

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE MELAÇO E TORTA DE
FILTRO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM REATORES UASB EM
SÉRIE: EFEITOS DA CARGA ORGÂNICA VOLUMÉTRICA
E ADIÇÃO DE BIOCHAR**

Gabriel Richard da Silva Del Vecchio
Tecnólogo em Biocombustíveis

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE MELAÇO E TORTA DE
FILTRO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM REATORES UASB EM
SÉRIE: EFEITOS DA CARGA ORGÂNICA VOLUMÉTRICA
E ADIÇÃO DE BIOCHAR**

Discente: Gabriel Richard da Silva Del Vecchio

Orientadora: Dra. Rose Maria Duda

Coorientador: Dr. Roberto Alves de Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre
em Microbiologia Agropecuária

2024

Del Vecchio, Gabriel Richard da Silva

D367c

Codigestão anaeróbia de melaço e torta de filtro de cana-de-açúcar em reatores UASB em série: efeito da carga orgânica volumétrica e adição de biochar / Gabriel Richard da Silva Del Vecchio. -- Jaboticabal, 2024

119 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal,

Orientadora: Rose Maria Duda

Coorientador: Roberto Alves de Oliveira

1. Biocombustíveis. 2. Biochar. 3. Codigestão anaeróbia. 4. Melaço. 5. Torta de filtro. I. Título.

Impacto potencial desta pesquisa

Este estudo enfatiza o impacto potencial da codigestão anaeróbia como uma solução sustentável para a valorização de resíduos agroindustriais e a geração de energia renovável. Ao combinar diversas estratégias para estabilizar e otimizar o processo, a pesquisa demonstra como é possível superar desafios operacionais e alcançar uma maior eficiência no aproveitamento de resíduos orgânicos. Além disso, esta pesquisa reforça a importância do equilíbrio microbiológico e da gestão criteriosa das condições do processo de digestão anaeróbia, consolidando, portanto, como uma alternativa promissora para a transição energética e a economia circular.

Potential impact of this research

This study emphasizes the potential impact of anaerobic co-digestion as a sustainable solution for valorizing agro-industrial waste and generating renewable energy. By combining various strategies to stabilize and optimize the process, the research demonstrates how operational challenges can be overcome to achieve greater efficiency in utilizing organic waste. Furthermore, system analysis reinforces the importance of microbial balance and careful management of process conditions, establishing this approach as a promising alternative for energy transition and circular economy.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE MELAÇO E TORTA DE FILTRO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM REATORES UASB EM SÉRIE: EFEITOS DA CARGA ORGÂNICA VOLUMÉTRICA E DA ADIÇÃO DE BIOCHAR

AUTOR: GABRIEL RICHARD DA SILVA DEL VECCHIO

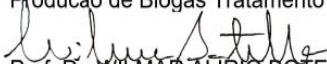
ORIENTADORA: ROSE MARIA DUDA

COORDINADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ROSE MARIA DUDA**
Data: 28/11/2024 15:58:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. ROSE MARIA DUDA (Participação Presencial)
Produção de Biogas Tratamento de Águas Residuárias / FATEC JaboticabalSP


Prof. Dr. WILMAR ALIRIO BOTELLO SUAREZ (Participação Virtual)
Tratamento biológico de águas residuárias / Universidad El Bosque - Bogotá/Colômbia

Prof. Dr. ARNALDO SARTI (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia, Física e Matemática / IQ UNESP Araraquara

Documento assinado digitalmente
 **ARNALDO SARTI**
Data: 26/11/2024 18:16:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 21 de novembro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Gabriel Richard da Silva Del Vecchio – Filho de Vagner Martins Del Vecchio e Silvana Aparecida da Silva, nascido em Araraquara, no Estado de São Paulo, no dia 17 de abril de 2000. Técnico em Química pela Escola Técnica Estadual (ETEC) de Taquaritinga - Dr. Adail Nunes da Silva, em dezembro de 2017. Graduado em Tecnologia em Biocombustíveis pela Faculdade de Tecnologia (FATEC) de Jaboticabal - Nilo de Stéfani, em agosto de 2021, obtendo Diploma de Honra ao Mérito de Melhor Aluno do Curso. Pós-graduado em Engenharia da Qualidade e Produtividade – Green Belt pelo Centro Universitário Internacional (UNINTER) de Jaboticabal. Em agosto de 2022, ingressou no curso de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária em nível de Mestrado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal da Universidade Estadual Paulista – FCAV/UNESP, no Laboratório de Saneamento Ambiental, Departamento de Engenharia, onde desenvolveu pesquisa sobre a codigestão anaeróbia do melaço e torta de filtro para a produção de biogás com estratégias operacionais, como recirculação e adição de biochar.

"Jamais perca o seu equilíbrio,
Por mais forte que seja o vento da tempestade;
Busque no interior o abrigo."

– *Ponto de Equilíbrio*

À minha família, especialmente à minha mãe e irmã, pelo cuidado, união e amor imensurável, minha base primordial durante toda a jornada. Agradeço também ao meu querido companheiro Matheus Luis Natareli dos Santos (*in memoriam*), que sempre acreditou em mim e me incentivou nos estudos. Sua exemplaridade em caráter e humildade, bem como sua presença constante, continuam a me inspirar e a me proteger, mesmo na sua ausência,

DEDICO E AGRADEÇO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder saúde, sabedoria e força para concluir mais uma etapa de minha vida com êxito.

Aos meus familiares, que sempre estiveram presentes, apoiando minhas decisões e oferecendo suporte para que eu chegasse até aqui.

À minha orientadora, professora Dra. Rose Maria Duda, por acreditar no meu potencial e pelo apoio constante, sugestões valiosas e pelo compartilhamento de seu tempo e conhecimento, que foram essenciais para a realização deste trabalho.

Ao meu coorientador, professor Dr. Roberto Alves de Oliveira, pelos ensinamentos e confiança, sempre presente e contribuindo significativamente para este trabalho.

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Faculdade de Veterinária de Jaboticabal (FCAV/UNESP) e ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, pela oportunidade de realizar o curso e pela contribuição fundamental para minha formação profissional.

Ao Laboratório de Saneamento Ambiental e à Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal (FATEC), pela infraestrutura e recursos disponibilizados para a condução dos experimentos, e todos envolvidos que ofereceram apoio essencial para a realização deste trabalho.

Aos meus queridos colegas do Laboratório de Saneamento Ambiental, pelo acolhimento, ajuda e companheirismo. Agradeço de todo o coração a Beatriz, Bruna, Jorge, Isabela, Karen, Matheus, Gabriela, Bárbara e Maíza. E, em especial, a Eliane, por acreditar em mim, apoiar-me e por sempre estar ao meu lado, mostrando um verdadeiro símbolo de amizade e sendo uma pessoa iluminada e constantemente presente.

Agradeço aos funcionários do Departamento de Engenharia: Ailton, Davi, João e Marcos, pela atenção, contribuição e amizade.

Aos membros da banca examinadora do exame de qualificação: Leonardo Madaleno e Valciney de Barros, bem como a banca de defesa de dissertação: Arnaldo Sarti e Wilmar Suarez, pela participação e valiosas contribuições.

À Claudia Fiorillo, técnica do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da UNESP/FCAV, pela disponibilidade e colaboração.

À seção técnica da Pós-Graduação, pelo auxílio, atenção e disponibilidade.

Agradeço à CAPES pela bolsa de mestrado concedida, que foi fundamental para a realização deste trabalho.

O presente estudo foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP),
Processo 2019/19443-6

SUMÁRIO

RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo geral.....	5
2.2. Objetivos específicos	5
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
3.1. Potencial do biogás no setor sucroenergético	6
3.2. Melaço da cana-de-açúcar.....	7
3.3. Torta de filtro	9
3.4. Codigestão do melaço e torta de filtro.....	10
3.5. Digestão anaeróbia	11
3.5.1. Bioquímica da digestão anaeróbia	13
3.5.2. Microbiologia dos reatores anaeróbios	15
3.5.3. Digestão anaeróbia do melaço de cana-de-açúcar	16
3.6. Reatores UASB em série	17
3.6.1. Recirculação do efluente	19
3.7. Biochar na digestão anaeróbia	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1. Local do experimento e instalações experimentais.....	23
4.2. Lodo de inóculo.....	25
4.3. Afluente: utilização do melaço e torta de filtro de cana-de-açúcar	25
4.4. Condições operacionais.....	26
4.5. Estratégias para estabilidade e controle de parâmetros operacionais em sistema UASB.....	29
4.6. Biochar de torta de filtro	29
4.7. Microscopia eletrônica por varredura	31

4.8. Frequência de amostragem, análises físico-químicas e determinações de constituintes orgânicos no afluente, efluentes e biogás	33
4.9. Extração de DNA	35
4.9.1. Sequenciamento na plataforma Illumina	35
4.9.2. Análise de dados	35
4.9.3. Predição de função bacteriana	36
4.10. Análise estatística	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1. Parâmetros Físico-Químicos: COV, pH, alcalinidade, ácidos voláteis totais e nitrogênio amoniacal	37
5.2. Demanda química de oxigênio (DQO) e eficiência de remoção	48
5.3. Sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV)	52
5.4. Produção de metano e estimativa teórica da produção de energia elétrica	54
5.5. Fósforo, ortofosfato e nitrogênio Kjeldahl	60
5.5.1. Relação DQO:N:P	63
5.6. Macronutrientes e micronutrientes	64
5.6. Sólidos totais e voláteis no lodo dos reatores UASB em série	69
5.7. Sulfato e sulfeto	75
5.8. Diversidade microbiana nos reatores anaeróbios mesofílicos	77
5.8.1. Predição de funções metabólicas	95
6. CONCLUSÃO	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

Codigestão anaeróbia de melaço e torta de filtro de cana-de-açúcar em reatores UASB em série: efeitos da carga orgânica volumétrica e adição de biochar

RESUMO – A codigestão anaeróbia mesofílica do melaço de cana-de-açúcar, em combinação com a torta de filtro como suplemento de nutrientes, se revela uma opção viável para a recuperação de energia na forma de metano. No entanto, o melaço é propenso à acidificação, exigindo estratégias para evitar o colapso do sistema. Neste estudo, foram operados dois reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB, R1 e R2) em série, com aumento gradual da COV de 1,7 até 19,4 g DQO_{total} (L d)⁻¹ no R1, nas fases I a V. As produções volumétricas de metano chegaram a 2,03 L CH₄ (L d)⁻¹, com concentração de metano no biogás de até 76%. A tendência de acidificação indicou a necessidade de medidas de controle, resultando na retirada da recirculação do efluente do R2 para gerenciar os níveis de AVT. A adição de biochar da torta de filtro otimizou o desempenho do sistema na fase V, melhorando a conversão dos ácidos, na capacidade de tamponamento, no aumento da massa microbiana e consequentemente na produção de biogás. A torta de filtro como cosubstrato manteve a relação DQO:N:P próximas a proporção teórica, de 350:5:1, recomendada para a digestão anaeróbia. A recuperação de energia do melaço de cana-de-açúcar para produção de metano foi de 14,8 MJ L⁻¹, superior quando comparado a produção de etanol, com 7,8 MJ L⁻¹. A análise taxonômica do lodo revelou a presença dos gêneros *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, e *Methanosaeta* para produção de metano. Esses resultados destacam a eficácia da codigestão anaeróbia para a conversão de melaço em metano e reforçam a necessidade de estratégias de controle para maximizar a eficiência e a estabilidade do processo, sendo uma solução sustentável para a valorização de resíduos agroindustriais e a recuperação de energia renovável.

Palavras-chaves: Biogás, carga orgânica volumétrica, codigestão anaeróbia, diversidade microbiana, energia, reatores UASB em série, recirculação.

Anaerobic codigestion of molasses and sugarcane filter cake in UASB reactors series: effects of organic loading rate and biochar addition

ABSTRACT – Mesophilic anaerobic co-digestion of sugarcane molasses, combined with filter cake as a nutrient supplement, proves to be a viable option for energy recovery in the form of methane. However, molasses is prone to acidification, requiring strategies to prevent system collapse. In this study, experiments were conducted using upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors (R1 and R2) in series, with a gradual increase in organic loading rate (OLR) from 1.7 to 19.4 g total COD (L d)⁻¹ in R1, in phases I to V. Methane production reached up to 2.03 L CH₄ (L d)⁻¹, with methane concentrations in biogas as high as 76%. The acidification trend indicated the need for control measures, leading to the removal of effluent recirculation from R2 to manage volatile fatty acid (VFA) levels. Adding biochar derived from filter cake optimized system performance by improving acid conversion, buffering capacity, microbial biomass, and consequently, biogas production. Filter cake as a co-substrate maintained the COD:N:P ratio close to the theoretical proportion of 350:5:1, recommended for anaerobic digestion. The energy recovery from sugarcane molasses in the form of methane (14.8 MJ L⁻¹) was significantly higher compared to ethanol production (7.8 MJ L⁻¹). Taxonomic analysis of the sludge revealed the presence of the genera *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, and *Methanosaeta*, which are crucial for anaerobic digestion. These results highlight the effectiveness of anaerobic co-digestion for converting molasses into methane and emphasize the need for control strategies to maximize process efficiency and stability. This approach stands out as a sustainable solution for the valorization of agro-industrial waste and renewable energy recovery.

Keywords: Biogas, organic loading rate, anaerobic co-digestion, energy, microbial diversity, series UASB reactors, recirculation.

LISTA DE ABREVIATURAS

AI – Alcalinidade intermediária
AP – Alcalinidade parcial
AT – Alcalinidade total
AVT – Ácidos voláteis totais
AGV – Ácidos graxos voláteis
DQO_{total} – Demanda química de oxigênio total
DQO_{Dissolvida} – Demanda química de oxigênio dissolvida
CO₂ – Dióxido de carbono
CH₄ – Metano
COV – Carga orgânica volumétrica
N-am – Nitrogênio amoniacal
NK – Nitrogênio Kjeldahl
P-total – Fósforo total
pH – Potencial hidrogeniônico
PEM – Produção específica de metano
PVM – Produção volumétrica de metano
SF – Sólidos fixos
ST – Sólidos totais
SV – Sólidos voláteis
SSF – Sólidos suspensos fixos
SST – Sólidos suspensos totais
SSV – Sólidos suspensos voláteis
TDH – Tempo de detenção hidráulica
UASB – *Upflow anaerobic sludge blanket*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição do melaço de cana-de-açúcar.....	8
Tabela 2. Características da torta de filtro	10
Tabela 3. Caracterização da torta de filtro.	25
Tabela 4. Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos realizados no afluente e efluentes do sistema composto pelos reatores UASB em série.	34
Tabela 5. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da carga orgânica volumétrica (COV), pH, alcalinidade total (AT), parcial (AP) e intermediária (AI) do afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.....	40
Tabela 6. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da relação da alcalinidade intermediária (AI) e parcial (AP), ácidos voláteis totais (AVT), relação de ácidos voláteis totais/alcalinidade total (AVT/AT) e nitrogênio amoniacal (N-am) do afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.	43
Tabela 7. Valores médios e coeficiente de variação (CV) da demanda química de oxigênio total (DQO _{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO _{dissolvida}) no afluente e efluentes e suas respectivas eficiências de remoção do conjunto reatores UASB (R1+R2), codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.....	51
Tabela 8. Valores médios e coeficientes de variação (CV) das concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) no afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.	53
Tabela 9. Capacidade de recuperação de energia da bioenergia produzida a partir de melaço comparados a outros estudos.....	58
Tabela 10. Valores médios e coeficientes de variação (CV) produção volumétrica (PVM) e específica de metano (PEM), da concentração de metano (% metano) no biogás e energia teórica nos reatores UASB R1 e R2 em série, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.....	59
Tabela 11. Valores médios e coeficientes de variação (CV) de Nitrogênio Kjeldahl (NK), fósforo total (P-total) e ortofosfato no afluente e efluente dos reatores UASB em série R1 e R2 e eficiência de remoção no sistema (R1+R2), utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.....	62

Tabela 12. Relação DQO:N:P no afluente e efluente dos reatores UASB em série R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 64

Tabela 13. Valores médios e coeficiente de variação (CV) macronutrientes e micronutrientes no afluente e efluentes e suas respectivas eficiências de remoção do conjunto reatores UASB (R1+R2) durante todas as fases. 65

Tabela 14. Valores da taxa de carregamento orgânico do lodo (TCL) e tempo de retenção de sólidos (TRS) nos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 71

Tabela 15. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em mg L^{-1} e da relação SV/ST nos cinco pontos de coleta de lodo do reator UASB R1, utilizado na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V..... 73

Tabela 16. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em mg L^{-1} e da relação SV/ST nos cinco pontos de coleta de lodo do reator UASB, R2, utilizado na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V..... 74

Tabela 17. Valores médios e coeficiente de variação (CV) da concentração de sulfato e sulfeto no afluente e efluente dos reatores UASB em série, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 76

Tabela 18. Relações de DQO/ SO_4^{2-} e coeficiente de variação (CV) no afluente e efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V..... 77

Tabela 19. Abundância dos principais gêneros dos domínios Archaea e Bacteria identificadas no lodo inóculo usados para partida dos reatores UASB R1 e R2, na codigestão do melaço e torta de filtro..... 80

Tabela 20. Abundância dos principais gêneros das bactérias e aqueias identificadas no lodo dos reatores UASB R1 e R2 nas fases II, IV e V do tratamento anaeróbio do melaço..... 93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol no setor sucroenergética (adaptado de Christofolletti et al., 2013 e Moraes et al., 2015).	7
Figura 2. Rotas metabólicas da digestão anaeróbia (adaptado de Chernicharo, 2016).....	13
Figura 3. Representação esquemática de um reator UASB (adaptado de Chernicharo, 2016).....	18
Figura 4. Benefícios do uso do biochar na digestão anaeróbia (adaptado de Deng et al., 2022).	21
Figura 5. Representação esquemática das instalações compostas pelos reatores UASB em série, tanque de armazenagem de afluente e efluentes, gasômetros, bomba diafragma e câmara climatizada para a manutenção da temperatura.....	24
Figura 6. Diagrama esquemático do período e condições operacionais dos reatores UASB em série (R1 e R2) no tratamento anaeróbio do melaço; carga orgânica volumétrica (COV) em g DQO _{total} (L d) ⁻¹ e coeficiente de variação (%); torta de filtro como fontes de nutrientes para suplementação de N e P, atendendo a relação DQO:N:P; tempo de detenção hidráulico (TDH) em horas (h); fonte de alcalinidade com hidróxido de cálcio (HC) e recirculado (R); taxa de recirculação do efluente, nas fases I a V, com adição de biochar de torta de filtro na fase final.	28
Figura 7. Produção do biochar de torta de filtro pelo processo pirólise.	30
Figura 8. Eletromicrografia do biochar da torta de filtro produzido a 450°C, visualizadas por MEV (Evo 10-33-75–ZEISS), com tensão de aceleração de 10,0 kV e ampliação de 78 x (A), 307 x (B), 2,04 kx (C) e 6 kx (D).	32
Figura 9. Carga orgânica volumétrica (COV) dos reatores UASB R1 e R2 e pH do afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigeringo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.....	38
Figura 10. Alcalinidade total (AT), alcalinidade parcial (AP) e alcalinidade intermediária (AI) do afluente e efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, codigeringo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.	39
Figura 11. Relação entre a alcalinidade intermediária (AI) e alcalinidade parcial (AP) dos efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigeringo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.....	41

- Figura 12.** Ácidos voláteis totais (AVT), relação ácidos voláteis totais/Alcalinidade total (AVT/AT) e nitrogênio amoniacal do afluente e dos efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 46
- Figura 13.** Valores de demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}) do afluente e efluentes e eficiência de remoção do conjunto reatores UASB (R1+R2), nas fases I a V. 49
- Figura 14.** Valores médios de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF) do afluente e dos efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 52
- Figura 15.** Produção volumétrica de metano (PVM) e produção específica de metano (PEM) dos reatores UASB R1 e R2 em relação a carga orgânica volumétrica (COV), codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 56
- Figura 16.** Fósforo total (P-total), nitrogênio Kjeldahl (NK) e ortofosfato do afluente e efluentes, dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 60
- Figura 17.** Concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) nos cinco pontos de coletas de lodo dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 70
- Figura 18.** Relação SV/ST dos cinco pontos de coletas de lodo dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 72
- Figura 19.** Concentração de sulfato e sulfeto no afluente e efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, em relação a carga orgânica volumétrica (COV), utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V. 75
- Figura 20.** Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo inóculo. 79
- Figura 21.** Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo dos reatores UASB R1 e R2, na fase II, utilizados na codigestão de melaço e torta de filtro. 85
- Figura 22.** Eletromicrografia morfológica superficial do lodo dos reatores anaeróbios R1 e R2 na fase II (A e B) e fase IV (C e D) da digestão anaeróbia do melaço e torta de filtro, visualizadas por MEV (Evo 10-33-75–ZEISS), com tensão de aceleração de 10,0 kV e ampliação de 3,53 kx (A), 2,31 kx (B), 6,39 kx (C) e 3,92 kx (D). 86
- Figura 23.** Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo dos reatores UASB R1 e R2, na fase IV, codigerindo melaço e torta de filtro. 88

Figura 25. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo dos reatores UASB R1 e R2, na fase V, codigerindo melaço e torta de filtro. 92

Figura 26. Predição funcional das principais vias metabólicas nas amostras lodo inóculo e dos reatores UASB R1 e R2 na fase II, IV e V, codigerindo melaço e torta de filtro. 97

1. INTRODUÇÃO

O constante crescimento populacional e industrial aumentou a necessidade de exploração dos recursos naturais, provocando impactos ambientais (Pajampa e Wongwuttanasatian, 2023). Em resposta, há um crescente interesse pela adoção de estratégias sustentáveis que promovam o desenvolvimento econômico e ambiental, incluindo a energia proveniente de fontes renováveis (Jie et al., 2023).

