

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

GEOVANNA DAMACENA DA SILVA GALDINO

Produção de metano em reator em batelada a partir da co-digestão de bagaço
de cana-de-açúcar e dejetos líquidos da suinocultura

São Carlos

2024

GEOVANNA DAMACENA DA SILVA GALDINO

Produção de metano em reator em batelada a partir da co-digestão de bagaço
de cana-de-açúcar e dejetos líquidos da suinocultura

Versão Original

Monografia apresentada ao Curso de
Engenharia Ambiental, da Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Engenheiro Ambiental.

Orientador: Dra. Camila Abreu Borges da
Silva Rabelo.

São Carlos

2024

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

Galdino, Geovanna Damacena da Silva
G149p Produção de metano em reator em batelada a partir da co-digestão de bagaço de cana-de-açúcar e dejetos líquidos da suinocultura/
Geovanna Damacena da Silva Galdino; orientadora Camila Abreu Borges da Silva Rabelo. São Carlos, 2024.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2024.

1. Lignocelulose. 2. Biogás. 3. Digestão anaeróbia. 4. Metanogênese hidrogenotrófica. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): Geovanna Damacena da Silva Galdino

Data da Defesa: 08/11/2024

Comissão Julgadora:

Dra. Camila Abreu Borges da Silva Rabelo (Orientador(a))

Professor Lucas Tadeu Fuess


Me. Vitor Alves Lourenço

Resultado:

Aprovada.

Aprovado

Aprovado


Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091 - Trabalho de Graduação

DEDICATÓRIA

*A minha mãe, Vanessa Damacena
por acreditar e me incentivar
diariamente. E aos meus amigos pelo
apoio durante a trajetória.*

AGRADECIMENTOS

A Prof. Dra. Maria Bernadete, por aceitar me orientar na iniciação científica, acompanhando todo o processo, com incentivo e prestatividade, o que proporcionou a execução desta pesquisa.

A Dra. Camila, agradeço pela confiança ao aceitar me orientar e por fazê-la com paciência, incentivo e prestatividade.

Ao M.e Vitor Lourenço pelo auxílio para a realização das análises laboratoriais e desenvolvimento da iniciação científica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de iniciação científica (Processo nº 133486/2023-0), que proporcionou a execução desta pesquisa.

À Escola de Engenharia de São Carlos e à Universidade de São Paulo, bem como aos seus colaboradores e contribuintes.

A todos os professores da USP por compartilharem conhecimento e estimular o pensamento crítico.

Às amigas que construí em São Carlos, em especial aos meus amigos Victoria Oliveira, Miguel Mendonça, Sara Alves e Henrique Polakiewicz, pelo apoio prestado durante toda a graduação e aos momentos que a tornaram inesquecível.

E, com gratidão especial, a minha mãe por todo o apoio, incentivo e ensinamentos, por ser um exemplo e me motivar a seguir em frente diariamente.

“Tive um pouco de sorte, mas devo acrescentar, que grande parte dessa sorte, foi arranjada por mim. Aquilo que comumente é chamado de sorte, nada mais é, realmente, do que poder localizar sua oportunidade, pular sobre ela e não mais a largar. ”

Lord Baden-Powell (1922)

RESUMO

GALDINO, G. D. S. **Obtenção de metano em reator em batelada a partir da co-digestão de bagaço de cana-de-açúcar e dejetos líquidos da suinocultura.** 2024. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2024.

A co-digestão de esterco suíno com bagaço de cana-de-açúcar (BCA) é uma alternativa promissora para a digestão anaeróbia, pois esses resíduos orgânicos fornecem compostos biodegradáveis, melhoram a capacidade tampão e a relação C:N do sistema. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as condições ótimas de produção (CH_4) e rendimento de metano (P) a partir da co-digestão de esterco suíno com BCA, com diferentes faixas de concentrações BCA ($1,72$ a $58,28 \text{ g.L}^{-1}$) e de temperatura ($18,79$ a $61,21 \text{ }^\circ\text{C}$) através de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Foram analisados parâmetros físico-químicos, como pH, fenóis totais, demanda química de oxigênio (DQO), carboidratos totais, sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV), além da composição microbiana via sequenciamento 16S. Observou-se declínio no rendimento de CH_4 com concentrações superiores a 10 g.L^{-1} de BCA, já que a menor concentração de BCA no ensaio R9 (30 g.L^{-1} de BCA e $40 \text{ }^\circ\text{C}$) resultou em aumento de P ($94,16 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$). Houve também inibição da produção de CH_4 em temperaturas tanto na faixa termofílica quanto psicrófila. Ademais, houve diminuição no rendimento de CH_4 em ensaios com maiores concentrações de fenóis finais, conforme verificado nos ensaios do ponto central (R9, R10 e R11) com 30 g.L^{-1} de BCA e conduzidos a $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Em tais ensaios, as concentrações de fenóis ao final da incubação foram de $1.403,8$, $2.331,9$ e $2.453,2 \text{ mg.L}^{-1}$, e os valores de P foram de $94,16$, $100,71$ e $95,29 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$, respectivamente. Por meio da análise das superfícies de respostas, foi observado que o ponto ótimo dentro do intervalo investigado para P foi à $55 \text{ }^\circ\text{C}$ e com 10 g.L^{-1} de BCA, com predição de $137,26 \pm 34,0 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$ para P e $4,46 \pm 1,48 \text{ h}$ para λ . Verificou-se para o ensaio de validação (10 g.L^{-1} de BCA e $55 \text{ }^\circ\text{C}$) valor de P de $185,88 \pm 19,66 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$ e λ de $5,42 \pm 0,82 \text{ h}$, indicando boa correlação com o modelo estatístico. De acordo com os principais microrganismos identificados nos ensaios R2 e R4 (10 g.L^{-1} e 50 g.L^{-1} , ambas a 55°C), foi possível inferir que a via metanogênica hidrogenotrófica foi predominante na produção de CH_4 . Além disso, no ensaio R4, com maior concentração de BCA (50 g.L^{-1}), ocorreu um aumento na disponibilização de acetato, favorecendo o desenvolvimento de arqueas acetoclásticas.

Palavras-chave: Lignocelulose; Biogás; Digestão anaeróbia; Metanogênese hidrogenotrófica

ABSTRACT

GALDINO, G. D. S. **Obtaining methane in a batch reactor from the co-digestion of sugarcane bagasse and liquid swine manure.** 2024. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2024.

The co-digestion of pig manure with sugarcane bagasse (SCB) is a promising alternative for anaerobic digestion, as this organic waste provides biodegradable compounds, improves the buffer capacity and the C:N ratio of the system. Thus, the aim of this study was to evaluate the optimum conditions for production (CH_4) and methane yield (P) from the co-digestion of pig manure with SCB, with different ranges of SCB concentrations (1.72 to 58.28 g.L^{-1}) and temperature (18.79 to $61.21 \text{ }^\circ\text{C}$) using a Rotational Central Composite Design (RCCD). Physico-chemical parameters were analyzed, such as pH, total phenols, chemical oxygen demand (COD), total carbohydrates, total solids (TS) and volatile solids (VS), as well as microbial composition via 16S sequencing. There was a decline in CH_4 yield with concentrations above 10 g.L^{-1} of SCB, since the lowest concentration of SCB in test R9 (30 g.L^{-1} of SCB and $40 \text{ }^\circ\text{C}$) (resulted in an increase in P ($94.16 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$)). CH_4 production was also inhibited at temperatures in both the thermophilic and psychrophilic ranges. In addition, there was a decrease in CH_4 yield in trials with higher concentrations of final phenols, as seen in the central point trials (R9, R10 and R11) with 30 g.L^{-1} of SCB and conducted at $40 \text{ }^\circ\text{C}$. In these trials, the phenol concentrations at the end of incubation were $1,403.8$, $2,331.9$ and $2,453.2 \text{ mg.L}^{-1}$, and the P values were 94.16 , 100.71 and $95.29 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$, respectively. Response surface analysis showed that the optimum point within the range investigated for P was at $55 \text{ }^\circ\text{C}$ and with 10 g.L^{-1} of SCB, with a prediction of $137.26 \pm 34.0 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$ for P and $4.46 \pm 1.48 \text{ h}$ for λ . The validation test (10 g.L^{-1} of BCA and $55 \text{ }^\circ\text{C}$) showed a P value of $185.88 \pm 19.66 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{ST}$ and λ of $5.42 \pm 0.82 \text{ h}$, indicating good correlation with the statistical model. According to the main microorganisms identified in trials R2 and R4 (10 g.L^{-1} and 50 g.L^{-1} , both at 55°C), it was possible to infer that the hydrogenotrophic methanogenic pathway was predominant in CH_4 production. Furthermore, in trial R4, with a higher concentration of SCB (50 g.L^{-1}), there was an increase in the availability of acetate, favoring the development of acetoclastic archaea.

Keywords: Lignocellulose; Biogas; Anaerobic digestion; Hydrogenotrophic methanogenesis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Fluxograma com os principais fatores, suas consequências e possíveis soluções que afligem o processo de co-digestão.....	24
Figura 2 - Fluxograma experimental simplificado.....	26
Figura 3 - Rendimento de CH ₄ nos ensaios realizados com diferentes concentrações de BCA e de inóculo, de acordo com a matriz de DCCR.	33
Figura 4 - Valores iniciais (i) e finais (f) de matéria orgânica (A), carboidratos TOTAIS (B) e fenóis totais (C) dos ensaios do DCCR.	37
Figura 5 - Superfícies de respostas e curvas de contorno das respostas P (A) e λ (B).....	40
Figura 6 - Rendimento de CH ₄ do ensaio de validação (55 °C e 10 g BCA L ⁻¹).	41
Figura 7 - Abundância relativa referente aos 5 principais Filos de Bactérias identificados	45
Figura 8 - Abundância relativa referente aos 5 principais Filos de Arqueas identificados	46
Bookmark not defined.	
Figura 9 - Condições utilizadas no ensaio de otimização da co-digestão de BCA e dejetos de suinocultura	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Diferentes Microrganismos identificados em processos de digestão anaeróbia.....	21
Tabela 2 - Condições mínimas (-1), máximas (+1), axiais ($\pm\alpha$) e do ponto central (0) para as diferentes variáveis estudadas (x1-x2), no presente projeto de pesquisa.	28
Tabela 3 – Caracterização físico-química dos co-substratos.....	31
Tabela 4 - Caracterização físico-química do BCA	31
Tabela 5 - Variáveis independentes (X1 e X2) e respostas (Y1, Y2 e Y3) obtidas para os ensaios de DCCR.....	32
Tabela 6 - Modelos de regressão para as respostas investigadas	39
Tabela 7 - ANOVA referente as respostas P, Rm e λ	40
Tabela 8 - Diferentes resultados obtidos para a otimização da co-digestão de dejetos da suinocultura.	42
Tabela 9 - Índices ecológicos obtidos pelo sequenciamento do gene 16S rRNA via plataforma Illumina Hiseq a partir dos ensaios R2 e R4.	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCA	–	Bagaço de Cana de Açúcar
DCCR	–	Delineamento Composto Central Rotacional
ST	–	Sólidos Totais
SV	–	Sólidos Voláteis
P	–	Rendimento de CH ₄ em termos de ST adicionados
R_m	–	Velocidade máxima de produção CH ₄
λ	–	Tempo para o início da produção de CH ₄

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo principal	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Utilização de biomassa lignocelulósica para a geração de energia	16
3.2 Dejetos da suinocultura	18
3.3 Microrganismos e sua influência na digestão anaeróbia	19
3.4 Conversão da biomassa para geração de biocombustíveis através da co-digestão anaeróbia	21
3.5 Fatores que afligem o processo de co-digestão	22
3.5.1 Delineamento composto central rotacional (DCCR)	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 Fluxograma Experimental	26
4.2 Coleta e Caracterização dos Resíduos	26
4.2.1. Coleta e Armazenamento	26
4.2.1. Inóculo	27
4.3 Ensaios Cinéticos em Batelada	27
4.3.1. Delineamento Composto Central Rotacional	27
4.4 Análises Físico-Químicas	28
4.4.1. Análises físico-químicas	28
4.4.2. Análise da composição do biogás	29
4.5 Análise de Dados	29
4.5.1. Ajuste dos dados experimentais	29
4.6 Caracterização da comunidade microbiana	29
5 RESULTADOS & DISCUSSÕES	30
5.1 Caracterização dos Substratos e Inóculo	30
5.2 Produção de metano	31
5.3 Caracterização Físico-Química	36
5.4 Otimização da Produção de CH ₄ e Validação	39
5.5 Caracterização da Comunidade Microbiana	43
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
7 CONCLUSÃO	49
8 REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A produção anual global de biomassa de lignocelulósica é de aproximadamente 181,5 bilhões de toneladas, das quais apenas 8,2 bilhões de toneladas são utilizadas por diferentes áreas de aplicação. (MUJTABA *et al.*, 2023). A biomassa residual, quando descartada incorretamente, pode causar significativa degradação ambiental, devido a liberação de gases tóxicos, como o dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio e dióxido de carbono. Nesse contexto, a sua utilização para a produção de energia e combustíveis surge como uma alternativa promissora, contribuindo para a redução da degradação ambiental. Essa abordagem pode promover a bioeconomia circular, transformando resíduos em recursos valiosos e favorecendo a sustentabilidade no longo prazo. (SHAH *et al.*, 2022).

A biodigestão anaeróbia é uma alternativa para o tratamento de resíduos orgânicos, pois realiza a conversão desses compostos em substâncias mais simples, como o metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂). Esse processo ocorre pela ação de diversos microrganismos que se desenvolvem na ausência de oxigênio, resultando na estabilização do material e na produção de biogás, que pode ser utilizado como fonte alternativa de energia (WINKLER *et al.*, 2024).

O bagaço de cana-de-açúcar (BCA), representa grande parcela da biomassa lignocelulósica gerada no Brasil, apenas na safra de 2023/2024, a moagem da cana atingiu 654.434 milhões de toneladas (UNICA, 2024), no qual grande parte dessa quantidade tem sido utilizada na co-geração de energia elétrica por meio da sua queima em caldeiras para a geração de vapor. Composto por cerca de 45-50% de água e 40-45% de fibras, formadas por hemicelulose e lignina (MUNAGALA & SHASTRI, 2020), o BCA é uma matéria-prima promissora para a digestão anaeróbia devido à sua composição orgânica. Esse processo permite o manejo adequado desses resíduos e a obtenção de CH₄ a partir do biogás, oferecendo uma solução ecologicamente correta, que contribui para a sustentabilidade e redução do impacto ambiental. (BRITO, 2011).

