

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/01/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**DIGESTÃO ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATORES
HORIZONTAIS DE ALTA TAXA: DESEMPENHO DO
PROCESSO E COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA**

Stella Rubim de Sousa

Bacharela em Aquacultura

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**DIGESTÃO ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATORES
HORIZONTAIS DE ALTA TAXA: DESEMPENHO DO
PROCESSO E COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA**

Discente: Stella Rubim de Sousa

Orientador: Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira

Coorientadora: Profa. Dra. Rose Maria Duda

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutora em
Microbiologia Agropecuária.**

2022

S725d Sousa, Stella Rubim de
Digestão anaeróbia da vinhaça em reatores horizontais de alta taxa : desempenho do processo e composição da microbiota / Stella Rubim de Sousa. -- Jaboticabal, 2022
208 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Roberto Alves de Olivera
Coorientadora: Rose Maria Duda

1. Biogás. 2. Fenton. 3. Recirculação de efluente. 4. Sistema RAHLF. 5. Tratamento de efluentes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

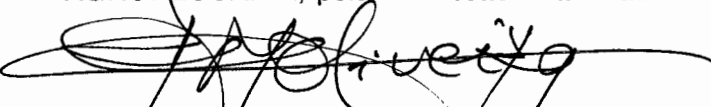
**TÍTULO DA TESE: DIGESTÃO ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATORES HORIZONTAIS DE ALTA
TAXA: DESEMPENHO DO PROCESSO E COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA**

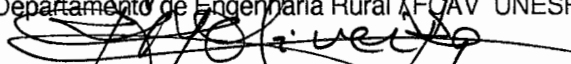
AUTORA: STELLA RUBIM DE SOUSA

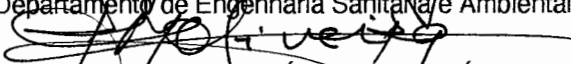
ORIENTADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

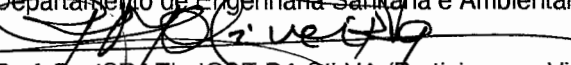
COORIENTADORA: ROSE MARIA DUDA

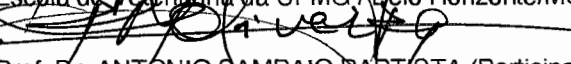
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MICROBIOLOGIA
AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Rural / FCAV UNESP Jaboticabal/SP


Prof. Dr. VALDERI DUARTE LEITE (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental / Universidade Estadual da Paraíba / Campina Grande/PB


Profa. Dra. JULIANA CALÁBRIA DE ARAÚJO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental / UFMG-Belo Horizonte/MG


Prof. Dr. ISRAEL JOSE DA SILVA (Participação Virtual)
Escola de Veterinária da UFMG / Belo Horizonte/MG


Prof. Dr. ANTONIO SAMPAIO BAPTISTA (Participação Virtual)
Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz (ESALQ) / Piracicaba/SP

Jaboticabal, 27 de janeiro de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Stella Rubim de Sousa – Filha de Washington Rubim de Sousa e Cleonice Aparecida de Souza, nascida em Goiânia, no Estado de Goiás, no dia 26 de setembro de 1990. Graduada em Aquacultura pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em dezembro de 2014. Em 2015, deu início ao curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Minas Gerais, no Laboratório de Aquacultura (LAQUA), defendendo sua dissertação em fevereiro 2017. Em março de 2017, ingressou no curso de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária em nível de Doutorado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – FCAV/UNESP, no Laboratório de Saneamento Ambiental, Departamento de Engenharia Rural, atuando na área de pesquisa de tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar por meio da digestão anaeróbia e também pela combinação do tratamento anaeróbio e processo oxidativo avançado (Fenton).

***“O correr da vida embrulha tudo,
A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa,
Sossega e depois desinquieta.***

O que ela quer da gente é coragem!

O que Deus quer é ver a gente

Aprendendo a ser capaz

De ficar alegre a mais,

No meio da alegria.

E ainda mais alegre,

Ainda no meio da tristeza.

A vida inventa!

A gente principia as coisas,

No não saber por quê,

E desde aí perde o poder de continuação,

Porque a vida é mutirão de todos,

Por todos remexida e temperada.

O mais importante e bonito, do mundo, é isto:

Que as pessoas não estão sempre iguais,

Ainda não foram terminadas,

Mas que estão sempre mudando.

Afinam ou desafinam. Verdade Maior.

Viver é muito perigoso; e não é não.

Nem sei explicar estas coisas.

Um sentir é o do sentente, mas outro é do sentidor”.

Guimarães Rosa

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Cleonice e Washington; agradeço imensamente pela educação e valores que me foram ensinados. Vocês foram os pais perfeitos para me ajudarem a ser quem eu sou hoje. Obrigada por todo amor e cuidado! Espero poder retribuir tudo o que vocês me proporcionaram.

Aos meus irmãos, Bruno e Matheus; agradeço pela amizade, apoio, compreensão, amor e incentivo. Sou muito grata a Deus por tê-los em minha vida. Amo vocês, imensamente!

À minha avó, Dona Ivone; obrigada pelas palavras de amor, conselhos, incentivo e pelas nossas tardes acompanhadas de um cafézinho.

À minha madrinha Rita; obrigada por todo amor e presença.

Aos meus queridos tios, obrigada pelo apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar para os caminhos necessários para o meu crescimento, sempre me dando forças para continuar.

Ao meu querido e respeitado orientador, professor Dr. Roberto Alves de Oliveira, obrigada pela oportunidade e pela confiança. Agradeço por todo aprendizado, pelo incentivo, por todas as contribuições e carinho. Todo conhecimento adquirido foi de grande valia para minha formação profissional e crescimento pessoal. Agradeço também por estimular o senso crítico de todo o grupo do laboratório, e pelos grandes conselhos, que muitas das vezes, foram conselhos de um pai. Sempre lembrarei do senhor com muito carinho e respeito.

À minha querida coorientadora, professora Dra. Rose Maria Duda, agradeço pelos grandes e valiosos ensinamentos, pelos conselhos, contribuições, críticas construtivas, pelas orientações, disposição em ensinar, pela compreensão e paciência. Sou muito grata pelos anos de convivência e por ter tido uma coorientadora tão presente e disposta em ajudar. Sua força e determinação é admirável! Será sempre um exemplo para mim. Obrigada por tudo.

Ao professor Dr. Luciano, obrigada por abrir as portas do laboratório de saneamento ambiental durante o período de graduação para mim. Agradeço pela oportunidade recebida, de poder ter participado dos projetos de Iniciação Científica e de Extensão Rural durante minha trajetória. As oportunidades fornecidas fizeram com que eu me apaixonasse pela área ambiental, contribuindo para o início de uma longa caminhada. Agradeço também por todo o carinho e orientações, pela disponibilidade em ajudar, por tudo o que me foi ensinado e pela amizade. Sua simplicidade e humildade é encantadora.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, pela minha formação e por todo conhecimento adquirido.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), ao Laboratório de Saneamento Ambiental e o Departamento de Engenharia Rural, disponibilizando de todos os recursos e instalações para a realização deste trabalho.

À Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal (FATEC), por todo auxílio.

Às Usinas Pitangueiras e Santa Fé pelo fornecimento do material necessário para realização deste trabalho.

À Juliana Vantini, ao Rafael Correia e Fernanda Zaneli pelas grandes contribuições nas análises de biologia molecular.

Aos amados amigos de laboratório do Saneamento Ambiental, agradeço por toda ajuda, companheirismo, pela amizade e por todos os momentos alegres que passamos, sempre muito unidos. Deixo meu grande abraço para Valciney, Jorge, Dênis, Wilmar, Eliane, Michel, Vivian, Áureo, Alexandra, Amanda, Aderbal, e um recado, em especial, para Renata e Kleber: agradeço imensamente por tudo o que vivemos, de maneira íntima. Vocês fizeram com que a caminhada até aqui se tornasse mais leve. Aprendemos uns com os outros o significado real de amizade, empatia, resiliência e trabalho em equipe. Levarei a amizade de vocês por todo sempre.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Rural: Ailton, Davi, João, Marcos, agradeço por toda contribuição e amizade.

À seção técnica da Pós-Graduação, por todo auxílio e atenção.

Aos membros da comissão examinadora do Exame Geral de Qualificação, José Tavares de Sousa, Luciano dos Santos Rodrigues, Leonardo Lucas Madaleno e Marcelo Bruno, agradeço pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa (processo 11045-0, 2015).

À CAPES pela bolsa de doutorado concedida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

DIGESTÃO ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATORES HORIZONTAIS DE ALTA TAXA: DESEMPENHO DO PROCESSO E COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA

RESUMO – A recuperação de recursos tem sido extremamente abordada nos tempos atuais, trazendo uma nova consciência coletiva dos aspectos ambientais, sociais e governamentais (ESG). A produção de biogás a partir da vinhaça de cana-de-açúcar possui um grande potencial para as questões supracitadas para o setor sucroenergético. O emprego de reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) para a digestão anaeróbia e produção de biogás a partir de resíduos apresenta grandes vantagens em virtude a sua robustez, facilidade construtiva, operacional e econômica. No entanto, esta conformação de sistema para a biodigestão da vinhaça ainda foi pouco estudada. Neste estudo foi avaliado o efeito do aumento progressivo da carga orgânica volumétrica (COV) sobre o desempenho do sistema RAHLF e sobre a microbiota presente no lodo, durante três períodos de safra da cana consecutivos (810 dias). O experimento foi dividido em fase de partida e fases de 1 a 9, sendo a última fase distinguida pela combinação da digestão anaeróbia com o processo Fenton. Foram aplicadas COV de até 27,9 g de DQO L.d⁻¹ nos RAHLF apresentando estabilidade durante todo período experimental, e remoções de DQO total acima de 60%, sendo as melhores remoções atingidas na fase 9 (85%), sem suplementação nutricional. Na fase 9 promoveram-se a redução de sulfato, sulfeto e fenóis no afluente, o que favoreceu a produção volumétrica de metano (0,28 L CH₄ (L d)⁻¹) em relação à fase anterior para condições de COVs similares. No entanto as médias de produção específica de metano, para ambas as fases, apresentaram-se semelhantes. O sequenciamento de nova geração (Illumina) realizado no lodo dos reatores em diferentes fases do experimento demonstrou uma comunidade microbiana diversa, com elevada abundância de bactérias dos filos Firmicutes, Proteobacteria, Cloacimonetes e Bacteroidetes, que contribuíram para a eficácia do sistema. A qPCR realizada apresentou alterações na composição microbiana, indicando que houve tendência dos microrganismos a realizarem a metanização pelas vias hidrogenotróficas.