Nesse contexto, o setor sucroenergético tem se destacado, com a produção de biocombustíveis e eletricidade a partir de fontes renováveis (Pazuch et al., 2017). A produção e consumo de biocombustíveis foi impulsionado por políticas públicas, que visam minimizar as emissões de gases de efeito estufa provenientes do uso de combustíveis fósseis (Abdullah et al., 2019; Kaup, 2015).

De acordo com a CONAB (2024), o Brasil, líder mundial na produção de cana-de-açúcar, em virtude das condições climáticas favoráveis e investimentos no setor, alcançou um recorde de 713,2 milhões de toneladas na safra 2023/24, um crescimento de 16,8% em relação à safra anterior. A produção brasileira de açúcar na safra 2023/24 foi de 45,68 milhões de toneladas, ou seja, 24,1% superior a safra anterior (CONAB, 2024).

Visando a sustentabilidade da produção de cana-de-açúcar no Brasil, é necessário aprimorar o uso da energia nas atividades agroindustriais e garantir o uso ambientalmente correto dos subprodutos (Weldehans, 2023), como o melaço e a torta de filtro, gerados durante a produção do açúcar.

O melaço, um líquido espesso e escuro proveniente da centrifugação no processo de fabricação de açúcar, varia entre 40 e 60 kg por tonelada de cana processada (Vilela et al., 2019). Composto principalmente de carboidratos o melaço e possui alta demanda química de oxigênio (DQO) (Meng et al., 2017; Silva et al., 2020), de aproximadamente 730 g L⁻¹ (Oliveira et al., 2020). Este substrato é utilizado principalmente na produção de etanol, porém por ser facilmente degradável por microrganismos, tornando-se viável para a produção de biogás, a partir do processo anaeróbio (Barros et al., 2016; Santana Junior et al., 2019; Oliveira et al., 2020).

A digestão anaeróbia do melaço de cana-de-açúcar tem sido relatada como um subproduto importante para a manutenção de reatores UASB tratando vinhaça na entressafra da cana-de-açúcar (Santana Junior; Duda; Oliveira, 2019) e para a produção de biogás, em escala laboratorial, por exemplo (Fuess et al., 2021). No entanto, existe a necessidade de estudos, com a operação contínua de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), em série, para a produção de biogás do melaço de cana-de-açúcar. Isso permitirá a ampliação de possibilidades de subprodutos para a produção de biogás nas indústrias sucroenergéticas, sem problemas com a sazonalidade, pois esse substrato pode ser armazenado na indústria.

O melaço de cana-de-açúcar, em virtude do seu alto teor de carboidratos, é um substrato promissor para a aplicação de sistemas de digestão anaeróbia, em dois estágios. A utilização de reatores anaeróbios em série para substratos ricos em açúcares é particularmente interessante em virtude da capacidade de priorizar a atividade fermentativa dos processos metanogênicos. Isso é fundamental para minimizar os impactos que podem ser causados pela rápida degradação dos açúcares e geração de ácidos na fase fermentativa, facilitando a manutenção de um pH adequado na fase metanogênica (Ferraz Júnior et al., 2016; Oliveira et al., 2020).

No entanto, mesmo com a utilização de reatores em série, a operação requer estratégias operacionais diversificadas para prevenir a acidificação do sistema, com a aplicação de elevada carga orgânica volumétrica (COV) (Oliveira et al., 2020), como a suplementação nutricional e de alcalinidade utilizando por exemplo, a torta de filtro e a recirculação do efluente, respectivamente.

A torta de filtro, outro subproduto gerado na produção de açúcar, durante a clarificação do caldo de cana-de-açúcar, resulta da mistura de lodo dos decantadores com bagacilho, que é um material fibroso obtido do peneiramento do bagaço. Essa mistura é filtrada a vácuo, resultando na torta de filtro (Janke et al., 2015, Janke et al., 2016; Lucelia et al., 2017). A produção de torta de filtro varia entre 35 e 40 kg por tonelada de cana processada (Wongarmat et al., 2022), sendo rica em nutrientes como Ca, P, Mg, N, Fe, Mn e Zn (Janke et al., 2015, 2016; Lucelia et al., 2017).

Assim, a torta de filtro pode ser uma alternativa para suplementação nutricional do melaço, para favorecer os microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia, pois os nutrientes são necessários para o crescimento e sobrevivência de grupos específicos de microrganismos. Segundo Chernicharo (2016), uma relação DQO:N de 350:5:1, recomendada para tratamento de esgoto sanitário, é considerada suficiente na digestão anaeróbia para o desenvolvimento de microrganismos metanogênicos

Além do uso da torta de filtro, a recirculação do efluente é outra estratégia operacional adequada para fornecer nutrientes e alcalinidade ao sistema (Barros et al., 2017; Santana Junior et al., 2019). No entanto, a recirculação contínua pode proporcionar o acúmulo de ácidos e material recalcitrante, comprometendo a produção de metano (Santana Junior et al., 2019; Lima et al., 2022). A retirada do recirculado e o uso de substâncias químicas alcalinizantes em substituição, em determinados períodos, podem atenuar o efeito desses compostos no sistema em curto prazo.

Uma alternativa para estabilizar reatores anaeróbios com substratos suscetíveis à acidificação é a adição de biochar ao processo. O biochar tem se mostrado eficaz em virtude às suas propriedades físico-químicas, como a capacidade de adsorver compostos inibidores, aumentar a capacidade de tamponamento do sistema, fornecer habitats para microrganismos devido sua porosidade e, principalmente, acelerar a degradação de ácidos orgânicos (Deng et al., 2022; Sun et al., 2022; Xu et al., 2024; Chiappero et al., 2020). Nesse contexto, a torta de filtro destaca-se como um material atrativo para a produção de biochar via pirólise, por ser rica em carbono (Bernardino et al., 2018). Essa abordagem agrega valor a esse subproduto agroindustrial e contribui para a melhoria do desempenho dos reatores anaeróbios.

Para aperfeiçoar as condições operacionais e maximizar a eficiência dos sistemas de digestão anaeróbia, existe um interesse crescente em investigar a estrutura e a dinâmica da comunidade microbiana presente nos reatores, composta principalmente por bactérias e arqueias (Barros et al., 2017). A compreensão da diversidade microbiana e suas funções, obtida por meio de técnicas de biologia

molecular, pode esclarecer os resultados observados no desempenho do sistema de digestão anaeróbia e permitir o aprimoramento das condições operacionais (Paliwal et al., 2012; Sampaio, 2022), potencializando o tratamento dos resíduos e a produção de biogás.

Portanto, neste estudo foi investigado a codigestão de melaço de cana-de-açúcar e torta de filtro, utilizando reatores UASB em série para a produção de biogás. Também foi estudado estratégias como a recirculação e a utilização do biochar obtido a partir da pirólise da torta de filtro, na estabilidade do processo anaeróbio, codigerindo melaço e torta de filtro. Essas estratégias visam evitar a acidificação dos reatores anaeróbios, que é comum quando se utiliza o melaço de cana-de-açúcar. A adição de biochar, representa uma alternativa inovadora e ainda pouco explorada. Ademais, compreender a interação e quantificar os principais grupos microbianos nos reatores é fundamental para uma visão detalhada do processo de digestão anaeróbia também foi objetivo deste trabalho, destacando-se como uma área de pesquisa significativa e promissora.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar a codigestão anaeróbia do melaço e da torta de filtro de cana-de-açúcar em reatores UASB em série, operados na faixa mesofílica, com o aumento gradual das cargas orgânicas volumétricas, para a produção de biogás.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a utilização da torta de filtro para suplementação de nitrogênio e fósforo para otimização na produção de biogás.

- Estudar o efeito da utilização de reatores anaeróbios em série e da recirculação do efluente do R2, para a manutenção da estabilidade do pH e alcalinidade e da produção de biogás com aumento da COV.

- Avaliar estratégias operacionais para evitar acidificação do sistema, como a retirada do efluente recirculado e adição de biochar de torta de filtro.

- Comparar o potencial do melaço para a produção de etanol e biogás, respectivamente, como alternativas de recuperação de energia.

- Compreender a diversidade microbiana dos domínios Bacteria e Archaea no lodo dos reatores UASB, utilizando técnicas da biologia molecular, por meio da tecnologia da plataforma Illumina.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Potencial do biogás no setor sucroenergético

O setor sucroenergético brasileiro está em constante crescimento, caracterizado pela elevada geração de subprodutos, como vinhaça, bagaço, melaço, torta de filtro e palha. Esses subprodutos, quando destinados inadequadamente, podem ser nocivos ao meio ambiente (Coelho et al., 2016). No entanto, esses subprodutos são vistos como precursores de novos produtos de alto valor agregado, como a bioenergia, cuja produção representa uma alternativa sustentável, proporcionando benefícios econômicos e ambientais (Abdulkhani et al., 2017).

Embora a produção de bioenergia seja uma iniciativa no contexto das energias renováveis, a implementação bem-sucedida de qualquer projeto requer harmonização com outros objetivos, como a redução de emissões de gases de efeito estufa e a otimização de indicadores de sustentabilidade (Kuo e Dow, 2017; Fava e Romanelli, 2023).

Desde que Frosch e Gallopoulos (1989) introduziram o conceito de ecossistema industrial, que utiliza resíduos gerados durante o processo, a indústria tem promovido a utilização eficiente dos recursos e o fechamento dos circuitos para realizar uma economia circular e uma produção mais sustentável (Abdullah et al., 2019; Patala et al., 2019; Pavan et al., 2021). Isso significa que iniciativas de transformação de resíduos em energia podem surgir de diferentes matérias-primas, como resíduos sólidos agrícolas, industriais, animais e urbanos, contribuindo para a produção de energia, por exemplo, biogás, eletricidade e calor (Pan et al., 2015; Weldehans, 2023).

Nesse contexto, visando a sustentabilidade da produção de cana-de-açúcar no Brasil, surge a necessidade de aprimorar o uso da energia nas atividades agroindustriais e garantir a compatibilidade ambiental dos resíduos ou subprodutos gerados durante a produção de etanol e açúcar (Weldehans, 2023), como o melaço e a torta de filtro para a produção de biogás.

3.2. Melaço da cana-de-açúcar

A cultura canavieira tem desempenhado um papel importante na produção de açúcar ao longo da história. O processo de fabricação de açúcar envolve várias etapas e gera numerosos subprodutos, como o bagaço, torta de filtro e melaço (Figura 1). O melaço, um líquido espesso e escuro obtido durante a etapa de centrifugação (Meng et al., 2017; Shahzad et al., 2021), é importante na produção comercial de etanol em virtude do seu baixo custo e ampla disponibilidade, sendo utilizado na etapa de fermentação (Castañeda-Ayarza e Cortez, 2017; Zhang et al., 2021).

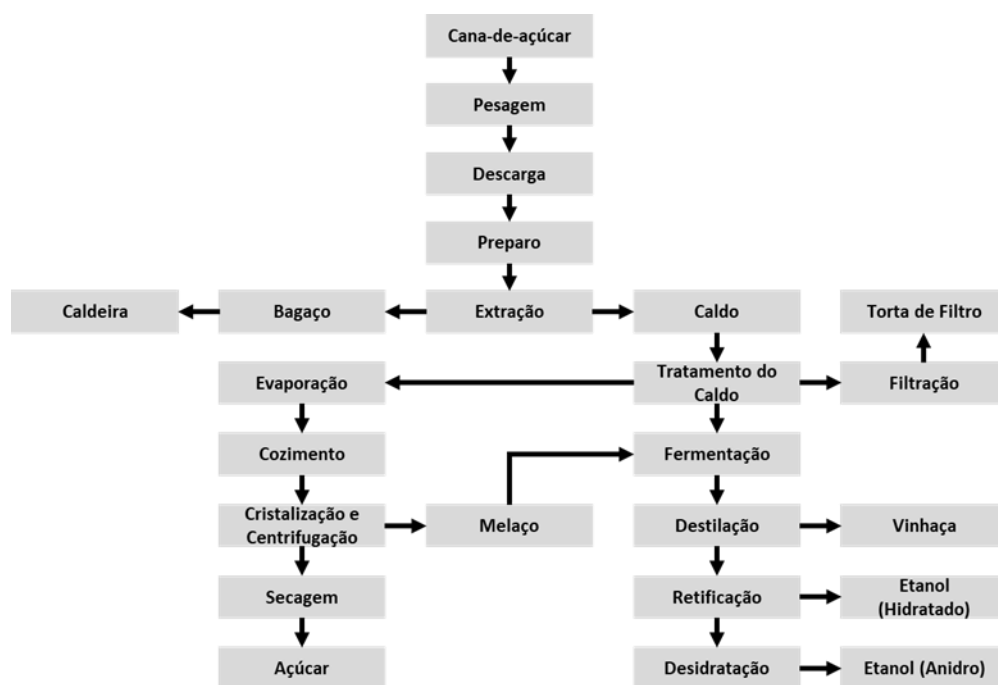


Figura 1. Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol no setor sucroenergético (adaptado de Christofolletti et al., 2013 e Moraes et al., 2015).

O melaço é composto por ácidos orgânicos, aminoácidos, vitaminas, minerais como cálcio e potássio, e principalmente de carboidratos (Barros, 2013; Mordenti et al., 2021), apresentando elevado potencial de impacto ambiental em virtude do alto teor de DQO (Meng et al., 2017; Silva et al., 2020). O melaço é

produzido em grandes quantidades, variando entre 40 e 60 kg por tonelada de cana processada (Vilela et al., 2019). Na Tabela 1 abaixo, é apresentada a composição do melaço em concentrações de 10 g L⁻¹ adaptado de Vilela (2017).

Tabela 1. Composição do melaço de cana-de-açúcar

Parâmetros	Melaço (mg L ⁻¹)
pH	4,8
DQO	8720
NK	269
Sulfato	70
Potássio	216
Cobre	0,053
Cálcio	287
Zinco	0,168
Magnésio	21,18
Sódio	4,7
Manganês	0,27
Ferro	0,838
Glicose	2443,3
Frutose	845,5
Ácido cítrico	1584,05
Ácido málico	312,9
Ácido valérico	175,45

Fonte: Adaptado de Vilela (2017)

Diante a preocupação da quantidade gerada e o destino adequado desse subproduto, a digestão anaeróbia pode ser uma alternativa eficaz para a produção de biogás, já que o melaço é rico em carbono, uma fonte de fácil degradação por microrganismos (Oliveira et al., 2020). Isso contribui para a diversificação da produção de bioenergia a partir de substratos derivados da cana-de-açúcar (Fuess et al., 2020). Portanto, o tratamento deste subproduto é essencial para garantir a sustentabilidade da indústria canavieira e reduz os riscos de poluição ambiental e agregar valor ao subproduto assegura uma matriz energética cada vez mais sustentável e limpa (Rocky-Salimi et al., 2017; Talang e Sirivithayapakorn, 2020).

Entre os sistemas de tratamento anaeróbio, os reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) em série, podem ser uma tecnologia adequada para a produção de biogás do melaço. Os reatores UASB em série oferecem potencial para operação com cargas orgânicas elevadas, garantindo maior estabilidade no processo anaeróbio (Barros et al., 2016; Botello Suárez et al., 2018; Meng et al., 2017).

Para que o processo anaeróbio seja eficiente, a disponibilidade de nutrientes é um fator determinante para o desenvolvimento microbiano (Bougrier et al., 2018; Romero-Güiza et al., 2016; Zhang e Loh, 2019). Embora a utilização do melaço seja favorável para a produção de biogás, pode ser necessário suplementar alguns nutrientes importantes (Barros et al., 2017; Silva et al., 2020). Nesse sentido, a codigestão com a torta de filtro representa uma estratégia operacional promissora, aproveitando os nutrientes deste subproduto e tornando o processo menos oneroso.

3.3. Torta de filtro

A torta de filtro é gerada como resultado da mistura do bagaço de cana-de-açúcar moído com o lodo, proveniente da clarificação do caldo, após o processo de filtração mecânica do caldo de cana, cuja quantidade varia entre 35 e 40 kg por tonelada de cana processada (Wongarmat et al., 2022). A filtração é uma etapa da produção de açúcar e etanol, onde as impurezas e partículas indesejadas são removidas, resultando em um produto mais puro e refinado (Janke et al., 2016; Suailam et al., 2017; CONAB, 2017; Wongarmat et al., 2022).

A torta de filtro, no entanto, é a consequência natural desse processo, possuindo um alto teor de matéria orgânica e sendo rica em macro e micronutrientes, principalmente, Ca, N, P, Mg, Na, Cu, K, Fe, Mn e Zn, conforme observado na Tabela 2, sendo amplamente utilizada como compostagem nas áreas de plantio de cana (Janke et al., 2015; Janke et al., 2016; Vasconcelos et al., 2017; Barros et al., 2017; Rossetto e Santiago, 2022).

Tabela 2. Características da torta de filtro

Parâmetros	Torta de filtro (mg g ⁻¹ ST)
pH	8,2
DQO	20
NK	6,19
P _{total}	9,04
K	0,05
Cu	0,125
Ca	0,002
Zn	0,042
Mg	0,125
Na	0,9
Mn	0,312
Fe	0,018

Fonte: Barros (2017)

A torta de filtro é considerada um subproduto que apresenta problemas de gerenciamento e disposição final em várias usinas (Pajampa e Wongwuttanasatian, 2023). É um material orgânico que pode ser digerido e decomposto ao ar livre, produzindo um odor desagradável e contaminando o abastecimento de água nas proximidades. Nesse caso, o abandono das tortas de filtro na indústria açucareira representa uma ameaça ao meio ambiente e dificulta seu gerenciamento, principalmente durante o período chuvoso, poluindo águas subterrâneas (Pajampa et al., 2023).

3.4. Codigestão do melaço e torta de filtro

A composição e as propriedades de certos substratos podem causar um desequilíbrio entre hidrólise, acidificação e produção de metano durante a digestão anaeróbia. Isso pode levar a falha do sistema, tornando esses substratos desafiadores para a monodigestão anaeróbia (Zheng et al., 2021). No entanto, a codigestão anaeróbia é uma estratégia eficaz para mitigar esses efeitos inibitórios, promovendo a diversificação da comunidade microbiana e melhorando o desempenho do processo (Mata-Alvarez et al., 2014).

Nesse contexto, a utilização do melaço na produção de biogás na digestão anaeróbia é favorável, pois promove o crescimento microbiano em virtude da sua alta concentração de carbono. No entanto, o melaço carece de nutrientes essenciais, como nitrogênio, fósforo e magnésio (Feltrin et al., 2000; Oliveira, 2018). Os macronutrientes como nitrogênio e fósforo são cruciais para a nutrição dos microrganismos metanogênicos, e sua deficiência pode reduzir a atividade microbiana (Chernicharo, 2016).

Conforme Villa-Montoya et al. (2016), outras soluções tecnicamente e economicamente viáveis para o tratamento anaeróbio de resíduos industriais devem ser exploradas. Uma alternativa é a utilização da torta de filtro para suplementar nutricionalmente o melaço, melhorando a produção de biogás e reduzindo os custos ao evitar o uso de compostos químicos (Barros et al., 2017).

Os nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, necessários para o crescimento e sobrevivência de grupos específicos de microrganismos. As exigências nutricionais das populações microbianas envolvidas em processos biológicos são determinadas com base na composição química típica da célula microbiana. De acordo com Chernicharo (2016), uma relação DQO:N:P, de 350:5:1, é indicada como suficiente, dando condições para a conversão da matéria orgânica em biogás, melhorando o desempenho da digestão anaeróbia.

Barros et al. (2017), avaliaram a capacidade de produção de biogás a partir da codigestão anaeróbia da vinhaça com a torta de filtro, em reatores UASB termofílicos em série, com recirculação. De acordo com os autores, os nutrientes presentes na torta de filtro promoveram suplementação necessária para os microrganismos anaeróbios, atendendo a relação DQO:N:P, aumentando sua capacidade de conversão da matéria orgânica em metano, além de melhorar a estabilidade do processo.

3.5. Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo altamente complexo no qual diversos tipos de microrganismos, degradam a matéria orgânica, convertendo-a em energia,

na ausência de oxigênio (Rabii et al., 2019; Moradi et al., 2023). Trata-se de uma tecnologia promissora que apresenta potencial para contribuir significativamente para atender à crescente demanda de energia, e concomitantemente reduzir os impactos prejudiciais ao meio ambiente (Fernandes et al., 2023).

Este método oferece uma série de vantagens ambientais, incluindo a produção de energia renovável, a mitigação das emissões de gases de efeito estufa e uma alta eficiência no tratamento de resíduos orgânicos (Jin et al., 2021; Cruz et al., 2022). Dentre as fontes de biomassa comumente empregadas nessa abordagem para o tratamento de resíduos, encontram os efluentes industriais e os resíduos agrícolas (Raut et al., 2021; Kitamura et al., 2022).