Entretanto, devido as características intrínsecas do BCA, como a falta de carboidratos solúveis prontamente disponíveis e nutrientes nitrogenados essenciais para o desenvolvimento e atividade dos microrganismos, bem como a formação de compostos recalcitrantes devido à lenta hidrólise dos substratos, acaba sendo um desafio para o processo de digestão anaeróbia. Assim, a co-digestão do BCA com substratos ricos em nitrogênio surge como uma alternativa eficaz, melhorando a eficiência do processo e aumentando a produção de metano (BADSHAH *et al.*, 2012).

No Brasil, a produção de carne suína representa cerca de 3,75 milhões de toneladas anualmente, posicionando o país como o quarto maior produtor mundial (ANTONELI *et al.*, 2019). No entanto, o manejo adequado dos dejetos gerados nas fazendas de suinocultura representa um grande desafio para a expansão da atividade. Em muitas regiões, esses resíduos não recebem o tratamento adequado e acabam sendo despejados em corpos d'água ou no solo, resultando em contaminação e potencial poluição ambiental (ANTONELLI, 2013).

Apesar de existirem alternativas que visam o reuso de dejetos de suínos, como sua aplicação na forma de fertilizante em fábricas, o processo de digestão anaeróbia tem sido cada vez mais explorado (ORRICO *et al.* 2015). Entretanto, devido as suas características intrínsecas, como o baixo teor de carbono e a elevada alcalinidade, o seu processo de digestão anaeróbia deve possuir substratos adicionais tipicamente carbonáceos e com alto teor orgânico (CARDONA *et al.*, 2019. LATHA *et al.*, 2019. WICKHAM *et al.*, 2019). Portanto, a co-digestão anaeróbia dos dejetos líquidos de suínos com BCA é uma alternativa promissora para o aumento da produção de CH₄. A combinação proporciona a disponibilidade de compostos nitrogenados dos dejetos suínos e de carbono do BCA, equilibrando a composição nutricional e favorecendo o desenvolvimento microbiano, o que pode melhorar a eficiência do processo.

A metanogênese é a fase mais sensível do processo de biodigestão, visto que os microrganismos presentes são altamente suscetíveis a mudanças bruscas no ambiente, o que pode resultar em alterações na eficiência do processo devido às modificações na comunidade microbiana (ARAÚJO, 2017). Com isso, apesar das vantagens já mencionadas da co-digestão de resíduos orgânicos e dejetos de suínos (CARDONA *et al.*, 2019.SAAD; RAHMAN; YUSOFF, 2019. YONG *et al.*, 2015), poucos estudos abordam como as diferentes proporções de substratos na co-digestão afetam as condições ótimas do processo e as características da comunidade microbiana (MASIH-DAS; TAO, 2018). Dessa forma, a otimização dos parâmetros operacionais torna-se essencial para identificar as condições ideais e viabilizar a aplicação em larga escala (BAKONYI *et al.*, 2014. WANG; WAN, 2009).

A partir das considerações, avaliou-se nesta pesquisa as condições ótimas para obtenção de CH₄ a partir da co-digestão de BCA e dejetos líquidos de suíno em reatores em bateladas. Foram realizadas validação dos modelos de regressão, identificando a condição otimizada para diferentes variáveis operacionais de temperatura e proporção de co-substratos, via Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Além disso, a comunidade microbiana envolvida no processo foi analisada por meio de sequenciamento em larga escala do gene RNAr 16S em plataforma *Illumina*, e avaliou-se como o aumento da concentração de BCA interfere nas características da comunidade microbiana.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

Investigar os efeitos da co-digestão de resíduos líquidos da suinocultura e BCA, com ênfase na obtenção de metano.

2.2 Objetivos específicos

- Identificação da condição otimizada das diferentes proporções de substratos que resultam em maior rendimento de metano e analisar a validação dos modelos de regressão obtidos.
- Caracterizar a comunidade microbiana envolvida no processo e avaliar como diferentes concentrações de substratos impactam suas características

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Utilização de biomassa lignocelulósica para a geração de energia

A biomassa lignocelulósica pode ser convertida em energia por diferentes rotas de conversão termoquímica (pirólise, combustão, gaseificação e liquefação) e biológicas (conversão por microrganismos), dando origem a produtos de valor agregado como biocombustíveis e biogás. Uma das principais fontes de biomassa residual é a cana-de-açúcar que gera cerca de 279 milhões de toneladas de bagaço por ano, o Brasil nesse setor se destaca como um dos maiores produtores, gerando ao ano mais de 600.000 mil toneladas de BCA (MUJTABA *et al.*, 2023; UNICA, 2024). O BCA, é um material fibroso, constituído por 45-50% de água e 40-45% de fibras, sua composição fibrosa é composta de 25-35% de hemicelulose e 20-30% de lignina. (MUNAGALA & SHASTRI, 2020). Possui um potencial teórico de metano de 440 mL/g de volume sólido (VS), porém a sua utilização no processo de digestão anaeróbia é um processo bioquímico complexo, devido à sua relação C/N, pH e capacidade de tamponamento, que influenciam na sua conversão anaeróbia (PAN *et al.*, 2022).

A utilização de biomassa lignocelulósica na digestão anaeróbia apresenta desafios, pois, embora a celulose e a hemicelulose proporcionem uma elevada disponibilidade de carboidratos que favorece a hidrólise por microrganismos anaeróbios, a presença da lignina interfere no sistema. A estrutura resistente dificulta a despolimerização por processos enzimáticos, o que compromete a extração eficiente da celulose e da hemicelulose. Assim, uma alternativa para a melhora da degradação biológica da biomassa é a utilização de pré-tratamento, cujo objetivo é tornar o substrato mais acessível ao consórcio microbiano, por meio da remoção da lignina e/ou da desestruturação da fibra celular (GOMES *et al*, 2022).

A utilização de BCA pré-tratado como substrato na geração de biocombustíveis foi analisada em diversos estudos. Dionízio et al (2022) realizaram pré-tratamento do BCA com enzimas isoladas de *Chaetamium cupreum* para deslignificação da biomassa. Os autores relataram que, com a deslignificação enzimática, houve redução da lignina insolúvel pela metade, aumentando a produção de H₂ em 96,1% e a produção de ácidos orgânicos em 22,5%. Já Abubacar et al (2022) utilizaram o método de pré-tratamento de hidrólise ácida, onde o BCA foi submetido a um pré-tratamento com ácido sulfúrico em diferentes concentrações (0,5 M e 0,2M), com o objetivo de liberar açúcares redutores que, em seguida, foram submetidos ao processo de fermentação para a geração de etanol. Ao final, foi constatado que a concentração de 0,5M de ácido sulfúrico resultou no maior rendimento de etanol (8,884 g.L⁻¹). Por meio desses dois métodos distintos de pré-tratamento, evidencia-se que a otimização de ambos resultou na maximização da produção de diferentes tipos de biocombustíveis a partir de biomassa residual.

Também pode ser observado a importância de métodos de pré-tratamento para a melhoria da conversão da biomassa em biocombustíveis. Baêta et al. (2016) analisaram o tratamento de BCA por auto-hidrólise, através da geração de dois estágios de hidrolisado de hemicelulose, resultando em aumento significativo na recuperação de energia (3,15 MJ.KgSB⁻¹). Arelli et al (2021), também demonstraram a importância do método de pré-tratamento, por meio do isolamento de bactérias degradadoras de celulose como agentes de bioaumento na conversão do BCA. Com diferentes concentrações sólidas de bagaço, foi alcançado um rendimento máximo de 0,44 L CH₄ (g VS adicionado) com 40% do substrato bioaumentado, enquanto apenas 0,34 L CH₄ (g VS adicionado) foi obtido somente com o BCA. Baêta et al. (2016) focaram na auto-hidrólise para aumentar a eficiência energética e a produção de hidrogênio e metano, enquanto Arelli et al. (2021) demonstraram que o bioaumento com bactérias degradadoras de celulose pode aumentar significativamente a produção de metano.

Entretanto, além da presença de lignina, o BCA possui outras características intrínsecas, como a alta relação C/N que pode chegar a 196:1, devido ao alto teor de carbono e baixo teor de nitrogênio (MAGALHÃES *et al.*, 2006). Outro fator, é a carência de carboidratos solúveis que junto com a alta relação C/N limita a disponibilidade de substratos necessários para o desenvolvimento e atividade dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia, resultando na redução da produção de biogás. Com isso, uma alternativa é o emprego da co-digestão com substratos com alto teor de nitrogênio, como os resíduos alimentares ou esterco animal. A combinação desses substratos, complementa as deficiências encontradas, favorecendo a aceleração da digestão, devido a presença dos nutrientes necessários para os microrganismos (BADSHAH *et al.*, 2012).

3.2 Dejetos da suinocultura

A criação de suínos implica na geração de diversos problemas ambientais, principalmente devido ao alto consumo de água e à geração de grande quantidade de água residuais, que frequentemente não recebem o tratamento adequado. Isso resulta no lançamento dessas águas em cursos d'água ou solo, ocasionando contaminação ambiental (ANTONELLI, 2013). Apesar da existência de alternativas para o reuso dos dejetos, o processo de digestão anaeróbia tem sido muito explorado, com o objetivo de promover a geração de energia e a estabilização da matéria orgânica (ORRICO *et al.* 2015).

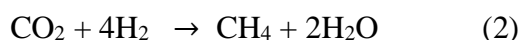
A digestão anaeróbia de dejetos de suínos é uma solução sustentável para a sua gestão e para a minimização dos impactos ambientais associados à sua destinação (HU *et al.*, 2021). Entretanto, a utilização de dejetos de suínos nesse processo frequentemente está associada a rendimentos inferiores de CH₄, atrelado a baixa relação C/N que varia em torno de 18:1, evidenciando que sua composição é rica em nitrogênio (MAGALHÃES *et al.*, 2006). Outro fator é a elevada alcalinidade, associada ao excesso de amônia, implicando em interferências na metanogênese. Para superar essas limitações, é necessário empregar substratos adicionais, tipicamente carbonáceos e com alto teor orgânico. (CARDONA *et al.*, 2019).

A co-digestão vem sendo empregada como uma alternativa eficaz para superar as limitações da digestão anaeróbia dos dejetos da suinocultura. O processo envolve a utilização dos dejetos combinados com substratos com alta relação C/N e baixa capacidade tampão, promovendo equilíbrio de pH dentro da faixa ideal para o desenvolvimento de microrganismos. Assim, a co-digestão pode ser uma solução para melhorar a eficiência da digestão anaeróbia de dejetos animais, ao fornecer condições mais favoráveis para a maximização da produção de biogás (ALVAREZ, 2014).

3.3 Microrganismos e sua influência na digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia depende fortemente da estrutura e atividade da comunidade microbiana presente no sistema. O processo de conversão bioquímica da matéria orgânica durante a digestão anaeróbia é composto por quatro fases, sendo elas a hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, que dependem de populações microbianas pertencentes ao domínio *Bacteria* e *Archaea*. As espécies do domínio *Bacteria* participam da fermentação da matéria orgânica desde as etapas de hidrólise até a oxidação dos intermediários, e a produção de biogás ocorre através das *Arqueas* metanogênicas a partir de acetado, hidrogênio (H₂) e dióxido de carbono (CO₂). Sendo assim, a diversidade, atividade e equilíbrio de microrganismos são essenciais para a transformação contínua dos intermediários e o aumento da eficiência da produção de biogás (RESENDE, 2013).

A fase metanogênica é onde o ácido acético, H₂ e CO₂ são convertidos em metano (CH₄) a partir das arqueas metanogênicas. A conversão ocorre por duas vias metabólicas principais, hidrogenotrófica e acetoclástica. As arqueas hidrogenotróficas são autotróficas, e reduzem CO₂ a metano, utilizando H₂ como doador de elétrons, liberando H₂O (1). Já as arqueas acetoclásticas, são heterotróficas, produzindo o CH₄ e CO₂ a partir da redução do acetato (2), sendo responsáveis por cerca de 60 a 70% do CH₄ gerado a partir do ácido acético (ARAÚJO, 2017).



A metanogênese é a fase mais sensível no processo de biodigestão, pois os microrganismos presentes são mais vulneráveis às mudanças bruscas do ambiente, com isso é necessário que as condições do meio sejam ideais, para proporcionar melhora na eficiência de conversão das outras fases da biodigestão. A metanogênese apresenta grande quantidade de reações exotérmicas, o que favorece a geração de metano a partir de H₂ e CO₂, processo no qual é liberado 4 vezes mais energia do que a via acetoclástica (ARAÚJO, 2017).

Dentro do domínio das *Archaea*, o filo *Euryarchaeota*, há alta diversidade de organismos, que inclui as espécies metanogênicas, sendo considerado um dos filos mais importantes no processo de biodigestão. As metanogênicas presentes neste filo crescem de forma lenta, e o seu metabolismo acaba sendo a taxa limitante da digestão anaeróbia

(CARDOSO et al., 2003). A comunidade microbiana presente nos reatores anaeróbios é analisada em diferentes trabalhos objetivando a compreensão da dinâmica e a eficiência dos processos de degradação da matéria orgânica e a produção de biogás (Tabela 1), Gomes et al. (2022) analisaram a comunidade microbiana envolvida no processo de digestão anaeróbia de resíduo de cervejaria em reatores em bateladas, identificando populações do domínio *Bacteria* com organismos pertencentes ao filo *Bacteroidetes* (28,7 e 31,8%) em sua maioria, e que mudanças relacionadas à sua dominância ocorreram devido as diferenças operacionais, como aumento da adição de resíduos de cervejaria. Por outro lado, Camargo et al (2023), realizaram análise das comunidades microbianas envolvidas no processo de digestão anaeróbia de resíduos de restaurante, identificando a bactéria com maior abundância como sendo *Macelibacteroides*, um *Bacteroidetes* associado aos sistemas digestivos de animais. Em relação as arqueias observadas, *Methanosaeta* foi a com maior abundância relativa (31,06%). Como a abundância de genes associados á metanogênese hidrogenotrófica foi inferior àquela dos genes envolvidos na metanogênese acetoclástica, possivelmente associado ao elevado consumo de ácido acético ao longo do tempo operacional, a via acetoclástica foi a via predominante para a produção de CH₄.

Tabela 1- Diferentes Microrganismos identificados em processos de digestão anaeróbia.