Palavras-chave: Biogás; fenton; recirculação de efluente; sistema RAHLF; tratamento de efluentes.

ANAEROBIC DIGESTION OF VINASSE IN HIGH-RATE HORIZONTAL REACTORS: PERFORMANCE PROCESS AND MICROBIOTA COMPOSITION

ABSTRACT – The recovery of resources has been extremely addressed nowadays, bringing a new collective awareness of environmental, social and governmental aspects (ESG). The production of biogas from sugarcane vinasse has great potential for the aforementioned issues for the sugar-energy sector. The use of HARFB reactors for anaerobic digestion and biogas production from residues has great advantages due to its robustness, ease of construction, operation and economics, however, this conformation of a system for biodigestion of vinasse has been little studied. In this sense, this study evaluated the effects of the progressive increase in OLR on the performance of the HARFB system and on the microbiota present in the sludge, during three consecutive sugarcane harvest periods (810 days). The experiment was divided into a starting phase and phases from 1 to 9, the last phase being distinguished by the combination of anaerobic digestion with the Fenton process. The system reached OLR of up to 27.9 g of COD Ld⁻¹, showing stability throughout the experimental period, and total COD removals above 60%, with the best removals achieved in phase 9 (85%), without nutritional supplementation during the entire experiment. Phase 9 promoted the reduction of sulfate, sulfide and phenols in the influent and favored the volumetric methane production (0.28 L CH₄ (L d)⁻¹) compared to the previous phase for similar OLR conditions. However, the specific methane production averages for both phases were similar. The next generation sequencing (Illumina) carried out in the reactor sludge at different stages of the experiment showed a diverse microbial community, with a high abundance of bacteria from the phyla Firmicutes, Proteobacteria, Cloacimonetes and Bacteroidetes, which contributed to the efficiency of the system. The qPCR performed showed changes in the microbial composition, indicating that there was a tendency for microorganisms to carry out methanization by hydrogenotrophic pathways.

Keywords: Biogas; fenton; effluent recirculation; HARFB system; wastewater treatment.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma gramínea pertencente ao gênero *Saccharum*, muito cultivada no mundo e com um grande potencial para a produção de açúcar e etanol, representando uma importante fonte de mão de obra no meio rural e na agroindústria (Basanta et al., 2003; Parsaee et al., 2019). O Brasil lidera a produção de etanol e açúcar de cana-de-açúcar com a produção de 35,7 bilhões de litros e 29,8 milhões de toneladas, respectivamente, na safra de 2019/2020 (Conab, 2020). Na safra de 2019/2020 atingiu-se o recorde na produção do etanol, mas os volumes de produção nas safras subsequentes poderão ser afetadas pela pandemia da Covid-19, pois ocorreu a priorização das indústrias sucroenergéticas para a produção de açúcar (Conab, 2021). No entanto, o etanol continua sendo uma importante fonte de energia limpa e renovável.

O etanol produzido a partir da cana-de-açúcar, assim como outras fontes alternativas de energia, para substituir os combustíveis fósseis, surgiram como uma solução para a escassez de energia e para a redução de adversidades ambientais relacionadas à poluição do ar (Alkimim and Clarke, 2018). As empresas que adotam práticas de *Environmental, Social, Governance* (ESG) apresentam maior tendência à lucratividade, aumentando desta forma o seu valor de mercado e sendo atraídas, consequentemente, por grandes investidores (Umar et al., 2020). De acordo com Manochio et al. (2017), o uso do etanol proveniente da cana-de-açúcar pode reduzir as emissões de gases de efeito estufa (GEE) em torno de 40 a 60%, apresentando custos relativamente menores de produção em relação aos combustíveis derivados do petróleo.

Nas etapas do processo da fabricação do etanol e do açúcar são geradas grandes quantidades de subprodutos industriais como o bagaço da cana, cinzas, torta de filtro, melaço e a vinhaça de cana-de-açúcar (Moraes et al., 2014; Parsaee et al., 2019). Para cada litro de etanol produzido a partir da cana-de-açúcar são gerados de 10 a 15 L de vinhaça (España-Gamboa et al., 2011). A vinhaça da cana-de-açúcar é um subproduto complexo. Apesar de conter grandes quantidades de sólidos dissolvidos em sua composição, possui característica líquida e de coloração escura.

Apresenta também nutrientes e minerais, valores de pH reduzido (3,5 a 5,0) demonstrando características ácidas e corrosivas, possui elevados valores de demanda química de oxigênio (DQO) (30 a 150 g L⁻¹), presença de compostos fitotóxicos e antibacterianos como fenóis, polifenóis e metais pesados, além de concentrações de sulfatos que podem variar (Parsaee et al., 2019).

A composição da vinhaça varia conforme as características intrínsecas do processamento da cana-de-açúcar do processo produtivo, e dos produtos finais desejáveis da indústria sucroenergética (Fuess e Garcia, 2014). Apesar de ser um subproduto complexo, a vinhaça possui características consideradas interessantes para a fertirrigação do solo, pois é abundante em água, rica em matéria orgânica, e nutrientes como o potássio, nitrogênio, fósforo e cálcio (Espanha-Gamboa et al., 2011; Silva et al., 2011; de Souza et al., 2013; Buller et al., 2021).

Atualmente, a grande maioria das usinas sucroenergéticas situadas no Brasil, principalmente no Estado de São Paulo, onde encontram-se a maioria das usinas sucroenergéticas do país, tem promovido a aplicação, em larga escala, da vinhaça bruta no solo como fertilizante (Fuess and Garcia, 2014). Apesar de haver o controle da fertirrigação da vinhaça ao solo, sabe-se que quando esta aplicação ocorre de forma contínua e exacerbada, a vinhaça pode contribuir com a salinização do solo, se tornando também uma possível fonte de poluição para as águas superficiais e subterrâneas (Campos et al., 2014). Sendo assim, o gerenciamento da vinhaça representa um sério problema ambiental para as destilarias de etanol (Nakashima e Junior, 2020).

As tecnologias relacionadas à digestão anaeróbia vêm sendo aplicadas como alternativa para a redução do potencial poluidor da vinhaça gerando o gás metano, produto de valor, que pode ser utilizado como biocombustível, melhorando o potencial energético das indústrias sucroenergéticas (Parsaee et al., 2019; Peiter et al., 2019). Além disto, a recuperação de energia da vinhaça por meio da digestão anaeróbia pode contribuir para a redução das emissões de gases de efeito estufa (GEE) contribuindo com impactos positivos nos níveis socioeconômicos regionais e locais (Buller et al., 2021).

Diversas configurações de reatores anaeróbios para conversão da matéria orgânica em biogás vêm recebendo a atenção de pesquisadores no intuito de

aprimorar o processo do tratamento biológico (Döll e Foresti, 2010), inclusive para o tratamento da vinhaça (Del Nery et al., 2018). Dentre os reatores utilizados na digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar, por exemplo, destacam-se os reatores UASB em série, com COVs aplicadas variando de 8 a 45 g DQO L.d⁻¹ (Barros et al., 2017); reatores em série composto por reator de leito fluidizado anaeróbio acidogênico (AFBR-A) e reator de leito fluidizado anaeróbio metanogênico sequencial (AFBR-S) com COVs aplicadas variando de 5 a 10 g DQO L.d⁻¹ (Ramos e Silva, 2020); e reator anaeróbio de leito fixo empacotado (APBR) seguido de reator anaeróbio de leito fixo estruturado (ASTBR) com COVs aplicadas de 15 a 30 g DQO L.d⁻¹ (Fuess et al., 2017). No entanto, os reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (RAHLF), instalados em série, apresentam-se como novidade para o tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar.

O sistema RAHLF tem a capacidade de manter altas concentrações de biomassa aderida ao meio suporte, apresentando boas características hidrodinâmicas e tempo de detenção hidráulica relativamente curto para elevadas cargas orgânicas (Santos e Oliveira, 2011). Esta configuração de reator foi proposta por ZAIAT e colaboradores em 1994, e apresentaram resultados promissores para o tratamento de água residuária da indústria do papel reciclado (Zaiat et al., 1997), águas residuárias da suinocultura (Duda et al., 2015) e na codigestão de águas residuárias de suinocultura com resíduos vegetais (Mazareli et al., 2016).

No processos de digestão anaeróbia da vinhaça em reatores anaeróbios, o uso da recirculação do efluente tratado para a correção do pH da vinhaça *in natura* é viável, pois propicia a alcalinidade desejável e que pode ser reintroduzida ao sistema, evitando desta forma, o uso de alcalinizantes químicos que elevam o custo do tratamento. Deste modo, a recirculação do efluente da vinhaça tratada torna-se uma importante opção para a redução de custos do tratamento anaeróbio, além de auxiliar na manutenção das cargas orgânicas volumétricas (COV) aplicadas aos reatores (Barros et al., 2016; Guerreiro et al., 2016).