O biogás, predominante é constituída principalmente por metano, é o principal produto energético obtido em processos anaeróbios, e representa um recurso de alto valor agregado, resultante da digestão promovida por microrganismos que consomem matéria orgânica. No processo anaeróbio também são gerados os efluentes, os quais podem ser empregados como fertilizantes em solos com propriedades benéficas (Feng et al., 2018).

O sucesso na aplicação dos processos anaeróbios está intrinsecamente ligado à observância de uma série de requisitos essenciais, como temperatura adequada, pH controlado, alcalinidade específica, concentração de ácidos voláteis e presença de nutrientes. Chernicharo (2016) delineou de maneira abrangente esses requisitos, destacando a importância de manter condições ideais para o desempenho eficiente do processo anaeróbio. O cumprimento desses parâmetros é otimizar a produção de biogás e garantir a eficácia global do processo.

A digestão anaeróbia pode ser realizada em diferentes faixas de temperatura (mesofílica, termofílica e psicrófílica), é fundamental para estabilidade do processo anaeróbio, pois influencia a composição e a diversidade da comunidade microbiana, além de afetar as reações bioquímicas e seu equilíbrio termodinâmico (Lin et al., 2016; Pap et al., 2015). Tipicamente, considera-se que a digestão anaeróbia mesofílica ocorre em uma faixa de 30 a 40 °C, com uma temperatura ideal entre 35 e 37 °C, enquanto a digestão termofílica ocorre entre 50 e 60 °C, com uma temperatura ótima de aproximadamente 54 °C (Van Lier, 1995).

3.5.1. Bioquímica da digestão anaeróbia

O processo de conversão anaeróbia de resíduos orgânicos em bioenergia é altamente dependente da interação de pelo menos três grupos de microrganismos: bactérias fermentativas (ou acidogênicas), bactérias sintróficas (ou acetogênicas) e arqueias metanogênicas (Kougias et al., 2017; Rabii et al., 2019), sendo categorizado em quatro fases principais, hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese), conforme ilustrado na figura 2.

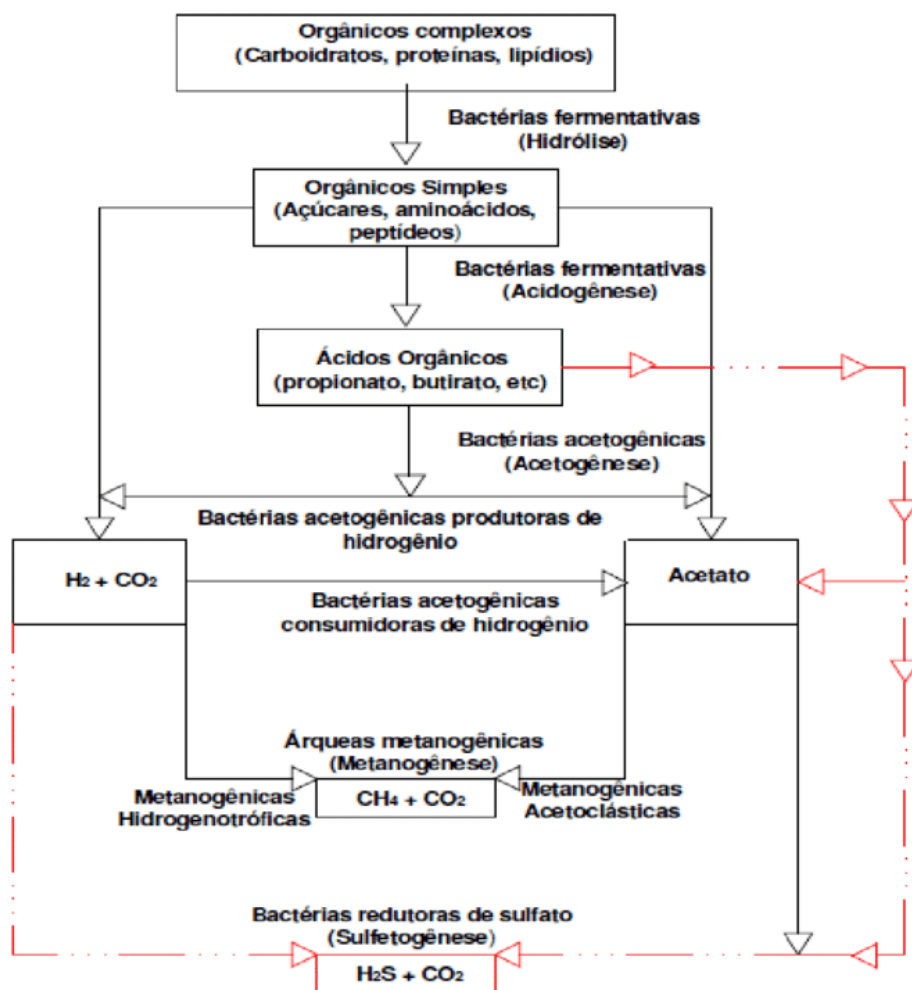


Figura 2. Rotas metabólicas da digestão anaeróbia (adaptado de Chernicharo, 2016).

A fase inicial, conhecida como hidrólise, é responsável pela quebra de materiais complexos em substâncias mais simples e solúveis, que podem atravessar as membranas celulares das bactérias fermentativas, sendo metabolizadas e convertidas em compostos mais simples, posteriormente excretados pelas células (Rabii et al., 2019; Sawyerr et al., 2019).

Na fase de acidogênese, também chamada de fermentação, ocorre o metabolismo intermediário do substrato. As enzimas de bactérias acidogênicas catalisam a conversão dos produtos da hidrólise em ácidos graxos voláteis e biomassa (Rabii et al., 2019; Chowdhury, 2021). Nesta etapa, uma grande quantidade de hidrogênio (H_2) é produzida, sendo considerada a fase que mais gera energia em virtude da rápida conversão do substrato orgânico em subprodutos. Além disso, as bactérias acidogênicas têm um baixo tempo mínimo de geração. Assim, a acidogênese só se torna limitante durante a digestão se o substrato não for devidamente hidrolisado (Chernicharo, 2016).

Na etapa de acetogênese, ácidos graxos voláteis são convertidos em ácido acético, dióxido de carbono e hidrogênio, que são utilizados na fase final de metanogênese por arqueias metanogênicas (Chowdhury, 2021). O excesso de hidrogênio pode inibir as bactérias acetogênicas, portanto, é importante que atuem em sintrofia com arqueias metanogênicas hidrogenotróficas. Na metanogênese, os microrganismos consomem o hidrogênio da acetogênese, reduzindo sua pressão parcial e convertendo o acetato em metano, dióxido de carbono e água (Chernicharo, 2016; Ziemiński e Frac, 2012; Bajpai, 2017; Meegoda et al., 2018).

Na última etapa, a metanogênese pode ocorrer por diferentes vias, dependendo dos substratos disponíveis. Na metanogênese acetoclástica, o metano é produzido a partir do acetato. Na metanogênese hidrogenotrófica, o metano é gerado a partir de hidrogênio e dióxido de carbono (Majd et al., 2017). A microbiota presente nesta fase mantém o equilíbrio da digestão ao consumir hidrogênio, sendo responsável pela produção de gás metano. No entanto, a presença de sulfato nas águas residuárias pode promover outra etapa da digestão anaeróbia, chamada sulfetogênese (Chernicharo, 2016).

Alguns resíduos orgânicos contêm proteínas e aminoácidos com enxofre, levando à ocorrência de sulfetogênese. Nesse processo, o sulfato é reduzido a sulfeto de hidrogênio por bactérias redutoras de sulfato, competindo com os metanogênicos pelo uso de hidrogênio e ácido acético. A eliminação do sulfeto de hidrogênio é necessária para aumentar a produção de metano (Choudhury e Lansing, 2020; Tian et al., 2020).

3.5.2. Microbiologia dos reatores anaeróbios

A digestão anaeróbia é um ecossistema complexo, composto por arqueias e vários grupos de bactérias que colaboram nos processos bioquímicos para a produção de biogás. Compreender a estrutura das comunidades microbianas e as rotas metabólicas é importante para entender suas funções e capacidades metabólicas, mas essa tarefa é desafiadora devido à complexidade do ecossistema e à necessidade de técnicas moleculares avançadas (Zamanzadeh et al., 2016; Menzel et al., 2020; Liu et al., 2021).

Nos primeiros estágios da digestão anaeróbia, predominam microrganismos dos filos Firmicutes e Actinobacteriota, capazes de metabolizar uma variedade de substratos complexos como proteínas, lipídios, lignina, celulose, açúcares e aminoácidos, utilizando enzimas extracelulares (Greses et al., 2017; Menzel et al., 2020). Mudanças nas condições e substratos podem promover o enriquecimento de diversos microrganismos (Li et al., 2017; Castellano-Hinojosa et al., 2018).

Durante a acidogênese, alguns microrganismos produtores de ácidos, como os do filo Bacteroidota, envolvidos no processo de hidrólise e acidogênese (Dias et al., 2016), assim como os filos Firmicutes, Proteobacteria, Chloroflexi e Actinobacteriota (Leng et al., 2018; Menzel et al., 2020). A proporção adequada entre comunidades fermentativas e metanogênicas é essencial para evitar o acúmulo de ácidos (Guo et al., 2014). Os produtos da acidogênese são utilizados na acetogênese e metanogênese (Chernicharo, 2016).

As bactérias acetogênicas sintróficas, fornecem acetato para organismos metanogênicos acetoclásticos na produção de energia, ou armazenando acetato no citosol sob demanda (Wolfe, 2005).

Em condições mesofílicas, Bacteroidota e Proteobacteria sintróficas são predominantes (O'Reilly et al., 2010), mas a longo prazo são substituídas por arqueobactérias metanogênicas acetoclásticas da família Methanosarcinaceae, incluindo membros das ordens Methanobacteriales, Methanococcales e Methanosarcinales (Oh et al., 2018).

Na fase metanogênica, arqueias do gênero *Methanosaeta* são predominantes em condições mesofílicas, preferindo alcalinidades elevadas e altas relações C:N (Guo et al., 2014). A *Methanosarcina* cresce em agregados irregulares, sendo mais tolerante a compostos iônicos tóxicos, produzindo metano a partir de diversos substratos por rotas acetoclásticas e hidrogenotróficas (Guo et al., 2014). Caso haja presença de sulfato nas águas residuárias, pode ser promovida outra etapa da digestão anaeróbia, conhecida como sulfetogênese. Entre as bactérias redutoras de sulfato, destacam-se os gêneros *Desulfovibrio*, *Desulfobacter* e *Desulfomicrobium* (Chernicharo, 2016; Liu et al., 1999).

Portanto, a compreensão da diversidade da microbiota atuante nos reatores anaeróbios e de suas funções é fundamental para o aprimoramento do desempenho dos sistemas de digestão anaeróbia. O uso de técnicas de biologia molecular permite um conhecimento mais detalhado da taxonomia dos microrganismos e suas rotas metabólicas. Este conhecimento pode explicar de forma mais eficaz os resultados observados no desempenho do sistema de digestão anaeróbia e para otimizar as condições operacionais dos reatores (Paliwal et al., 2012; Sampaio, 2022).

3.5.3. Digestão anaeróbia do melaço de cana-de-açúcar

Embora o melaço seja comumente utilizado na produção de álcool em virtude à sua acessibilidade econômica, estudos recentes têm destacado a digestão anaeróbia desse substrato como uma estratégia promissora para reduzir o

considerável volume de resíduos gerados na indústria sucroenergética, devido sua fácil degradação por microrganismos. Além disso, essa abordagem visa aumentar a geração de energia, minimizando impactos ambientais e otimizando o uso de recursos hídricos (Meng et al., 2017).

Santana Junior et al. (2019) observaram que o melaço representa uma significativa fonte de carbono para a produção de energia em reatores UASB termofílicos ($18,01 \text{ MJ L}^{-1}$ de melaço), em comparação com a fermentação alcoólica ($8,30 \text{ MJ L}^{-1}$ de melaço). Portanto, a utilização do melaço de cana-de-açúcar surge como uma alternativa interessante para manter o reator anaeróbico em operação eficiente, promovendo a produção de biogás (Vilela et al., 2019; Barbosa et al., 2022).

Diversas pesquisas têm sido conduzidas com o propósito de aprimorar a viabilidade do tratamento anaeróbico, visando aperfeiçoar a eficácia na conversão anaeróbia por meio da implementação de reatores em dois estágios. Segundo Meng et al. (2017), a utilização de reatores em série tem se destacado como uma abordagem relevante no tratamento anaeróbico de substratos com elevada concentração de matéria orgânica, como os substratos utilizados neste estudo.

Estudos anteriores mostram que é possível uma boa produção de metano a partir do melaço de cana-de-açúcar utilizando reatores UASB, de $0,08$ a $3,1 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ (Barros, Duda e Oliveira, 2016; Santana Junior et al., 2019; Barbosa et al., 2020).

3.6. Reatores UASB em série

O reator UASB é considerada uma biotecnologia para aplicações de digestão anaeróbia mais eficaz, tendo recebido considerável atenção na pesquisa ao longo das últimas décadas (Wu et al., 2018). De acordo com Chernicharo (2016), o perfil de sólidos no reator varia de muito denso e com partículas granuladas de elevada capacidade de sedimentação, na parte mais inferior (leito de lodo), até a um lodo mais disperso e leve, próximo ao topo (manta de lodo), conforme ilustrado na Figura 3.

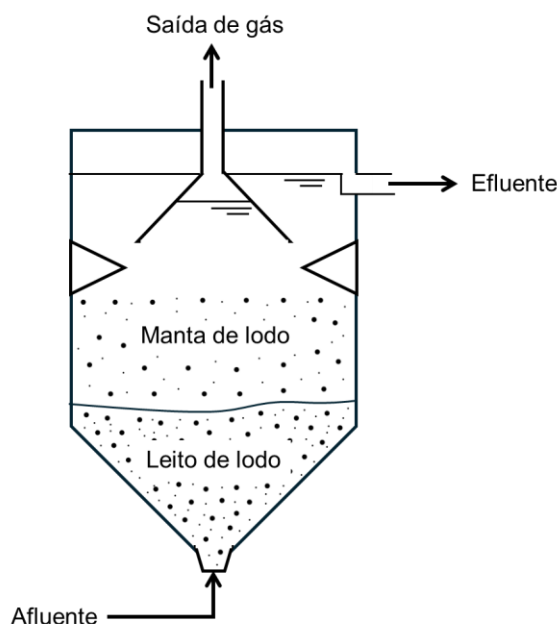


Figura 3. Representação esquemática de um reator UASB (adaptado de Chernicharo, 2016).

A crescente adoção desse reator pode ser atribuída a uma série de vantagens, tais como a exigência de espaço físico reduzido, baixo custo operacional e de manutenção, projeto simplificado, baixa produção de lodo e eficiência comprovada no tratamento de diversas águas residuárias (Daud et al., 2018).

Especificamente, o reator UASB é classificado como um tipo de reator anaeróbio de alta taxa, amplamente utilizado, capaz de manter longos tempos de retenção de sólidos e elevada concentração de biomassa microbiana. Contudo, é relevante destacar que parâmetros operacionais têm demonstrado influenciar significativamente a comunidade microbiana e o desempenho do reator, enfatizando a importância de manter condições operacionais adequadas para assegurar o funcionamento eficiente do sistema (Panigrahi e Dubey, 2019).

No sentido de otimizar a eficiência na remoção da matéria orgânica, a utilização de reatores anaeróbios em dois estágios ou em série no tratamento de águas residuárias tem se destacado como prática relevante (Barros et al., 2017). De acordo com Fuess et al. (2017), a digestão anaeróbia em sistema de dois

estágios demonstra ser mais eficiente quando comparada à digestão anaeróbia em sistema único. Um sistema de dois estágios pode evitar a acidificação em altos níveis de carga orgânica, uma vez que o alto teor de açúcar do melaço exige estratégias operacionais específicas (Oliveira et al., 2020).

Ressalta-se que os reatores UASB em série não apenas apresentam melhor desempenho na remoção de material orgânico, mas também proporcionam uma maior produção de metano, estabilidade em resíduos com elevadas concentrações de matéria orgânica e propiciam a seleção e o enriquecimento de grupos microbianos específicos em reatores distintos (Barros et al., 2017; Oliveira et al., 2020).

A presença de substâncias tóxicas, que têm potencial para inibir o processo anaeróbio, é também atenuada nesse arranjo específico. Essa configuração permite a produção elevada de metano no primeiro reator, enquanto o segundo reator atua promovendo um polimento do efluente do primeiro reator, resultando em melhorias na conversão da demanda química de oxigênio total, produção de metano e aumento da alcalinidade no efluente final (Han et al., 2016; Barros et al., 2017; Santana Junior et al., 2019).

Nesse contexto, o uso de alcalinizantes químicos e/ou técnicas de recirculação de efluentes tem sido adotado para elevar o pH e a capacidade de tamponamento do processo (Van Haandel et al., 2014; Janke et al., 2016; Barros et al., 2017).

3.6.1. Recirculação do efluente

Os reatores anaeróbios requerem alcalinidade suficiente para manter um ambiente ótimo para metanogênios, em que o pH ideal está entre 7,0 e 8,0. Abaixo dessa faixa, pode ocorrer a inibição das arqueias produtoras de metano (Chernicharo, 2016). No entanto, o custo dos produtos químicos alcalinos é um fator importante a ser considerado, assim como a adição de outros produtos químicos (Raketh et al., 2023; Barros et al., 2017).

Uma das estratégias para superar essas limitações é a recirculação de efluentes provenientes do processo de digestão anaeróbia. Este processo pode ajudar a neutralizar o pH ao diluir o afluente alimentado no reator, melhorando a transformação em virtude à capacidade de tamponamento do sistema (Raketh et al., 2023; Barros, Duda e Oliveira, 2016). Outra vantagem da recirculação é a diluição do substrato, ajustando as cargas orgânicas volumétricas e evitando o consumo de água limpa (Nunes, 2022).

A recirculação do efluente também contribui para aumentar as concentrações de nitrogênio amoniacal a níveis benéficos para a digestão anaeróbia (Santana Junior et al., 2019), além de aproveitar outros nutrientes essenciais para o desempenho do processo (Barros et al., 2017; Villa-Montoya; Ferro; de Oliveira, 2017). Estudos realizados por Barros et al. (2017), Santana Junior et al. (2019) e Lima et al. (2023) demonstraram que a recirculação do efluente melhoram o desempenho dos reatores, potencializando a produção de biogás.

Entretanto, a recirculação por longos períodos pode reduzir a produção de metano em função do acúmulo de material recalcitrante no sistema (Santana Junior et al., 2019; Lima et al., 2023). Além disso, o alto teor de açúcares do melaço, que é facilmente degradável pelos microrganismos, torna os reatores propensos à acidificação em virtude do acúmulo de ácidos (Oliveira et al., 2020).

3.7. Biochar na digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia mantém sua estabilidade graças à interação cooperativa dos microrganismos e ao equilíbrio entre suas diversas etapas. No entanto, esses microrganismos são vulneráveis a condições adversas, como altas cargas orgânicas ou presença de inibidores, que podem desestabilizar o processo, reduzindo tanto a eficiência na remoção de matéria orgânica quanto a produção de metano (Chernicharo, 2016; Huang et al., 2022). Nesse contexto, o biochar emerge como uma solução eficaz, contribuindo para estabilizar sistemas de digestão anaeróbia ao aumentar o efeito tampão, reduzir compostos inibidores e catalisar a

conversão de resíduos sólidos orgânicos em bioenergia, elevando o rendimento de metano (Pan et al., 2019; Ganguly et al., 2020; He et al., 2022), conforme observado na Figura 4.

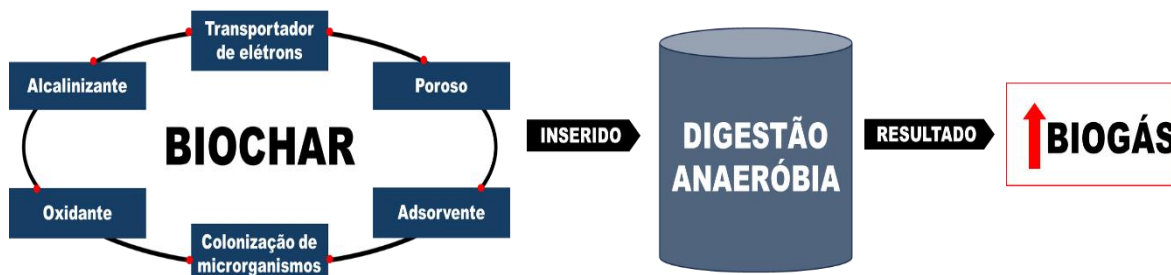


Figura 4. Benefícios do uso do biochar na digestão anaeróbia (adaptado de Deng et al., 2022).

Uma das principais vantagens do biochar está em sua capacidade de adsorver contaminantes, como amônia, sulfeto e metais pesados, que afetam negativamente a metanogênese. Esses inibidores são removidos por meio de processos como precipitação, atração eletrostática ou troca iônica, o que reduz sua biodisponibilidade e mobilidade no sistema (Chen et al., 2023; Shao et al., 2022). Além disso, o biochar apresenta propriedades que promovem melhorias na composição do biogás. Sua porosidade e ampla área superficial permitem a adsorção química de dióxido de carbono, enquanto sua alcalinidade e grupos funcionais facilitam a conversão de CO_2 em metano por arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (Ambaye et al., 2021).