Referência	Substrato e inóculo	Bactérias (Filo)	Arqueas (Filo)	Temperatura	Reator
Gomes et al (2022)	Resíduos de cervejaria e Lodo granular anaeróbio	<i>Bacteroidetes</i> e <i>Euryarchaeota</i>	<i>Euryarchaeota</i>	37°C	Batelada
Camargo et al (2023)	Resíduo de restaurante e Lodo granular anaeróbio	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Euryarchaeota</i>	30 - 45°C	Leito lixiviado
Rabelo et al (2018)	Bagaço de cana de açúcar	<i>Firmicutes</i> e <i>proteobacteria</i>	-	37°C	Batelada
Braga et al (2018)	Bagaço de cana de açúcar e consórcios mistos anaeróbios	<i>Firmicutes</i> e <i>Bacteroidetes</i>	<i>Euryarchaeota</i>	37°C	Batelada
Soares et al (2024)	Bagaço de cana de açúcar e Manta de lodo granular ascendente	<i>Firmicutes</i>	-	55°C	Leito Fixo

Fonte: Autor (2024).

Deste modo, a partir da identificação da comunidade microbiana presente no processo de digestão anaeróbia, pode-se compreender e inferir as possíveis vias metabólicas envolvidas na conversão na matéria orgânica, proporcionando entendimento para melhoria da eficiência do processo.

3.4 Conversão da biomassa para geração de biocombustíveis através da co-digestão anaeróbia

A conversão bioquímica da matéria orgânica durante a digestão anaeróbia resulta na produção de biogás, composto sobretudo por CH₄ e CO₂, além de gerar resíduos sólidos estáveis ao final, que podem ser empregados como fertilizantes. Entretanto, um importante desafio da utilização de biomassa lignocelulósica no processo é a alta complexidade do material orgânico, que pode resultar em baixa velocidade de hidrólise, atuando como um fator limitante para o processo de digestão anaeróbia (RESENDE, 2013).

Nesse contexto, a co-digestão é um processo que melhora a eficiência do rendimento de CH₄, visto que a mistura de diferentes substratos pode equilibrar a composição nutricional, aumentando a disponibilidade de carbono e nitrogênio (WICKHAM et al., 2019). A adição de

co-substrato como águas residuais de matadouros e lodos a lodo ativados leva ao aumento de cerca de 52 % da produção de biogás, a partir de uma proporção melhorada de nutrientes e disponibilidade de substâncias orgânicas (KLALID *et al.*, 2011).

Esse processo de co-digestão é eficaz porque combina diferentes tipos de substratos, o que ajuda a estabelecer um equilíbrio nutricional. Essa mistura aumenta a disponibilidade de carbono e nitrogênio, essenciais para o crescimento microbiano, e também melhora a alcalinidade do sistema. Vázquez & Andrade (2024), analisaram a produção de H₂ através da co-digestão de resíduos alimentares e águas residuais da indústria do milho. Os pesquisadores constataram que, com a adição da água residuária do milho, houve o fornecimento de alcalinidade ao sistema, e o ajuste da concentração inicial de matéria orgânica, isso se deve a natureza das águas residuais, que podem favorecer a transferência de massa no sistema devido ao seu baixo teor de sólidos, aumentando a umidade da mistura, melhorando a área de contato entre o inóculo e substrato, regulando o pH, o que promove a produção de H₂. A proporção de 40:60 entre resíduos alimentares e resíduos da indústria do milho resultou no maior volume acumulado de hidrogênio atingindo 1.110 ± 44 Nml H₂.

Em estudo, Hernández et al (2022) combinaram biomassa de sargaço e esterco de porco na proporção de 50:50, demonstrando um efeito sinérgico significativo do processo de co-digestão, o que resultou em um aumento de 79,5 a 160,4% na eficiência da digestão anaeróbia em comparação com a monodigestão de cada substrato, destacando a eficácia da co-digestão em otimizar a produção de biogás.

3.5 Fatores que afligem o processo de co-digestão

Durante o processo de digestão anaeróbia, há a participação de diferentes microrganismos que possuem requisitos ambientais específicos para garantir a eficiência em cada uma das etapas do processo (NEELAM et al., 2019). Com isso, o controle das condições operacionais durante a conversão da matéria orgânica em biogás é crucial para garantir a otimização e estabilização do sistema (KHALID et al., 2011).

Uma das principais condições que afetam a digestão anaeróbia é a temperatura, que impacta na atividade da comunidade microbiana envolvida no processo. Em temperatura baixas, ocorre a desaceleração das reações bioquímicas e exaustão da energia celular, levando a diminuição do crescimento microbiano e, conseqüentemente, em menor eficiência do processo, o que reduz a produção de biogás. Por outro lado, em temperaturas elevadas, há

aumento da geração de gases voláteis, como a amônia, além da desnaturalização de proteínas, o que também prejudica a produção de biogás (TRZCINNSKI & STUCKEY, 2010). Assim, existem duas faixas ótimas de temperatura para a produção de biogás, a faixa mesofílica, que varia entre 20°C e 40°C, com uma temperatura ideal entre 30°C e 35°C, e a faixa termofílica, que varia entre 50°C e 60°C. Dentro dessas faixas, há um ambiente mais favorável para a atividade dos microrganismos responsáveis pela digestão anaeróbia e pela geração de biogás. (SINGH, 1994).

A relação C/N também é essencial para o desenvolvimento e atividade dos microrganismos envolvidos no processo de digestão anaeróbia. Sendo um fator que exerce efeito significativo no processo em questão, pois quando há o excesso de nitrogênio tem-se o favorecimento do acúmulo de amônia (NH_3), substância que em alta concentração leva a inibição da metanogênese por ser para os microrganismos metanogênicos tóxica. Em contrapartida, quando há quantidade insuficiente de nitrogênio, os microrganismos não realizam a metabolização do carbono de forma eficiente, o que resulta em ineficiência do processo de digestão. Por esse motivo, é indicado a utilização de um ou mais substratos para garantir a o equilíbrio da relação C/N, bem com proporcionar a redução da concentração de amônia por diluição, contribuindo para a estabilidade do processo e o aumento da produção de metano (GUERI, et al 2018). O efeito inibitório da amônia livre e íons amônio foi investigado por Tian et al (2018), que observou inibição de mais de 40% nas concentrações de 7,0 g NH_4^+ -NL⁻¹, ressaltando a importância de manter uma relação C/N adequada para garantir a eficiência e a estabilidade do processo de digestão anaeróbia.

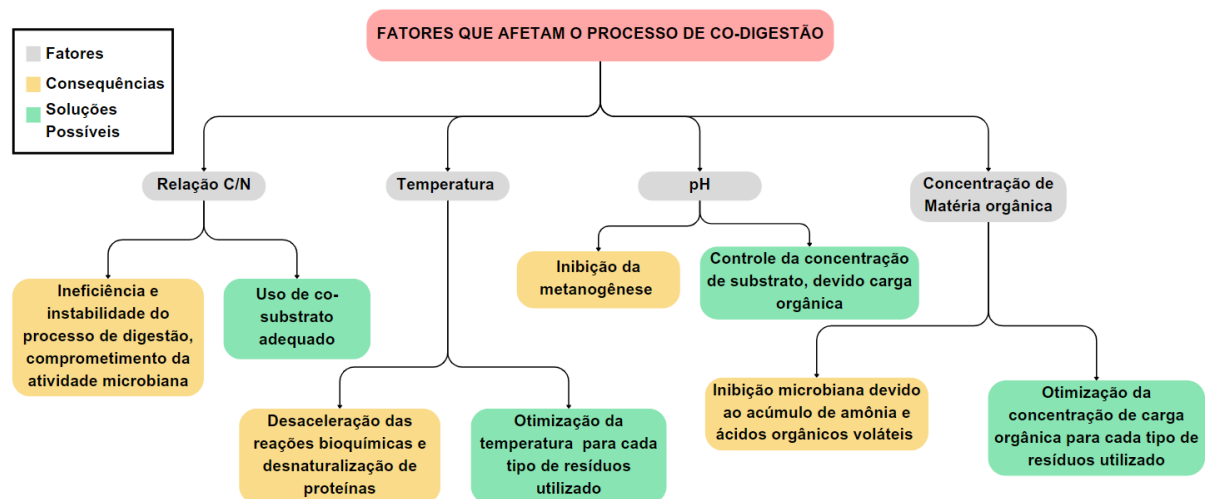
O pH, exerce influência direta no processo de digestão anaeróbia, por meio da produção de ácidos orgânicos voláteis e CH_4 , atuando na atividade da enzima hidrogenase, que catalisa a oxidação reversível do hidrogênio molecular. Isso ocorre pois, em pHs ácidos, a hidrogenase se torna menos eficiente, pois o ATP que antes seria utilizado para a produção de H_2 é desviado para manter a neutralidade celular, havendo maior gasto de energia para manter o equilíbrio interno das células, o que reduz a quantidade de H_2 disponível para a produção de CH_4 . Desse modo pH próximo ao neutro (6,8 - 7,4) é ideal para a atividade da hidrogenase, garantindo a eficiência da enzima e consequentemente maior produção de CH_4 (CAMARGO et al, 2023).

Shen et al. (2018) investigaram a influência da carga orgânica no processo de co-digestão de palha de arroz com dejetos de suínos, tanto com quanto sem pré-tratamento biológico (grupo 1 e 2, respectivamente). Os autores observaram que a taxa volumétrica de produção de metano (TVM) aumentou em ambos os grupos com a adição de carga orgânica. No grupo 1, a TVM aumentou gradativamente de 0,027 para 0,53 L CH_4 /(L d) à medida que a

concentração da taxa orgânica (CTO) variou de 0,4 a 3,1 Kg COD/(m³ d). O mesmo padrão foi observado no grupo 2, onde a TVM aumentou de 0,0037 para 0,64 L CH₄/(L d) com a variação do CTO de 0,4 a 2,5 Kg COD/(m³ d). No entanto, quando o CTO foi elevado para 3,11 Kg COD/(m³ d), houve uma queda rápida na TVM, que diminuiu para 0,49 CH₄/(L d). Esse declínio foi atribuído ao acúmulo de ácidos graxos voláteis, que inibiu a atividade metanogênica.

A digestão anaeróbia é um processo complexo que depende de uma série de fatores operacionais e ambientais, portanto o controle rigoroso destas condições, como a temperatura, relação C/N, e a concentração de matéria orgânica, é fundamental para a otimização e estabilização do processo, garantindo uma produção eficiente de biogás. Pode-se observar na Figura 1, os principais fatores que afligem o processo de co-digestão, com suas respectivas consequências e possíveis soluções para otimização do processo.

Figura 1- Fluxograma com os principais fatores, suas consequências e possíveis soluções que afligem o processo de co-digestão



3.5.1 Delineamento composto central rotacional (DCCR)

O DCCR é uma ferramenta amplamente utilizada para otimizar parâmetros operacionais e de filtragem. Com essa abordagem, pode-se eliminar variáveis não significativas por meio da realização de experimentos sequenciais, possibilitando uma análise eficaz e simultânea de fatores em diferentes níveis, em menor quantidade de experimentos. Dessa forma, a partir dessa metodologia, obtêm-se melhor eficiência dos processos de pesquisa e desenvolvimento,

facilitando a identificação das condições ideais para otimização de processos (RITTER *et al.*, 2024. MATEUS *et al.*, 2001).

Em estudo realizado por Camargo *et al.* (2021) utilizando DCCR, as variáveis de resíduos sólidos de citros (RSC) (5, 10 e 15 g.L⁻¹), pH (5,5, 7,0 e 8,0), temperatura (30, 37 e 44°C), concentração de inóculo alóctone (1, 2 e 3 gSV. L⁻¹), volume de *headspace* (40, 50 e 60%) e concentração de extrato de levedura (0, 0,5 e 1 g.L⁻¹) foram simultaneamente otimizadas. Assim, 48,47 mmol H₂.L⁻¹ foram obtidos após a otimização do processo em reatores em bateladas. As condições ótimas identificadas foram de 4 gSV. L⁻¹ de inóculo, 29,8 g.L⁻¹ de RSC e pH 8,98, comprovando que a utilização do DCCR proporciona a maximização da obtenção dos subprodutos de interesses biotecnológicos a partir da fermentação de resíduos de biomassa.

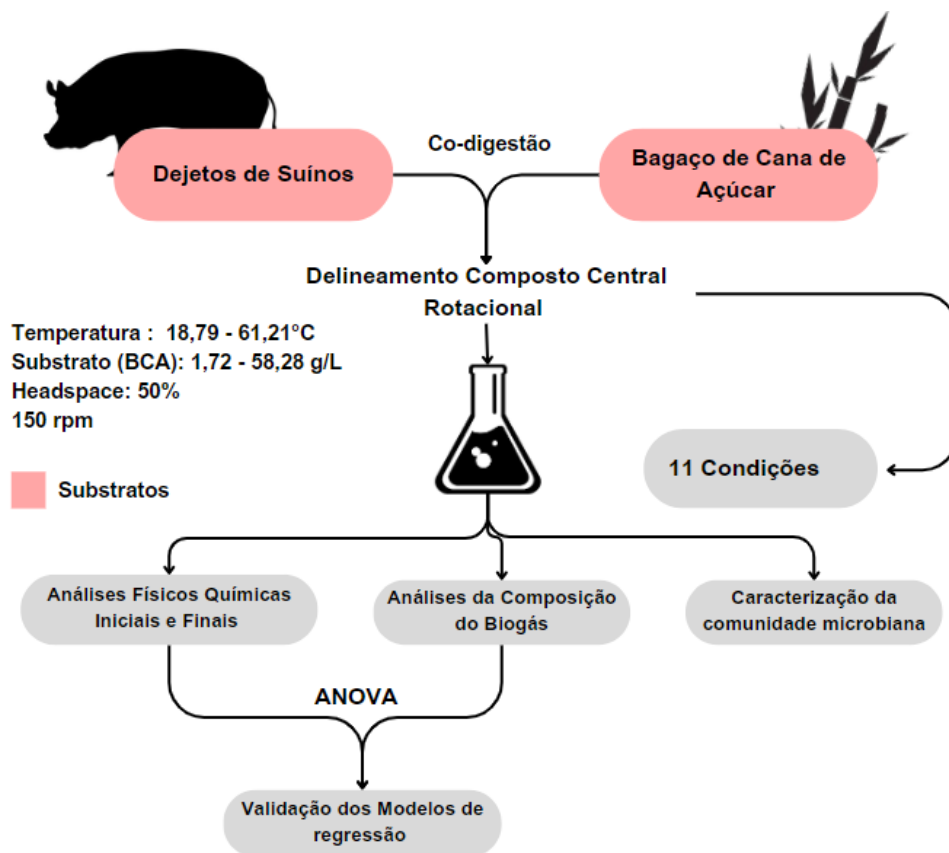
Ademais, a modelagem e otimização dos fatores que afetam a produção de CH₄ a partir da co-digestão de substratos complexos, como é o caso abordado no presente estudo, são essenciais para melhorar a eficiência do processo. A digestão conjunta de biomassa lignocelulósica, como a biomassa de BCA, com dejetos líquidos da suinocultura, apresenta desafios significativos, devido às características distintas dos substratos, onde a BCA possui alta concentração de lignocelulose e os dejetos suínos são ricos em nitrogênio. Assim, o DCCR entra como uma ferramenta para otimizar esse processo, objetivando maximizar a produção de biogás, o que resulta em um processo mais eficiente e sustentável.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Fluxograma Experimental

As etapas do desenvolvimento do estudo estão apresentadas no fluxograma experimental simplificado da metodologia empregada na presente pesquisa (Figura 2).