A vinhaça de cana-de-açúcar contém em sua composição alguns compostos denominados recalcitrantes, como sulfatos, fenóis e melanoidinas que são difíceis de serem degradados. A recirculação do efluente, em alguns casos, pode proporcionar o acúmulo destes compostos recalcitrantes dentro do sistema, dificultando a

anaerobiose. Desta maneira, a combinação do tratamento biológico aliado a processos de oxidação química avançada pode ser uma opção interessante para a digestão anaeróbia da vinhaça, visando a degradação de compostos recalcitrantes (Espanha-Gamboa et al., 2011).

Os processos oxidativos avançados (POAs), como o processo Fenton, tem a capacidade de degradar os recalcitrantes em águas residuárias. O processo Fenton é caracterizado por possuir elevado potencial de oxidação, provocando a quebra de moléculas complexas a compostos simplificados. A vinhaça previamente biodigerida em reatores anaeróbios pode apresentar uma redução significativa do material orgânico contido em sua composição, e o efluente dos reatores anaeróbios submetidos ao processo Fenton pode apresentar resultados importantes quanto à remoção dos compostos recalcitrantes Guerreiro et al., (2016).

Sendo assim, os objetivos deste estudo foram avaliar os efeitos do aumento progressivo da carga orgânica volumétrica (COV) no desempenho do sistema RAHLF e na microbiota, e verificar estratégias para melhorias do processo anaeróbio e produção do biogás, aplicando-se a recirculação do efluente e a integração da digestão anaeróbia com o processo fenton.

6. CONCLUSÕES

O crescente aumento da carga orgânica volumétrica (COV) aplicado aos reatores RAHLF resultou no aumento das eficiências de remoções da DQO total e das produções volumétricas de metano.

O conjunto de reatores (R1+R2+R3+R4) atingiram eficiências de remoção de DQO elevadas, superiores a 60%. Todavia, para a fase 9, distinguida das demais fases, pela integração do processo Fenton com o processo anaeróbico, foi observado as melhores remoções de DQO (85 %). Além disto, na fase 9 observou-se a redução das concentrações de sulfato, sulfeto e fenóis no sistema, o que favoreceu a produção volumétrica de metano ($0,28 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$) em relação à fase anterior, cujas condições de COVs foram similares. No entanto os valores médios da produção específica de metano, para ambas as fases (8 e 9), apresentaram-se semelhantes.

A recirculação do efluente aos reatores juntamente com a vinhaça *in natura* permitiu a correção do pH, sendo possível o aumento da COV em até $27,9 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, sem afetar a digestão anaeróbia e os demais parâmetros de estabilidade dos reatores, por um longo período experimental. Além disto, o sistema apresentou estabilidade sem suplementação nutricional, o que torna o conjunto de reatores um sistema robusto para o tratamento da vinhaça.

O sequenciamento de nova geração (Illumina) realizado no lodo dos reatores, em diferentes fases do experimento, demonstrou uma comunidade microbiana diversa que contribuiu para a eficácia do sistema. A q-PCR demonstrou que para a fase 2, correspondente ao período final da primeira safra da cana-de-açúcar, os domínios Bacteria e Archaea apresentaram-se em equilíbrio nos reatores anaeróbios horizontais em série, com valores entre $3,0 \times 10^{11}$ a $2,0 \times 10^{12}$ e de $2,0 \times 10^{10}$ a $1,0 \times 10^{11}$ cópias do gene 16S rDNA/g SV, respectivamente, e a prevalência de microrganismos da ordem Methanosarcinales e microrganismos da família Methaenosaetaceae e Methanosarcinaceae. O equilíbrio entre os domínios para esta fase pode estar associado à maior produção volumétrica de metano atingida pelo sistema, de $0,34 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$.

Para a fase experimental 6, podemos inferir que houve uma tendência dos microrganismos a realizarem a metanização por via hidrogenotrófica, visto que foi possível observar o aumento da abundância em números de cópias do gene 16 S rDNA das ordens Methanobacteriales e Methanomicrobiales, além da prevalência da família Methanosarcinaceae. O sequenciamento por Illumina demonstrou, para todas as fases em que os lodos foram avaliados, elevada abundância relativa de arqueias do gênero *Methanotrix*, que por muito tempo foram associadas ao consumo de acetato. Entretanto estudos recentes demonstraram a possibilidade de espécies deste gênero produzirem o metano também por via hidrogenotrófica.

O estudo do perfil longitudinal dos reatores, executado durante a fase 6 do experimento (segunda safra), foi relevante para demonstrar que, apesar da ocorrência da alteração da composição microbiana, o conjunto de reatores apresentou-se estável, sem o acúmulo de ácidos graxos voláteis e redução de pH.

Tendo em vista os resultados da análise microbiana encontrados neste trabalho por meio do sequenciamento de segunda geração, podemos inferir que a comunidade microbiana diversa pode ter promovido associações sintróficas, contribuindo desta forma, para a degradação dos compostos orgânicos presentes na vinhaça. Deste modo, este estudo fornece informações inéditas sobre o microbioma de um sistema de tratamento anaeróbio composto por reatores anaeróbios horizontais de leito fixo, tratando a vinhaça sobre elevadas cargas orgânicas volumétricas, contribuindo para que indústrias sucroenergéticas possam realizar possíveis aplicações desta conformação de reatores em escala real para a produção de metano, de maneira sustentável, contribuindo para grandes questões de uma nova consciência coletiva, que envolve aspectos ambientais, sociais e de governança (ESG), melhorando também a reputação deste ramo para o público consumidor e aos *stakeholders*.

As estratégias da combinação da digestão anaeróbia com o processo oxidativo avançado Fenton é capaz de melhorar a biodegradabilidade do substrato, sendo capaz de remover a presença de compostos recalcitrantes, melhorando as eficiências de remoções de DQO total e da produção de biogás. Todavia, para melhorias na produção de biogás e rendimento de metano, é sugerida a suplementação de nutrientes conforme as proporções indicadas para

os microrganismos anaeróbios. Além disto, o controle e monitoramento da presença de micronutrientes no afluente é desejável, visto que durante o processo oxidativo (ajuste de pH após a reação) pode haver a precipitação de minerais, como por exemplo, o ferro.

Ressalta-se também a necessidade de maiores estudos das espécies de arqueias pertencentes ao gênero *Methanotrix* para a melhor compreensão da sua atuação para a digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar e demais efluentes da agroindústria.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdelwahab TAM, Mohanty MK, Sahoo PK (2021) Cobalt nanoparticles to enhance anaerobic digestion of cow dung: focusing on kinetic models for biogas yield and effluente utilization. **Biomass Conv. Bioref.** <https://doi.org/10.1007/s133999-021-02002-x>.

Albuquerque JN, Orellana MR., Ratusznei, SM, Rodrigues JA (2019). Thermophilic biomethane production by vinasse in an ANSBBR: start-up strategy and performance optimization. **Brazilian Journal of Chemical Engineering.** 36: 717-731.

Alkimin A, Clarke K (2018). Land use change and the carbon debt for sugarcane ethanol production in Brazil. **Land Use Policy.** 72:65-73.

Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ, (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Res.** 25:3389-3402.

Alvarado A, Montañes-Hernández L, Palacio-Molina SL, Oropeza-Navarro R, Luévanos-Escareño MP, Balagurusamy N (2014). Microbial trophic interactions and mcrA gene expression in monitoring of anaerobic digesters. **Front Microbiol.** 5: 597.

American Public Health Association, APHA (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22 ed. Washington DC. American Public Health Association, Washington DC.

Appels L, Assche AV, Willems K, Degreve J, Impe VJ, Dewil R (2011). Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Bioresour. Technol.** 102:4124.

Andrade TE, Carvalho RGC, Souza LF (2009). Programa do Próalcool e o etanol no Brasil. **Engevista.** 11:127-136.

Appels L, Baeyens J, Degreve K, Dewil R (2008). Principales and potential of the anaerobic digestion of waste-activates sludge. **Prog. Energy Combust.** 34:755-781.

Aquino SF, Chernicharo CAL (2005). Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVS) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Eng. sanit. ambient.** 10:152-161.

Aquino S, Pires EC (2016). Assessment of ozone as a pretreatment to improve anaerobic digestion of vinasse. **Brazilian J. Chem. Eng.** 33:279-285. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20160332s20140141>

Arancon RAD, Lin CSK, Chan KM (2013). Advances on waste valorization: new horizons for a more sustainable society. **Energy Sci Eng.** 1:53-71.

Araújo DM (2013). **Digestão anaeróbia de vinhaça em reatores UASB termofílicos, em série, com adição de Fe, Ni e Co.** 67 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Unesp, Jaboticabal.

Araujo FVF (2008). **Estudo do processo Fenton Heterogêneo utilizando hematita (Fe₂O₃) como catalisador na descoloração de soluções de corante reativo.** 183f. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos), UFRJ, Rio de Janeiro.

Arias JAV (2010). Remoción del sulfuro de hidrógeno (H₂S(g))/ácido sulfhídrico (H₂S(aq)) en el biogás. **ECAG Informa** 53:16-21.

Arimi MM, Zhang Y, Namango SS, Geiben SU (2016). Reuse of recalcitrant-rich anaerobic effluent as dilution water after enhancement of biodegradability by Fenton process. **Journal of Environmental Management.** 168:10-15.

Ariunbaatar J, Scotto Di Perta E, Panico A, Frunzo L, Esposito G, Lens PNL, Pirozzi F (2015). Effect of ammoniacal nitrogen on one-stage and two-stage anaerobic digestion of food waste. **Waste Manag.** 38:388-398. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.12.001>

Azhar SHM, Abdulla R, Jambo SA, Marbawi H, Gansau AG, Faik AAM, Rodrigues K (2017). Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. **Biochemistry and Biophysics Reports.** 10:52–61.

Azevedo A, Fornasier F, Szarblewski MS, Schneider, RZS, Hoeltz M, Souza D. (2017). Life cycle assessment of bioethanol production from cattle manure. **Journal of Cleaner Production.** 162:1021-1030.