A integração entre digestão anaeróbia e pirólise de biomassa tem ganhado atenção como uma abordagem sustentável para produção de bioenergia e manejo de resíduos. A torta de filtro, rica em carbono e amplamente disponível como subproduto da indústria sucroalcooleira, é um material promissor para a produção de biochar via pirólise lenta, podendo ser utilizada para potencializar a produção de metano em biodigestores (Bernardino et al., 2018). Dessa forma, a pirólise não apenas valoriza subprodutos agroindustriais, mas também contribui para a sustentabilidade ao fomentar a economia circular e reduzir o desperdício.

Para garantir a estabilidade de sistemas de digestão anaeróbia diante de desafios como alta carga orgânica ou acúmulo de ácidos graxos voláteis, o biochar

tem se mostrado uma ferramenta eficaz (Huang et al., 2022; Liu et al., 2021). Seus grupos funcionais de superfície e propriedades eletroquímicas favorecem a atividade microbiana e a eficiência do processo. Contudo, tais características variam de acordo com a matéria-prima utilizada, o método de produção, a temperatura e o tempo de residência durante a pirólise (Qiu et al., 2019; Zhang et al., 2018; Deng et al., 2021a).

Estudos experimentais reforçam esses benefícios. Ma et al. (2020) demonstraram que o biochar de casca de arroz foi capaz de atenuar a queda de pH em condições de alta carga orgânica, reduzir a concentração de ácidos graxos voláteis e aumentar em 25% a taxa máxima de produção de metano na digestão anaeróbia de sorgo sacarino. Deng et al. (2022) observaram resultados semelhantes ao usar biochar de sabugo de milho sob condições de enriquecimento de amônio, mitigando o acúmulo de ácidos graxos voláteis, acelerando a degradação de propionato e superando barreiras termodinâmicas, o que resultou em maior produção de metano. Sun et al. (2022) corroboraram esses achados ao aplicar biochar de palha de milho em biodigestores de resíduos alimentares, reportando aumento na eficiência do processo.

Além disso, o biochar atua como transportador de elétrons, facilitando reações redox e estimulando o metabolismo microbiano. Light et al. (2018) destacaram que a reatividade química do biochar, associada a grupos funcionais redox-ativos, permite a transferência de elétrons de microrganismos para receptores extracelulares, intensificando a atividade metabólica.

Nesse contexto, o biochar desempenha múltiplos papéis na digestão anaeróbia. Ele não apenas melhora a estabilidade e eficiência do sistema, mas também potencializa a produção de metano e valoriza resíduos como a torta de filtro, (Kumar et al., 2021; Shen et al., 2015; Chen et al., 2023; Bernardino et al., 2018). Assim, sua aplicação representa um avanço significativo em direção à sustentabilidade e à produção de bioenergia renovável.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local do experimento e instalações experimentais

O trabalho foi desenvolvido nas instalações experimentais do Laboratório de Saneamento Ambiental, do Departamento de Engenharia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal, da Universidade Estadual Paulista – UNESP, nas coordenadas 21° 15' 22" S; 48° 18' 58" W e altitude de 575 m.

A unidade experimental consistiu de dois reatores UASB instalados em série (R1 e R2), com volumes de 12,1 L e 5,6 L, respectivamente, com tanques de armazenamento de afluentes e efluentes, bomba de diafragma e gasômetros de fibra de vidro, em câmara climatizada (Figura 5). Os reatores foram construídos com tubos rígidos de policloreto de vinila (PVC), com separadores de fase em forma de “Y”, em um ângulo de 45° em relação à vertical (Cavalcanti et al., 1999) adaptado por Bruno e Oliveira (2013) e Villa-Montoya; Ferro; De Oliveira (2017). As temperaturas dos reatores UASB foram mantidas na faixa mesofílica (30 – 35°C) em câmaras climatizadas com controle de temperatura.

Os reatores UASB, R1 e R2, possuíam cinco pontos de coleta de lodo (P1, P2, P3, P4 e P5), distribuídos ao longo de suas respectivas alturas, com distanciamento de 25 cm entre os pontos. A alimentação do afluente nos reatores UASB foi realizada por meio de bomba diafragma. Foram instalados gasômetros, acoplados às saídas de gás dos reatores UASB por meio dos quais foi efetuado o monitoramento da produção de biogás.

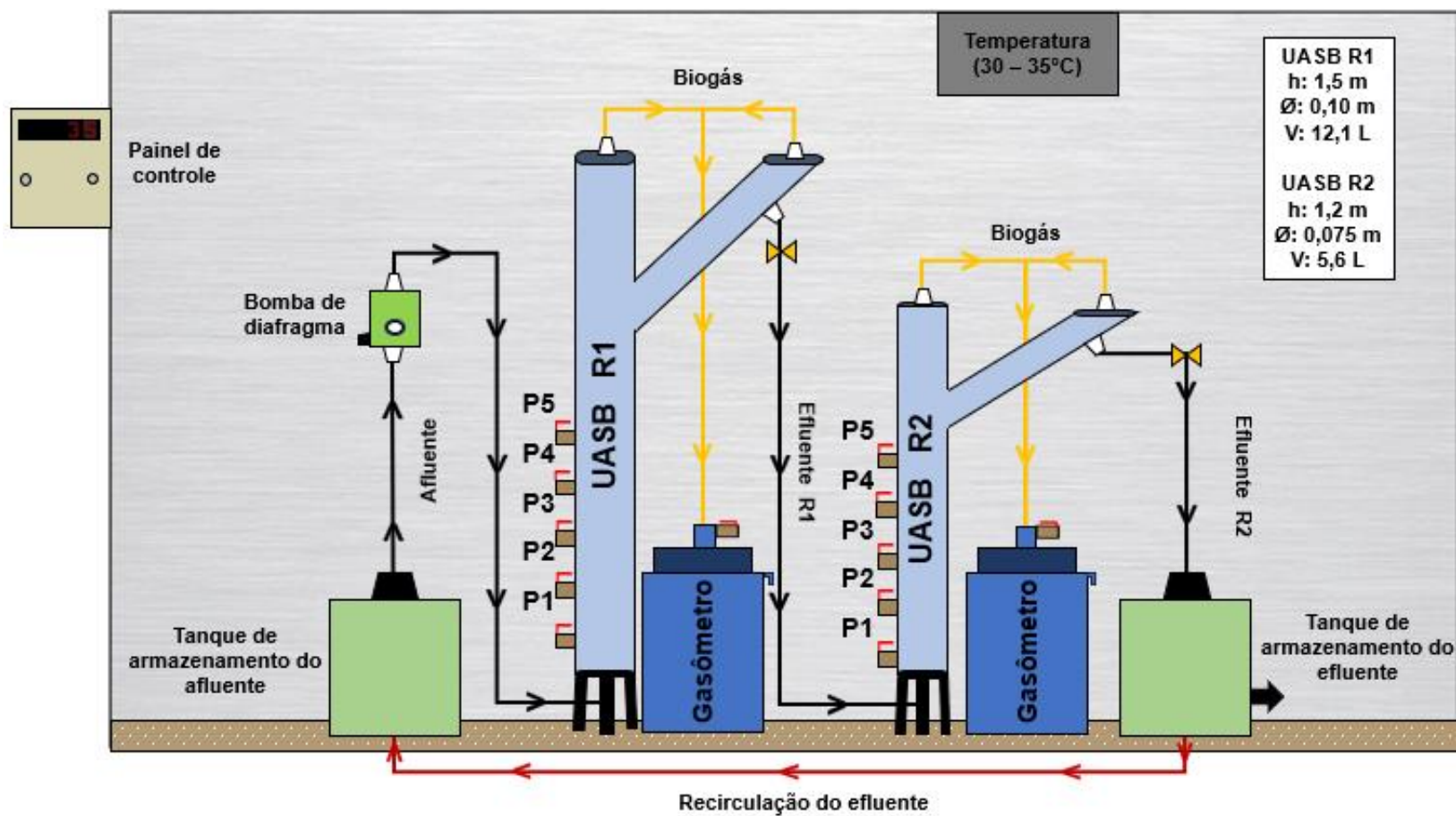


Figura 5. Representação esquemática das instalações compostas pelos reatores UASB em série, tanque de armazenagem de afluente e efluentes, gasômetros, bomba diafragma e câmara climatizada para a manutenção da temperatura.

4.2. Lodo de inóculo

Para a partida dos reatores UASB, foi utilizado como inóculo, o lodo granulado proveniente de um reator UASB mesofílico em série, utilizado no tratamento da vinhaça. O inóculo possuía concentrações de ST de 46,92 g L⁻¹ e SV de 28,52 g L⁻¹. O volume de lodo adicionado foi calculado para atender à taxa de carregamento orgânico no lodo de 0,05 kg DQO_{total}/kg SSV.d, conforme preconizado por Chernicharo (2016) e correspondeu a aproximadamente 30% do volume total dos reatores UASB.

4.3. Afluente: utilização do melaço e torta de filtro de cana-de-açúcar

O melaço e a torta de filtro foram obtidos de unidades sucroenergéticas na região de Ribeirão Preto, São Paulo. O valor médio de pH do melaço foi de 5,4. Já os valores de DQO_{total}, NK, P-total e Sulfato foram de 1072; 13,1; 6,2 e 11 g L⁻¹, respectivamente. A caracterização da torta de filtro revelou a presença de macro e micronutrientes, conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 3. Caracterização da torta de filtro.

Parâmetros	Unidade	Torta de filtro
pH	-	6,2
C/N	-	20
C-orgânico total		341
N-total		17
P-total		16
Ca	g kg ⁻¹	301,4
Mg		81,2
K		20
S		17
B		11,5
Cu		78,6
Fe	mg L ⁻¹	892
Mn		275,3
Zn		547,9

O melaço foi coletado após a etapa de centrifugação no processo de produção de açúcar, nas tubulações do setor açucareiro e armazenado em galões. A torta de filtro foi coletada durante o carregamento do caminhão para transporte à área de compostagem. Inicialmente úmida, a torta foi seca naturalmente ao ar livre antes de ser armazenada em tambores para posterior utilização.

4.4. Condições operacionais

O sistema de tratamento, composto pelos reatores UASB em série (R1 e R2), foi operado continuamente ao longo de 630 dias na faixa de temperatura mesofílica, mantendo-se os reatores em câmara com temperatura controlada entre 30 e 35°C, utilizando aquecedores elétricos e termostato. O experimento foi dividido em cinco fases de operação (I, II, III, IV e V), definidas pelo aumento progressivo da carga orgânica volumétrica. Após cada incremento, esperava-se que o sistema atingisse um coeficiente de variação reduzido ($\pm 10\%$) em um período médio de 10 dias. Apenas após essa estabilização foi realizada a transição para a fase seguinte, garantindo a consistência e estabilidade operacional do sistema (Figura 6).

A COV aplicada foi aumentada gradualmente ao longo do experimento para promover a adaptação do lodo inóculo e para avaliar a estabilidade do sistema. Os valores de COV no R1 e R2 foram calculados utilizando a razão entre a DQO_{total} do afluente e o TDH, dos respectivos reatores. O TDH foi mantido constante, em 22,3 horas no R1 e 10,3 horas no R2 em todas as fases.

A torta de filtro foi utilizada para suplementar nitrogênio e fósforo, foi realizada seguindo a relação DQO:N de 350:5:1 recomendada por Chernicharo (2016) para digestão anaeróbia no tratamento de esgoto sanitário. A quantidade de torta de filtro foi ajustada conforme necessário ao longo das diferentes fases do experimento (Figura 6).

Para preparar o afluente na partida dos reatores, foram adicionados em um recipiente 25 ml de melaço e 20g torta de filtro, deixados em repouso por 24 horas em aproximadamente 500 ml do efluente do R2 ou água, dependendo da estabilidade do sistema. Após esse período, a mistura foi peneirada em uma malha

de 2 mm e filtrada em tecido de algodão para remover as fibras presentes na torta de filtro, evitando entupimentos na bomba e nas tubulações. Em seguida, o volume do afluente foi completado com o efluente recirculado do R2, exceto em períodos de instabilidade, quando foi utilizado água e hidróxido de cálcio (56 g L^{-1}) até o pH 7,5 (Figura 6).

Foi realizada a recirculação do efluente proveniente do reator R2 para aproveitar a alcalinidade, os nutrientes e obter as COVs necessárias para o experimento. Este procedimento também visou economizar água na diluição do melaço.

A taxa de recirculação foi calculada, de acordo com estudo de Zuo et al. (2013), e descrito na Equação 1.

$$RR = \frac{Q_e}{Q_f} \quad (1)$$

Onde:

RR: Taxa de recirculação;

Q_e : Volume de efluente recirculado (m^3);

Q_f : Volume do afluente (m^3).

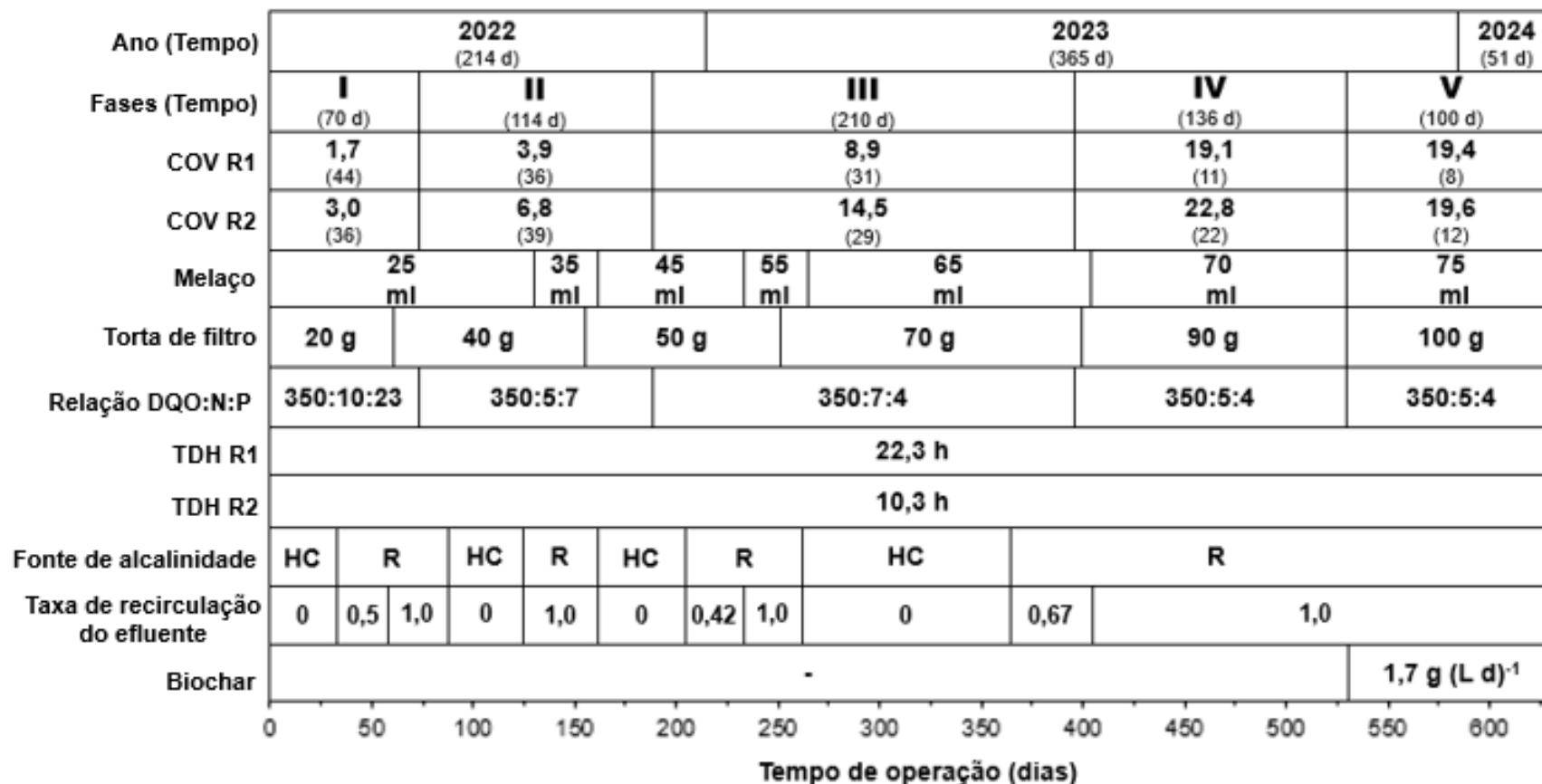


Figura 6. Diagrama esquemático do período e condições operacionais dos reatores UASB em série (R1 e R2) no tratamento anaeróbico do melaço; carga orgânica volumétrica (COV) em g DQO_{total} (L d)⁻¹ e coeficiente de variação (%); torta de filtro como fontes de nutrientes para suplementação de N e P, atendendo a relação DQO:N:P; tempo de detenção hidráulico (TDH) em horas (h); fonte de alcalinidade com hidróxido de cálcio (HC) e recirculado (R); taxa de recirculação do efluente, nas fases I a V, com adição de biochar de torta de filtro na fase final.

4.5. Estratégias para estabilidade e controle de parâmetros operacionais em sistema UASB

Instabilidades no sistema foram observadas em alguns períodos da fase II e III em virtude do aumento da COV, elevando principalmente a concentração de AVT. Para evitar o colapso do processo, implementou-se uma estratégia de controle que envolveu a suspensão temporária da recirculação do efluente, substituindo-o por água. A correção do pH foi realizada com a adição de hidróxido de cálcio, ajustando para um valor de 7,5. A retirada e o retorno da recirculação foram conduzidos de forma estratégica, baseando-se na análise dos parâmetros de alcalinidade e concentração de ácidos, principalmente do efluente do R2, permitindo garantir a recuperação do sistema, evitando a acidificação.

4.6. Biochar de torta de filtro

O biochar produzido a partir da torta de filtro remanescente do peneiramento do preparo do afluente para adição ao sistema de digestão anaeróbia, foi realizado visando estabilidade e melhoria do desempenho do sistema. A torta de filtro foi inicialmente seca ao sol para a retirada do excesso de umidade. Posteriormente, o biochar foi produzido por pirólise lenta em forno mufla a 450 °C por 2 h em uma mufla adaptada (Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), realizado em um suporte metálico moldado com vedação por rosca para evitar a entrada de oxigênio. Após a pirólise, o biochar foi triturado, transformado em pó e peneirado em uma malha de 0,5 mm, sendo armazenado em frasco à temperatura ambiente (Figura 7).

O biochar da torta de filtro foi caracterizado quanto ao pH e à condutividade elétrica, seguindo a metodologia proposta por Rajkovich et al. (2011), que consiste em adicionar 20 mL de água deionizada em 1 g de biochar. A mistura foi agitada em mesa agitadora orbital por 1,5 h. Após a agitação, usou um pHmetro para determinar o pH das amostras. Posteriormente as amostras foram deixadas em

repouso por aproximadamente 12 h, para a determinação da condutividade. Foram observados valores de pH de 8,8 e condutividade elétrica de 637 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Também foi determinado o rendimento gravimétrico em base seca do material, dado pela relação entre a massa do biochar produzido e a massa da torta de filtro seca, multiplicada por cem, e o valor observado foi de rendimento foi de 52%.

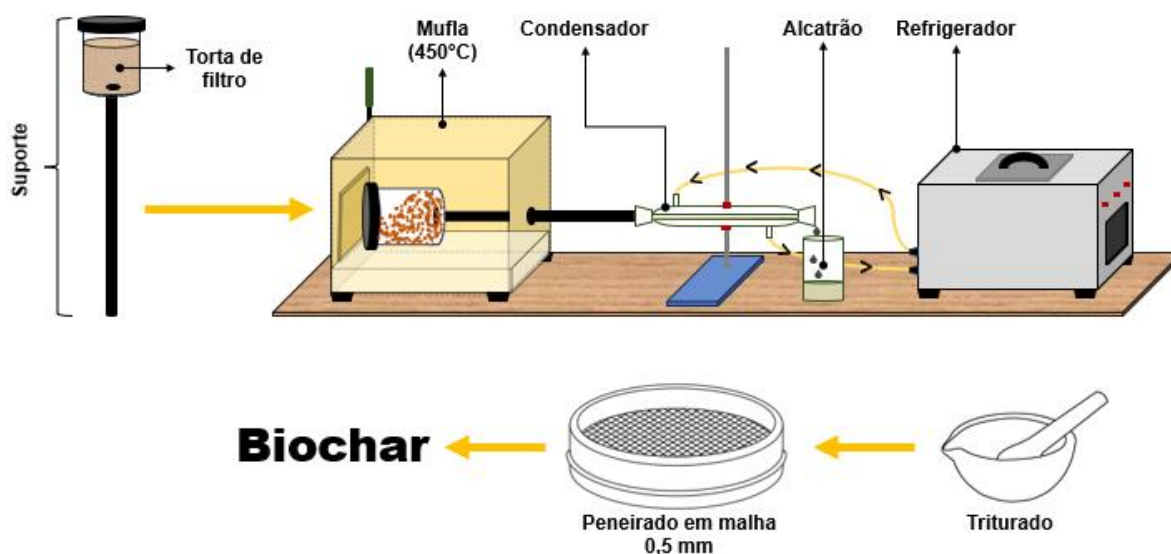


Figura 7. Produção do biochar de torta de filtro pelo processo pirólise.

Aos 530 dias de operação, correspondendo ao início da fase V, iniciou a adição do biochar ao sistema (Figura 5). Baseado no estudo apresentado por Chiappero et al. (2020), foram adicionados diariamente 20 g deste material ao sistema de digestão anaeróbia, representando uma concentração diária de 1,7 g L⁻¹, os quais foram homogeneizados no afluente do R1.

