931	159,51		
999	202,66	999	191,84	1001	42,31	1000	38,43	1001	227,29	1001	195,70	1001	117,38	1002	124,20	1002	217,90	1002	47,80	1003	185,10	1003	47,44	1003	176,33	1003	212,15	1003	175,77		
1047	222,74	1047	210,79	1049	45,23	1048	40,56	1049	243,36	1049	209,99	1049	133,77	1050	139,22	1050	236,28	1050	50,61	1050	200,80	1050	50,26	1051	192,76	1051	232,07	1051	194,80		
1095	239,71	1095	226,65	1097	47,93	1096	42,43	1097	260,13	1097	226,85	1098	150,20	1098	154,70	1098	256,28	1098	53,18	1099	218,58	1099	52,94	1099	210,32	1099	250,78	1099	211,96		
1167	258,43	1167	243,17	1168	51,23	1168	44,24	1169	277,58	1169	243,16	1168	166,83	1169	168,78	1170	275,70	1170	55,74	1170	237,39	1170	56,00	1170	229,31	1170	270,36	1171	229,32		
1240	277,39	1240	261,24	1241	55,01	1240	45,97	1241	295,14	1242	259,84	1241	183,92	1242	185,46	1242	295,61	1242	58,28	1243	257,48	1243	59,08	1243	249,20	1243	289,87	1243	246,53		
1336	296,66	1336	279,07	1337	59,13	1336	47,86	1337	311,98	1338	275,87	1337	199,60	1338	202,49	1338	319,00	1338	60,82	1339	274,45	1339	62,43	1339	267,94	1339	309,02	1339	265,63		
1383	315,44	1383	298,91	1385	63,83	1384	49,73	1385	330,16	1385	291,45	1384	216,31	1386	219,22	1386	345,32	1386	63,60	1386	293,68	1386	66,17	1387	287,45	1387	328,93	1387	285,12		

Fonte: Autora (2022)

Tabela 19 - Resultados da cromatografia para os reatores C1–C5, em que T é o tempo, em horas, e M é a produção acumulada de metano, em mL

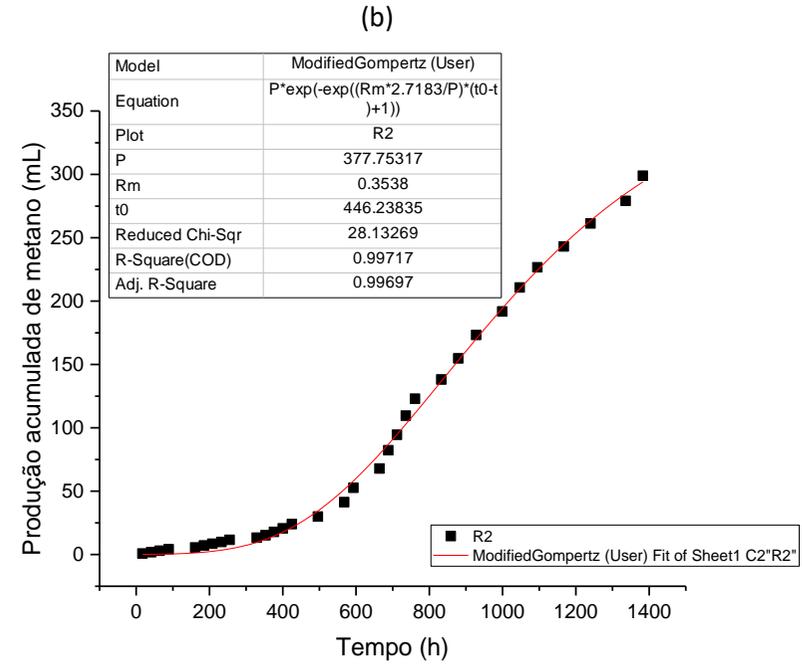
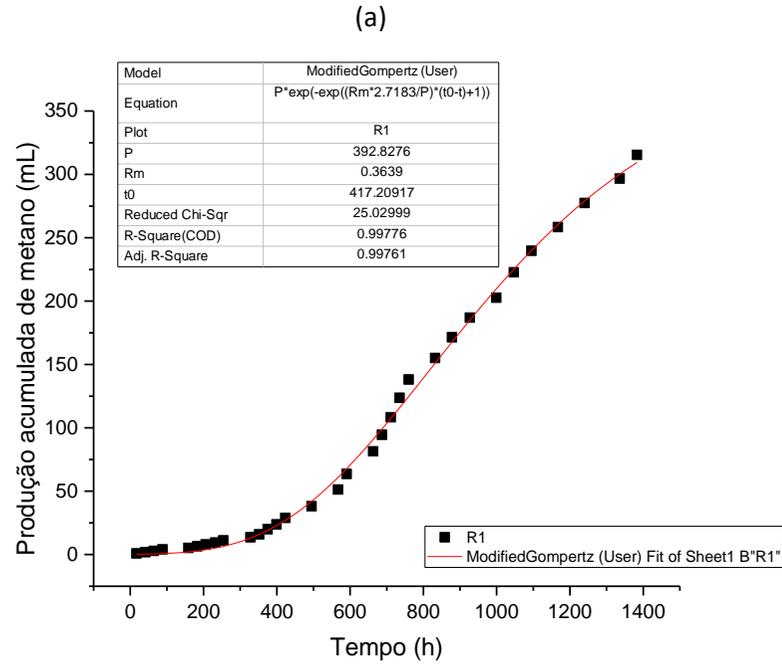
C1		C2		C3		C4		C5	
T	M	T	M	T	M	T	M	T	M
20	0,79	20	0,74	20	0,78	20	0,74	21	0,78
44	1,70	44	1,62	44	1,65	44	1,60	45	1,52
67	2,65	67	2,61	68	2,63	68	2,49	68	2,25
92	3,64	92	3,67	92	3,64	93	3,41	93	3,00
163	4,92	164	5,22	164	5,09	164	4,49	164	3,85
187	6,49	187	7,10	188	6,79	188	5,79	188	4,79
210	8,15	211	9,00	211	8,27	211	7,48	211	5,71
236	9,91	236	10,95	236	9,78	236	9,05	236	6,73
258	11,61	258	12,76	258	11,31	258	10,79	258	7,71
331	13,44	331	15,04	332	12,84	332	14,30	332	8,81