Baraldi EA, Damianovic MHRZ, Manfio GP (2008). Performance of a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor and dynamics of the microbial community during degradation of pentachlorophenol (PCP). **Anaerobe.** 14:268–274.

Barrera EL, Spanjers H, Dewulf J, Romero O, Rosa E (2013). The sulfur chain in biogas production from sulfate-rich liquid substrates: a review on dynamic modeling with vinasse as model substrate. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology.** 16:1405–1420. <https://doi.org/10.1002/jctb.4071>

Barrera EL, Spanjers H, Romero O, Rosa E, Dewulf J (2014). Characterization of the sulfate reduction process in the anaerobic digestion of a very high strength and sulfate rich vinasse. **Chem. Eng. J.** 248:383-393. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.03.057>

Barros VG, Duda RM, Oliveira RA (2016). Biomethane production from vinasse in upflow anaerobic sludge blanket reactors inoculated with granular sludge. **Brazilian Journal of Microbiology**. 47:628-639.

Barros VG, Duda RM, Vantini JS, Omori WP, Ferro MIT, Oliveira RA (2017). Improved methane production from sugarcane vinasse with filter cake in thermophilic UASB reactors, with predominance of Methanothermobacter and Methanosarcina archaea and Thermotogae bacteria. **Bioresour. Technol.** 244:371-381.

Basanta MV, Netto DD et al (2003). Management effects on nitrogen recovery a sugarcane crop grow in Brazil. **Geoderma**. 116:235-248.

Blasco L, Kahala M, Tampio E, Vainio M, Ervasti S, Rasi S (2020). Effect of Inoculum Pretreatment on the Composition of Microbial Communities in Anaerobic Digesters Producing Volatile Fatty Acids. **Microorganisms**. 8:581. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040581>

BMELV (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz / German Ministry for food, agriculture and consumers' protection) (Ed.), (2008). Expertise "Urlaub auf dem Bauernhof / Lande". Bonn.

Bories A, Raynal J, Bazile F (1988). Anaerobic digestion of high-strength distillery wastewater (cane molasses stillage) in a fixed-film reactor. **Biological Wastes**. 23:251-267.

Botello Suárez WA, Vantini JS, Duda RM, Giachetto PF, Cintra LC, Tiraboschi Ferro MI, Oliveira RA (2018). Predominance of syntrophic bacteria, Methanosaeta and Methanoculleus in a two-stage up-flow anaerobic sludge blanket reactor treating coffee processing wastewater at high organic loading rate. **Bioresour. Technol.** 268:158-168. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.091>

Brasil, 2017. Lei Nº 13.576, de 26 de dezembro de 2017. Política Nacional de Biocombustíveis – RENOVA BIO. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/lei/l13576.htm

Brasil, 2006. Resolução CONAMA nº. 375. Brazil. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf>.

Brasil, 2011. Resolução CONAMA nº. 430. Brazil. Disponível em: <http://conama.mma.gov.br/>

Buller LS, Cristhy WSR, Lamparelli RAC, Ferreira SF, Bortoleto AP, Mussato SI, Foster-Carneiro T (2021). A spatially explicit assessment of sugarcane vinasse as a sustainable by-product. **Science of the Total Environment**. 765:142717. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142717>

Cabello PE, Scognamiglio FP, Teran FJ (2009). Tratamento da vinhaça em reator anaeróbio de leito fluidizado. **Engenharia Ambiental**. 6:321-338.

Cabezas A, Araujo JC, Callejas C, Galès A, Hamelin J, Marone A, Sousa DZ, Trably E, Etchebehere C (2015). How to use molecular biology tools for the study of the anaerobic digestion process? **Rev Environ Sci Biotechnol**. 14:555-593.

Cabrera-Diaz A, Pereda-Reyes I, Oliva-Merencio, Lebrero R, Zaiat M (2017). Anaerobic Digestion of Sugarcane Vinasse Through a Methanogenic UASB Reactor Followed by a Packed Bed Reactor. **Appl Biochem Biotechnol**. 183: 1127–1145.

Callado NH, Damianovic MHZ, Foresti E (2017). Influência da razão DQO/[SO₄²⁻] e da concentração de Na⁺ na remoção de matéria orgânica e sulfato em reator UASB. **Eng. Sanit. e Ambient**. 22:381–390. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522016140811>

Calusinka M, Goux X, Fossépré M, Muller EEL, Wilmes P, Delfosse P (2018). A year of monitoring 20 mesophilic full-scale bioreactors reveals the existence of stable but different core microbiomes in bio-waste and wastewater anaerobic digestion systems. **Biotechnol Biofuels**. 11:1-19. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1195-8>

Campos CR, Mesquita VA, Silva CF, Schwan RF (2014). Efficiency of physicochemical and biological treatments of vinasse and their influence on indigenous microbiota for disposal into the environment. **Waste Manag**. 34:2036–2046. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.06.006>

Cañizares GIL, Rodrigues GIL, Rodrigues L, Cañizares MC (2009). Metabolismo de carboidratos não-estruturais em ruminantes. **Archives of Veterinary Science**. 14:63-73.

Cattony YJ, Chinalia FA, Ribeiro R, Zaiat M, Foresti E, Varesche MBA (2005). Ethanol and toluene removal in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor in the presence of sulfate. **Biotechnology and Bioengineering**. 91:244-253.

Castro SR, Crutchik D, Garrido JM, Lange LC (2015). Chemical precipitation of struvite: Nutrients recovery in conic fluidized bed reactor using a low-cost industrial magnesia compound. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**. 20:259-268.

Chan, YJ, Chong MF, Law CL, Hassell D (2009). A review on anaerobic–aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. **Chem. Eng. J**. 155:1-18.

Chapleur O, Madigou C, Civade R, Rodolphe Y, Mazéas L, Bouchez T (2016). Increasing concentrations of phenol progressively affect anaerobic digestion of cellulose and associated microbial communities. **Biodegradation**. 27:15-27.

Chen Y, Cheng JJ, Creamme KS (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A Review. **Bioresour. Technol.** 99:4044-4064.

Chen CY, Yeh KL, Aisyah R, Lee DJ, Chang JS (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresour. Technol.** 102; 71-81.

Chen T, Jin Y, Shen D (2015). A safety analysis of food waste-derived animal feeds from three typical conversion techniques in China. **Waste Manag.** 45:42-50.

Chernicharo CAL (2016). Reatores anaeróbios. Belo Horizonte. UFMG, v5, 379p.

Chong S, Sen TK, Kayaalo A, Ang HM (2012). The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – A State-of-the-art review. **Water Research.** 46:3434-3470.

Choong YY, Norli I, Abdullah AZ, Yhaya MF (2016). Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion process: A critical review. **Bioresour. Technol.** 209:369-379.

Christofolletti CA, Escher, JP, Correia JE, Marinho JFU, Fontenetti CA.(2013). Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. **Waste Manage.** 33: 2752-2761.

Collado L, Figueras JM (2011). Taxonomy, Epidemiology, and Clinical Relevance of the Genus *Arcobacter*. **Clinical Microbiology Reviews.** 174–192. <https://doi.org/10.1128/CMR.00034-10>

Colin X, Farinet JL, Rojas O, Alazar D (2007). Anaerobic treatment of cassava starch extraction wastewater using a horizontal flow filter with bamboo as support. **Bioresour. Technol.** 98:1602–1607.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO 2017: Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar – Brasília: Conab, 2017.p.73

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO 2018: Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar – Brasília: Conab, 2018. p.75.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO 2019: Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar – Brasília: Conab, 2019. p.58.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO 2020: Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar – Brasília: Conab, 2020. p.57.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO 2021: Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar – Brasília: Conab, 2021. p.63.

Correia JE, Christofolletti CA, Ansoar-Rodríguez Y, Guedes A, Fontanetti CS (2017). Comet assay and micronucleus tests on *Oreochromis niloticus* (Perciforme: Cichlidae) exposed to raw sugarcane vinasse and to

physicochemical treated vinasse by pH adjustment with lime (CaO). **Chemosphere**. 173:494-501.

Cortez LA, Lora EES, Gómez EO (2016). Biomassa para Energia. Campinas: Editora da Unicamp, 2008, 734p.

Cortez L, Magalhaes P, Happi J (1992). Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. **Revista Brasileira de Energia**. 2:2.

De Souza RP, Girardi F, Santana VS, Fernandes-Machado NRC, Gimenes ML (2013). Tratamento de vinhaça utilizando coagulante tanino vegetal e fotocatalise. **Acta Sci. - Technol**. 35:89–95.

Del Nery V, Alves I., Damianovic MHRZ, Pires EC (2018). Hydraulic and organic rates applied to pilot scale UASB reactor for sugar cane vinasse degradation and biogas generation. **Biomass and Bioenergy**. 119:411-417. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.10.002>

Demirel B, Scherer P (2011). Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. **Biomass and Bioenergy**. 35:992-998.

Detman A, Buchal M, Treu L (2021). Evaluation of acidogenesis products' effect on biogas production performed with metagenomics and isotopic approaches. **Biotechnol Biofuels**. 14:125. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01968-0>

Dey P, Pal P, Kevin JP, Das DB (2020). Lignocellulosic bioethanol production: prospects of emerging membrane technologies to improve the process – a critical review. **Rev Chem Eng**. 36:333-367.

Dhariwal A, Chong J, Habib S, King I, Agellon LB, Xia J (2017). Microbiomeanalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. **Nucleic acids research**. 45:180-188.

Diaz MJ, Madejon E, Lopez F, Lopez, R, Cabrera F (2002). Optimization of the rate vinasse/grape marc for co-composting process. **Process Biochemistry**. 37:1143-1150.

Díaz-Reinoso B, Moure A, González J, Domínguez H (2017). A membrane process for the recovery of a concentrated phenolic product from white vinasses. **Chemical Engineering Journal**. 327:210-217.