4.7. Microscopia eletrônica por varredura

Para dar início à fase V, as amostras de biochar de torta de filtro foram caracterizadas morfologicamente por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP/FCAV (Figura 8). Para isso, estas foram fixadas em stubs de alumínio, utilizando esmalte incolor acrescido de grafite e recobertas com ouro por meio da técnica de sputtering. Esse procedimento garantiu condutividade elétrica efetiva e permitiu a obtenção de imagens de alta qualidade no microscópio eletrônico de varredura Evo MA-10 Zeiss.

Ao final da fase V, para análise das amostras úmidas contendo lodo e biochar, o material coletado foi fixado em solução de glutaraldeído a 3% em tampão fosfato de sódio 0,1M, por 72 h. Após a fixação, as amostras foram lavadas com o tampão e submetidas à fixação em tetróxido de ósmio a 1% por 12 h. Em seguida, passaram por desidratação gradual em diferentes concentrações alcoólicas (30%, 50%, 70%, 80%, 90% e 100%), seguido pela secagem em ponto crítico. Posteriormente, as amostras foram metalizadas e analisadas de forma similar às de biochar supracitadas.

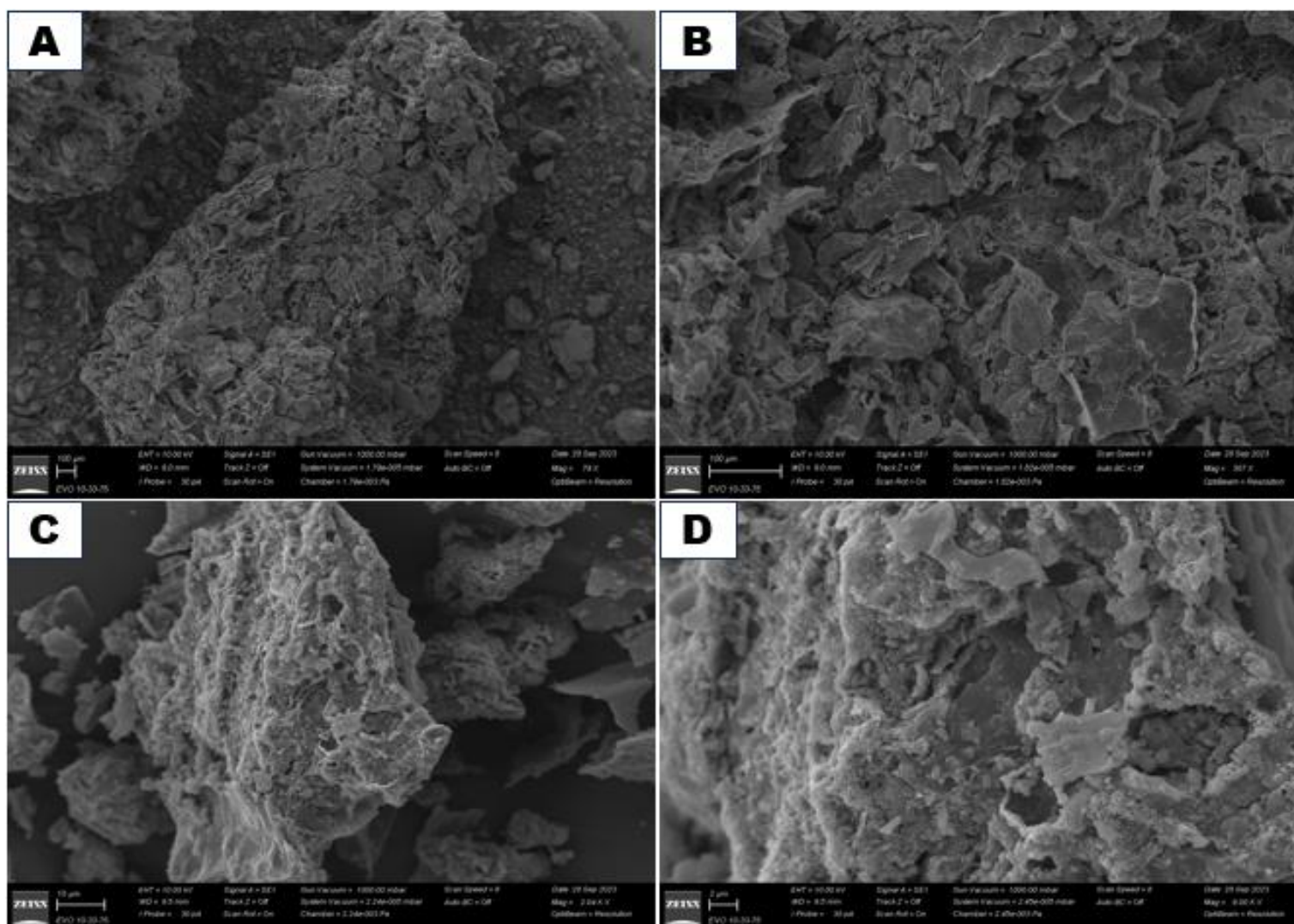


Figura 8. Eletromicrografia do biochar da torta de filtro produzido a 450°C, visualizadas por MEV (Evo 10-33-75–ZEISS), com tensão de aceleração de 10,0 kV e ampliação de 78 x (A), 307 x (B), 2,04 kx (C) e 6 kx (D).

4.8. Frequência de amostragem, análises físico-químicas e determinações de constituintes orgânicos no afluente, efluentes e biogás

O desempenho do sistema foi avaliado por meio de análises físico-químicas realizadas no afluente e nos efluentes, conforme apresentado na Tabela 4. As amostras do afluente e dos efluentes (R1 e R2) foram compostas, coletando amostras a cada hora até atingir um volume aproximado de 500 ml.

O volume de biogás produzido foi monitorado diariamente utilizando gasômetros, seguindo o método descrito por Santana e Oliveira (2005). A composição do biogás foi analisada semanalmente por cromatografia gasosa, conforme o protocolo descrito pela APHA (2005). Os cálculos da produção específica de metano (PEM) e da produção volumétrica de metano (PVM) foram realizados considerando as condições normais de temperatura e pressão (CNTP de 0°C e 1 atm).

A energia elétrica teórica foi calculada segundo a Equação 2, seguindo a metodologia descrita por Kythreotou et al. (2012), sendo consideradas para fins de cálculo as seguintes premissas: eficiência do gerador de energia de 35%, energia de metano de 55,6 MJ kg⁻¹ e densidade de metano de 0,6556 kg m⁻³.

$$E_{EL}(kWh) = (BG (m^3) \times CH_4(\%) \times EF_{GER}(\%) \times \rho_{CH_4}(Kg/m^3) \times \rho_{EN_{CH_4}} (MJ/Kg)) / 3,6 (MJ/kWh) \quad (2)$$

Onde:

E_{EL} = Estimativa de energia elétrica

BG = Biogás total produzido

CH_4 = Porcentagem de metano no biogás

EF_{GER} = Eficiência do gerador

ρ_{CH_4} = Densidade do metano

$\rho_{EN_{CH_4}}$ = Densidade energética do metano

Tabela 4. Exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos realizados no afluente e efluentes do sistema composto pelos reatores UASB em série.

EXAMES E DETERMINAÇÕES	FREQUÊNCIA	REFERÊNCIAS
Afluente e efluentes		
pH	Diariamente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 4500 H ⁺ B)
Demanda química de oxigênio total (DQO _{total})	Duas vezes por semana	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 5220 – B); (16)
Demanda química de oxigênio dissolvida (DQO _{dissolvida})	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 5220 – B); (16)
Alcalinidade total (AT), parcial (AP) e intermediária (AI)	Duas vezes por semana	APHA; AWWA; WPCF, (2005); Jenkins et al. (1983); Repley et al. (1986)
Ácidos voláteis totais (AVT)	Duas vezes por semana	Dilallo e Albertson (1961)
Nitrogênio Kjeldahl (NK)	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005)
Nitrogênio amoniacal	Duas vezes por semana	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método Semi-Micro Kjeldahl)
Fósforo total	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método 4500-P-C)
Sulfato e sulfeto	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005)
Sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF)	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Métodos: 2540 - C e 2540 – E)
Fe, Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, Na, K, Ni e Co	Quinzenalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005)
Lodo		
Sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)	Uma vez por fase	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 2540 – B e 2540 – E)
Biogás		
Produção	Diariamente	Santana e Oliveira (2005) (Método: Gasômetros)
Composição	Quinzenalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: cromatografia gasosa)

4.9. Extração de DNA

As amostras para extração e sequenciamento do DNA genômico foram coletadas do lodo inóculo dos reatores e nos cinco pontos de coleta de lodo distribuídos ao longo dos reatores UASB em série (Figura 5) nos dias 150, 442 e 630 de operação, correspondendo às fases II, IV e V, respectivamente. As amostras de lodo dos pontos de coleta de cada reator foram homogeneizadas para compor amostras representativas dos reatores R1 e R2.

A extração de DNA bacteriano nas amostras foi realizada utilizando o ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research), seguindo as instruções do fabricante. Posteriormente, as amostras de DNA foram imediatamente congeladas em um freezer a -20°C até a análise molecular.

4.9.1. Sequenciamento na plataforma Illumina

A biblioteca foi preparada utilizando primers para amplificação da região V4 do 16S rRNA (~300 pb), com os primers 515F x 806R. Os amplicons bacterianos foram sequenciados na plataforma Illumina (PE 250), resultando em 50 - 100 mil reads de dados brutos por amostra. As sequências dos primers são: 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3').

4.9.2. Análise de dados

Os dados brutos foram fornecidos no formato fastq, enquanto a análise de família, filo e gênero foi realizada em formato txt. A análise no QIIME 2 foi conduzida utilizando o banco de dados Silva 138 para sequências de OTUs com comprimento total de 99% (ASV). Foram realizadas análises de diversidade alfa e beta, incluindo métricas como Chao1, ACE, Shannon e Simpson.

As análises de metabolismo foram realizadas utilizando o software PICRUST 2. Após o processamento inicial dos dados no QIIME 2, que incluiu a remoção de leituras de baixa qualidade (Q30), leituras com comprimento insatisfatório e utopias,

as leituras limpas foram utilizadas na definição do ASV.

Para a atribuição taxonômica, as unidades taxonômicas operacionais (OTUs) foram agrupadas por leituras de cluster com 99% de similaridade. A taxonomia foi então atribuída às OTUs utilizando o banco de dados de referência SILVA 138.

A curva de rarefação foi gerada utilizando o QIIME, e a diversidade alfa foi calculada aplicando diferentes métricas, incluindo os índices de Shannon, Simpson, Fisher, Chao1 e ACE, que representam tanto a diversidade quanto a riqueza de espécies presentes nas amostras.

4.9.3. Predição de função bacteriana

O perfil funcional preditivo das comunidades bacterianas foi identificado pelo Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States 2 (PICRUST2, versão 2.4.2). As OTUs bacterianas exportadas do QIIME2 em formato padrão foram importadas para o PICRUST2. A análise exploratória dos dados genômicos foi realizada em Python (versão 3.7).

4.10. Análise estatística

Para a codigestão anaeróbia do melaço e torta de filtro, foi adotado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco tratamentos, correspondendo às fases de operação (I, II, III, IV e V), com repetições ao longo do tempo. Os valores obtidos das variáveis monitoradas foram submetidos à análise de variância, aplicando o teste F. Para a comparação das médias, foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o software Sisvar.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Parâmetros físico-químicos: COV, pH, alcalinidade, ácidos voláteis totais e nitrogênio amoniacal

Os valores médios de COV aplicados no R1, aumentaram progressivamente nas fases I, II, III, IV e V de 1,7; 3,9; 8,9; 19,1 e 19,4 g DQO_{total} (L d)⁻¹, respectivamente (Tabela 5). Esse aumento gradual da COV foi implementado para adaptar o inóculo ao melaço de cana-de-açúcar sem causar distúrbios no sistema. De acordo com Arantes et al. (2017) e Rodrigues, Blasius e Castro (2020), na digestão anaeróbia, cada tipo de inóculo apresenta condições específicas que favorecem a produção de biogás. Na fase V, com a aplicação do biochar no afluente, a COV aplicada no R1, de 19,4 g DQO_{total} (L d)⁻¹ foi estatisticamente similar as aplicadas na fase IV.

Portanto, o período de adaptação é um fator importante no tratamento de diferentes substratos. Durante os períodos de instabilidade, com aumento da concentração de AVT e queda da AP, na fase II e III, a recirculação do efluente do R2 para a diluição do melaço no preparo do afluente foi interrompida. Isso resultou na diminuição das COV (Figura 9), mesmo mantendo o volume de melaço adicionado, contribuindo posteriormente para a estabilidade do sistema.

Os valores de pH no afluente permaneceram entre 5,8 e 8,5 (Figura 9) durante todas as fases do experimento. Nos efluentes, o pH variou entre 5,8 e 9,0 para o reator R1 e entre 5,8 e 9,2 para o reator R2, nas cinco fases do experimento (Figura 9). O aumento gradual do pH do R1 para o R2 ao longo do experimento demonstra a capacidade de tamponamento do sistema, evidenciando que a recirculação do efluente e a utilização do hidróxido de cálcio foram fundamentais para a manutenção do pH. Os valores de pH do efluente do R1 e R2 estão próximos aos valores recomendados por Chernicharo (2016) para a digestão anaeróbia, de 6,0 e 8,0.

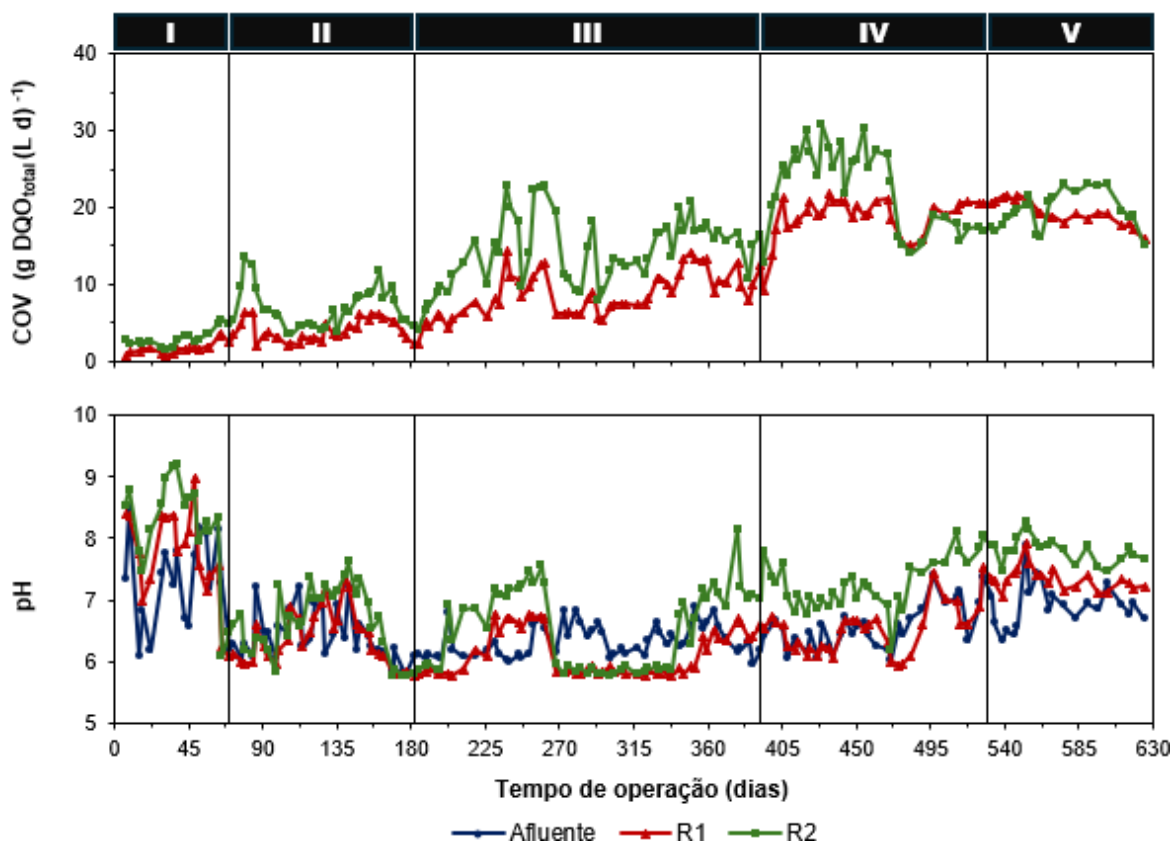


Figura 9. Carga orgânica volumétrica (COV) dos reatores UASB R1 e R2 e pH do afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Além disso, o aumento nos valores de alcalinidade total (AT) e alcalinidade parcial (AP) do afluente para os efluentes dos reatores R1 e R2, durante o experimento reforça a capacidade de tamponamento dos reatores (Figura 10). Isso indica que a configuração dos reatores em série, contribuiu significativamente para o equilíbrio do sistema em virtude da produção de alcalinidade, como também observado por Barros et al. (2017).

Os valores médios de AT e AP diminuíram da fase I para a fase III, com o aumento considerável da COV (Tabela 5). As concentrações médias de AT foram de 1424 para 888 mg CaCO₃ L⁻¹ no R1 e de 1534 para 990 mg CaCO₃ L⁻¹ no R2, da fase I a fase III. Enquanto isso, os valores médios de AP foram de 835 para 212 mg CaCO₃ L⁻¹ no R1 e de 1102 para 375 mg CaCO₃ L⁻¹ no R2, durante o mesmo período. Entretanto, os valores de Al aumentaram de 589 para 676 mg CaCO₃ L⁻¹ no R1 e de 432 para 616 CaCO₃ L⁻¹ nas fases I, II e III (Tabela 5).

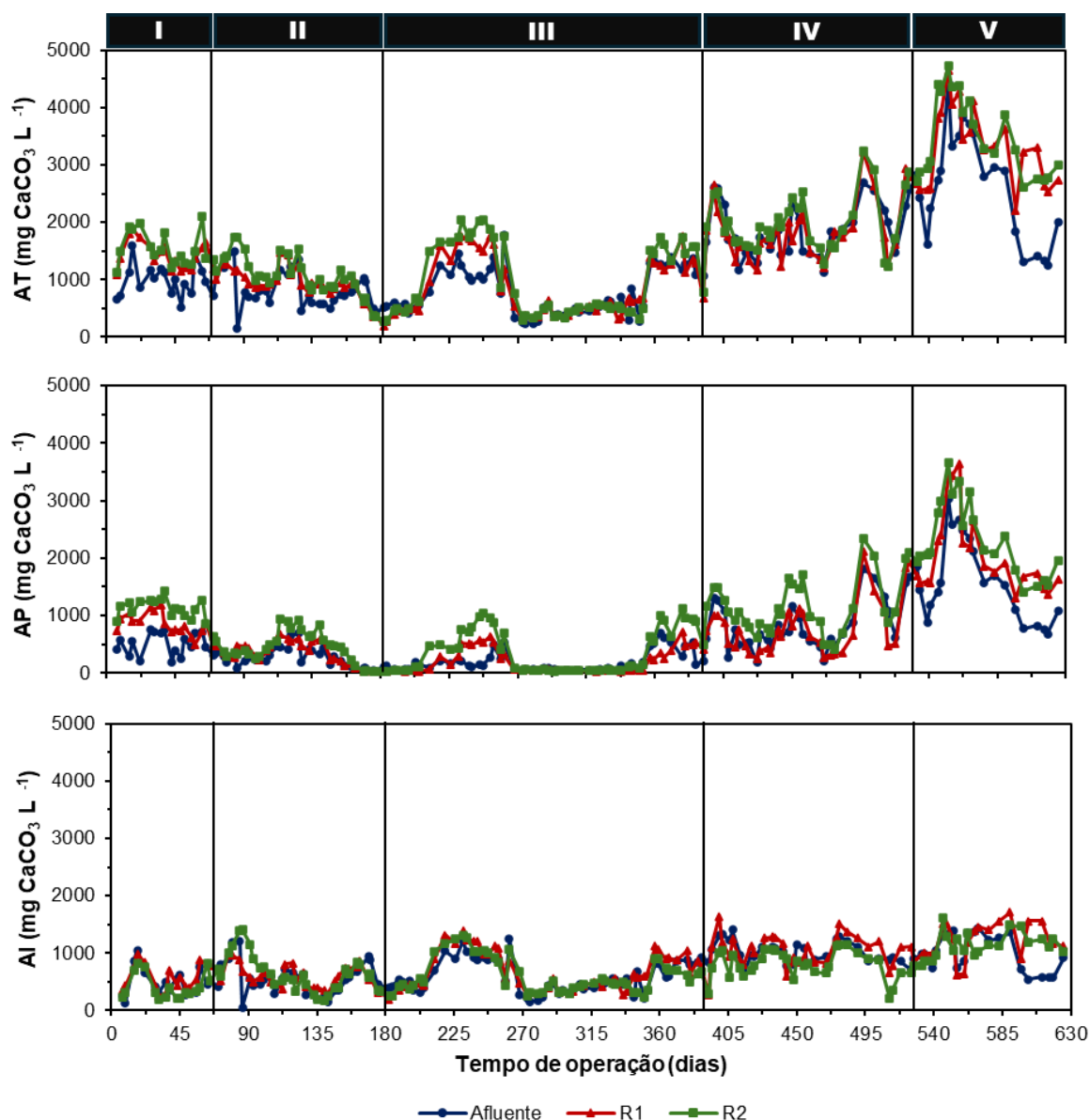


Figura 10. Alcalinidade total (AT), alcalinidade parcial (AP) e alcalinidade intermediária (AI) do afluente e efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

A estratégia de interrupção da recirculação do efluente foi adotada em momentos específicos, especialmente nas fases II e III, como medida de controle e tentativa de restabelecimento da estabilidade do sistema, após a diminuição progressiva de AT e AP, seguida pelo aumento de AI. Assim, a necessidade do uso de hidróxido de cálcio, diminuiu ao longo do experimento e após, 360 dias de operação, apenas a recirculação foi mantida, mesmo com o aumento da COV no R1.