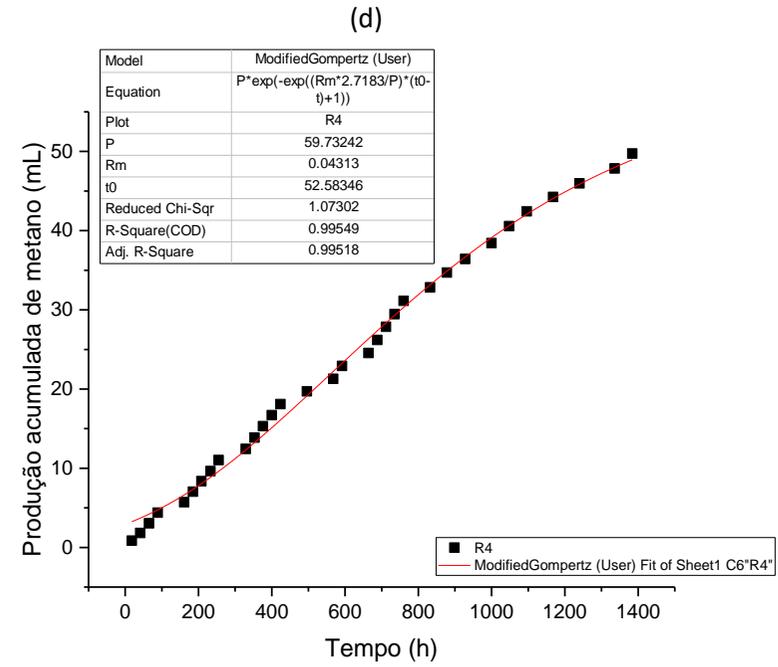
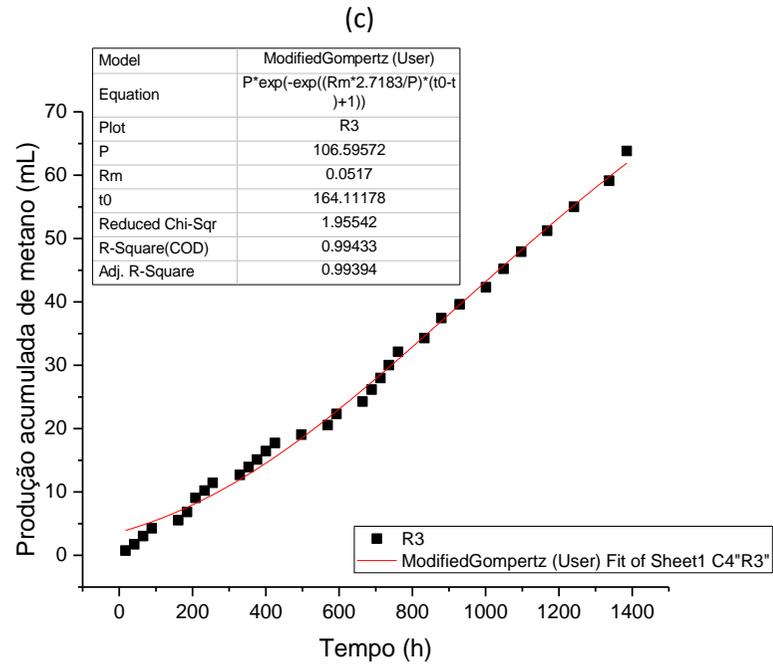
C1		C2		C3		C4		C5	
T	M	T	M	T	M	T	M	T	M
355	15,21	355	17,23	356	14,32	356	18,94	356	9,94
379	17,30	379	19,37	379	16,05	379	25,24	379	11,14
403	19,59	403	21,55	403	17,55	403	32,63	404	12,49
427	21,89	427	23,66	428	19,07	428	42,15	428	13,83
499	24,60	499	25,92	499	20,87	500	53,23	500	15,67
571	27,49	571	28,16	571	22,85	572	64,87	572	17,89
595	30,44	596	30,61	596	24,74	596	75,87	596	20,52
667	33,31	667	32,78	667	26,82	667	86,79	668	23,21
691	36,49	691	35,06	691	28,75	691	97,53	692	25,61
716	39,34	716	37,79	716	30,79	716	109,13	716	28,12
739	42,39	739	40,07	739	32,81	739	120,32	740	31,02
764	45,50	764	42,25	764	34,92	764	130,92	764	33,82
836	48,74	836	44,65	836	37,15	836	142,62	836	36,86
882	51,92	882	47,17	882	39,44	882	153,72	882	39,95
931	55,00	932	49,82	932	41,68	932	165,07	932	43,42
1003	58,41	1004	52,32	1004	44,01	1004	176,74	1004	47,12
1051	61,81	1051	55,15	1051	46,70	1052	188,52	1052	50,81
1100	65,14	1100	58,19	1100	49,42	1100	200,54	1100	54,84
1171	68,87	1171	61,48	1171	52,12	1171	212,16	1172	58,89
1243	72,73	1244	65,37	1244	55,02	1244	223,74	1244	63,45
1340	77,16	1340	70,94	1340	57,93	1340	235,04	1340	67,82
1387	82,84	1387	78,44	1387	61,23	1388	247,12	1388	72,53