Dilallo R, Albertson OE (1961). Volatile Acids by Direct Titration. **Water Pollution Control Federation**. 33:356-365.

Doll MMR, Foresti E (2010). Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em AnSBBR operado a 55 e 35 °C. **Eng. Sanit. Ambient**. 15:275-282.

Dos Reis CM, Carosia MF, Sakamoto IK, Vareche MBA, Silva EL (2015). Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane vinasse in an

anaerobic fluidized bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**. 40:8498-8509.

Doudah L, De-Zutter L, Van-Nieuwerburgh F, Deforce D, Ingmer H, Vandenberg O, Abeele AMV, Houf K (2014). Presence and analysis of plasmids in human and animal associated *Arcobacter* species. **PLoS One**. 9:e85487-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085487>

Duarte ICS, Oliveira LL, Saaverdra NK, Fantinatti-Garbogini F, Menezes CBA, Oliveira VM, Varesche MBA (2010). Treatment of linear alkylbenzene sulfonate in a horizontal anaerobic immobilized biomass reactor. **Bioresource Technology**. 101:606–612.

Duda MD, Vantini JS, Martins LS, Varini AM, Lemos MVF, Ferro MIT, Oliveira RA (2015). A balanced microbiota efficiently produces methane in a novel high-rate horizontal anaerobic reactor for the treatment of swine wastewater. **Bioresource Technology**. 197:152-160.

Duncan CL, Colmer AR (1964). Coliforms associated with sugarcane plants and juices. **Appl Microbiol**. 12:173-177.

Echiegu, EA (2015). Kinetic models for anaerobic fermentation processes-a review **Am. J. Biochem. Biotechnol**. 11:132–148.

Edgar RC (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than blast. **Bioinformatics. Oxford University Press**. 26:2460–246.

Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Notes RKA (2011). Uchime improves sensitivity and speed of chimera detection. **Bioinformatics. Oxford University Press**. 27:2194–2200.

Edgar RC. 2016a. Unoise2: improved error-correction for illumina 16s and its amplicon sequencing. **BioRxiv**, Cold Spring Harbor Laboratory, p. 081257. <https://doi.org/10.1101/081257>

Edgar R. 2016b. Syntax: a simple non-bayesian taxonomy classifier for 16s and its sequences. **BioRxiv**, Cold Spring Harbor Laboratory, p. 074161. <https://doi.org/10.1101/074161>

Elmekawy S, Diels AL, Wever H, Pant D. (2013). Valorization of Cereal Based Biorefinery Byproducts: Reality and Expectations. **Environ. Sci. Technol**. 47:9014-9027

ENGENOVO (2008). Clarificação de xarope por flotação. Rio de Janeiro: TecEn Comercial, 7p. Disponível em: <http://www.engenovo.com.br/infotec/Art%20Tec--Flotacao%20de%20Xarope--2014.pdf>. Acesso em: 28 de abr. de 2018.

Espanã-Gamboa E, Mijangos-Cortes J, Barahona-Perez L, Dominguez-Maldonado J, Hernández-Zarate G, Alzate-Gaviria L (2011). Vinasses:

characterization and treatments. **Waste Management & Research**. 29:1235–1250.

España-Gamboa EI, Mijangos-Cortés JO, Hernández-Zárate G, Maldonado JAD, Alzate-Gaviria LM (2012). Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. **Biotechnology for Biofuels**.5: 82.

España-Gamboa E, Vicent T, Font X, Dominguez-Maldonado J, Canto-Canché B, Alzate-Gaviria L. (2017). Pretreatment of vinasse from the sugar refinery industry under non-sterile conditions by *Trametes versicolor* in a fluidized bed bioreactor and its effect when coupled to an UASB reactor. **Journal of Biological Engineering**. 6:1-11.

Fares ST. (2007). O Pragmatismo do Petróleo: as relações entre o Brasil e o Iraque. **Rev. bras. polít. int.** [online]. 50:129-145. <https://doi.org/10.1590/S0034-73292007000200009>.

Ferrera I, Sánchez O (2016). Insights into microbial diversity in wastewater treatment systems: How far have we come? **Biotechnol. Adv.** 34:790–802. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.04.003>

Filho AAV, Ramos P (2006). Próalcool e evidências de concentração na produção e processamento de cana-de-açúcar. **Informações Econômicas**. 36: 48-61.

Foresti WE (1994). Fundamentos do processo de digestão anaeróbia. São Carlos, p.97-110.

Foresti E, Zaiat M, Cabral AKA, Del Nery V (1995). Horizontal-flow anaerobic immobilized sludge (HAIS) reactor for paper industry wastewater treatment. **Brazilian J. Chem. Engng**. 12: 235-239.

Formann S, Han A, Janke L, Stinner W, Strauber H, Logroño Q, Nikolausz M (2020). Beyond Sugar and Ethanol Production: Value Generation Opportunities Through Sugarcane Residues. **Front. Energy Res**. 8:579577.

Freire WJ, Cortez LAB (2003). Vinhaça de cana-de-açúcar. Guaíba: Agropecuária, 203p.

Friedricha LC, Zantac CLPS, Machulek AJ, Quinab FH (2017). Estudo mecanístico das reações fenton e cupro-fenton por análise voltamétrica in situ. **Quim. Nova**. 40:769-773.

Fuess LT, Garcia ML (2014). Implications of stillage land disposal: A critical review on the impacts of fertigation. **Journal of Environmental Management**. 145:210-229.

Fuess LT, Garcia ML (2015). Bioenergy from stillage anaerobic digestion to enhance the energy balance ratio of ethanol production. **Journal of Environmental Management**.162:102-114.

Fuess LT, Kiyuna LSM, Ferraz ADN, Persinoti GF, Squina FM, Garcia ML, Zaiat M (2017). Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. **Appl. Energy**. 189:480–491. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.071>

Fuess LT, Zaiat M, Nascimento CAO (2019). Novel insights on the versatility of biohydrogen production from sugarcane vinasse via thermophilic dark fermentation: Impacts of pH-driven operating strategies on acidogenesis metabolite profiles. **Bioresource Technology**. 286: 121379. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121379>

Fuess LT, Kiyuna LSM, Ferraz ADN, Persinoti GF, Squina FM, Garcia ML, Zaiat M (2017). Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. **Appl. Energy**. 189:480–491. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.071>

Fuess TL, Júnior ADN, Machado CB, Zaiat M (2018). Temporal dynamics and metabolic correlation between lactate-producing and hydrogen-producing bacteria in sugarcane vinasse dark fermentation: The key role of lactate. **Bioresource Technology**. 247:426-433.

Fuess TL, Klein BC, Chagas MF, Rezende MCAF, Garcia ML, Bonomi A, Zaiat M (2018) Diversifying the technological strategies for recovering bioenergy from the two-phase anaerobic digestion of sugarcane vinasse: An integrated techno-economic and environmental approach. **Renewable Energy**. 122:674-687.

Fukushima NA, Palacios-Bereche MC, Nebra AS (2019). Energy analysis of the ethanol industry considering vinasse concentration and incineration. **Renewable Energy**. 142:96-109.

Galavoti RC (2003). **Efeitos das relações DQO/SO₄⁻² e das variações progressivas da concentração de sulfatos no desempenho de reator anaeróbico horizontal de leito fixo (RAHLF)**. 287 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

Ganesh R, Torrijos M, Sousbie P, Steyer JP, Lugardon A, Delgenes JP (2013). Anaerobic co-digestion of solid waste: Effect of increasing organic loading rates and characterization of the solubilised organic matter. **Bioresource Technology**. 130:559-569.

Garrity GMM, Holt JG (2001). Taxonomic outline of the Archae and Bacteria. In: Garrity GM, Boone DR, Castenholz RW (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2ed, Springer-Verlag, New York, 155-166p.

Garcia GJL, Venceslada BPR, Peña J (1997). Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. **Water Research**. 31:2005-2011.

Garcia-Garcia G, Woolley E, Rahimifard S, Colwill J, White R, Needham L (2017). A methodology for sustainable management of food waste. **Waste and Biomass Valorization**. 8:2209-2227.

Gebreeyessus GD, Jenicek P (2016). Thermophilic versus mesophilic anaerobic digestion of sewage sludge: a comparative review. **Bioengineering**. 3:6-14.

Gebreeyessus GD, Makonnen A, Alemayehu E (2019). A review on progresses and performances in distillery stillage management. **Journal of Cleaner Production**. 232:295-307.

Gibson GR (1990). Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria. **J Appl Bacteriol**. 69:769-797. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1990.tb01575.x>

Góes-favoni SP, Monteiro ACC, Dorta C, Crippa MG, Shigematsu E (2018). Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**. 9:285-296.

Grassi MCB, Pereira GAG (2019). Energy-cane and RenovaBio: Brazilian vectors to boost the development of Biofuels. **Industrial Crops & Products**. 129:201-205.

Guerreiro LF, Rodrigues CSD, Duda RM, Oliveira RA, Boaventura RAR, Madeira LM (2016). Treatment of sugarcane vinasse by combination of coagulation/flocculation and Fenton's oxidation. **Journal of environmental Management**. 181:237-248.

Guo X, Wang C, Sun F, Zhu W, Wu W (2014). A comparison of microbial characteristics between the thermophilic and mesophilic anaerobic digesters exposed to elevated food waste loadings. **Bioresource Technology**. 152:420–428. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.012>

Gupta J, Verma P (2015). Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. **Energy Reviews**. 41:550-567.

Gustavsson J, Svensson BH, Karlsson A (2011). The feasibility of trace element supplementation for stable operation of wheat stillage-fed biogas tank reactors. **Water Science and Technology**. 64:320–325.