Figura 2 - Fluxograma experimental simplificado



Fonte: Autor (2024).

4.2 Coleta e Caracterização dos Resíduos

4.2.1. Coleta e Armazenamento

Os dejetos líquidos de suínos em fase de terminação, alimentados com ração à base de milho e soja e com complementos vitamínicos e mineral foram coletado segundo Camargo et al. (2023). O resíduo foi peneirado ($\leq 3\text{mm}$) e os sólidos descartados. Os dejetos líquidos foram

armazenados em frascos plásticos a 4 °C até o momento de sua utilização. O BCA utilizado foi fornecido pela Empresa Raízen (Igarapava, SP, Brasil) e acondicionado em sacos plásticos a 4 °C até o momento do uso.

4.2.1. Inóculo

Utilizou-se como inóculo o lodo granular mesófilico do reator *Upflow anaerobic Sludge Blanket* (UASB) utilizado no tratamento de água residuária de abatedouro de aves.

4.3 Ensaios Cinéticos em Batelada

4.3.1. Delineamento Composto Central Rotacional

O estabelecimento das faixas ótimas referentes às variáveis operacionais de temperatura e a concentração de BCA foi realizada via DCCR (RODRIGUES; IEMMA, 2014). Para tanto, avaliou-se a influência das variáveis independentes consideradas mais significativas para o processo com base na literatura, por meio de um delineamento fatorial completo de 2^2 , sendo todas as condições analisadas em duplicata (Tabela 2).

Tabela 2 - Condições mínimas (-1), máximas (+1), axiais ($\pm\alpha$) e do ponto central (0) para as diferentes variáveis estudadas (x1-x2), no presente projeto de pesquisa.

Condição	Valores codificados			Valores decodificados	
	Pontos cúbicos		Ponto central	x1 Temperatura (°C)	x2 Concentração BCA (g.L ⁻¹)
1	-1	-1		25,00	10,00
2	-1	+1		55,00	10,00
3	+1	-1		25,00	50,00
4	+1	+1		55,00	50,00
5		- 1,42	0	18,79	30,00
6		+ 1,42	0	61,21	30,00
7		0	- 1,42	40,00	1,72
8		0	+ 1,42	40,00	58,28
9			0 0	40,00	30,00
10			0 0	40,00	30,00
11			0 0	40,00	30,00

Fonte: Autor (2024).

Foram avaliados os efeitos da temperatura (18,79-61,21 °C) e concentração de BCA (1,72-58,28 g.L⁻¹). Os ensaios foram realizados em frascos Duran® de 500 ml vedados com tampa de butila e rosca plástica, com 50% de *headspace* e 250 ml de dejetos de suínos com uma concentração de 3g.ST de inóculo, com a devida proporção de BCA determinada via DCCR para cada ensaio, e em seguida submetidos ao N₂/CO₂ (70/30%) por 20 minutos. Os ensaios foram realizados em condições de agitação de 150 rpm.

4.4 Análises Físico-Químicas

4.4.1. Análises físico-químicas

A determinação do pH, fenóis totais, sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) foram realizadas de acordo com APHA/AWWA/WEF (2012). A determinação de matéria orgânica foi realizada em termos da demanda química de oxigênio (DQO, expressa em mg.L⁻¹), de acordo com APHA/AWWA/WEF (2012). Já a determinação de carboidratos totais solúveis ocorreu segundo Dubois et al. (1956).

4.4.2. Análise da composição do biogás

Amostras de aproximadamente 1000 μL do *headspace* dos reatores foram coletadas periodicamente, a cada 24h até o fim do pico da produção de metano, utilizando seringas de *gastight* equipadas com trava. A análise da composição do biogás foi realizada em cromatógrafo de gás Shimadzu® (GC-2010), equipado com detector de condutividade térmica (DCT). Foi utilizada coluna Carboxen 1010 PLOT, 30 m x 0,53 mm e temperatura do injetor, do forno e do detector de 220 °C, 130 °C e 230 °C, respectivamente. Gás argônio foi utilizado como gás de arraste, com fluxo na coluna de 5,66 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ com volume de *Make-up* de 12 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

4.5 Análise de Dados

4.5.1. Ajuste dos dados experimentais

Os dados foram ajustados para valores médios obtidos, e os dados de produção acumulada de CH_4 foram obtidos a partir do modelo cinético sigmoidal de Gompertz modificado por Zwieterin et al. (1994), sendo que os parâmetros foram calculados por meio da Equação 4.1 no *software* OriginPro 9.0.

$$Y(t) = P \cdot \exp\left\{-\exp\left(\frac{Rm \cdot e}{P}[\lambda - t] + 1\right)\right\} \quad (\text{Eq. 4.1})$$

sendo,

$Y(t)$ = razão logarítmica entre a contagem microbiana no tempo t e a contagem inicial,

Rm = velocidade específica máxima de rendimento de CH_4 ($\text{mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ ST}_{\text{add}} \cdot \text{h}^{-1}$),

e = constante de Euler (2,71828182)

λ = tempo de início da produção de CH_4 (h),

P = rendimento acumulado de CH_4 ($\text{mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ ST}_{\text{add}}$).

4.6 Caracterização da comunidade microbiana

Amostras para caracterização da comunidade microbiana foram coletadas dos ensaios R2 e R4, ambos submetidos à temperatura de 55 °C, mas com concentrações distintas de BCA

(10 e 50 g.L⁻¹). Essa abordagem possibilitou a avaliação da influência do aumento da concentração de BCA sobre a comunidade microbiana.

Amostras de 2,0 mL, coletadas no fim do período operacional dos respectivos ensaios, foram armazenadas a uma temperatura de -20°C. A extração do DNA genômico foi realizada com FastDNA™ SPIN Kit for Soil DNA Extraction (MP Biomedicals), de acordo com as recomendações do fabricante. Realizou-se o sequenciamento dos oligo nucleotídeos e o serviço de bioinformática básica para identificação taxonômica por meio da empresa NGS Soluções Genômicas (Piracicaba – SP, Brasil).

A caracterização microbiana foi realizada por meio da amplificação do gene 16S rRNA por meio de sets de primer 341F-785R para o domínio *Bacteria* (KLINDWORTH et al., 2013) e Ar915aF – Ar1386R (KITTELMANN et al., 2013) para o domínio *Archaea*. Os dados gerados do sequenciamento pela tecnologia Illumina foram analisados usando um conjunto de pacotes implementados na linguagem R. O banco de dados SILVA (GLOCKNER et al., 2017) foi utilizado como referência para a identificação taxonômica.

5 RESULTADOS & DISCUSSÕES

5.1 Caracterização dos Substratos e Inóculo

A caracterização dos dejetos líquidos de suínos, BCA e inóculo, em relação aos ST e SV, bem como a caracterização físico-química inicial dos dejetos de suínos de acordo com Camargo (2023), estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Caracterização físico-química dos co-substratos.

Parâmetros	Dejetos líquidos	BCA	Inóculo
	Suínos		
ST (mg.L ⁻¹)	5,26 ± 0,91	396,91 ± 27,9	78,77 ± 0,32
SV (mg.L ⁻¹)	3,62 ± 0,71	380,78 ± 26,54	67,64 ± 0,57
DQO _f (g.L ⁻¹) *	1,47 ± 0,06		
Fenol (mg.L ⁻¹) *	46,2 ± 0,8		
pH*	7,43		
Nitrogênio Total (mg.L ⁻¹) *	941		
Carboidratos (mg.L ⁻¹) *	127,34		

*Fonte: Camargo (2023)

A co-digestão do BCA e dos dejetos líquidos de suínos foi escolhida justamente devido a suas composições, uma vez que o BCA é um substrato rico em carbono, enquanto os dejetos líquidos de suínos contribuem como fonte de nitrogênio e alcalinidade. Segundo Rocha et al. (2015), o BCA possui 44,09% de carbono em sua composição (Tabela 4).

Tabela 4 - Caracterização físico-química do BCA

Parâmetros	BCA
Carbono (%)	44,09 ± 1,07
Hidrogênio (%)	6,10 ± 0,85
Oxigênio (%)	48,74 ± 1,50
Nitrogênio (%)	0,27 ± 0,10
Cinzas (%)	2,84 ± 1,22

Fonte: Rocha et al. (2015)

5.2 Produção de metano

A partir do DCCR, realizado de acordo com a matriz experimental resumida na Tabela 5, foi determinado o rendimento de CH₄ de cada condição. Ademais, os dados de rendimento de CH₄ foram ajustados de acordo com o modelo de Gompertz (Figura 3). Além da resposta

Y1, que corresponde ao rendimento de CH₄ em termos de ST adicionados (*P*), também foram avaliadas as respostas Y2, referente à velocidade máxima de produção (*Rm*), e Y3, referente ao tempo para o início da produção de CH₄ (λ).

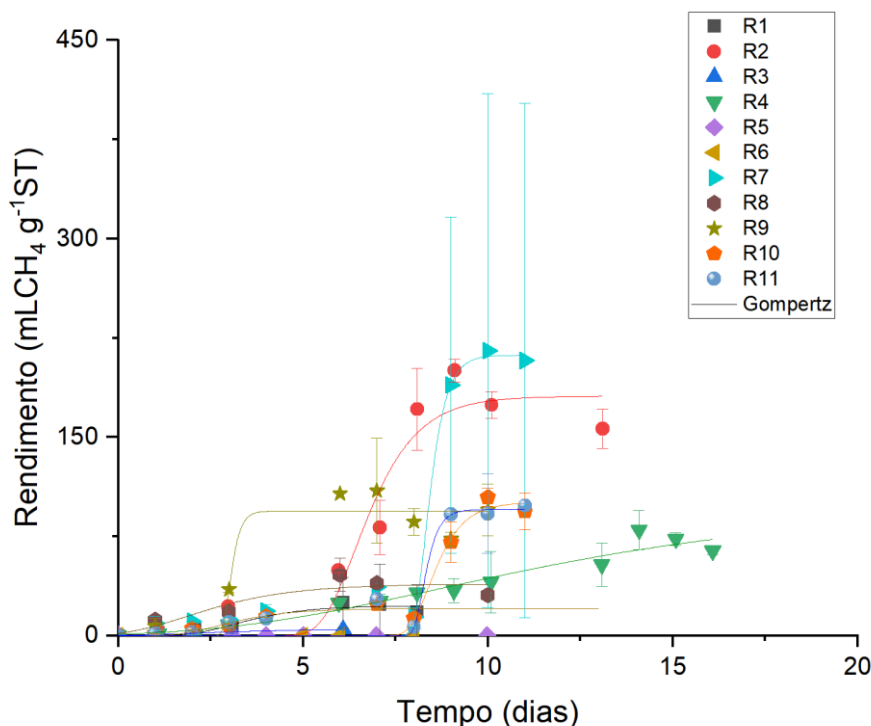
Tabela 5 - Variáveis independentes (X1 e X2) e respostas (Y1, Y2 e Y3) obtidas para os ensaios de DCCR.

Ensaio	X ₁ Temp. (°C)	X ₂ BCA (g.L ⁻¹)	Y ₁ CH ₄ (mL.g ⁻¹ ST)	Y ₂ Rm (mL.g ⁻¹ ST.h ⁻¹)	Y ₃ λ (h)	R ²	CH ₄ acumulado (mL)
R1	25,00	10,00	22,55 ± 3,36	7,53 ± 6,08	1,99 ± 0,83	0,87	342,72
R2	55,00	10,00	180,95 ± 15,67	72,21 ± 25,87	5,51 ± 0,47	0,93	2750,41
R3	25,00	50,00	5,23 ± 0,51	1,03 ± 0,15	0,32 ± 0,28	0,98	320,77
R4	55,00	50,00	96,19 ± 24,65	6,11 ± 0,90	2,89 ± 0,89	0,94	5905,38
R5	18,79	30,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,00
R6	61,21	30,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,00
R7	40,00	1,72	211,96 ± 12,76	249,51 ± 82,36	8,00 ± 0,15	0,97	1193,35
R8	40,00	58,28	39,00 ± 7,15	8,90 ± 5,96	0,22 ± 1,31	0,85	310,04
R9	40,00	30,00	94,16 ± 6,97	203,57 ± 9,20	2,83 ± 0,78	0,93	3605,40
R10	40,00	30,00	100,71 ± 10,78	70,50 ± 26,97	7,87 ± 0,30	0,93	3856,21
R11	40,00	30,00	95,29 ± 8,79	145,41 ± 113,26	8,00 ± 0,20	0,93	3648,78
Controle*	37,00	-	571,91	2,53	171,72	0,98	583,66

Nota: O experimento controle foi conduzido com inóculo e dejetos de suínos, sem adição de BCA.

Fonte: Autor (2024).

Figura 3 - Rendimento de CH₄ nos ensaios realizados com diferentes concentrações de BCA e de inóculo, de acordo com a matriz de DCCR.



Fonte: Autor (2024).

Em relação ao ensaio controle (37 °C e sem BCA), observou-se rendimento elevado de CH₄ (571,91 mLCH₄.g⁻¹ST), baixa velocidade máxima de produção (R_m de 2,53 mL.g⁻¹ST.h⁻¹) e tempo elevado para o início da produção de CH₄ (λ de 171,72 h) quando comparado aos demais ensaios de DCCR. A baixa produção acumulada de CH₄, associada ao baixo R_m e ao elevado λ são situações desafiadoras para o escalonamento da digestão individual dos dejetos líquidos de suínos. Apesar do elevado P , o baixo teor de sólidos pode ter contribuído para o uso ineficiente do substrato e um balanço energético desfavorável, devido a menor densidade de matéria orgânica disponível para a digestão anaeróbia, limitando a produção de biogás e reduzindo a eficiência do processo.