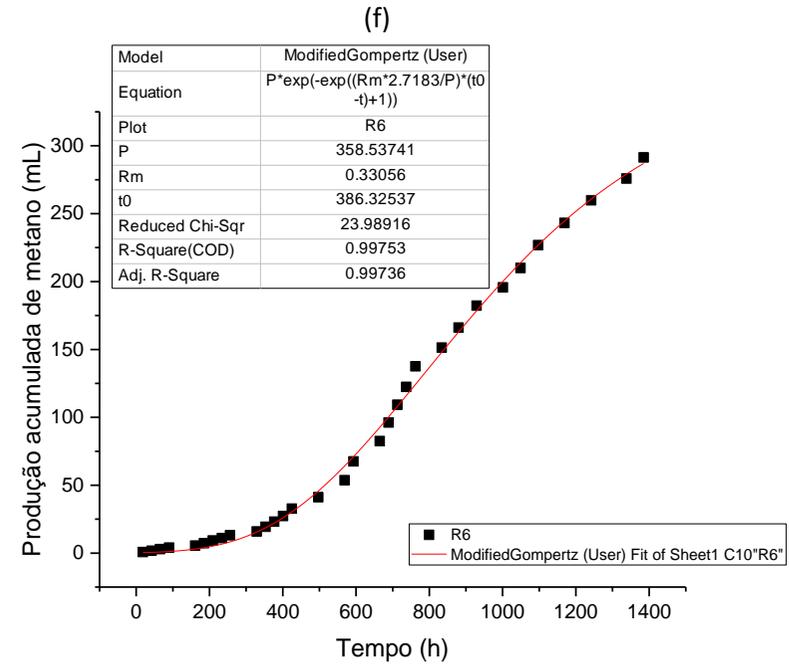
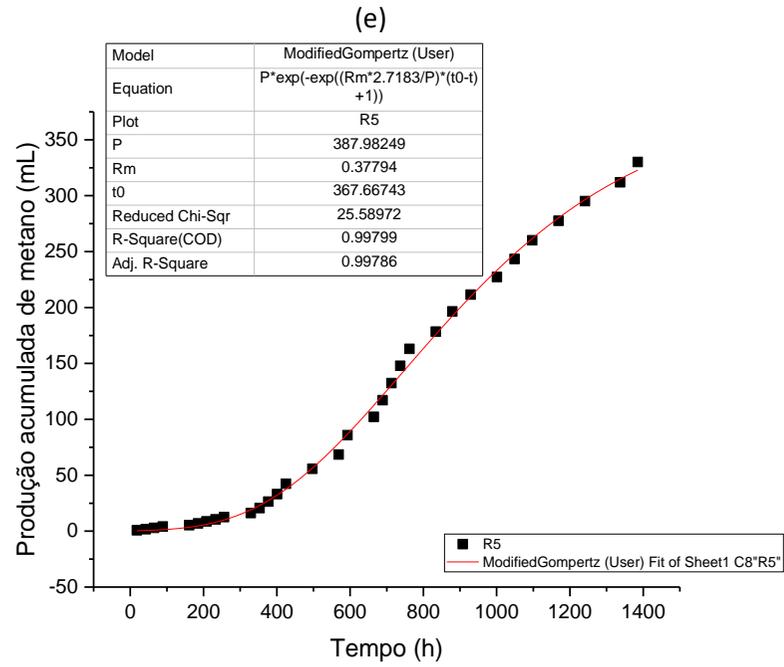
Fonte: Autora (2022)