Tabela 5. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da carga orgânica volumétrica (COV), pH, alcalinidade total (AT), parcial (AP) e intermediária (AI) do afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigeringo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d)⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a	25,9	193,3**
COV - R2 (g DQO (L d)⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b	27,9	193,9**
pH	Afluente	7,3 a	6,4 c	6,3 c	6,5 c	6,9 b	6,2	17,2**
	R1	7,7 a	6,3 cd	6,1 d	6,5 c	7,3 b	6,3	52,8**
	R2	8,2 a	6,6 d	6,5 d	7,2 c	7,8 b	7,2	63,0**
AT (mg L⁻¹)	Afluente	986 c	811 c	800 c	1850 b	2617 a	36,2	67,3**
	R1	1424 c	904 d	888 d	1835 b	3291 a	31,7	100,1**
	R2	1534 c	1037 d	990 d	1981 b	3475 a	33,2	106,2**
AP (mg L⁻¹)	Afluente	499 c	263 cd	193 d	835 b	1599 a	59,1	59,3**
	R1	835 b	332 c	212 c	771 b	2067 a	57,6	95,5**
	R2	1102 b	421 c	375 c	1156 b	2327 a	77,0	114,2**
AI (mg L⁻¹)	Afluente	487 b	549 b	606 b	1016 a	1017 a	39,1	22,5**
	R1	589 c	904 b	676 c	1064 ab	1225 a	34,4	22,6**
	R2	432 c	1037 a	616 bc	825 b	1149 a	40,5	26,8**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01).

Nas fases IV e V, observou-se um aumento de AT e AP e um decréscimo de AI nos efluentes dos reatores R1 e R2, indicando que a recirculação nessas fases foi essencial para otimização do sistema (Tabela 5). Além disso, durante a fase V, a aplicação do biochar de torta de filtro em sistema anaeróbio, contribuiu para o aumento da capacidade de tamponamento do sistema. De acordo com Chiappero et al. (2020) o biochar tem a capacidade de promover a transferência direta de elétrons entre espécies, atuando como material condutor e desempenhando capacidade tampão. Esses aspectos foram observados em outros estudos com diferentes tipos de biochar (Wang et al., 2017; Ma et al., 2020).

A proporção da alcalinidade em função dos ácidos orgânicos (AI) sobre a alcalinidade dos bicarbonatos (AP), pode ser uma ferramenta eficiente no monitoramento da digestão anaeróbia. Na fase I, observou-se a menor relação, com 0,2 e 0,1 para o R1 e R2, respectivamente. Já os maiores valores de AI/AP foram registrados na fase II, com aproximadamente 21 e 17, no R1 e R2, respectivamente (Figura 11). Isso ocorreu em virtude do aumento da COV, diminuindo os valores de AP e no aumento nos valores de AI.

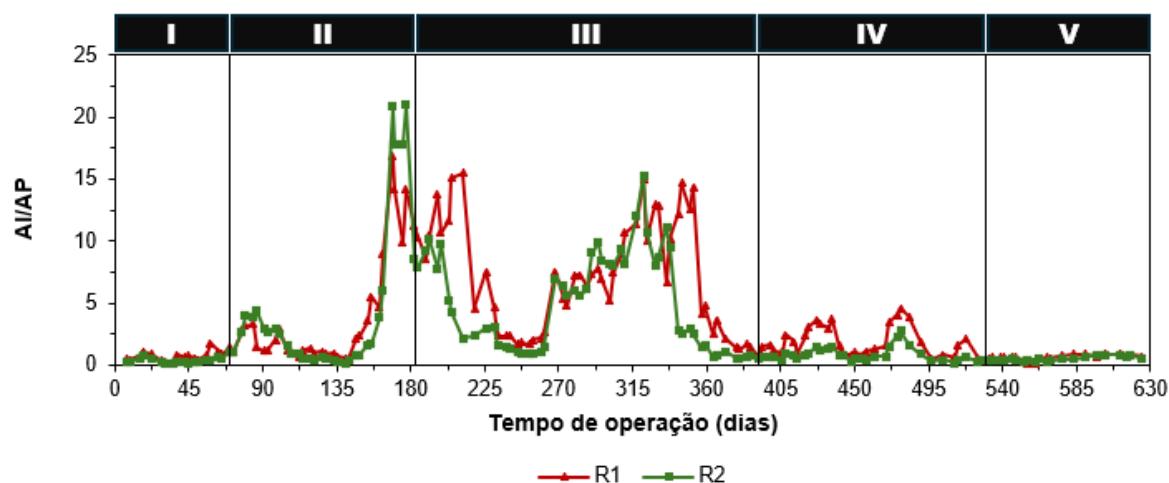


Figura 11. Relação entre a alcalinidade intermediária (AI) e alcalinidade parcial (AP) dos efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerando melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Após sinais de instabilidade evidenciados pela diminuição expressiva da alcalinidade parcial na fase II, optou-se pela recirculação parcial do efluente e posterior suspensão desse uso. Isso resultou na atenuação da relação AI/AP, estratégia que foi repetida na fase III. A retirada do recirculado contribuiu para a restauração da estabilidade do processo anaeróbio, evidenciando a eficácia das medidas de controle implementadas. Nas fases IV, usando recirculado, e na fase V com a adição de biochar, os valores de AI/AP foram mitigados, proporcionando estabilidade e bom desempenho ao sistema.

De acordo com Ripley et al. (1986), valores inferiores a 0,3 são considerados ideais para a digestão anaeróbia de águas residuárias provenientes da avicultura. No entanto, Foresti (1994) e Barros et al., (2017) afirmam que a estabilidade nos processos de digestão anaeróbia pode ser mantida mesmo quando a relação AI/AP é superior a 0,3, como observado neste estudo.

Neste estudo, os valores médios dessa relação variaram de 0,6 a 6,9 no R1 e de 0,4 a 4,9 no R2 durante todo o experimento (Tabela 6). Estudos anteriores também registraram valores superiores, como por exemplo, Barros (2013) e Santana Junior et al. (2019), trabalhando com melaço na entressafra, obtiveram valores médios de 1,7 e 2,7 no R1 e de 1,1 e 1,9 no R2, respectivamente, indicando uma tendência similar de variação nos níveis desse parâmetro ao longo do processo.

Apesar dos valores elevados da relação AI/AP e das oscilações no sistema durante o experimento, observou-se que esses distúrbios foram mitigados com sucesso pela retirada do recirculado e correção do pH do afluente com hidróxido de cálcio.

Os valores da concentração de AVT no afluente foram estatisticamente similares nas fases I, II, III e V ($p < 0,05$) (Tabela 6). Na fase IV foram observados os maiores valores médios de AVT no afluente, de 1568 mg L^{-1} com a aplicação de COV no R1 de $19,1 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$.

Tabela 6. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da relação da alcalinidade intermediária (AI) e parcial (AP), ácidos voláteis totais (AVT), relação de ácidos voláteis totais/alcalinidade total (AVT/AT) e nitrogênio amoniacal (N-am) do afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
AI/AP	R1	0,8 c	4,1 b	6,9 a	1,9 bc	0,6 c	65,4	25,1**
	R2	0,4 b	4,4 a	4,9 a	0,9 b	0,5 b	76,4	15,8**
AVT (mg L ⁻¹)	Afluente	723 b	734 b	824 b	1568 a	776 b	37,9	39,5**
	R1	829 b	915 b	1260 a	1367 a	706 b	33,6	22,9**
	R2	705 c	750 bc	1030 a	971 ab	537 c	38,4	12,2**
AVT/AT	R1	0,6 cd	1,2 b	2,0 a	0,8 bc	0,2 d	53,1	31,1**
	R2	0,5 bc	0,9 b	1,6 a	0,5 bc	0,2 c	59,1	20,6**
N-am (mg L ⁻¹)	Afluente	9,0 c	7,7 c	42,6 b	68,6 a	66,5 a	46,1	50,1**
	R1	12,4 c	6,8 c	49,3 b	66,9 a	68,1 a	49,3	50,6**
	R2	13,8 c	6,9 c	54,1 b	75,5 a	75,9 a	49,4	64,2**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01).

A partir da metade da fase II, notou-se uma diminuição nos níveis de AVT, indicando o estabelecimento de sinergias entre bactérias acidogênicas, acetogênicas e arqueias metanogênicas nos reatores UASB. Na fase II, a partir do dia 125, observou-se um aumento na concentração de AVT, coincidindo com o aumento da COV. Segundo Lima et al. (2023), o aumento nos ácidos, associado ao incremento da COV, pode ter sido causado por sobrecarga orgânica em virtude ao acúmulo de compostos recalcitrantes nos efluentes do sistema, resultante da recirculação contínua, prejudicando a estabilidade dos reatores UASB, especialmente do R1.

De acordo com Zhang et al. (2015), outro fator para o excesso de AVT produzido é a partir de substratos facilmente hidrolisados. O melaço contém pequenas quantidades de açúcares simples, como frutose e glicose (Oliveira et al., 2020), que tendem a ser rapidamente metabolizados na etapa de acidogênese, aumentando a produção de AVT. Estudos como o de Barbosa et al. (2022) corroboram essa tendência, demonstrando maior propensão do melaço à acidificação.

Diante do comprometimento do efluente do R2, no dia 163, foi estrategicamente interrompida a recirculação, substituindo-a por água e corrigindo o pH com hidróxido de cálcio. Como resultado, observou-se a redução das concentrações de ácidos, restabelecendo o equilíbrio do sistema e retomando rapidamente o consumo dos ácidos voláteis totais.

Na fase III, com a retomada da recirculação e o aumento da COV, houve um aumento na concentração de AVT, comprovado pela diminuição dos valores de AP no afluente. O acúmulo contínuo de AVT nos R1 e R2 pode ser atribuído à insuficiência ou falta de aclimação das arqueias metanogênicas às elevadas COV, conforme observado por Barros et al. (2017). Diante dessas intercorrências, foi novamente necessária a retirada do recirculado, do dia 268 ao 364, até a recuperação dos reatores R1 e R2.

Na fase IV, os reatores alcançaram a estabilidade operacional com aumento da AP. A retirada estratégica do recirculado mostrou-se eficaz na recuperação da estabilidade operacional, como evidenciado pelo aumento da AP e a redução dos

AVT no efluente do R2.

Os valores de AVT no R1 e R2, na fase V, com a adição do biochar no afluente, e a aplicação de COV média de $19,4 \text{ gDQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$ no R1, foi similar aos valores observados na fase I ($p < 0,05$), com a aplicação de COV, aproximadamente 10 vezes inferiores (Tabela 6). Isso demonstra que a aplicação do biochar na fase V, contribuiu para o as conversões de AVT.

Na fase V, a adição de biochar resultou na diminuição das concentrações de ácidos, como também observado nos estudos de Ma et al. (2020), usando biochar de casca de arroz, e Deng et al. (2022), usando biochar de sabugo de milho. Segundo Zhu et al. (2023), isso ocorre devido aos numerosos grupos funcionais presentes na superfície do biochar.

Os valores médios da relação AVT/AT variaram de 0,2 a 2,0 no R1 e de 0,2 a 1,6 no R2, demonstrando um aumento proporcional à carga orgânica até a fase III (Figura 12). Entretanto, na fase V, observou-se os menores valores de AVT/AT de 0,2 ($p < 0,05$) indicando a conversão bem-sucedida da COV em metano (Tabela 6).

Segundo Zhao e Viraraghavan (2004), relações AVT/AT acima de 0,8 podem inibir microrganismos metanogênicos, enquanto valores entre 0,3 e 0,4 indicam um sistema instável, e entre 0,1 e 0,2 são considerados adequados. Estudos anteriores, como os de Barros (2013) e Santana Junior (2019), também obtiveram valores médios acima de 0,3 para a relação AVT/AT. Barros (2013) obteve uma relação de 1,1 no R1 e de 0,8 no R2 e Santana Junior et al. (2019) obtiveram valores de 1,9 no R1 e 0,6 no R2, sugerindo, a princípio, instabilidade, mas sem causar o colapso dos reatores, pois a conversão de DQO em metano foi mantida mesmo com valores elevados.

Diante disso, manter uma relação AVT/AT entre 0,3 e 0,4 sem o colapso absoluto do sistema é factível, dependendo do tipo de substrato usado, desde que essa condição seja prontamente identificada e corrigida.

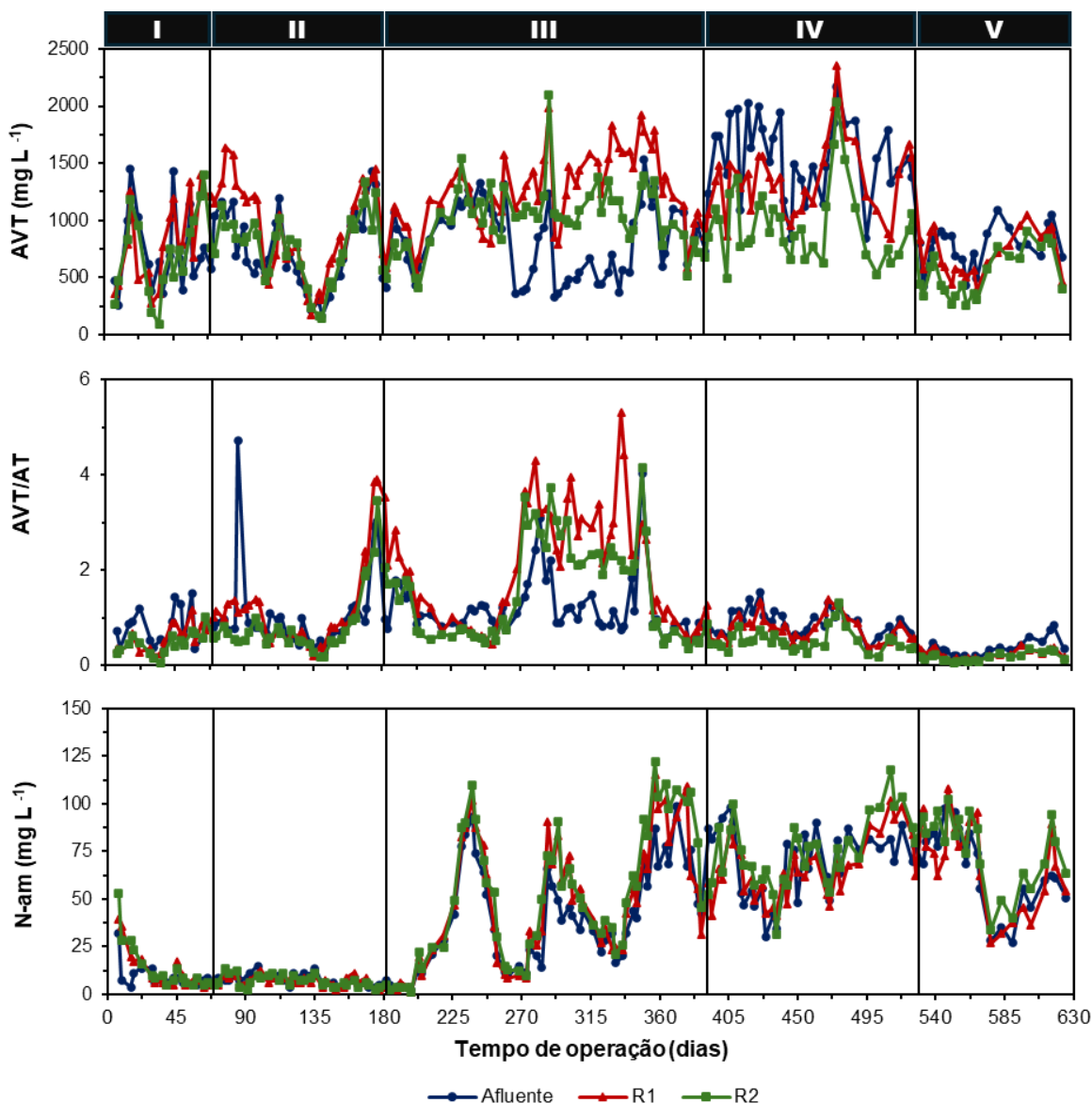


Figura 12. Ácidos voláteis totais (AVT), relação ácidos voláteis totais/Alcalinidade total (AVT/AT) e nitrogênio amoniacal do afluente e dos efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Em relação as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-am) variaram de 2 a 99 mg L⁻¹ no afluente, 1 a 115 mg L⁻¹ no R1 e de 1 a 122 mg L⁻¹ no R2 (Figura 12). Os valores médios em todas as fases se mantiveram abaixo da faixa capaz de causar toxicidade a microbiota metanogênica (Tabela 6), que de acordo com Hejnfelt e Angelidaki (2009) e Rajagopal et al. (2013), geralmente, varia de 1500 a 7000 mg L⁻¹.

O N-am refere-se à forma de nitrogênio na qual o nitrogênio está predominantemente na forma de amônia (NH_3) e íons amônio (NH_4^+). o parâmetro é importante durante a operação de reatores anaeróbios, quando se aplica elevadas COV, pois o N-am é nutriente essencial para a digestão microbiana e, adicionalmente, é um fator importante para melhorar a alcalinidade e manter a estabilidade do sistema (Ariunbaatar et al., 2015).

Durante a fase I a II observou-se os menores valores de N-am (Tabela 6). No entanto no início da III, verificou-se um aumento acentuado de N-am (Figura 12), que pode ser atribuída aumento da COV. É importante destacar que a retirada do recirculado em alguns momentos da fase II e III resultou na diminuição das concentrações de N-am, indicando que a recirculação desempenhava resulta na manutenção da estabilidade nos reatores.

Na fase IV e V, observou-se os maiores valores para o N-am., indicando o aumento da amonificação. De acordo com Leite (2019), o N-am é capaz de gerar alcalinidade, aumentando o pH nos reatores, melhorando a produção de biogás. Essas observações reforçam a importância dos fatores operacionais, como a recirculação, e dos processos biológicos, na dinâmica do sistema anaeróbio. Entretanto, no dia 553 da fase V, houve um decréscimo na concentração de N-am no sistema, que também foi observado por Zhang et al., (2024).

Zhang et al., (2024), utilizaram o biochar de sabugo de milho na partida do reator anaeróbio de membranas (10 g L^{-1}), no tratamento de águas residuárias de suinocultura, com a aplicação de COV de $2,3 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, na faixa de temperatura mesofílica e o aumento gradual de $0 \text{ a } 7,5 \text{ g L}^{-1}$ de cloreto de amônio. De acordo com os autores, a amônia pode ser removida por absorção no biochar. Mas concluíram com a realização do trabalho que a presença do biochar impulsionou a secreção de compostos redox-ativos de exopolissacarídeos microbiano e enriqueceu os parceiros sintróficos capazes de transferência de elétrons extracelulares, como *Syntrophomonas* e *Methanosarcina/Methanospirillum* e isso potencialmente tornou a oxidação de ácidos graxos voláteis sintrófica termodinamicamente e cineticamente favorável sob alto estresse de amônia.

Portanto, diante dos resultados dos parâmetros citados, a prática de

recirculação do efluente pode ser uma alternativa viável para mitigar o consumo de água limpa e os custos com compostos químicos alcalinizantes (Barros, Duda e Oliveira, 2016), permitindo a utilização sustentável dos recursos já disponíveis no processo de tratamento. Isso fortalece o conceito de economia circular, especialmente aplicável em usinas sucroenergéticas. No entanto, é fundamental manter um equilíbrio adequado na gestão da recirculação. Nesse contexto, o uso do biochar pode garantir a eficácia do tratamento anaeróbio e prevenir potenciais efeitos adversos no sistema.

5.2. Demanda química de oxigênio (DQO) e eficiência de remoção

Os valores de DQO_{total} reduziram do afluente para o efluente do sistema de tratamento (Tabela 7 e Figura 13). No afluente, os valores de DQO_{total} foram estatisticamente similares nas fases I a III e inferiores as fases IV e V ($p < 0,05$). O aumento gradual das COVs nas fases iniciais permitiu a adaptação dos microrganismos e a estabilidade na remoção de DQO, como também observado por Barros et al. (2017) e Santana Junior et al. (2019) no tratamento anaeróbio da vinhaça de cana-de-açúcar. É importante ressaltar que, durante períodos de instabilidade, quando o recirculado foi retirado, a DQO do afluente também reduzia.

A DQO_{total} é um parâmetro essencial para avaliar o potencial poluidor de afluentes e efluentes (Von Sperling, 2014). Os valores de DQO_{total} variaram de 561 a 20200 mg L⁻¹ no afluente, de 631 a 13187 mg L⁻¹ no R1 e de 595 a 11167 mg L⁻¹ no R2 (Figura 13). As eficiências médias de remoção de DQO_{total} foram de 18, 21, 24, 45 e 53% no R1 e de 12, 25, 25, 24 e 30% no R2, nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente. A remoção de DQO_{total} no R1 é maior do que no R2 devido ao maior TDH e volume, proporcionando mais tempo e capacidade para a degradação eficaz da matéria orgânica. Em relação ao conjunto dos reatores (R1+R2), apresentou eficiências de remoção de 24, 40, 43, 58 e 67% nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 7).