Ao analisar os 11 ensaios realizados de acordo com a matriz do DCCR, observou-se que, para as condições do Ensaio R7, conduzido a 40 °C e com baixa concentração de BCA (1,72 g.L⁻¹), houve maior rendimento de CH₄ (P), atingindo 211,96 mL CH₄.g⁻¹ ST. No entanto, apesar desse alto rendimento, a produção acumulada de CH₄ foi relativamente baixa, totalizando 1193,35 mL. Esse resultado de P pode ter sido, em parte, superestimado devido ao baixo teor de sólidos no ensaio, o que compromete a representatividade da eficiência do processo em termos práticos. Por outro lado, no Ensaio R4 (55 °C e 50 g BCA.L⁻¹), com o maior volume de produção acumulada de CH₄ (5905,38 mL), registrou-

se rendimento de CH₄ inferior (96,19 mL CH₄.g⁻¹ ST). Isso sugere que, embora a produção total de biogás tenha sido significativa, a eficiência por grama de sólidos totais foi menor. Corroborando com esses dados, observou-se para os ensaios com concentrações mais elevadas de BCA, entre 30 e 50 g.L⁻¹, menores rendimentos de CH₄. A presença de co-substratos na digestão anaeróbia pode aumentar a produção de CH₄, entretanto sua superdosagem pode levar a inibição (MASIH-DAS; TAO, 2018), o que justifica o resultado analisado. Ademais, tais resultados podem bem estar atrelados a presença de lignina no BCA, cuja estrutura complexa ao redor da celulose e hemicelulose dificulta a degradação microbiana (DIONÍZIO *et al* 2022) ou o acúmulo de ácidos orgânicos voláteis que em altas concentrações podem resultar em reduzida formação de hidrogênio (PONCE, 2022).

Para as condições do ensaio R2, conduzido à mesma temperatura do ensaio R4 (55 °C), porém com menor concentração de BCA (10 g.L⁻¹), foi observada produção acumulada de CH₄ inferior (2750,41 mL CH₄) em comparação ao ensaio R4. Todavia com *Rm* e *P* superior (180,95 mLCH₄.g⁻¹ST e 2.750,41 ml CH₄, respectivamente), ou seja, o rendimento por grama de sólidos totais foi maior no Ensaio R2 do que no R4, tornando-o uma alternativa mais vantajosa para o escalonamento do processo, devido à maior eficiência por unidade de massa de substrato.

Foi observado aumento significativo em *P* nos ensaios R1 (25 °C) e R2 (55 °C), ambos realizados com 10 g.L⁻¹ de BCA. Maior produção de CH₄ foi observada, com o rendimento passando de 22,55 para 180,95 mL CH₄.g⁻¹ ST, devido ao aumento da temperatura para a faixa termofílica (55 °C). Comportamento similar foi observado ao comparar os ensaios R3 (25 °C) e R4 (55 °C), ambos com 50 g.L⁻¹ de BCA, nos quais o *P* também aumentou, passando de 5,23 para 96,19 mL CH₄.g⁻¹ ST, respectivamente, com o aumento da temperatura. Entretanto, para os ensaios R5 e R6, ambos com 30g.L⁻¹ de BCA, e temperaturas de 18,79 e 61,21 °C, respectivamente, observou-se inibição do potencial metanogênico. Estes resultados estão em conformidade com a literatura, que reporta duas faixas ótimas para a produção de CH₄, a primeira é a faixa mesofílica, variando entre 20 °C e 40 °C, com temperatura ótima entre 30 °C e 35 °C; e a segunda é a faixa termofílica, que varia entre 50 °C e 60 °C (SINGH, 1994). De acordo com Bouallagui (2004), 41% a mais de biogás são gerados em processos termofílicos em comparação com processos mesofílicos, corroborando os melhores resultados de *P* obtidos nos ensaios conduzidos à 55 °C (R2 e R4) em comparação com aqueles à 25 °C (R1 e R3).

Em relação ao tempo para o início da produção de CH₄ (λ), ao comparar o ensaio controle (sem BCA) com os demais, observou-se que a adição de BCA no processo de

digestão anaeróbia dos resíduos de suínos resultou em uma redução significativa no valor de λ . Enquanto que no ensaio controle λ foi de 171,72h, nos ensaios do DCCR, λ variou de 0,22h (em R8) a 8,00h (em R11). Evidenciando que menores rendimentos de CH_4 estão associados provavelmente ao acúmulo de ácidos orgânicos voláteis.

Dando destaque para os valores de R_m , constatou-se que seu aumento está associado com a adição de BCA. Observou-se aumento significativo de R_m ao comparar os ensaios do DCCR com o controle (sem adição de BCA). No ensaio R9, por exemplo, o valor de R_m foi de 203,57 $\text{mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$, enquanto no ensaio controle foi de apenas 2,53 $\text{mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$. Comportamento semelhante foi observado no ensaio R2 (55 °C e 10 g BCA.L^{-1}), onde houve aumento de R_m (72,21 $\text{mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$) em comparação ao ensaio controle (2,53 $\text{mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$). Entretanto, no ensaio R4, conduzido sob a mesma temperatura de R2 (55 °C), o aumento na concentração de BCA (para 50 g BCA.L^{-1}) resultou em diminuição de R_m (6,11 $\text{mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$). Esse resultado está alinhado com a literatura, visto que o valor de R_m variou de acordo com a concentração de BCA e temperatura, sendo reduzido quando há suberdosagem do co-substrato ou quando temperaturas não estão dentro das faixas ótimas para a produção do biogás (SINGH, 1994).

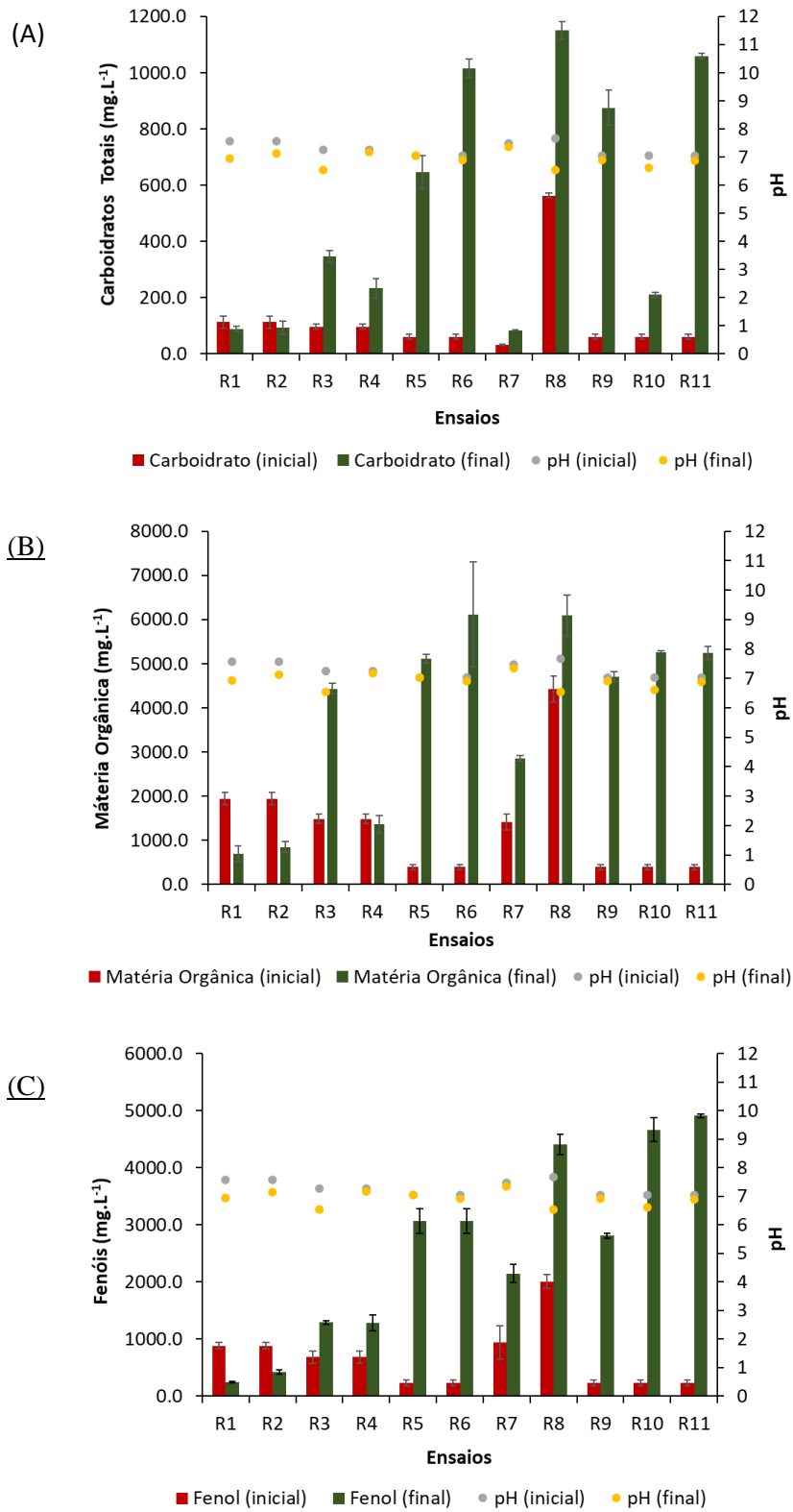
Por meio de tais resultados de R_m e λ , pode-se enfatizar a importância da co-digestão para o aumento da velocidade do processo em geral, uma vez que o tempo de início da produção de biogás é desejável para o escalonamento do processo. Em comparação ao ensaio controle ($R_m = 2,53 \text{ mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$, $\lambda = 171,72 \text{ h}$), houve aumento de R_m e λ em todos os ensaios, variando de 1,03 a 249,51 $\text{mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$ e 0,22 a 8 h.

Os resultados obtidos podem estar atrelados com a relação C/N, uma vez que quanto menor esta relação, maior tende a ser a conversão da matéria orgânica (ZAHAN; OTHMAN; MUSTER, 2018). Entretanto, por meio da caracterização físico química dos dejetos de suínos foi observada alta concentração de nitrogênio total (941 mg.L^{-1}), atrelado ao baixo teor de carbono e elevada alcalinidade, o que explica o baixo valor de R_m no ensaio controle, evidenciando a necessidade da adição de compostos carbonáceos (CAMARGO, 2023). Assim, o aumento de R_m nos ensaios com a adição de BCA pode ser atribuído ao elevado teor de carbono presente nesse resíduo, que contribui para melhorar a eficiência do processo de digestão anaeróbia.

5.3 Caraterização Físico-Química

Os resultados das análises físico-química para cada ensaio da matriz de DCCR, como pH, matéria orgânica, carboidratos, fenóis totais, ST e SV, encontram-se resumidos na Figura 4

Figura 4 - Valores iniciais (i) e finais (f) de matéria orgânica (A), carboidratos TOTAIS (B) e fenóis totais (C) dos ensaios do DCCR.



Nota: Os erros apresentados após as médias (\pm) correspondem ao desvio padrão calculada para cada condição em triplicata.

Fonte: Autor (2024).

Em relação aos valores de pH, observou-se que ensaios com maior pH inicial, como R7 (7,35) e R2 (7,14) foram favoráveis ao aumento de P (211,96 e 180,95 mLCH₄.g⁻¹ST, respectivamente). Isso ocorre porque o pH afeta diretamente a atividade metabólica dos microrganismos metanogênicos, que ocorre na faixa de 6,3 a 7,8, influenciando não somente na produção do biogás, como também na sua qualidade, visto que valores abaixo de 6,0 resultam em um biogás pobre em CH₄ (GUERI, *et al* 2018). No entanto, em alguns ensaios, apesar de valor elevado de pH, observou-se baixo valor de P . Esse fenômeno pode ser decorrente da influência da temperatura e da concentração de BCA, pois segundo Jiang *et al* (2018) e Korucu (2022), o aumento da carga orgânica e temperatura acelera as reações químicas, resultando na liberação de ácidos orgânicos em decorrência da maior concentração dos íons H⁺, tornando a solução mais ácida e interferindo negativamente na produção de CH₄.

Além disso, altas concentrações de substrato resultam em aumento da concentração de carboidratos totais solúveis, como foi verificado nos ensaios R8 e R11 (1.150,9 e 1.059,8 mg.L⁻¹, respectivamente). Entretanto, foi observado que altas concentrações de BCA não foram favoráveis para a obtenção de CH₄. Uma das possíveis hipóteses é que, com o aumento da carga orgânica, há o aumento da produção de biogás respeitando o limite de 6,4 Kg.m⁻³.d⁻¹, acima desse valor, pode ocasionar o desequilíbrio no processo de digestão com a inibição microbiana (GUERI, *et al* 2018). Isso explica o menor P nos ensaios R8, R9 e R11 (39,00, 94,16 e 95,29 mLCH₄.g⁻¹ST, respectivamente), com altas concentrações de BCA, variando de 30 a 58,28 g.L⁻¹.

No ensaio R8 foi verificado maior variação entre o pH inicial e final (de 7,8 a 6,5), podendo ser resultante da maior concentração de carboidratos totais no início desse ensaio em relação ao demais (562,9 mg.L⁻¹), devido a maior adição de BCA dentre todos os ensaios (58,28 gST.L⁻¹), o que favoreceu a rápida acidificação do meio.

Em relação as concentrações de fenóis observadas nos ensaios do DCCR, tem-se que nos reatores com maior produção de fenóis foram verificados menores valores de P . Por exemplo, nos pontos centrais (R9, R10 e R11) foram observadas 1.403,8, 2.331,9 e 2.453,2 mg.L⁻¹ de fenóis ao final do período de incubação e P de 94,16, 100,71 e 95,29 mL CH₄ g ST.L⁻¹, respectivamente. Entretanto, em todos os ensaios foi observado aumento da concentração de fenóis, provavelmente, tal possibilidade pode ser atribuída à despolimerização das ligações de lignina e celulose durante a conversão do BCA, processo que gera compostos derivados de furano, compostos fenólicos (SOARES, 2002). No

estudo em questão, as concentrações finais de fenóis foram na faixa de 123,8 a 2.453,2 mg.L⁻¹. De acordo com TAI et al. (2010), concentrações de fenóis superiores a 1.000 mg.L⁻¹ podem causar inibição severa da atividade celular, assim, as concentrações de fenóis elevadas observadas em alguns ensaios podem ter contribuído para a redução da eficiência do processo anaeróbio.