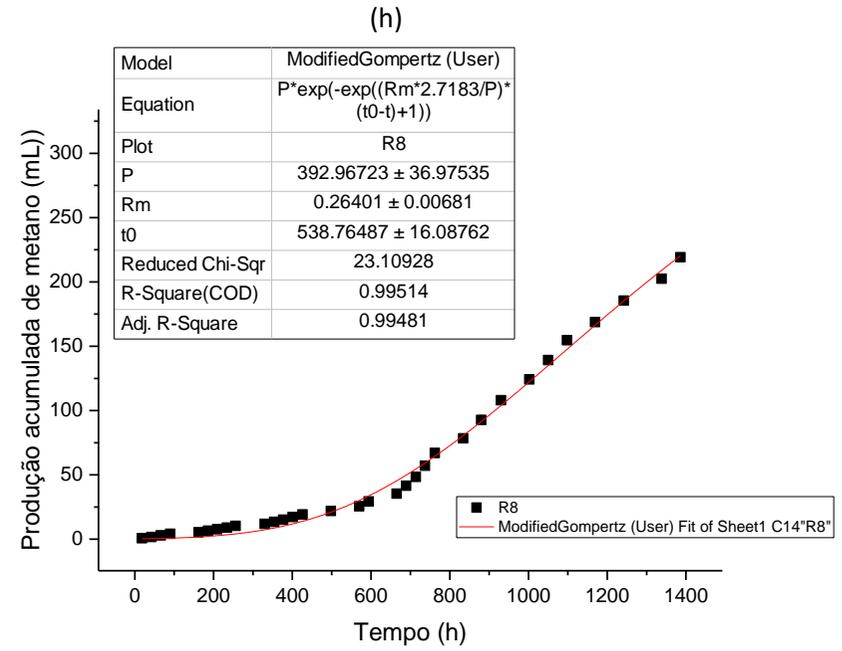
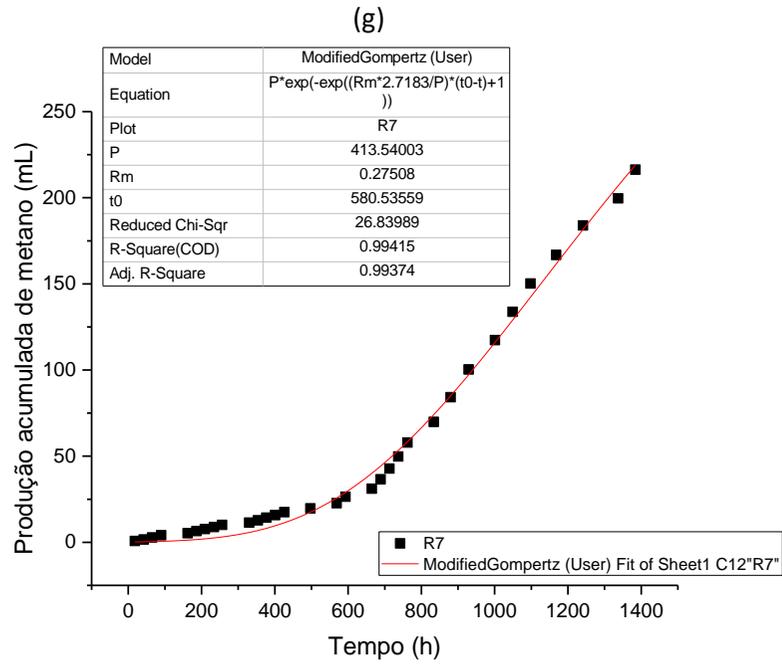
## APÊNDICE D - CURVAS DE PRODUÇÃO AJUSTADAS