Hao L, Bize A, Conteau D (2016). New insights into the key microbial phylotypes of anaerobic sludge digesters under different operational conditions. **Water Research**. 102:158-169. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.06.014>

Henjfelt A, Angelidaki I (2009). Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products. **Biomass and Bioenergy**. 33:1046-1054.

Hugon P, Ramasamy D, Robert D, Courdec C, Raoult D, Fournier PE (2013). Non-contiguous finished genome sequence and description of *Kallipyga massiliensis* gen. nov, sp. nov., a new member of the family Clostridiales Incertae Sedis XI. **Stand em Genomic Sci**. 8:500-515. <https://doi.org/10.4056/sigs.4047997>.

Ilitchenco J, Almeida LG, Beal LL, Marconatto L, Borges LGA, Giongo A, Paesi S (2020). Microbial consortia composition on the production of methane from sugarcane vinasse. **Biomass Conversion and Biorefinery**. 10:299–309. <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00426-0>

Ingrao C, Bacenetti J, Adamczyk J, Ferrante V, Messineo A, Huisinigh D (2019). Investigating energy and environmental issues of agro-biogas derived energy systems: A comprehensive review of Life Cycle Assessments. **Renewable Energy**. 136:296-307.

IPEA. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (2010). Biocombustíveis no Brasil: etanol e biodiesel. Série Eixos do Desenvolvimento Brasileiro: Comunicados do IPEA, n. 53, 26 de maio de 2010, 57p. Disponível em: https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/comunicado/100526_comunicadoipea53.pdf. Acesso em: 21 jan. 2021.

Jahnen-dechent W, Ketteler M (2012). Magnesium basics. **Clinical Kidney Journal**. 5:3-14.

Janke L, Leite AF, Batista K, Silva W, Nikolausz M, Nelles M, Stinner W (2016). Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresource Technology**. 217:10-20.

Jena SD, Poggi M (2013). Harvest planning in the Brazilian sugar cane industry via mixed integer Programming. **European Journal of Operational Research**. 230:374–384.

Jimenez J, Latrille E, Harmand J, Robles A, Ferrer J, Gaida D, Wolf C, Mairet F, Bernard O, et al (2015). Instrumentation and control of anaerobic digestion processes: a review and some research challenges. **Rev Environ Sci Biotechnol**. 14:615-648.

Junior AES (2018). **Vinhaça em reatores horizontais de alta taxa, em série: efeito do aumento gradual das cargas orgânicas volumétricas na produção de biogás e nas populações microbianas**. 94 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) Unesp, Jaboticabal.

Junior ADN, Koyama MH, Junior MMA, Zaiat M (2016). Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy**. 89: 245-252.

Kannan N, Karthikeyan G, Tamilselvan N (2006). Comparison of treatment potential of electro-coagulation of distillery effluent with and without activated *Areca catechu* nut carbon. **Journal of Hardous Materials**. 137: 1803-1809.

Karlsson A, Einarsson P, Schnurer A, Sundberg C, Ejlertsson J, Svensson BH (2012). Impact of trace element addition on degradation efficiency of volatile fatty acids. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 114:446-452.

Khan MA, Ashar NN, Ganesh AG, Rais N, Faheem SM, Khan ST (2019). Bacterial Community Structure in Anaerobic Digesters of a Full Scale Municipal Wastewater Treatment Plant – Case Study of Dubai, United Arab Emirates. **Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems**. 7:385-398. <http://dx.doi.org/10.13044/j.sdewes.d6.0222>

Kiyuna LM, Fuess LY, Zaiat M (2017). Unraveling the influence of the COD/sulfate ratio on organic matter removal and methane production from the biodigestion of sugarcane vinasse. **Bioresource Technology**. 232:103-112. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.028>

Kondo MM, Leite KU, Silva MRA, Reis ADP (2010). Fenton and Photo-Fenton Processes Coupled to UASB to Treat Coffee Pulping Wastewater. **Separation Science and Technology**.45:1506-1511.

Koster I, Lettinga G (1984). The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. **Agricultural Wastes**.9:205-216.

Knittel K, Boetius A (2009). Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process. **Annu Rev Microbiol**. 63:311-334.

Kristensen JM, Nierychlo M, Albertsen M, Nielsen PH (2020). Bacteria from the Genus *Arcobacter* Are Abundant in Effluent from Wastewater Treatment Plants. **Applied and environmental microbiology**. 86:9. e03044-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.03044-19>

Kuever J, Visser M, Loeffler C, Boll M, Worm P, Sousa DZ, Plugge CM, Schaap PJ, Muyzer G, Pereira IA, et al (2014). Genome analysis of *Desulfotomaculum gibsoniae* strain Groll(T) a highly versatile Gram-positive sulfatereducing bacterium. **Stand Genomic Sci**. 3:39-52. doi: 10.4056/sigs.5209235

Laime EMO, Fernandes PD, Oliveira DCS, Freire EA (2011). Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **R. Trop. Ci. Agr. Biol**. 5:16-29.

Latif MA, Mehta CM, Batstone DJ (2017). Influence of low pH on continuous anaerobic digestion of waste activated sludge. **Water Res**. 113:42–49. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.002>

Lee DH, Zo YG, Kim SJ (1996). Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single-strand-conformation polymorphism. **Appl. Environ. Microbiol.** 62: 3112–3120.

Lee JTE, HE J, Tong YW (2017). Acclimatization of a mixed-animal manure inoculum to the anaerobic digestion of *Axonopus compressus* reveals the putative importance of *Mesotoga infera* and *Methanosaeta concilii* as elucidated by DGGE and Illumina MiSeq. **Bioresource Technology.** 245:1148-1154.

Leite VD, Povinelli J (1999). Comportamento dos sólidos totais no processo da digestão anaerobia de resíduos sólidos urbanos e industriais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** 3:229-232.

Leite AF, Janke L, Harms H, Zang JW, Fonseca-Zang A, Stinner W, Nikolausz M (2015). Assessment of the Variations in Characteristics and Methane Potential of Major Waste Products from the Brazilian Bioethanol Industry along an Operating Season. **Energy & Fuels.** 29:4022–4029. <https://doi.org/10.1021/ef502807s>

Lerm S, Kleybocker A, Miethling-Graff R, Alawi M, Liebich M, Wurdemann H (2012). Archaeal community composition affects the function of anaerobic co-digesters in response to organic overload. **Waste Manag.** 32:389–399.

Li C, Champagne P, Bruce C (2014). Anaerobic co-digestion of municipal organic wastes and pre-treatment to enhance biogas production from waste. **Water Science & Technology.** v.69: 443-449.

Li H, Sia D, Liu C, Feng K, Liu C (2018). Performance of direct anaerobic digestion of dewatered sludge in long-term operation. **Bioresource Technology.** 250:355–364.

Liman RD, Chouari R, Mazéas L, Wu TD, Li T, Grossin-Debattista J, Guerquin-Kern JL, Saidi M, Landousli A, Sghir A, Bouchez T (2014). Members of the uncultured bacterial candidate division WWE1 are implicated in anaerobic digestion of cellulose. **Microbiology Open.** 3:157. 67.51. <https://doi.org/10.1002/mbo3.144>

Liu Z, Zhang C, Lu Y, Wu X, Wang L, Han B, Xing XH (2013). States and challenges for high-value biohythane production from waste biomass by dark fermentation technology. **Bioresour. Technol.** 135:292-303.

Londoño JEG, Uller B, Sørensen HR, Meyer AS (2019). Fast anaerobic digestion of complex substrates via immobilized biofilms in a novel compartmentalized reactor design. **Biochem. Eng. J.** 143:224–229. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.12.023>

Lunedo R, Fernandez-Alarcon MF, Carvalho FMS, Furlan LR, Macari M (2014). Analysis of the intestinal bacterial microbiota in maize- or sorghum-fed broiler chickens using real-time PCR. **Br. Poult. Sci.** 55:795–803. <https://doi.org/10.1080/00071668.2014.975781>

Lovato G, Batista LPP, Preite MB, Yamashiro JN, Becker ALS, Vidal MFG, Pezini N, Albanez R, Ratusznei SM, Rodrigues JAD (2019). Viability of Using Glycerin as a Co-substrate in Anaerobic Digestion of Sugarcane Stillage (Vinasse): Effect of Diversified Operational Strategies. **Applied Biochemistry and Biotechnology**.188:1-21.

Lopes CH, Gabriel AVMD, Borges MTMR (2011). Produção de etanol a partir da cana de açúcar. São Carlos. UFSCAR, 129p.

Luo G, Xie L, Zhou Q (2009). Enhanced treatment efficiency of an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) for cassava stillage with high solids content. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 107:641-645.

Madaleno LL, Caetano ACG (2011). Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais. **Ciência & Tecnologia: FATEC-JB**. 2:27-37.

Madden P, Al-RAEI AM, Enright AM, Chinalia FA, Beer D, O'Flaherty V, Collins G (2014). Effect of sulfate on low-temperature anaerobic digestion. **Front. Microbiol**. 5:1-15.

Madejón E, Lopez R, Murillo JM, Cabrera F (2001). Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse compost: effects on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). **Agriculture, Ecosystems and Environment**. 84:55-65.

Mak TMW, Xiong X, Tsang DCW, Yu IKM, Poon CS (2020). Sustainable food waste management towards circular bioeconomy: policy review, limitations and opportunities. **Bioresour Technol**. 297:122497. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122497>

Manochio C, Andrade BR, Rodriguez RP, Moraes BS (2017). Ethanol from biomass: a comparative overview. **Renew. Sustain. Energy Rev**. 80:743-755.

Martins AS (2018). **Digestão anaeróbia de resíduos alimentares: efeito da carga orgânica e da adição de elementos traço sobre a produção de metano e a diversidade microbiana**. 2018, 156f. (Tese de doutorado) Escola de Engenharia UFMG, Belo Horizonte.

Mata-Alvarez J, Macé S, Llabrés P (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes: An overview of research achievements and perspectives. **Bioresour. Technol**. 74:3-16.