5.4 Otimização da Produção de CH₄ e Validação

Os modelos de regressão obtidos para as respostas tiveram os seus coeficientes analisados de acordo com a significância ($p \leq 0,1$) (Tabela 6). Os coeficientes considerados não significativos, cujo p-valor é maior que a significância estabelecida, foram excluídos do modelo estatístico (reparametrizado) devido à sua falta de relevância estatística.

Tabela 6 - Modelos de regressão para as respostas investigadas

Resposta	Modelo com seleção das variáveis significativas ($p < 0,1$)	R ² (%)
P (mLCH ₄ .g ⁻¹ ST)	$Y_1 = 113,43 + 31,17 x_1 - 50,21 x_1^2 - 43,34 x_2$	73,81
Rm (mLCH ₄ .h ⁻¹)	$Y_2 = 124,74 - 75,92 x_1^2 - 51,61 x_2$	69,41
λ (h)	$Y_3 = 5,35 - 2,71 x_1^2 - 1,86 x_2$	66,23

Fonte: Autor (2024).

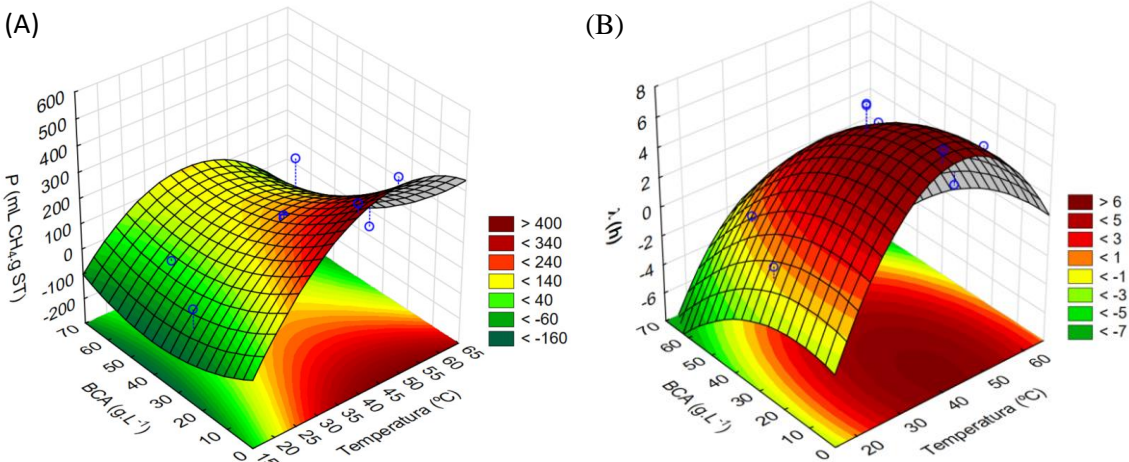
Para verificar a significância estatística dos modelos gerados, apesar do baixo R², foram avaliadas as ANOVAS de cada resposta (Tabela 7). Apenas para P e λ , o $F_{\text{calculado}}$ foi maior ou igual ao F_{tabelado} . Desse modo, apenas os modelos, superfícies de resposta e curvas de contorno de tais respostas foram consideradas para determinar a otimização do processo (Figura 5).

Tabela 7 - ANOVA referente as respostas P, Rm e λ

Resposta	Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado Médio	F calc	p-valor
P	Regressão	38380,0	3	12793,3	6,6	0,01909
	Resíduos	13616,8	7	1945,3		
	Falta de Ajuste	13592,3	5	2718,5	221,7	0,00450
	Erro Puro	24,5	2	12,3		
	Total	51996,9	10			
Rm	Regressão	73,1	2	36,5	7,8	0,01909
	Resíduos	37,3	8	4,7		
	Falta de Ajuste	19,9	6	3,3	0,4	0,00450
	Erro Puro	17,4	2	8,7		
	Total	110,3	10			
λ	Regressão	73,1	2	36,5	7,8	0,01909
	Resíduos	37,3	8	4,7		
	Falta de Ajuste	19,9	6	3,3	0,4	0,00450
	Erro Puro	17,4	2	8,7		
	Total	110,3	10			

Fonte: Autor (2024).

Figura 5 - Superfícies de respostas e curvas de contorno das respostas P (A) e λ (B)

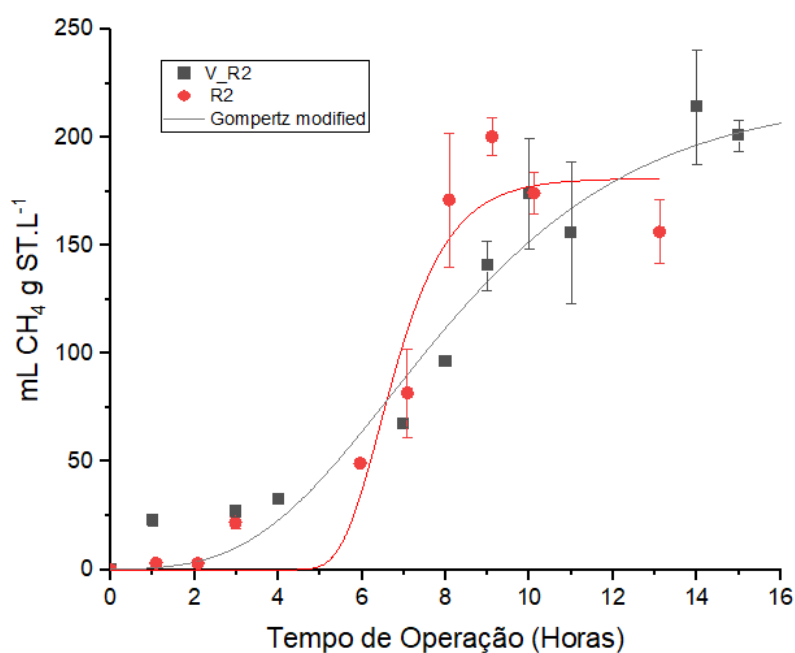


Fonte: Autor (2024).

De acordo com os gráficos de superfície de resposta (Figura 5), a condição otimizada está localizada na região vermelha dos respectivos gráficos. Essa área destaca para altos valores de P , acompanhados de uma redução simultânea em λ . Com isso, observa-se que a faixa ideal para a concentração de BCA e a temperatura encontra-se entre 8 e 10 g BCA.L⁻¹ e 35 a 55 °C, respectivamente. Essa faixa dos valores dos fatores analisados coincide justamente com o ensaio de R2 do DCCR (55 °C e 10 g BCA L⁻¹), no qual foi obtido o alto rendimento de metano (180,95 mL.g⁻¹ ST), acompanhado da maior produção acumulada (2750.52 mL) dentre os 11 ensaios realizados.

Para averiguar a validação dos modelos de regressão obtidos, uma nova repetição do ensaio R2 foi realizada. De acordo com o modelo estatístico, as respostas previstas para as condições 55 °C e 10 g BCA L⁻¹ seriam P de $137,26 \pm 34,0$ mLCH₄.g⁻¹ST e λ de $4,46 \pm 1,48$ h. Os resultados da validação experimental foram $185,88 \pm 19,66$ mL CH₄.g⁻¹ ST e $5,42 \pm 0,82$ h para P e λ , respectivamente (Figura 6). Portanto, pode-se afirmar que os modelos de regressão foram validados, visto que os valores de P e λ ficaram dentro do que era predito, indicando boa correlação do modelo estatístico.

Figura 6 - Rendimento de CH₄ do ensaio de validação (55 °C e 10 g BCA L⁻¹).



Fonte: Autor (2024).

Os resultados obtidos neste estudo, ao otimizar a co-digestão de BCA com dejetos de suínos, estão em conformidade com outros achados relatados na literatura. Pode-se observar na tabela 8 estudos que utilizaram o BCA, evidenciando aumento significativo na produção acumulada de CH₄,

Tabela 8 - Diferentes resultados obtidos para a produção de metano com BCA.

Referência	Substrato	Concentração Substrato	CH ₄ acumulado (mL)
Soares, et al., (2019)	Extrato de Levedura e BCA	1,0 e 4,0 g. L ⁻¹ Respectivamente	32.256 mL CH ₄ .
Braga et al., (2018)	BCA e consórcio fermentativo e celulolítico	2 g. L ⁻¹ e 10% respectivamente	141.120 mL CH ₄ .
Marques et al (2023)	BCA e inóculo de reator anaeróbio	17% e 83% respectivamente	367.000 mL CH ₄ .
Presente estudo	BCA com dejetos de suínos	10 g.L ⁻¹ e 250 ml respectivamente	5.905,38 mL CH ₄ .

Fonte: Autor (2024).

Soares et al (2019), utilizou consorcio anaeróbio como inóculo para a produção de biogás, juntamente com diferentes concentrações de BCA (1,58 a 4,42 g.L⁻¹) e extrato de levedura (LV) (0,58 a 3,42 g.L⁻¹) de acordo com um delineamento central composto. Neste estudo a produção máxima de metano foi atingida usando 1,0 g.L⁻¹ de (LV) e 4,0 g.L⁻¹ de BCA.

Já Braga et al (2018), utilizou o BCA como substrato lignocelulósico, combinado a coprodução de H₂ e CH₄ por um processo de fermentação escura em reatores em bateladas. NO qual maiores rendimentos tanto de H₂ como de CH₄ foram obtidos em condições com 2 g.L⁻¹ de BCA e 105 de um consorcio fermentativo e celulolítico ontido no Laboratório de Processos Biológicos da Universidade de São Paulo (LPB), utilizado com substrato.

Deste modo, por meio dos estudos citados e do presente trabalho realizado, é possível inferir que a utilização do BCA para a subsequente produção de metano, representa uma visão

promissora da digestão anaeróbia, que fornece um exemplo de produção de biogás a partir de biomassa lignocelulósica, proporcionando previsão de modelos para o aumento da produção de metano.

5.5 Caracterização da Comunidade Microbiana

As amostras sequenciadas foram R2 (10 g.L⁻¹ BCA, 55°C e 180,95 ml g⁻¹ST) e R4 (50 g.L⁻¹ BCA, 55°C e 96 ml g⁻¹ST) a fim de comparar a comunidade microbiana envolvida na produção de CH₄ e como é influenciada pelo aumento da concentração de BCA visto que ambos os ensaios foram realizados a 55°C. Rabelo et al (2018), identificou por meio do mapeamento da conversão de BCA em açúcares, ácidos orgânicos e hidrogênio, as espécies do gênero *clostridium* como as principais atuantes na hidrólise do BCA, deste modo com o aumento de BCA, espera-se o favorecimento da via acetoclástica para a produção de CH₄, em decorrência da maior disponibilidade de substratos celulolíticos, que contribui para a produção de ácidos orgânicos.

Os índices ecológicos encontram-se resumidos na Tabela 9. Pode-se observar com o índice Chao-1, maior diversidade na amostra do ensaio R2 em comparação ao R4, tanto para *Bacteria* (174 em R2 e 86 em R4) quanto para *Archaea* (16 em R2 e 12 em R4). Esse padrão de diversidade foi refletido nos valores do índice de Shannon, com maior diversidade de arqueas (1,744) e bactérias (3,542) em R2. No ensaio R4, de acordo com os resultados do índice de Simpson, maior dominância microbiana, com valores de 0,8379 para *Bacteria* e 0,663 para *Archaea*, foi obtida. A maior dominância microbiana em R4, em contraste com a diversidade observada em R2, está possivelmente relacionada às condições específicas que favoreceram o rendimento de CH₄. A baixa diversidade em R4 pode ser devido à presença de grupos microbianos mais especializados e adaptados às condições de produção de biogás. Em R2, a maior diversidade microbiana pode ser atribuída a um ambiente mais equilibrado, com diferentes grupos de microrganismos presentes.

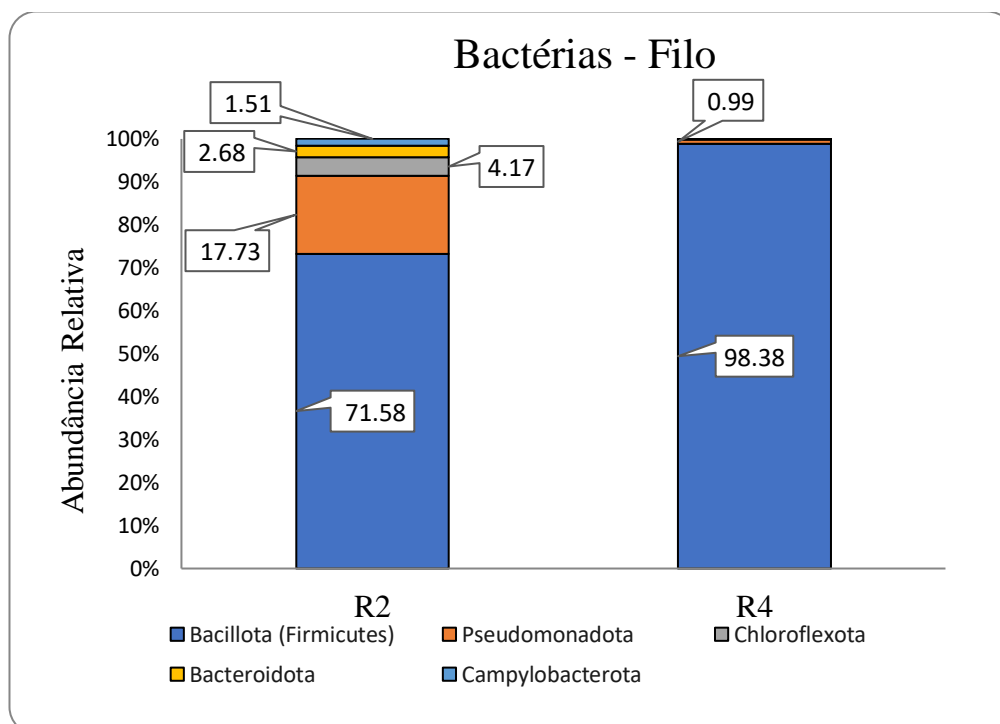
Tabela 9 - Índices ecológicos obtidos pelo sequenciamento do gene 16S rRNA via plataforma Illumina Hiseq a partir dos ensaios R2 e R4.