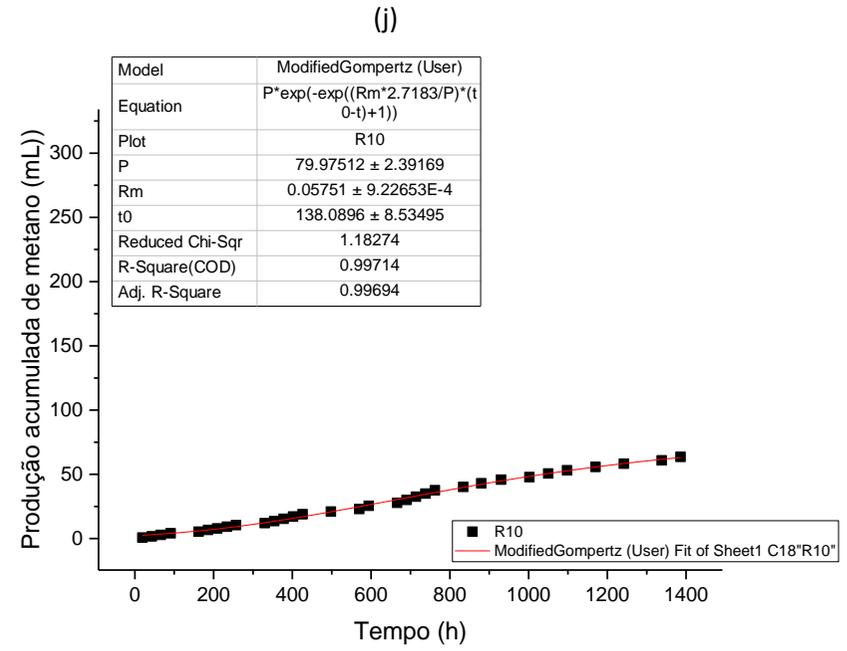
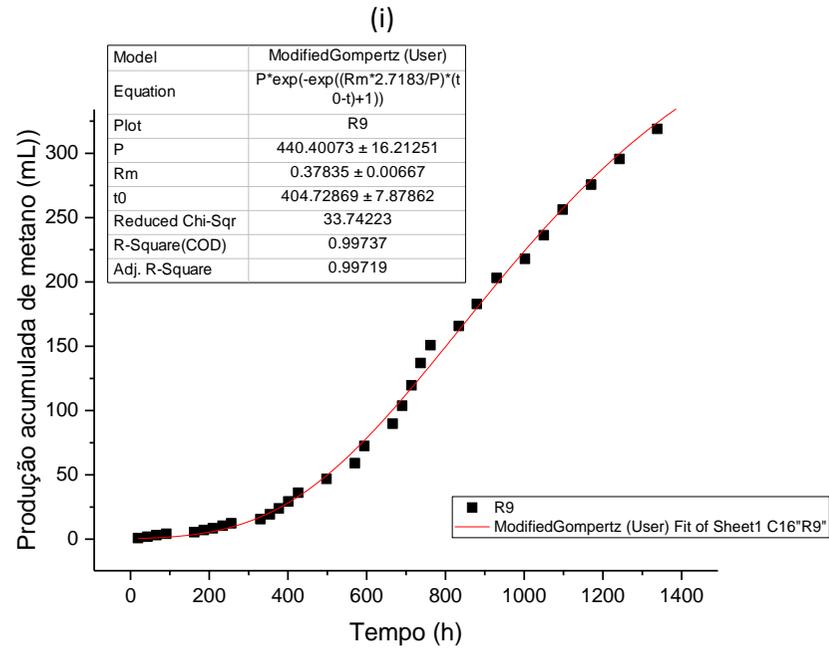
Figura 40 - Produção acumulada de metano (CH<sub>4</sub>) no *headspace* (mL), ajustada à sigmoide modificada de Gompertz para os reatores: (a) R1; (b) R2; (c) R3; (d) R4; (e) R5; (f) R6; (g) R7; (h) R8; (i) R9; (j) R10; (k) R11; (l) R12; (m) R13; (n) R14; (o) R15; (p) C1; (q) C2; (r) C3; (s) C4 e (t) C5.