Observou-se um aumento significativo da eficiência média de remoção de DQO_{total} de 24% para 40% da fase I para a fase II ($p < 0,05$), para o sistema R1+R2.

Na fase III, as remoções médias de DQO_{total} foram similares as observadas na fase II, com valores de 43%.

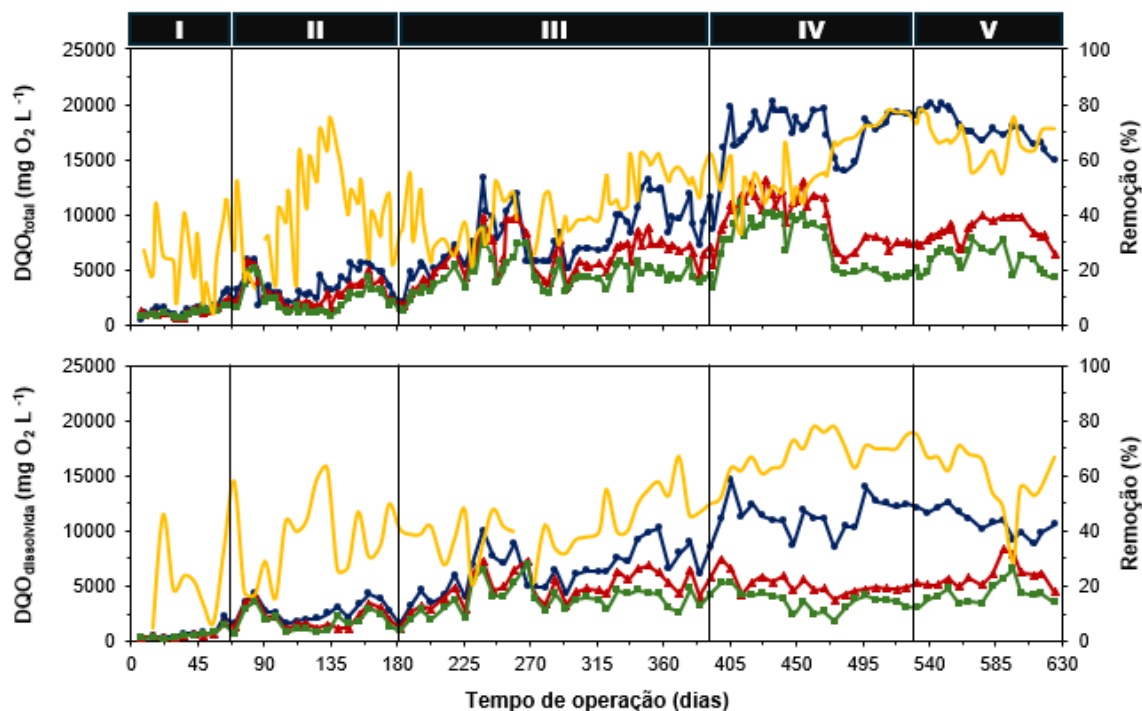


Figura 13. Valores de demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}) do afluente e efluentes e eficiência de remoção do conjunto reatores UASB (R1+R2), nas fases I a V.

Na fase IV, a eficiência de remoção de DQO_{total} melhorou comparado as fases anteriores, com valores médios 58% no sistema R1+R2. Isto pode ter ocorrido em virtude da estratégia de retirada do recirculado para recuperação do sistema. Já na fase V, com a adição de biochar, observou-se a maior eficiência média do sistema, de 67% ($p < 0,05$). Estudos têm comprovado a eficiência de remoção de DQO com o uso de diferentes tipos de biochar na digestão anaeróbia de diversos substratos (Sharma e Melkania, 2017; Cheng et al., 2020). Esse efeito pode ser atribuído às propriedades eletroquímicas do biochar, com alta capacidade de troca catiônica, grande área superficial e estrutura porosa, que aumentam a capacidade de adsorção de substâncias orgânicas (Qiu et al., 2019; Chiappero et al., 2020; Kumar et al., 2021).

Santana Junior et al. (2019) conduziram um estudo utilizando melaço para a manutenção de reatores UASB em série na faixa de temperatura termofílica na entressafra da cana-de-açúcar. Com uma COV variando entre 7,0 e 7,5 g DQO_{total} (L d)⁻¹, obtiveram remoções de DQO_{total} de 31 e 18% no R1 e R2, respectivamente. Barros (2013) também trabalhou com melaço na entressafra, utilizando reatores UASB em série, mas na faixa de temperatura mesofílica. Com uma COV entre 5,0 e 7,5 g DQO_{total} (L d)⁻¹, obteve eficiência de remoção de 36% e 48% no R1 e R2, respectivamente. Neste estudo, utilizando reatores UASB em série na faixa mesofílica, obteve-se COVs superiores às encontradas em estudos mencionados anteriormente, variando entre 16,0 e 21,7 g DQO_{total} (L d)⁻¹ na fase V, obtiveram-se eficiências de remoção de DQO_{total} superiores.

A utilização de torta de filtro e recirculação de efluentes permitiu obter valores elevados de COV. As remoções de DQO_{total} foram de até 53% e 30% no R1 e R2, respectivamente. Portanto, esses resultados reforçam a importância do conjunto de reatores (R1+R2) para obtenção de remoções significativas de DQO, como observado por Santana Junior et al. (2019) e Barros et al. (2017), além do uso da torta de filtro, que potencializa o desempenho dos reatores (Barros et al., 2017).

Outro parâmetro analisado é a DQO_{dissolvida}, para determinar a presença de compostos orgânicos dissolvidos em amostras (Chernicharo, 2016). Os valores de DQO_{dissolvida} variaram de 205 a 14633 mg L⁻¹ no afluente, de 300 a 8313 mg L⁻¹ no R1 e de 211 a 6953 mg L⁻¹ no R2 (Figura 13). As eficiências médias de remoção foram de 17, 26, 25, 55 e 45% no R1, e de 13, 18, 22, 30 e 27% no R2, nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente. O conjunto dos reatores (R1+R2) apresentou eficiências de remoção de DQO_{dissolvida} de 23, 37, 41, 68 e 60% nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 7). As maiores remoções de DQO_{dissolvida} foram observadas nas fases IV e V (p<0,05).

Nos sistemas de tratamento de efluentes, podem ocorrer mecanismos não biológicos para a remoção da DQO_{dissolvida}, como a incorporação no lodo ou na fração particulada do efluente. A DQO_{dissolvida} no afluente correspondeu a 52, 75, 80, 65 e 60% da DQO_{total} nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente, indicando a predominância de compostos solúveis no tratamento utilizando melaço.

Tabela 7. Valores médios e coeficiente de variação (CV) da demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{dissolvida}) no afluente e efluentes e suas respectivas eficiências de remoção do conjunto reatores UASB (R1+R2), codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
DQO _{total} (mg O ₂ L ⁻¹)	Afluente	1559 d	3662 c	8264 b	17735 a	18068 a	25,9	541,3**
	R1	1309 e	2921 d	6213 c	9791 a	8436 b	27,9	116,1**
	R2	1151 d	2280 d	4600 c	7509 a	5914 b	32,9	62,4**
Eficiência de remoção de DQO _{total} (%)	R1	18 b	21 b	24 b	45 a	53 a	42,5	42,6**
	R2	12 b	25 a	25 a	24 a	30 a	48,9	5,7**
	R1+R2	24 d	40 c	43 c	58 b	67 a	32,8	41,7**
DQO _{dissolvida} (mg O ₂ L ⁻¹)	Afluente	816 d	2770 c	6636 b	11495 a	10817 a	32,4	214,8**
	R1	668 c	2077 b	4968 a	5106 a	5867 a	35,1	45,8**
	R2	582 c	1808 b	3886 a	3661 a	4262 a	37,8	22,7**
Eficiência de remoção de DQO _{dissolvida} (%)	R1	17 b	26 b	25 b	55 a	45 a	41,8	29,0**
	R2	13 b	18 ab	22 ab	29 a	27 a	61,0	3,8*
	R1+R2	23 c	37 b	41 b	68 a	60 a	35,9	34,5**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01). * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05).

5.3. Sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV)

Os valores médios de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) no afluente durante todo o período de experimento variaram de 47 a 13166 mg L^{-1} , de 6 a 2140 mg L^{-1} e de 36 a 13054 mg L^{-1} , no R1 e R2, respectivamente (Figura 14). Segundo Von Sperling (2014), a massa de células microbianas é comumente expressa em sólidos em suspensão, visto que a biomassa consiste em sólidos suspensos no reator durante o crescimento disperso.

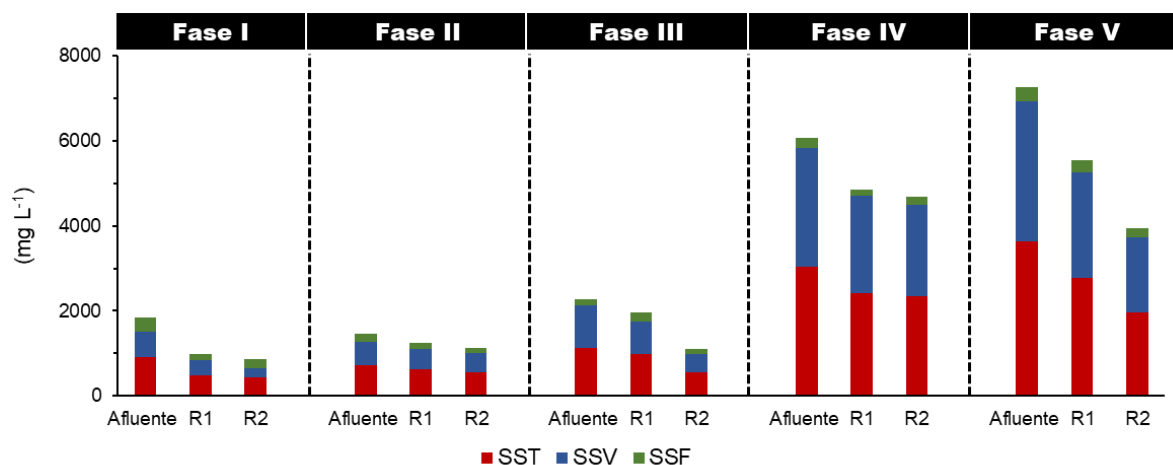


Figura 14. Valores médios de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF) do afluente e dos efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Na fase I, foram observados valores de SST e SSV superiores aos da fase II, mesmo com a aplicação de COV inferiores. Isso pode ser atribuído à adaptação do inóculo, resultando no arraste de lodo no sistema. Na fase II, foram observados os menores valores de SST e SSV, o que pode ser atribuído à retirada do recirculado para a preparação do afluente. No entanto, com o aumento da COV e o retorno do recirculado no dia 365, os valores desses parâmetros aumentaram nas fases III e IV (Figura 14 e Tabela 8).

Tabela 8. Valores médios e coeficientes de variação (CV) das concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) no afluente e efluentes dos reatores UASB R1 e R2, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Parâmetros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
SST (mg L ⁻¹)	Afluente	917 b	732 b	1134 b	3027 a	3634 a	102,5	18,4**
	R1	494 b	630 b	978 b	2424 a	2767 a	73,1	11,0**
	R2	436 b	562 b	552 b	2339 a	1973 a	56,8	9,2**
SSF (mg L ⁻¹)	Afluente	315 a	203 a	130 a	235 a	345 a	110,9	2,6 ^{ns}
	R1	154 a	146 a	203 a	153 a	281 a	96,5	0,9 ^{ns}
	R2	209 a	106 a	110 a	193 a	212 a	68,4	0,9 ^{ns}
SSV (mg L ⁻¹)	Afluente	602 b	529 b	1004 b	2792 a	3289 a	103,6	20,4**
	R1	340 b	484 b	775 b	2271 a	2486 a	76,2	12,7**
	R2	227 b	456 b	442 b	2146 b	1761 b	62,1	10,2**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); ns - não significativo (p>0,05); p- probabilidade.

Na fase V, com o uso do biochar, observaram-se os maiores valores de SST e SSV, visto que este material possui estrutura altamente porosa, que melhora a atividade biológica no sistema e pode adsorver matéria orgânica e partículas suspensas (Olugbenga et al., 2024), fatores que podem ter aumentado esses parâmetros

Os valores médios das relações SSV/SST no afluente foram de 0,75; 0,75; 0,81; 0,91 e 0,90 nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 8). Esses valores indicam a predominância de uma fração orgânica (SSV) e baixos teores de sólidos suspensos fixos (SSF) no afluente ao longo das diferentes fases do estudo.

5.4 Produção de metano e estimativa teórica da produção de energia elétrica

A codigestão anaeróbia do melaço e torta de filtro em reatores UASB resultou na produção de biogás em virtude da biodegradação da matéria orgânica. Observou-se que o aumento da COV proporcionou melhores produções volumétrica específica de metano (Figura 15). Os valores médios de produção volumétrica de metano (PVM) foram de 0,24; 0,30; 0,64; 1,10 e 1,70 L CH₄ (L d)⁻¹, no conjunto de reatores UASB (R1+R2), nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 10).

Após 32 e 37 dias de operação da fase I, iniciou-se a produção de biogás no R1 e R2, respectivamente, com menores produções volumétricas de biogás devido às menores COV, resultado da baixa disponibilidade de matéria orgânica a ser degradada pelos microrganismos e do período de adaptação dos microrganismos presentes no lodo dos reatores anaeróbios, conforme também observado por Sousa (2022).

Na fase II, no dia 158, observou-se um decréscimo nos valores da PVM, visto que a concentração de AVT e as relações AI/AP e AVT/AT aumentaram, decorrentes do aumento da COV. Entretanto, com a retirada estratégica do recirculado durante os dias 163 a 204, na fase III o sistema voltou a estabilizar, ocorrendo um aumento significativo, atingindo até 1,16 L CH₄ (L d)⁻¹ no dia 255.

Entretanto, com o aumento da COV no dia 257 da fase III, os valores de PVM voltaram a diminuir. O alto teor de açúcares do melaço, que é facilmente degradável

pelos microrganismos, torna os reatores propensos à acidificação em virtude do acúmulo de ácidos (Oliveira et al., 2020). No entanto, mesmo nessas circunstâncias, a produção volumétrica de metano foi mantida, conforme demonstrado na Figura 15. Para evitar maior desestabilização, durante os dias 263 a 299, novamente retirou-se a recirculação do sistema. Após a estabilização dos parâmetros, principalmente AVT, no dia 300 a recirculação foi retomada, e consequentemente a PVM dos reatores voltou a aumentar.

Durante a fase IV, com o sistema estável, a PVM se manteve em valores significativos e com baixa variação, atingindo até $1,61 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ no conjunto dos reatores. Na fase V, com a adição do biochar, observaram-se os maiores valores de PVM no sistema R1+R2 ($p < 0,05$), com um valor máximo de até $2,21 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ no sistema (R1+R2). Segundo Xu et al. (2024), esse resultado está atribuído ao consumo de AGV facilitado pelo biochar, bem como ao aumento da comunidade microbiana proporcionado pela estrutura porosa do material. A manutenção do uso de hidróxido de cálcio para correção do pH do afluente, juntamente com a retirada temporária da recirculação do efluente e o uso de biochar, foram identificadas como estratégias essenciais para prevenir a exacerbação de instabilidades no processo.

Santana Junior et al. (2019), trabalhando com melaço na entressafra, obtiveram um valor médio de PVM de $0,097 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$, com COV de 7,0 a 7,5 g $\text{DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$. Neste estudo, obteve-se um valor médio de $1,7 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$, com COV de 16,0 a 21,7 g $\text{DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, aproximadamente dezessete vezes maior do que os resultados de Santana Junior et al. (2019). Entretanto, Barbosa et al. (2022), também trabalhando com melaço durante a entressafra, obtiveram um valor médio de $3,1 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$, com COV de 5,0 a 19,0 g $\text{DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, mas utilizando o de bicarbonato de sódio para a manutenção da alcalinidade.

Os valores médios do teor de metano, foram de 56, 65, 65, 61 e 76% no R1 e de 46, 59, 66, 74 e 72% no R2, nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 10). O menor percentual foi constatado na fase I, com 56% no R1 e 46% no R2, principalmente por ser o início da produção de biogás. Já o maior valor foi observado na fase V, com 81% no R1 e 79% no R2, mostrando a eficiência no uso do biochar. De acordo com Lee et al. (2022), o rápido e direto fenômeno de transferência de

elétrons facilitado pelo biochar ajuda a reduzir a energia livre de Gibbs, resultando no rápido consumo de AGV pela comunidade microbiana. Portanto, nota-se uma tendência de aumento nos teores de metano ao longo das fases do experimento, com aumento da COV, indicando melhoria na eficiência do processo, com estratégias operacionais visando potencializar o desempenho dos reatores.

Em estudos anteriores, Barros (2013) registrou valores de 52 e 39% no R1 e R2, respectivamente, enquanto Santana Junior et al. (2019) observaram valores de 29 e 56% no R1 e R2, respectivamente, ao tratar melaço durante a entressafra com reatores UASB em dois estágios. Barbosa et al. (2022), também trabalhando com melaço na entressafra, alcançaram aproximadamente 60% em um reator UASB de único estágio. Além disso, os resultados deste trabalho foram comparáveis com estudos anteriores, o que reforça a consistência e a confiabilidade dos dados obtidos.

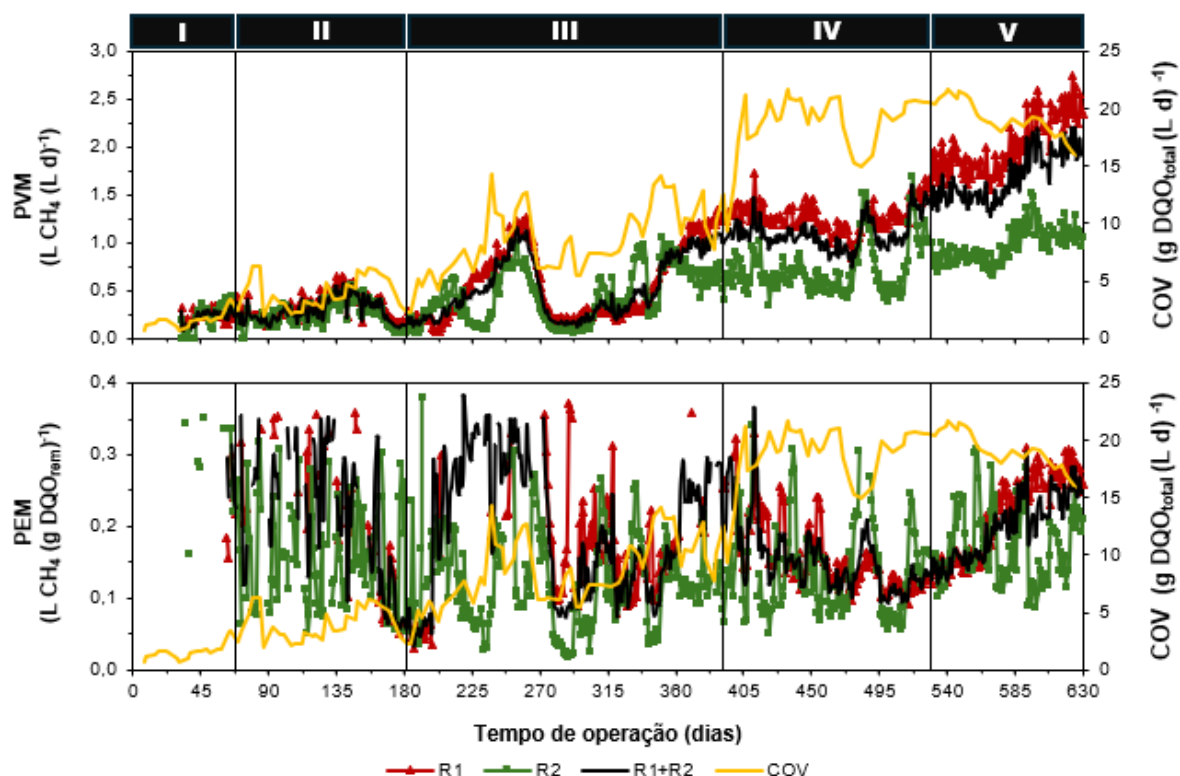


Figura 15. Produção volumétrica de metano (PVM) e produção específica de metano (PEM) dos reatores UASB R1 e R2 em relação a carga orgânica volumétrica (COV), codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Outro parâmetro importante para avaliar a eficiência da conversão de matéria orgânica em metano durante o processo de digestão anaeróbia é a produção específica de metano (PEM). A PEM média, calculada com base na DQO_{total} dos reatores UASB, R1 e R2 (Chernicharo, 2016), foram de 0,04; 0,09; 0,10; 0,15 e 0,22 m³ CH₄ (kg DQO_{rem})⁻¹ no R1, e de 0,09; 0,13; 0,12; 0,13 e 0,17 m³ CH₄ (kg DQO_{rem})⁻¹ no R2, nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 9 e Figura 15). O rendimento teórico da PEM é de 0,35 m³ CH₄ (kg DQO_{rem})⁻¹, conforme estabelecido por McCarty (1964).