	Bacteria	
	R2	R4
	Índices ecológicos	
Shannon	3,542	2,421
Simpson	0,952	0,8379
Chao - 1	174	86
	Archea	
	R2	R4
	Índices ecológicos	
Shannon	1,774	1,269
Simpson	0,7233	0,663
Chao - 1	16	12

Fonte: Autor (2024).

Na amostra do ensaio R2 foi identificado em maior abundância a presença do gênero *Ruminiclostridium* (11,30%) (Figura 7) que são bactérias anaeróbias, celulolíticas e formadoras de esporos, associadas ao rúmen de ruminantes, pertencentes ao filo Firmicutes. No entanto, a sua abundância foi expressivamente maior no ensaio R4 (33,90%), indicando que o aumento da concentração de BCA teve uma influência positiva no seu estabelecimento. O maior aumento da concentração de BCA pode também estar associado à maior abundância relativa de *Thermoclostridium*, organismos que se desenvolvem em altas temperaturas e são conhecidos por degradar a celulose (DOMINGUES, et al., 2022). Esse resultado pode ser explicado pela maior disponibilidade de nutrientes associada ao aumento da concentração de BCA, que é utilizado por essas bactérias para o seu crescimento e reprodução. Como são celulolíticas, possuem a capacidade de degradar a celulose, o que justifica seu desenvolvimento nessas condições (GOMES et al., 2015).

Figura 7 - Abundância relativa referente aos 5 principais Filos de Bactérias identificados

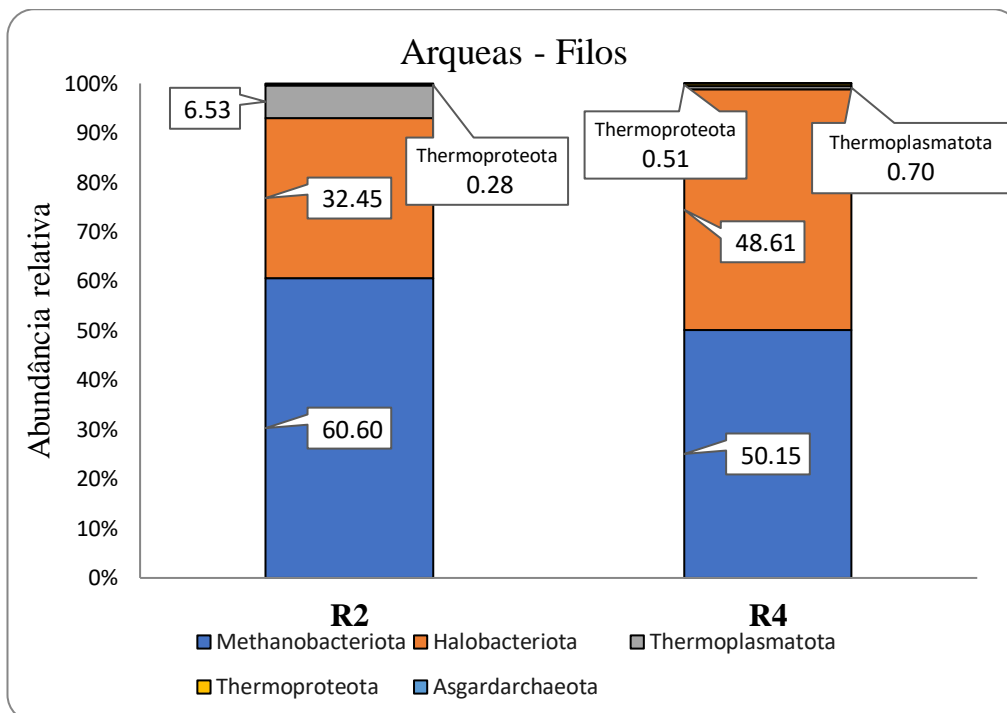


Fonte: Autor (2024).

Os filos bacterianos Pseudomonadota, Chloroflexota, Bacteroidota e Campylobacterota foram observados em proporções mais altas no ensaio R2 (17,73 %, 4,17% e 2,68% respectivamente). Embora esse ensaio tenha apresentado menor disponibilidade de carbono em comparação ao ensaio R4, houve condições mais favoráveis para o desenvolvimento de maior diversidade de filos bacterianos, sendo explicada pela capacidade dessas bactérias de metabolizar diferentes fontes de carbono produzindo uma variedade de metabólitos. Esses metabólitos incluem ácidos orgânicos, hidrogênio e dióxido de carbono, que são essenciais para a metanogênese. A diversidade bacteriana assegura uma ampla de reações metabólicas, proporcionando um ambiente favorável para a produção eficiente de metano pelas arqueas metanogênicas. (PENG et al., 2024; HUANG et al.,2023)

Em relação às arqueias observadas (Figura 8), Methanobacteriota foi o filo com maior abundância relativa observada no ensaio R2 (60,60%), com a presença dos gêneros *Methanobacterium* (48,87%), *Methanosaeta* (11,21%) e *Methanoregula* (9,72%). Já o ensaio R4 apresentou menor abundância de Methanobacteriota (50,15%) com maior abundância dos gêneros *Methanosarcina* (45,38%) e *Methanothermobacter* (31,00%), sugerindo que os diferentes gêneros de arqueas metanogênicas respondem de maneira diferente às variações de concentrações do BCA.

Figura 8 - Abundância relativa referente aos 5 principais Filos de Arqueas identificados



Fonte: Autor (2024).

Vale ressaltar que, entre essas arqueias, apenas a *Methanosaeta* é metanogênica acetoclástica, enquanto *Methanobacterium*, *Methanoregula* e *Methanothermobacter* são metanogênicas hidrogenotróficas, e *Methanosarcina* tem metabolismo versátil. No ensaio R2, a abundância de organismos associados à metanogênese hidrogenotrófica (65,53%) foi maior que aqueles envolvidos na metanogênese acetoclástica (19,43%), devido a maior abundância de *Methanobacterium* e *Methanoregula*.

Por outro lado, com aumento da concentração de BCA no ensaio R4, houve aumento da abundância de *Methanosarcina* (45,38%), provavelmente devido à maior produção de fenóis, o que levou a maior disponibilidade de acetato, substrato predominante para esse gênero na metanogênese. Houve também significativa abundância relativa de microrganismos associados a metanogênese hidrogenotrófica (51,66%), devido a presença de *Methanobacterium* e *Methanothermobacter*.

Ademais, em R4, foi observado abundância relativa de 48,61% do filo Halobacteriota, que são arqueas conhecidas pela sua capacidade de prosperar em condições extremas (WU et al., 2022). Além da identificação dos filotermoplasmatota (6,53% e 0,70%), thermoproteota (0,28% e 0,51%) e asgardarchaeota (0,15% e 0,02%) em baixa abundância nos ensaios R2 e R4, respectivamente.

O inóculo utilizado no presente estudo teve a sua comunidade microbiana sequenciada por Delforno et. al (2016), que identificou a composição microbiana. De acordo com os dados, 84,0% da comunidade pertencia ao domínio Bacteria e 6,5% ao domínio Archaea. Dentro do grupo bacteriano, o filo mais abundante foi Proteobacteria (91,7%), seguido por Firmicutes (3,5%) e Bacteroidetes (0,6%). No domínio Archaea, o filo Euryarchaeota foi o único presente, com uma abundância relativa variando entre 0,25% e 8,7% nos diferentes conjuntos de dados analisados.

Assim, por meio dos resultados apresentados, fica evidenciado que a adição do BCA junto com o inóculo no sistema analisado no presente trabalho, aumentou a disponibilidade de nutrientes devido a sua composição rica em celulose e hemicelulose, forneceu uma fonte adicional de matéria orgânica que ao ser hidrolisada e fermentada liberou hidrogênio e dióxido de carbono, o que favoreceu a metanogênese hidrogenotrófica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Destaca-se a partir dos ensaios realizados, que o processo de co-digestão de BCA com os dejetos líquidos de suínos resultou na redução significativa de λ (0,22 - 8h), quando comparado com a digestão individual de dejetos líquidos de suínos (171,72h), juntamente com o aumento da produção acumulada de metano (310,04 - 5905,38 mL) em relação ao ensaio controle (583,66 mL). Esses resultados proporcionam um aumento da eficiência global do sistema, visto que com a redução da fase lag, mais tempo é dedicado a fase ativa da produção do biogás, o que gera uma maior produtividade volumétrica do reator, levando a redução de custos operacionais e maior viabilidade econômica da digestão anaeróbia desses dois resíduos agroindustriais.

Deste modo, apesar da descentralização da produção, a co-digestão de dejetos de suínos e bagaço de cana-de-açúcar se mostra uma prática viável. Embora a maior parte da produção de dejetos de suínos (aproximadamente 60%) esteja localizada na região Sul do Brasil, cerca de 17% se encontra na região Sudeste (ABPA, 2024), que é a maior produtora de bagaço de cana-de-açúcar. Mesmo que essa produção seja considerada pequena em nível nacional, quando comparada com as produções europeias, apresenta alta significância.

A proximidade geográfica dessas regiões facilita a implementação da co-digestão, pois a integração dos recursos locais e a sinergia dos resíduos resultam em uma redução dos custos logísticos. Além disso, aproveita-se a infraestrutura existente nas usinas de açúcar, que

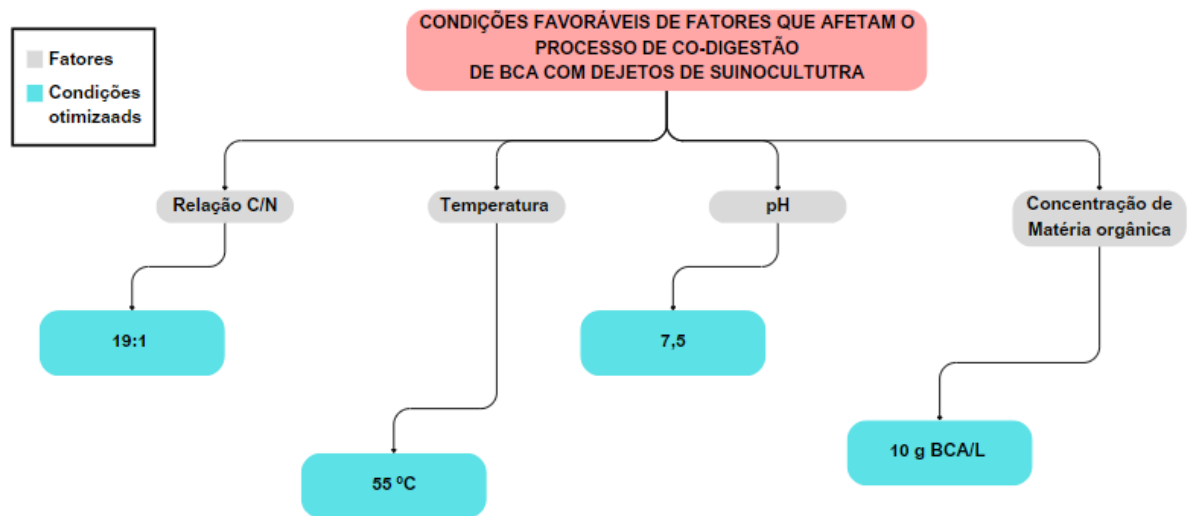
forneem as condições ideais para a digestão anaeróbica. Dessa forma, a co-digestão não só melhora a eficiência e sustentabilidade do processo, mas também maximiza o aproveitamento dos resíduos disponíveis.

Foi também constatado que, as variações nos parâmetros de temperatura e de concentração de BCA influenciaram significativamente a produção de CH_4 . O aumento da adição de BCA, no entanto, levou a drástica redução no rendimento de CH_4 , devido ao desequilíbrio do processo de digestão anaeróbia e à consequente inibição da atividade microbiana. Esse equilíbrio, entretanto, pôde ser mantido com o aumento da temperatura, como evidenciado nos ensaios R3 e R4 onde a produção de CH_4 aumentou de 5,23 para 96,19 $\text{mL CH}_4.\text{g}^{-1} \text{ ST}$, ambos com 50 g.L^{-1} de BCA e temperaturas de 25 e 55 °C, respectivamente. Assim, a combinação de fatores como temperatura otimizada e o uso de materiais que enriquecem o substrato pode ser uma estratégia eficaz para maximizar a produção de biogás em sistemas de digestão anaeróbia com dejetos de suínos.

De acordo com os microrganismos mais dominantes nos dois ensaios R2 e R4, foi possível inferir que a metanogênese hidrogenotrófica foi a via predominante para a produção de CH_4 . Além disso, verificou-se que a concentração de BCA teve um impacto significativo na atividade microbiana, devido ao aumento da produção de fenóis finais. Esse aumento de fenóis levou a uma maior disponibilidade de acetato, o que favoreceu o desenvolvimento de arqueas acetoclásticas, que utilizam o acetato para gerar metano.

Por meio da análise das superfícies de respostas obtidas para rendimento de CH_4 e λ , identificou-se que a temperatura ótima do processo foi 55 °C com 10 g.L^{-1} de BCA (Figura 9). Sob essas condições, foi possível obter rendimento de $185,88 \pm 19,66 \text{ mL CH}_4.\text{g}^{-1} \text{ ST}$ e λ de $5,42 \pm 0,82 \text{ h}$, com produção acumulada de 2750,4 mL CH_4 sendo 4,7 vezes superior ao ensaio controle. Tal condição viabilizou a obtenção alto rendimento para a produção de metano e fase lag reduzida quando comparada às demais condições de co-digestão de dejetos líquidos de suínos e BCA.

Figura 9 - Condições utilizadas no ensaio de otimização da co-digestão de BCA e dejetos de suinocultura



Fonte: Autor (2024).

7 CONCLUSÃO

A otimização do processo de produção de CH_4 , com base no DCCR em comparação com o controle (ensaio sem adição de BCA), foi alcançada utilizando $55\text{ }^\circ\text{C}$ e 10 g.L^{-1} de BCA. Ademais, observou-se aumento da velocidade de reação (de 2,53 para $249,51\text{ mL.g}^{-1}\text{ST.h}^{-1}$) e redução de λ (de 171,72h para 0,22h) com adição de BCA. Assim, o uso da co-digestão de resíduos da suinocultura e da indústria sucroalcooleira foi eficaz em melhorar eficiência do processo de digestão anaeróbia dos resíduos. Com o uso de BCA houve não apenas aumento de rendimento de CH_4 , mas também redução do tempo necessário para o início de produção, tornando o processo mais viável e atrativo para aplicação em larga escala. Com esse processo otimizado, a integração de resíduos agrícolas pode ser uma estratégia mais promissora para a produção de biogás, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e eficientes na gestão de resíduos orgânicos e geração de energia renovável.