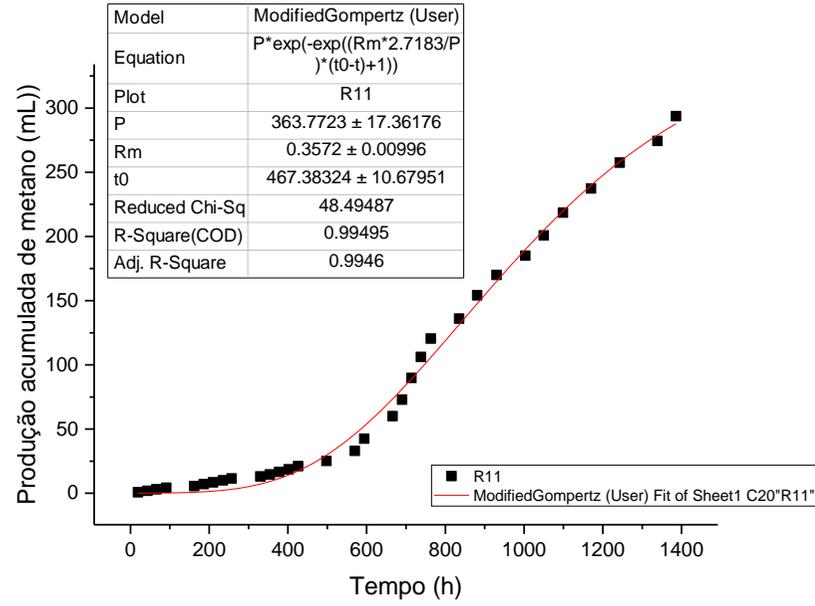




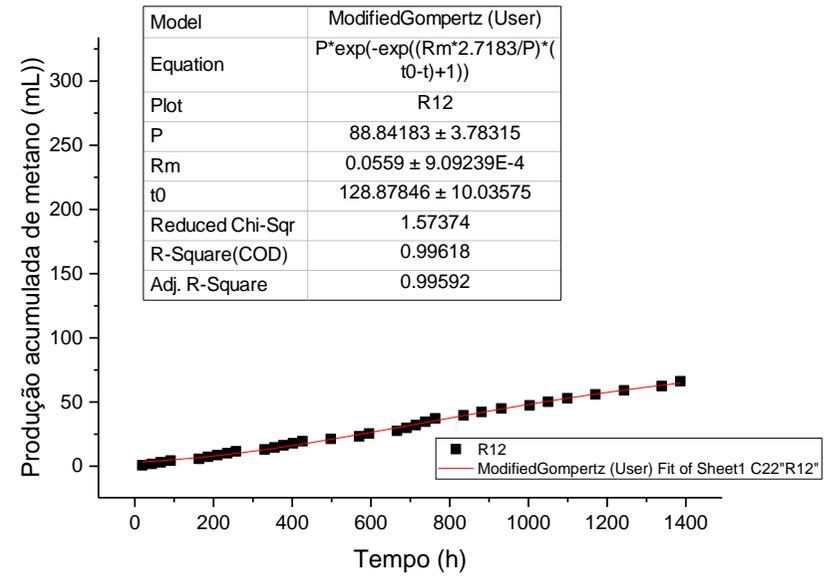




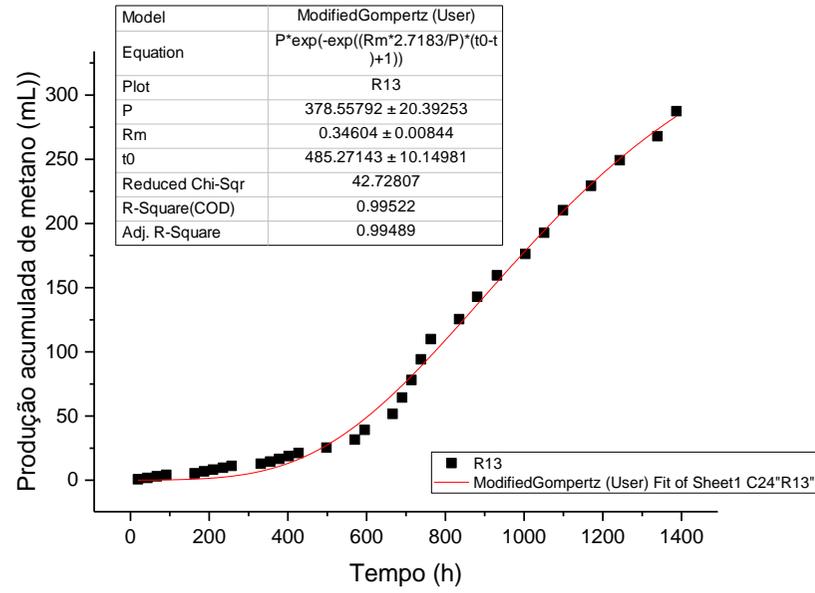
(k)



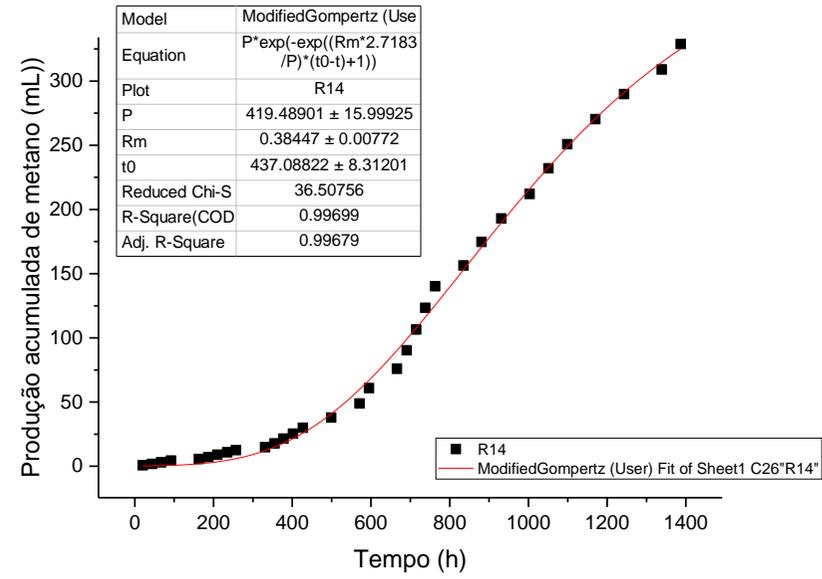
(l)