Mazareli RCS, Duda RM, Leite VD, Oliveira RA (2016). Anaerobic co-digestion of vegetable waste and swine wastewater in high-rate horizontal reactors with fixed. **Waste Management**. 52:112-121.

Mcmurdie PJ, Holmes S (2013). Phyloseq: an r package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PloS one**. 8:4. e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>

Mehariya S, Patel KA, Obulisamy PK, Punniyakotti E, Wong JWC (2018). Co-digestion of food waste and sewage sludge for methane production: Current status and perspective. **Bioresource Technology**. 265:519-531.

Melo AS, Sampaio YSB (2016). Uma nota sobre o impacto do açúcar, do etanol e da gasolina na produção do setor sucroalcooleiro. **Ver. Bras. Econ**. 70:61-69.

Metcalf L, Eddy H (2003). Wastewater engineering: treatment and reuse. 4ed. New York: McGraw-Hill, 1819p.

Metcalf L, Eddy H. (2016). Tratamento de efluentes e recuperação de recursos. 5ed. – Porto Alegre: AMGH, 1980p.

Michellon E, Santos AAL, Rodrigues JRA (2008). Breve Descrição do Proálcool e Perspectivas Futuras para o Etanol Produzido no Brasil. Rio Branco AC: SOBER, 16p.

Moraes BS, Junqueira TL, Pavanello GL, Cavalett O, Mantelatto PE, Bonomi A, Zaiat M (2014). Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense? **Applied Energy**. 113:825–835.

Moraes BS, Zaiat M (2014). Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense? **Applied Energy**. 113:825-836.

Moraes BS, Zaiat M, Bonomi A (2015). Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**. 44, 888-903.

Morales M, Quintero J, Conejeros R (2015). Life cycle assessment of lignocellulosic bioethanol: Environmental impacts and energy balance. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 42:1349-1361.

Morital DM, Avilal RL, Aidar FN (2019). Nucleação na formação de estruvita: estado da arte. **Eng Sanit Ambient**. 24:637-654.

Mojiri A, Aziz HAA, Zaman NQ, Aziz SQ (2012). A review on anaerobic digestion, bio-reactor and nitrogen removal from wastewater and landfill leachate by bio-reactor. **Advances in Environmental Biology**. 6:2143-2150.

Mohan SV, Nikhil GN, Chiranjeevi P, Nagendranatha E, Rohit MV, Kumar AN, Sarkar O (2016). Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: Critical review and future perspectives. **Bioresource Technology**. 215:2-12.

Mota VS, Santos FS, Amaral CS (2013). Two-stage anaerobic membrane bioreactor for the treatment of sugarcane vinasse: Assessment on biological activity and filtration performance. **Technology**. 146:494–503.

Muyzer G, Stams, AJM (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. **Nat. Rev. Microbiol.** 6:441–454. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1892>

Nakashima RN, Oliveira Junior S (2020). Comparative exergy assessment of vinasse disposal alternatives: Concentration, anaerobic digestion and fertirrigation. **Renew. Energy**. 147:1969–1978. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.09.124>

Narbenovich VM, Vladimirovich CS (2017). Deciphering conjugative plasmid permissiveness in wastewater microbiomes. **J Technol**. 32:139-146.

Narihiro T, Sekiguchi Y (2007). Microbial communities in anaerobic digestion processes for waste and wastewater treatment: a microbiological update. **Curr. Opin. Biotechnol**. 18:273-278.

Nery VD, Alves I, Damianovic MHR, Pires EC (2018). Hydraulic and organic rates applied to pilot scale UASB reactor for sugar cane vinasse degradation and biogas generation. **Biomass and Bioenergy**. 119:411–417.

Neyens E, Baeyens J (2003). A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation. **Journal of Hazardous Materials**. 98:33-50.

Nobu MK, Narihiro T, Rinke C, Kamagata Y, Tringe SG, Woyke T, Liu WT (2015). Microbial dark matter ecogenomics reveals complex synergistic networks in a methanogenic bioreactor. **ISME J**. 9:1710-1722. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.256>

Nogueira RFP, Trovo AG, Silva MRA, Villa RD, Oliveira MC (2007). Fundamentos e aplicações ambientais dos processos fenton e foto-fenton. **Química Nova**. 30: 400-408.

Odoño JEG, Uller B, Sorensen HR, Meyer AS (2019). Fast anaerobic digestion of complex substrates via immobilized biofilms in a novel compartmentalized reactor design. **Biochemical Engineering Journal**. 143:224-229.

Oliveira RA, Duda RM (2009). Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reator anaeróbio operado em batelada sequencial. **Eng Sanit Ambient**. 14:533-542.

Oliveira ED, Penteado DP (2019). Removal kinetics of sulfamethazine and its transformation products formed during treatment using a horizontal flow-

anaerobic immobilized biomass bioreactor. **Journal of Hazardous Materials.** 365:34-43.

Onodera T, Sase S, Choeisai P, Yoochatchaval W, Sumino H, Yamaguchi T, Ebie Y, Xu K, Tomioka N, Mizuochi M, Syutsubo K (2013). Development of a treatment system for molasses wastewater: The effects of cation inhibition on the anaerobic degradation process. **Bioresour. Technol.** 131, 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.126>

Ordaz-Díaz LA, Bailón-Salas AM (2020). Molecular identification of microbial communities in the methane production from vinasse: A review. **BioRes.** 15:4528-4552.

Pant D, Adholeya A (2007). Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. **Bioresource Technology.** 98:2321-2334.

Parsaee M, Kiani MK, Karim K (2019). A review of biogas production from sugarcane vinasse. **Biomass and Bioenergy.** 122:117–125.

Patel JB (2001). 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. **Mol Diagn.** 6:313-321.

Paulino TRS, Araujo RS, Salgado BCB (2015). Estudo de oxidação avançada de corantes básicos via reação Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$). **Eng Sanit Ambient.** 20:347-352.

Paulo PL, Villa G, Lier JBV, Lettinga G (2003). The anaerobic conversion of methanol under thermophilic conditions: pH and bicarbonate dependence. **Journal of Bioscience and Bioengineering.** 96:213-218.

Peiter FS, Hankins NP, Pires EC (2019). Evaluation of concentration technologies in the design of biorefineries for the recovery of resources from vinasse. **Water Research.** 157:483-497.

Pilarska AA (2018). Anaerobic Co-Digestion of Waste Wafers from Confectionery Production with Sewage Sludge. **Pol. J. Environ. Stud.** 27:237-245.

Pilli S, Yan S, Tyagy RD (2015). Overview of Fenton pre-treatment of sludge aiming to enhance anaerobic digestion. **Rev Environ Sci Biotechnol.** 14:453-472.

Rabelo SC, Costa ACDA, Rossel CEV (2015). Industrial waste recovery. In: Sugarcane: Agricultural Production, Bioenergy, and Ethanol. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802239-9.00017-7>.

Ramos LR, Silva EL (2020). Thermophilic hydrogen and methane production from sugarcane stillage in two-stage anaerobic fluidized bed reactors. **Int. J. Hydrogen Energy.** 45:5239–5251.

<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.05.025>

Ripley LE, Boyle WC, Converse JC (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of water pollution control federation**. 59:406-411.

Rivière D, Desvignes V, Pelletier E, Chaussonnerie S, Guermazi S, Weissenbach J, Li T, Camacho P, Sghir A (2009). Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge. **ISMEJ**. 3:700–714. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.2>

Robertiello A (1982). Upgrading of agricultural and agro-industrial wastes: The treatment of distillery effluents (vinasses) in Italy. **Agricultural Wastes**. 4: 387-395.

Rodrigues CSD, Neto AR, Duda RM, Oliveira RA, Boaventura RAR, Madeira LM (2017). Combination of chemical coagulation, photo-Fenton oxidation and biodegradation for the treatment of vinasse from sugar cane ethanol distillery. **Journal of Cleaner Production**. 142:3634-3644.

Romano RT, Zhang R (2011). Anaerobic digestion of onion residuals using a mesophilic Anaerobic Phased Solids Digester. **Biomass and Bioenergy**. 35:4174–4179.

Romero V, Acevedo S, Marco P, Giménez J, Esplugas S (2016). Enhancement of Fenton and photo-Fenton processes at initial circumneutral pH for the degradation of the β -blocker metoprolol. **Water Research**. 88:449-457.

Romero-Guiza MS, Vila J, Mata-Alvarez J, Chimenos JM, Astals S (2016). The role of additives on anaerobic digestion: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 58:1486-1499.

Roske I, Sabra W, Nacke H, Daniel R, Zeng AP, Antranikian G, Sahm K (2014). Microbial community composition and dynamics in high-temperature biogas reactors using industrial bioethanol waste as substrate. **Appl Microbiol Biotechnol**. 98:9095-9106. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5906-1>

Rotaru AE, Shrestha PM, Liu F, Shrestha M, Shrestha D, Embree M, Zengler K, Wardman C, Nevin KP, Nevin KP, Lovley DR (2014). A new model for electron flow during anaerobic digestion: direct interspecies electron transfer to Methanosaeta for the reduction of carbon dioxide to methane. **Energy Environ. Sci**. 7:408–415.

Šafarič L, Yekta SS, Svensson BH, Schnürer A, Bastviken D, Björn A (2020). Effect of Cobalt, Nickel, and Selenium / Tungsten Deficiency on Mesophilic Anaerobic Digestion of Chemically Defined Soluble Organic Compounds. **Microorganisms**. 8:598. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040598>

Saini JK, Saini R, Tewari L (2015). Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. **Biotec.** 5:337-353.

Sakar SK, Gosh SK, Bannerjee S, Aikat K (2012). Bioethanol production from agricultural wastes: an overview. **Renew Energy.** 37:19-27.