8 REFERÊNCIAS

ABRA. Associação Brasileira de Reciclagem Animal – Panorama da avicultura e suinocultura brasileira, 2023.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal – Relatório Anual, 2024.

ADORNO, M.A.T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and Validation of Two Methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 05, n.07, p.406–414, 2014.

CAO, S.; AITA, G. M. Enzymatic hydrolysis and ethanol yields of combined surfactant and dilute ammonia treated sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**,. V. 131, p.357-364, mar 2013.

ALVAREZ, J. M. et al. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 412 -427, 2014.

ANTONELLI, J. Gestão de resíduos de suinocultura no município de Missal. 2013. Monografia (Especialista na pós graduação em Gestão Ambiental) – UNIVERSIDADE Federal do Paraná, Medianeira, 2013.

ANTONELI, V. et al. Effects of applying liquid swine manure on soil quality and yield production in tropical soybean crops (Paraná, Brazil). **Sustainability (Switzerland)**, v. 11, n. 14, p. 1–11, 2019.

APHA/AWWA/WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22. ed. [s.l: s.n.]1360 pp. p.

ARAÚJO, A. P. C. **Produção de biogás a partir de resíduos orgânicos utilizando biodigestor anaeróbico**. 2017. Monografia (Bacharel em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

ARELLI, V. et al. Solid-state anaerobic digestion of sugarcane bagasse ant different solid concentrations: Impact of bio augmented cellulolytic bacteria on methane yield and insights on microbial diversity. **Bioresource Technology**, v. 340, 2021.

ASLAN, N. Application of response surface methodology and central composite rotatavle design for modeling the influence of some operating variables of a multi-gravity separator for coal cleaning. **Fuel**, v. 86, p. 769-776, 2007.

BADSHAH, M. et al. Use of an automatic methane potential test system for evaluating the biomethane potential of sugarcane bagasse after different treatments. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 262-269, 2012.

BAÊTA, B. E. L. et al. Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolysate in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 137-146, 2016.

BAKONYI, P. et al. Review on the start-up experiences of continuous fermentative hydrogen producing bioreactors. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 40, p. 806–813, 2014.

BATSTONE, D. J; VIRDIS, B. The role of anaerobic digestion in the emerging energy economy. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 27, p. 142-149, 2014.

BOUALLAGUI, H. et al. Effect of temperature on the performance of an anaerobic tubular reactor treating fruit and vegetable waste. **Process Biochemistry**, Londres, v. 39, n. 12, p. 2143-2148, 2004.

BRAGA, et al. Bacterial and archaeal community structure involved in biofuels production using hydrothermal and enzymatic-pretreated sugarcane bagasse for an improvement in hydrogen and methane production. **Royal Society of chemistry**, 2018.

BRITO, F. L. S. **Biodigestão anaeróbia em duplo estágio do bagaço de cana de açúcar para obtenção de biogás**. 2011. Dissertação (Mestre em Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

CAMARGO, F. P. et al. Bio-CH₄ yield of swine manure and food waste optimized by co-substrate proportions diluted in domestic sewage and pH interactions using the response surface approach. **Journal of Environmental Management**, v 348, 2023.

CAO, S.; AITA, G. M. Enzymatic hydrolysis and ethanol yields of combined surfactant and dilute ammonia treated sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**,. V. 131, p.357-364, mar 2013.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4754–4766, 2010.

CARDONA, L. et al. Co-digestion of wastewater sludge: Choosing the optimal blend. **Waste Management**, v. 87, p. 772–781, 2019.

CARDOSO, A. M. et al. Archaea: Potencial Biotecnológico. **Revista Biotecnológica ciência e desenvolvimento**, v.30, p. 71 – 77, 2003.

CONAGIN, A. Delineamento (1/5) (5 x 5 x 5) em blocos. *Bragantia* - **Revista científica do instituto agrônomo**, Campinas - SP , 1982.

DEMIRBAS, A. Combustion characteristics of different biomass fuels. **Journal of Environmental Management**, v.30 n 2, p. 219 - 230, 2004.

DELFONO, T. P. et al. Microbial diversity of a full-scale UASB reactor applied to poultry slaughterhouse wastewater treatment: integration of 16S rRNA gene amplicon and shotgun metagenomic sequencing. **MicrobiologyOpen**, v. 6, 2016.

DIONIZIO, B. S. et al. The deconstruction of the lignocellulolytic structure of sugarcane bagasse by laccases improves the production of H₂ and organic acids. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 194, p. 3145 - 3166, 2022.

DOMINGUES, S. Z.; TIMMERS, L. F.; GRANADA, C. E. Cellulase production by bacteria is a strain-specific characteristic with a high biotechnological potential: A review of cellulose from highly studied strains. *Cellulose*, v. 29, p. 8065 – 8083, 2022.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350– 356, 1956.

GOMES, G. M. F. et al. Biodegradation of sugarcane bagasse by ruminal microorganisms from sheep and goats. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 31, n. 1, p. 204 – 214, 2015.

GLOCKNER et al. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. **Journal of biotechnology**, v. 261, p. 169-176, 2017.

GUERI, M. V. D; SOUZA, S. N. M; KUCZMAN, O. Pâmetros operacionais do processo de digestão anaeróbia de resíduos alimentares: Uma revisão. **Biofix scientific journal**. v.3, n.1, p.17- 25, 2018.

HERNÁNDEZ, Y. R. et al Sargassum-pig manure co-digestion: An alternative for bioenergy production and treating a polluting coastal waste. **Renewable Energy**, v 199, p. 1336-1344, 2022.

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

HUANG, J. et al. Successional action of bacteroidota and Firmicutes in decomposing straw polymers in a paddy soil. **Environmental Microbiome**. 2023.

JIANG, J. et al. Soil organic matter is important for acid buffering and reducing aluminum leaching from acidic forest soils. **Chemical Geology**, v. 501, p. 86-94, 2018.

JIMÉNEZ, J. et al. Optimization of the specific methanogenic activity during the anaerobic co-digestion of pig manure and rice straw, using industrial clay residues as inorganic additive. **Chemical Engineering Journal**, v. 259, p. 703-714, 2015.

KAUR, G. et al. Integrated food waste and sewage treatment: A better approach than conventional food waste-sludge co-digestion for higher energy recovery via anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 289, n. June, p. 121698, 2019.

KHAILID, A. et al. The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v. 31, p. 1737-1744, 2011.

KITTELMANN, S. et al. Simultaneous amplicon sequencing to explore co-occurrence patterns of bacterial, archaea and eukaryotic microorganisms in rumen microbial communities. *PloS one*, 8(2), 2013.

KLINDWORTH, A. et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res* 41 (1). 2013.

KORUCU, H. Evaluation of the performance on reduced graphene oxide synthesized using ascorbic acid and sodium borohydride: Experimental designsbased multi-response optimization application. **Journal of Molecular Structure**, v. 1268, 2022.

LATHA, K. et al. Mixing strategies of high solids anaerobic co-digestion using food waste with sewage sludge for enhanced biogas production. **Journal of Cleaner Production**, v. 210, p. 388–400, 2019.

LIANG, J. et al. Promising biological conversion of lignocellulosic biomass to renewable energy with rumen microorganisms: A comprehensive review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 134, 2020.

MAGALHÃES, M. A. et al. Composting of sugarcane trash used as filtering material for swine wastewater. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2006.

MARQUES, et al. Produção de Biogás a partir de bagaço de cana-de-açúcar e frações pré-tratadas. **Embrapa: VII Encontro de Pesquisa e Inovação**, 2023.

MASIH-DAS, J.; TAO, W. Anaerobic co-digestion of foodwaste with liquid dairy manure or manure digestate: Co-substrate limitation and inhibition. **Journal of Environmental Management**, v. 223, n. July, p. 917–924, 2018.

MATEUS, N. B; BARBIN, D; CONAGIN, A. Viabilidade de uso do delineamento composto central. Departamento de Estatística, Universidade Estadual de Maringá. Maringá - PR, 2001.

MEGHANA, M.; SHASTRI, Y. Sustainable valorization of sugar industry waste: Status, opportunities and challenges. **Bioresource Technology**, v. 303, 2020.

MUJTABA, M. et al. Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: A review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. **Journal of Cleaner Production**, v. 402, 2023.

NETO, M. S. de A.; OLIVEIRA, R. A. de. Remoção de matéria orgânica, de nutrientes e de coliformes no processo anaeróbio em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB) para o tratamento de águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola**, v. 29, n. 1, p. 148–161, 2009.

ORRICO, A. C. A. et al. Codigestão anaeróbia de dejetos de suínos e níveis de inclusão de óleo de descarte, *Revista de Engenharia Agrícola*, v. 35, p. 657–664, 2015.

PAN, S. et al. Technoeconomic and environmental perspectives of biofuel production from sugarcane bagasse: Current status, challenges and future outlook. *Industrial Crops and Products*, v. 188, 2022.

PENG, Z. et al Community structure and carbon metabolism functions of bacterioplankton in the Guangdong coastal zone. **Marine Life Science & Technology**, v.6, p.547-561, 2024.

PONCE, F. A. M. **Produção de hidrogênio e ácidos orgânicos a partir do bagaço de cana-de-açúcar e licor de pentoses em reatores em batelada com consórcio de microorganismos autóctones.** 2022. Dissertação (Mestre em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

RABELO, C. A. B. S. et al. Optimization of hydrogen and organic acids productions with autochthonous and allochthonous bacteria from sugarcane bagasse in batch reactors. **Journal of Environmental Management**, v. 223, p. 952–963, out. 2018.

RABELO, C. A. B. S. et al. Isolation of *Paraclostridium* CR4 from sugarcane bagasse and its evaluation in the bioconversion of lignocellulosic feedstock into hydrogen by monitoring cellulase gene expression. **Journal of Environmental Management**, v. 715, n.1 p.136868, may. 2020.

RESENDE, J. A. **Avaliação da diversidade microbiana e do risco clínico-microbiológico de sistemas de biorreatores para a produção de biogás e biofertilizante a partir de dejetos da pecuária leiteira.** 2013. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

RIAÑO, B.; MOLINUEVO, B.; GONZÁLEZ, M. C. G. Potential for methane production from anaerobic co-digestion of swine manure with winery wastewater. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 4131 – 4136, 2011.

RITTER, M. T. et al. Salt slag and rice husk ash as raw materials in zeolite synthesis: Process optimization using central composite rotational desing. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 39, 2024.

ROCHA, G. J. M. et al. Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical- chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p.52-58, feb. 2015.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos. 3. ed. Campinas, São Paulo: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2014.

SAAD, M. F. M. et al. Hydrogen and methane production from co-digestion of food waste and chicken manure. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 28, n. 4, p. 2805–2814, 2019.

SCHAEFER, R. et al. Indicators for sustainable energy development: Brazil's case study. **Natural Resources Forum**, v.29, issue 4, p.284-297.

SINGH R.; ANAND R. C. Comparative performances of Indian small solid-state and conventional anaerobic digesters. **Bioresource Technology**, Essex, v. 47, p. 235-238, 1994. [http://dx.doi.org/10.1016/0960-8524\(94\)90186-4](http://dx.doi.org/10.1016/0960-8524(94)90186-4)

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, p. 71 – 81, 2002.

SOARES, L. A. et al. Experimental design and syntrophic microbial pathways for biofuel production from sugarcane bagasse under thermophilic condition. **Renewable Energy**, v. 140, p. 852–861, 2019.

SOARES, L. A. et al. Biofuel production from solid and liquid fractions of hydrothermally pretreated sugarcane bagasse in a continuous compartmentalized reactor and potential metabolic pathways. 2024.

TAI, J. et al. Biological hydrogen production from phenol- containing wastewater using *Clostridium butyricum*. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 24, p. 13345–13349, dez. 2010.

TIAN, H. A proposed mechanism for the ammonia-LCFA synergetic co-inhibition effect on anaerobic digestion process. **Chemical Engineering Journal**, v. 349, p 574-580, 2018.

TRZCINSKI, A. P.; STUCKEY, D. C. Treatment of municipal solid waste leachate using a submerged anaerobic membrane bioreactor at mesophilic and psychrophilic temperatures: Analysis of recalcitrantes in the permeate using GC-MS. **Waster Research**, v. 44, p. 671-680, 2010.

UNICA. Acompanhamento da safra atual na região centro-sul, 2024.

VÁRQUEZ-LÓPES, M.; ANDRADE, I. M. Biohydrogen production by co-digestion of food waste and corn industry wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**, 2024.

VATS, N.; KHAN, A. A.; AHMOD, K. Effect of substrate ratio on biogas yield for anaerobic co-digestion of fruit vegetable waste & sugarcane bagasse. **Environmental Technology & Innovation**, v. 13, p. 331-339, 2019.

WANG, J.; WAN, W. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 1, p. 235–244, 2009.

WICKHAM, R. et al. Pilot-scale operation experience of anaerobic Co-digestion for possible full scale implementation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 142, n. March, p. 137–142, 2019.

WINKLER, J. et al. Impacto of impeller desing on anaerobic digestion: Assessment of mixing dynamics, methane yild, microbial communities and digestate dewaterability. **Revista do Bioresource Technology**, v. 406, 2024.

WU, J. et al. The archaeal class Halobacteria and astrobiology: Knowledge gaps and research opportunities. **Sec. Extreme Microbiology**, v.13, 2022.

YONG, Z. et al. Anaerobic co-digestion of food waste and straw for biogas production. **Renewable Energy**, v. 78, p. 527–530, 2015.

ZAHAN, Z.; OTHMAN, M. Z.; MUSTER, T. H. Anaerobic digestion/co-digestion kinetic potentials of different agro-industrial wastes: A comparative batch study for C/N optimisation. **Waste Management**, v. 71, p. 663–674, jan. 2018.

ZHAO, Y. et al. Co-digestion of oat straw and cow manure during anaerobic digestion: Stimulative and inhibitory effects on fermentation. **Bioresource Technology**, v. 269, n. July, p. 143–152, 2018.

ZWIETERING, M. H. et al. . Modeling of bacterial growth with shifts in temperature. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 1, p. 204–213, 1994.