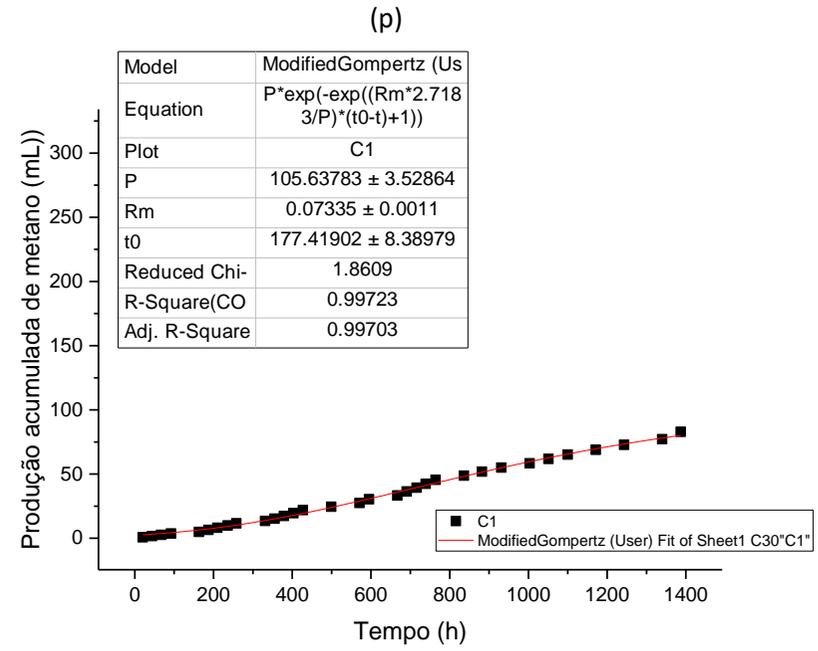
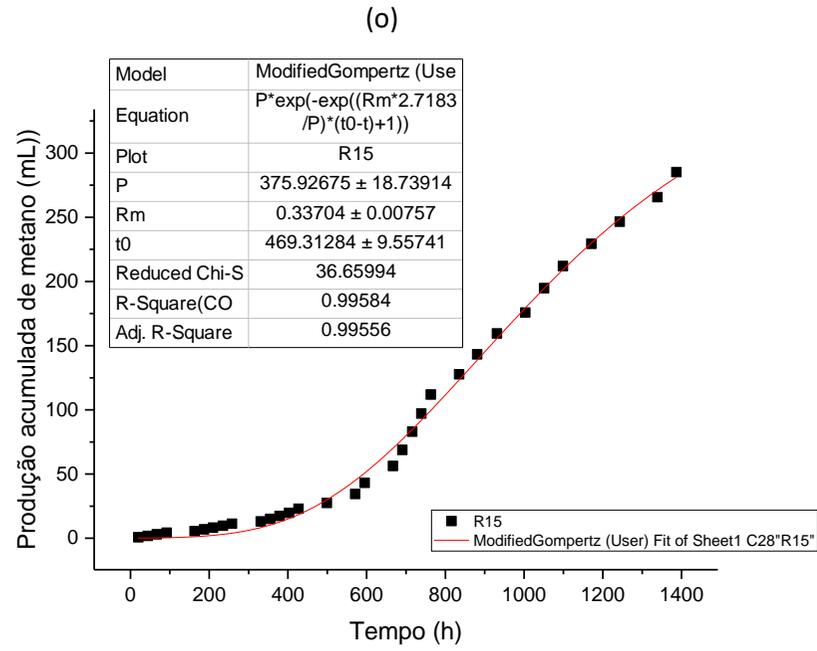


(m)

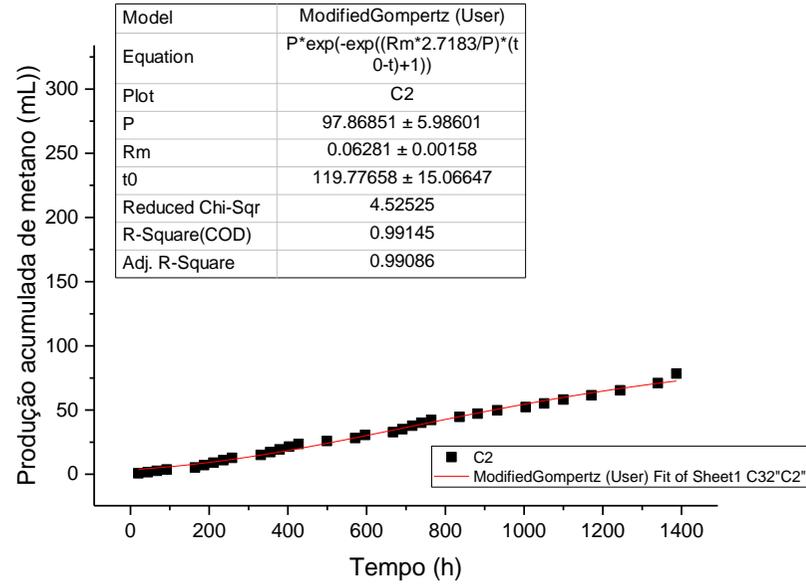


(n)