Santana-Junior AE, Duda RM, Oliveira RA (2019). Improving the energy balance of ethanol industry with methane production from vinasse and molasses in two-stage anaerobic reactors. **Journal of Cleaner Production.** 238:1-11.

Santana Júnior AE (2013). **Produção de Metano a partir de vinhaça e melaço em reatores UASB termofílicos, em dois estágios.** 84 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Jaboticabal.

Santos AC, Oliveira RA (2011). Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reatores anaeróbios horizontais seguidos de reator aeróbio em batelada sequencial. **Eng. Agríc., Jaboticabal.** 31:781-794.

Santos PA, Zaiat M, Oller N, Fuess LT (2019). Does sugarcane vinasse composition variability affect the bioenergy yield in anaerobic systems? A dual kinetic-energetic assessment. **Journal of Cleaner Production.** 10,1-7.

Santos SC, Rosa PRF, Sakamoto IK, Varesche A, Silva EL (2014). Hydrogen production from dilutes and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy.** 39:9599-9610.

Schmidt T, Nelles M, Scholwin F, Proter J (2014). Trace element supplementation in the biogas production from wheat stillage—optimization of metal dosing. **Bioresource technology.** 168:80-85.

Suela SC, Porto PSS, Freitas RR (2018). Tratamento de águas residuais para produção de estruvita: Um estudo bibliométrico. **Research, Society and Development.** 7:01-26. <https://doi.org/10.17648/rsd-v7i9.380>

Sun JH, Sun SP, Wang GL, Qiao LP (2007). Degradation of azo dye Amido black 10B in aqueous solution by Fenton oxidation process. **Dyes and Pigments.** 74:647-652.

Shah FA, Mahmood Q, Shah M M, Pervez A, Asad SA (2014). Microbial ecology of anaerobic digesters: the key players of anaerobiosis. **Scientific World Journal.** 2014:183752. <https://doi.org/10.1155/2014/183752>

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology.** 299:152-178.

Siqueira LM, Barros AR, Amorim EL, Damianovic MH, Foresti E, Silva EL (2008). Influence of increasing organic load on the treatment of sugarcane vinasse in an anaerobic fluidized bed reactor (AFBR). In: IWA, IX Taller y Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia. Isla de Pasqua, CL, 345-351.

Silva MA, Griebeler NP, Borges LC. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 11:108-114, 2007.

Silva BM, Silva WST (2019). Um panorama da implantação do etanol de 3ª geração como uma fonte de energia sustentável. **Egevista**. 21:176-192.

Silva CF, Arcuri SL, Campos CR, Vilela DM, Alves JGLF, Schwan RF (2011). Using the residue of spirit production and bio-ethanol for protein production by yeasts. **Waste Manag.** 31:108–114. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.08.015>

Siqueira LM, Damiano ESG, Silva EL (2013). Influence of organic loading rate on the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and biogás production in fluidized bed reactor. **J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.** 48:1707–1716. <https://doi.org/10.1080/10934529.2013.815535>

Soares CMT, Feiden A, Tavares SG (2017). Fatores que influenciam o processo de digestão anaeróbia na produção de biogás. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**. 5:522-528.

Song M, Shin SG, Hwang S (2010). Methanogenic population dynamics assessed by real-time quantitative PCR in sludge granule in upflow anaerobic sludge blanket treating swine wastewater. **Bioresour. Technol.** 101:23–28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.054>

Sousa RMO, Amaral C, Fernandes JM, Fraga I, Semitela S, Braga F, Coimbra AM, Dias AA, Bezerra RM, Sampaio A (2019). Hazardous impact of vinasse from distilled winemaking by-products in terrestrial plants and aquatic organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 183, 109493. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.109493

Souza RP, Girardi F, Gimenes ML (2013). Vinasse treatment using a vegetable-tannin coagulant and photocatalysis. **Acta Scientiarum. Technology**. 35:89-95.

Speece RE (2007). Anaerobic biotechnology e odor/corrosion control for municipalities e industries. Nashville. Archae press, 596p.

Sun JH, Sun SP, Wang GL, Qiao LP (2007). Degradation of azo dye Amido black 10B in aqueous solution by Fenton oxidation process. **Dyes and Pigments**. 74:647-652.

St-Pierre B, André-Denis G, Wright ADG (2017). Implications from distinct sulfate-reducing bacteria populations between cattle manure and digestate in the

elucidation of H₂S production during anaerobic digestion of animal slurry. **Appl Microbiol Biotechnol.** 101:5543-5556. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8261-1>

Swoboda AK (1976). Inflação, petróleo e crise econômica mundial. **R. Bras. Econ.** 30:41-71.

Tannock GW (2004). A special fondness for lactobacilli. **Appl. Environ. Microbiol.** 70:3189–3194.

Tapia-Tussel R, Pérez-Brito D, Torres-Calzada C (2015). Laccase Gene Expression and Vinasse Biodegradation by *Trametes hirsute* Strain Bm-2. **Molecules.** 20:15147-15157.

Tena M, Buller LS, Sganzerla WG, Berni M, Forster-Carneiro T, Solera R, Pérez M (2021). Techno-economic evaluation of bioenergy production from anaerobic digestion of by-products from ethanol flex plants. **Fuel.** 309:122171. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122171>.

Thai CCD, Bakir H, Doherty WOS (2012). Insights to the Clarification of Sugar Cane Juice Expressed from Sugar Cane Stalk and Trash. **J. Agric. Food Chem.** 60: 2916-2923.

Umar Z, Kenourgios D, Papathanasiou S (2020). The static and dynamic connectedness of environmental, social, and governance investments: International evidence. **Economic Modelling.** 93:112–124. <https://doi.org/10.1016/j.econmod.2020.08.007>

ÚNICA (2019). Acompanhamento quinzenal da safra na região Centro-Sul. Disponível em: <https://www.jornalcana.com.br/wp-content/uploads/2018/09/Unica.pdf>

Vaccari G (2005). Overview of the environmental problems in beet sugar processing: possible solutions. **Journal of Cleaner Production.** 13:449-507.

Vandamme P, Falsen E, Rossau R (1991). Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen.nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.** 41, 88–103. <https://doi.org/10.1099/00207713-41-1-88>

Vilela RS. **Produção de hidrogênio e metano a partir de subproduto da indústria sucroalcooleira, em reatores anaeróbios de fases separadas sob condução termofílica.** Tese de doutorado apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, 2017.

Vitezová M, Kohoutová A, Vitez T, Hanisakova N, Kunshkevych I (2020). Review: Methanogenic Microorganisms in Industrial Wastewater Anaerobic Treatment. **Processes.** 8:1546. <https://doi:10.3390/pr8121546>.

Vrieze JD, Saunders AM, He Y, Fang J, Nielsem PH, Verstraete W, Boon N (2015). Ammonia and temperature determine potential clustering in the anaerobic digestion microbiome. **Water Res.** 75:312-323. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.025>

Von Sperling M (2014). Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Belo Horizonte. UFMG, v1, 472p.

Von Sperling M (2016). Princípios básicos de tratamento de esgotos. Belo Horizonte. UFMG, v2, 211p.

Von Sperling M, Chernicharo CAL (2005). Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions. Lonfon. IWA Publishing, 856p.

Wang S, Ma F, Ma W, Wang P, Zhao G, Lu X (2019). Influence of temperature on biogas production efficiency and microbial community in a two-phase anaerobic digestion system. **Water**. 11:133. <https://doi.org/10.3390/w11010133>

Wilkie A, Riedesel K, Owens J (2000). Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**. 19:63-102.

Wirth R, Kovacs E, Maroti G, Bagi Z, Rakhely G, Kovacs KL (2012). Characterization of a biogas-producing microbial community by short-read nextgeneration DNA sequencing. **Biotechnol. Biofuels**. 5: 41. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-41>

Worldwatch I (2008). Biofuels for transportation. Global potential and implications for sustainable agriculture and energy in the 21st century. **Management of Environmental Quality**. 19:1. <https://doi.org/10.1108/meq.2008.08319aae.005>

Yang H, Li S (2013). Energy analysis of cassava vinasse treatment. **Process Safety and Environmental Protection**. 91:503-507.

Yarza P, Yilmaz P, Pruesse E, Glockner FO, Ludwig W, Schleifer KH, Whitman WB, Euzéby J, Amann R, Rosselló-Móra R (2014). Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. **Nature Reviews Microbiology Nature Publishing Group**. 12: 635-645.

Yin J, Yu X, Zhang Y, Shen D, Wang M, long Y, Chen T (2016). Enhancement of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from food waste: effect of redox potential and inoculum. **Bioresour. Technol.** 216:996-1003. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.05>

Yin Qidong, Miao J, Li B (2017). Enhancing electron transfer by ferrous iron during the anaerobic treatment of synthetic wastewater with mixed organic carbon. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 119:104-110.

Yu H, Zhu Z, Hu W, Zhang H (2002). Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**. 27:1359-1365.

Zaiat M, Vieira GT, Foresti E (1997). Spatial and temporal variations of monitoring performance parameters in horizontal-flow anaerobic immobilizes sludge (HAIS) reactor treating synthetic substrate. **Wat. Res.** 31:1760-1766.

Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A (2013). Pear: a fast and accurate Illumina paired-end read merger. **Bioinformatics**. 30:614–620.

Zhang W, Zhang L, Li A (2015). Enhanced anaerobic digestion of food waste by trace metal elements supplementation and reduced metals dosage by green chelating agent [S, S]-EDDS via improving metals bioavailability. **Water Research**. 84:266–277.

Zhao Z, Wang J, Li Y (2020). Why do DIETers like drinking: Metagenomic analysis for methane and energy metabolism during anaerobic digestion with ethanol. **Water Research**. 171: 115425. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115425>

Zuo Z, Wu S, Zhang W, Dong R (2013). Effects of organic loading rate and effluent recirculation on the performance of two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. **Bioresour. Technol.** 146: 556–561. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.128>