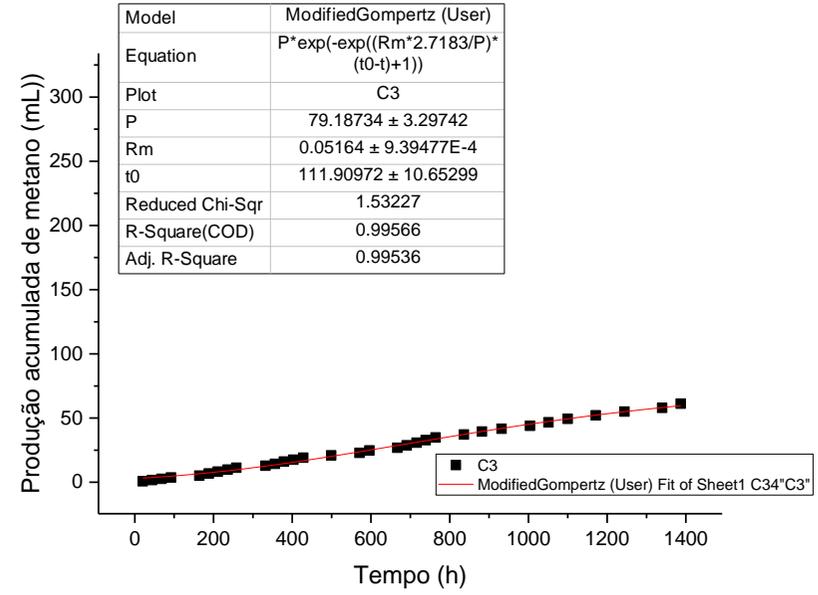


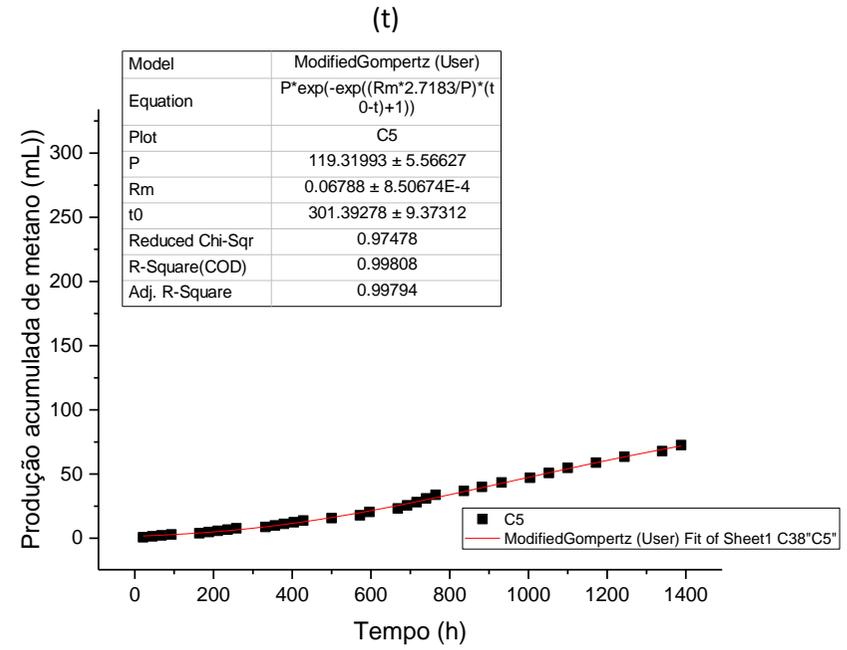
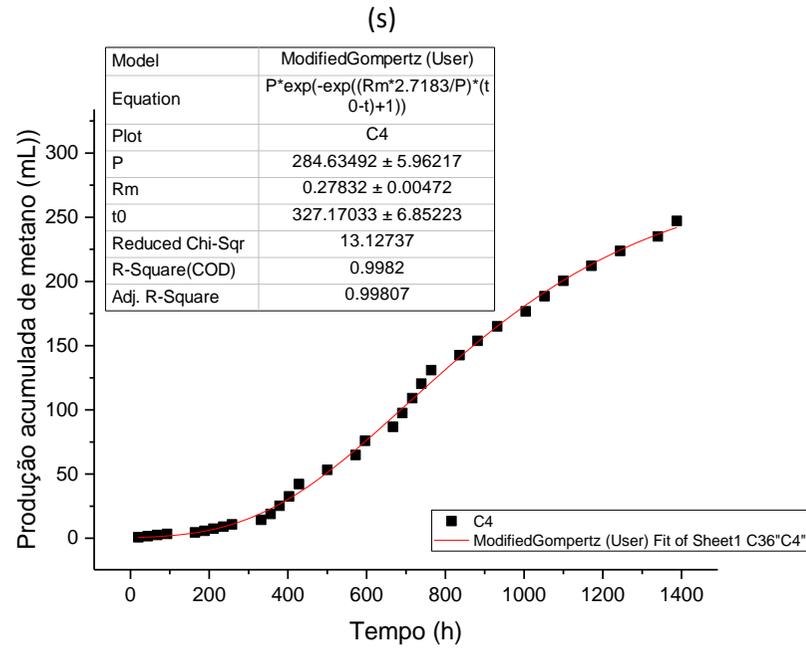


(q)



(r)





Fonte: Autora (2022)