Observou-se um aumento gradual na PEM no R1 com o aumento da COV durante as fases. No entanto, durante a fase III no R2, houve um decréscimo nesse parâmetro, possivelmente em virtude aos altos valores de AVT, afetando a eficiência do processo de produção de metano. Já na fase V, obteve-se os maiores valores médios da PEM, sendo de 0,22 m³ CH₄ (kg DQO_{rem})⁻¹ no R1 e de 0,17 m³ CH₄ (kg DQO_{rem})⁻¹ no R2, resultando nos maiores valores de PVM durante o uso do biochar.

Em relação ao potencial médio estimado na geração de energia elétrica, foi crescente neste estudo, juntamente com o aumento da COV. Os valores médios composto pelos reatores UASB R1 e R2 foram de 0,035; 0,044; 0,079; 0,163 e 0,250 kW d⁻¹ na fase I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 10), sendo o valor médio máximo vinte oito vezes maior aos resultados de Santana Junior et al. (2019) utilizando mesmo substrato, com 0,009 kW d⁻¹.

Castañeda-Ayarza e Cortez (2017) relataram que uma tonelada de melaço de cana-de-açúcar pode gerar até 239 L de etanol. A densidade do melaço, medida a 293,15 K com um teor de sólidos solúveis (Brix) de 78°, foi de 1,40146 kg L⁻¹, conforme dados da SUCRANA (2024). Com base nesses dados, foi calculada uma taxa máxima de produção de etanol de 0,33 L L⁻¹ de melaço e uma taxa de produção de metano de 401 L L⁻¹ de melaço, considerando a maior média de PVM do sistema (R1+R2) (Tabela 9).

Considerando que é possível obter 0,037 MJ L⁻¹ metano (Kythreotou et al., 2012) e de 23,6 MJ L⁻¹ de etanol (Salla et al., 2010), a capacidade máxima de recuperação de energia a partir do melaço em reatores UASB em série foi de 14,8 MJ L⁻¹ de melaço. Se o melaço fosse utilizado para a produção de etanol, poder-se-

iam obter $7,8 \text{ MJ L}^{-1}$ melaço (Tabela 9). No Brasil, o melaço é predominantemente utilizado para a produção de etanol (Castañeda-Ayarza; Cortez, 2017). Comparativamente, a taxa média de produção de metano por litro de melaço foi superior à do etanol, sugerindo que a recuperação energética por meio do biogás produzido a partir do melaço pode ser significativamente maior do que a partir do etanol produzido deste mesmo substrato.

Tabela 9. Capacidade de recuperação de energia da bioenergia produzida a partir de melaço comparados a outros estudos.

Processo	Fermentação alcoólica (Etanol)	Reatores UASB de dois estágios (Metano)	Referência
Taxa de produção (L L^{-1} melaço)	0,33	401	Este estudo
	0,34	489	Santana Junior et al. (2019)
	0,375	342	Park et al. (2010)
Recuperação de energia (MJ L^{-1} melaço)	7,8	14,8	Este estudo
	8,3	18,01	Santana Junior et al. (2019)
	9,0	13,2	Park et al. (2010)

Estudos de Park et al. (2010) mostraram uma recuperação de $13,2 \text{ MJ L}^{-1}$ de melaço, utilizando um reator de leito compactado em série, com produção de hidrogênio no primeiro estágio e metano no segundo estágio. Santana Junior et al. (2019) alcançaram um valor de $18,01 \text{ MJ L}^{-1}$ de melaço utilizando reatores UASB em série, superando também a produção de energia por meio do etanol.

Portanto, os estudos indicam que, além do uso do melaço para a produção de etanol, há um grande potencial para a produção de energia, especialmente na forma de metano, por meio de processos de digestão anaeróbia em reatores UASB em série. Isso sugere que o melaço é uma fonte eficiente de energia, contribuindo para a diversificação da matriz energética e redução da dependência de fontes fósseis.

Tabela 10. Valores médios e coeficientes de variação (CV) produção volumétrica (PVM) e específica de metano (PEM), da concentração de metano (% metano) no biogás e energia teórica nos reatores UASB R1 e R2 em série, codigerindo melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d)⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d)⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
PVM (L CH₄ (L d)⁻¹)	R1	0,25 d	0,32 d	0,58 c	1,28 b	2,03 a	31,7	914,8**
	R2	0,22 d	0,24 d	0,44 c	0,76 b	0,97 a	45,6	161,3**
	R1+R2	0,24 d	0,30 d	0,54 c	1,10 b	1,70 a	31,4	609,7**
PEM (m³ CH₄ (kg DQOrem)⁻¹)	R1	0,04 d	0,09 c	0,10 c	0,15 b	0,21 a	105,4	53,1**
	R2	0,09 c	0,13 b	0,12 bc	0,13 b	0,17 a	74,6	9,0**
	R1+R2	0,04 c	0,16 b	0,19 ab	0,15 b	0,20 a	83,4	28,4**
Energia (kW d⁻¹)	R1	0,037 d	0,048 d	0,086 c	0,189 b	0,278 a	31,1	826,8**
	R2	0,032 d	0,035 d	0,065 c	0,107 b	0,131 a	44,3	142,5**
	R1+R2	0,035 d	0,044 d	0,079 c	0,163 b	0,250 a	35,1	122,2**
Concentração de metano no biogás (%)	R1	56 d	65 b	65 b	61 c	76 a	5,4	134,7**
	R2	46 d	59 c	66 b	74 a	72 a	11,3	239,1**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01).

5.5. Fósforo, ortofosfato e nitrogênio Kjeldahl

Com o aumento gradual da carga orgânica volumétrica (COV) das fases I a IV, foram observadas variações nas concentrações de fósforo total (P-total), nitrogênio Kjeldahl (NK). Os valores de P-total variaram de 37 a 255 mg L⁻¹ no afluente, de 17 a 125 mg L⁻¹ no reator R1, e de 16 a 120 mg L⁻¹ no reator R2. Para o NK, os valores variaram de 23 a 340 mg L⁻¹ no afluente, de 20 a 335 mg L⁻¹ no R1, e de 18 a 296 mg L⁻¹ no R2. Em relação ao ortofosfato (PO₄³⁻), os valores variaram de 9 a 27 mg L⁻¹ no afluente, de 7 a 120 mg L⁻¹ no R1, e de 7 a 104 mg L⁻¹ no R2 (Figura 16 e Tabela 11).

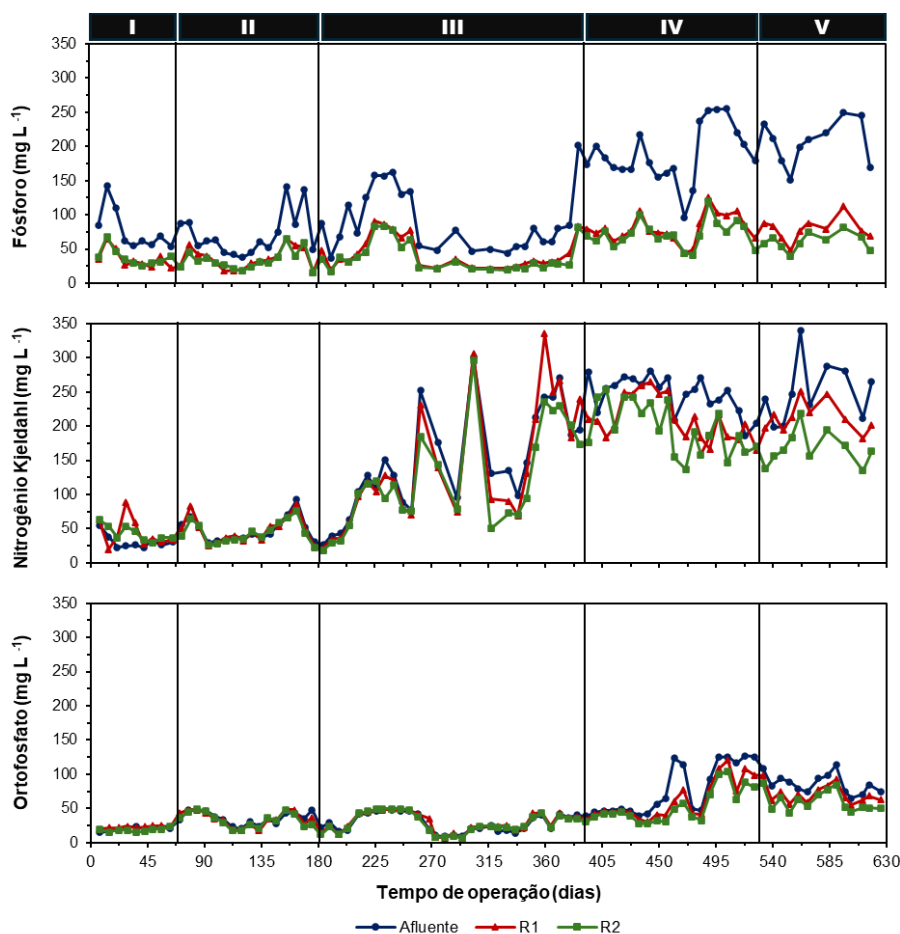


Figura 16. Fósforo total (P-total), nitrogênio Kjeldahl (NK) e ortofosfato do afluente e efluentes, dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

A disponibilidade adequada de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo na forma de ortofosfato, otimiza o desempenho da digestão anaeróbia (Chernicharo, 2016). Essas condições são essenciais para mitigar os efeitos de cargas de choque e prevenir a flotação de grânulos nos reatores UASB, conforme indicado por Singh et al. (1999). A falta desses nutrientes pode resultar em distúrbios no sistema, diminuindo a eficiência de remoção de material orgânico (Mehariya et al., 2018).

No dia 268, com a interrupção do recirculado, observou-se uma diminuição nas concentrações de P-total, NK e ortofosfato. A reintrodução do recirculado a partir do dia 364 resultou em um rápido aumento do NK, embora concentrações significativas de P-total só tenham sido registradas no dia 379, ao término da fase III, provavelmente em virtude aumento da COV.

Nos efluentes, os valores de P-total foram consistentemente inferiores aos observados no afluente em todas as fases, resultando em uma eficiência média de remoção crescente de 49%, 52%, 57%, 62% e 71% nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 11). Embora os reatores anaeróbios não tenham como objetivo primário a remoção de nutrientes, este estudo evidenciou uma contribuição significativa na remoção de P-total. Em sistemas anaeróbios, a remoção de nutrientes pode ocorrer por sedimentação e precipitação no lodo, além da possível assimilação pelos microrganismos (Sampaio, 2022).

Para o NK, na fase I não ocorreu remoção significativa, possivelmente em virtude à adaptabilidade do lodo. No entanto, nas fases II, III, IV e V, houve um aumento progressivo na eficiência de remoção, com valores médios de 10%, 19%, 20% e 32%, respectivamente (Tabela 11). Em relação ao ortofosfato, a eficiência de remoção foi de 8%, 13%, 8%, 29% e 30% nas fases I, II, III, IV e V, respectivamente (Tabela 11).

A fase V apresentou os maiores valores médios de remoção desses parâmetros, P-total, NK e ortofosfato, para os reatores UASB, R1+R2. Estudos têm mostrado efeitos importantes do uso de diferentes tipos de biochar na remoção de nutrientes de águas residuárias (Lü et al., 2016; Yuan et al., 2021), sugerindo que a alta eficiência de remoção de nutrientes no sistema pode ser atribuída à área superficial específica e aos locais de adsorção do biochar.

Tabela 11. Valores médios e coeficientes de variação (CV) de Nitrogênio Kjeldahl (NK), fósforo total (P-total) e ortofosfato no afluente e efluente dos reatores UASB em série R1 e R2 e eficiência de remoção no sistema (R1+R2), utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8	19,6 b		
P-total (mg L ⁻¹)	Afluente	77 b	72 b	93 b	189 a	207 a	34,5	77,2**
	R1	36 b	37 b	45 b	80 a	79 a	36,3	9,3**
	R2	38 b	36 b	40 b	72 a	61 ab	35,4	6,0**
Eficiência de remoção (%)	R1+R2	49 c	52 bc	57 bc	62 ab	71 a	13,0	8,7**
NK (mg L ⁻¹)	Afluente	31 c	47 c	156 b	245 a	250 a	29,8	60,1**
	R1	44 c	46 c	147 b	212 a	213 a	35,1	39,7**
	R2	43 c	43 c	129 b	198 a	168 ab	30,7	30,4**
Eficiência de remoção (%)	R1+R2	1 c	10 bc	19 ab	20 ab	32	116,3	6,5**
Ortofosfato (mg L ⁻¹)	Afluente	21 b	35 b	29 b	75 a	86 a	32,1	44,9**
	R1	25 b	33 b	31 b	62 a	71 a	34,4	21,1**
	R2	20 b	32 b	29 b	53 a	60 a	37,2	13,6**
Eficiência de remoção (%)	R1+R2	8 b	13 b	8 b	29 a	30 a	95,6	9,1**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01).

Portanto, a disponibilidade adequada de nutrientes no sistema foi favorecida pela incorporação da torta de filtro no substrato, garantindo uma relação DQO:N:P de 350:5:1, recomendada por Chernicharo (2016). A suplementação com torta de filtro revelou-se uma prática eficaz para alcançar resultados satisfatórios (Barros et al., 2017), bem como o uso de taxa de recirculação do efluente R2 mais elevada, visto que a exclusão do recirculado contribuiu para as reduzidas concentrações desses macronutrientes, pois a recirculação do efluente viabiliza o retorno de parte do nitrogênio e fósforo ao sistema (Lima et al., 2023).

É importante destacar que a composição química da torta de filtro varia ao longo da safra da cana-de-açúcar, e cada usina adota procedimentos específicos, diante disso, a suplementação com torta de filtro demanda monitoramento periódico em relação às suas características químicas.

5.5.1. Relação DQO:N:P

Para o desenvolvimento adequado dos microrganismos, a quantidade de nutrientes recomendada baseia-se na concentração da matéria orgânica do substrato, sendo a proporção de DQO:N:P de 350:5:1, conforme indicado por Chernicharo (2016). Para atender a essa proporção, foi realizada a codigestão com torta de filtro, a fim de suprir os nutrientes necessários, principalmente nitrogênio e fósforo.

Embora a quantidade de torta de filtro tenha sido aumentada, a proporção DQO:N:P diminuiu durante as fases, pois o aumento da quantidade de melaço elevou a matéria orgânica, refletida pela DQO. Como os cálculos se baseiam nessa medida, se o aumento da matéria orgânica for proporcionalmente maior do que o acréscimo de nutrientes fornecidos pela torta de filtro, a relação DQO:N:P resultante pode ser menor do que a desejada. Entretanto, a inclusão da torta de filtro no afluente garantiu uma disponibilidade adequada de nutrientes tanto no afluente quanto nos efluentes para a digestão anaeróbia do melaço (Tabela 12).

Tabela 12. Relação DQO:N:P no afluente e efluente dos reatores UASB em série R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros	Fases				
	I	II	III	IV	V
Tempo de operação (dias)	1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630
COV - R1 (g DQO (L d)⁻¹)	1,7	3,9	8,9	19,1	19,4
COV - R2 (g DQO (L d)⁻¹)	3,0	6,8	14,5	22,8	19,6
Relação DQO:N:P	Afluente	350:10:23	350:5:7	350:7:4	350:5:4
	R1	350:15:11	350:6:5	350:8:3	350:8:3
	R2	350:18:14	350:8:6	350:10:3	350:11:4

Barros et al. (2017) também utilizaram a torta de filtro como suplemento de nitrogênio e fósforo no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar, alcançando resultados satisfatórios e atendendo à proporção de DQO:N:P, além disso, os autores constam que o uso da torta de filtro diminuiu os efeitos de possíveis cargas de choque e impediu a flotação de grânulos nos reatores UASB, possibilitando o consumo de AVT e a alta produção de metano.

Portanto, a codigestão com a torta de filtro demonstrou ser uma estratégia eficaz, fornecendo os nutrientes essenciais para um bom desempenho na digestão anaeróbia. Além disso, essa abordagem evita o uso de produtos químicos e reduz os custos associados ao suprimento das necessidades dos microrganismos.

5.6. Macronutrientes e micronutrientes

Os valores médios dos macronutrientes, cálcio (Ca), potássio (K), sódio (Na) e magnésio (Mg), assim como dos micronutrientes, ferro (Fe), níquel (Ni), cobalto (Co), zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu) no afluente aumentaram com o acréscimo da COV até a fase IV, de 19,1 g DQO_{total} (L d)⁻¹ (Tabela 13).

Tabela 13. Valores médios e coeficiente de variação (CV) macronutrientes e micronutrientes no afluente e efluentes e suas respectivas eficiências de remoção do conjunto reatores UASB (R1+R2) durante todas as fases.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
Ca (mg L ⁻¹)	Afluente	5,84 b	60,70 ab	99,61 ab	134,26 a	80,11 ab	81,8	3,4**
	R1	5,89 b	66,13 ab	99,87 ab	113,15 a	57,61 ab	71,8	2,6**
	R2	6,84 b	41,82 ab	95,49 ab	105,86 a	87,36 ab	66,1	2,8**
K (mg L ⁻¹)	Afluente	3,04 c	4,15 c	9,44 bc	21,38 a	14,30 b	43,7	14,3**
	R1	1,17 d	4,35 cd	9,66 bc	19,01 a	14,63 ab	43,4	14,2**
	R2	3,21 b	4,18 b	9,02 ab	15,73 a	14,74 a	38,6	9,1**
Na (mg L ⁻¹)	Afluente	12,96 b	15,00 b	188,16 a	193,96 a	27,13 b	54,6	9,4**
	R1	17,19 b	17,16 b	170,22 a	176,74 a	25,77 b	75,0	7,4**
	R2	17,50 bc	13,80 c	164,87 a	149,15 ab	27,28 bc	61,3	6,3**
Mg (mg L ⁻¹)	Afluente	1,24 c	33,55 bc	91,05 ab	156,11 a	93,01 ab	66,8	9,3**
	R1	1,05 c	30,58 bc	91,78 ab	115,10 a	61,61 bc	67,2	9,5**
	R2	1,26 c	25,39 bc	82,70 ab	138,06 a	86,04 ab	60,7	7,8**
Fe (mg L ⁻¹)	Afluente	1,90 a	11,41 a	18,29 a	19,74 a	12,16 a	94,6	2,1 ^{ns}
	R1	2,20 a	7,88 a	13,34 a	16,29 a	5,13 a	68,9	1,5 ^{ns}
	R2	3,57 a	5,61 a	11,39 a	13,72 a	5,45 a	87,7	1,0 ^{ns}
Ni (mg L ⁻¹)	Afluente	0,04 b	0,06 ab	0,10 ab	0,12 a	0,04 b	81,8	4,2**
	R1	0,03 a	0,07 a	0,02 a	0,06 a	0,06 a	96,6	1,3 ^{ns}
	R2	0,06 a	0,08 a	0,03 a	0,05 a	0,06 a	67,2	1,7 ^{ns}
Co (mg L ⁻¹)	Afluente	0,01 b	0,03 b	0,09 b	0,39 a	0,34 a	109,6	21,5**
	R1	-	0,03 b	0,11 b	0,40 a	0,41 a	53,6	25,4**
	R2	0,02 b	0,02 b	0,10 b	0,40 a	0,43 a	67,7	26,9**
Zn (mg L ⁻¹)	Afluente	0,05 b	0,07 b	0,16 b	0,37 a	0,15 b	60,5	15,7**
	R1	0,04 b	0,04 b	0,11 b	0,34 a	0,04 b	71,2	15,6**
	R2	0,06 b	0,02 b	0,07 b	0,31 a	0,13 b	75,6	12,8**
Mn (mg L ⁻¹)	Afluente	1,07 b	1,22 b	47,94 b	14,98 b	10,71 b	52,4	13,0**
	R1	0,99 b	1,43 b	45,89 a	13,70 b	9,07 b	43,5	12,0**
	R2	1,41 b	1,64 b	41,35 a	14,26 b	8,48 b	44,5	9,5**
Cu (mg L ⁻¹)	Afluente	-	0,02 a	0,19 a	0,22 a	0,15 a	57,1	0,2 ^{ns}
	R1	-	0,02 a	0,51 a	0,23 a	0,09 a	93,4	1,4 ^{ns}
	R2	-	0,01 a	0,39 a	0,19 a	0,11 a	97,9	0,8 ^{ns}

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); ns - não significativo (p>0,05); p-probabilidade.

Nessa fase, as concentrações de Ca, Na, Mg e K foram de aproximadamente de 134; 21; 194; 156 mg L⁻¹, respectivamente (Tabela 13), enquanto os níveis de Fe, Ni, Co, Zn, Mn e Cu foram de aproximadamente em 20; 0,1; 0,4; 0,4; 19 e 0,2 mg L⁻¹, respectivamente (Tabela 13).

Segundo Ma et al. (2009), a suplementação de macro e micronutrientes melhora o desempenho dos reatores anaeróbios, permitindo maiores COVs aplicadas, efluentes de melhor qualidade e maiores taxas de produção de biogás. Além disso, a deficiência desses nutrientes resulta em uma atividade metabólica mais baixa nos metanogênicos em comparação aos acidogênicos (Juntupally et al., 2022).

A inadequada disponibilidade de nutrientes pode favorecer o crescimento dos acidogênicos em detrimento dos metanogênicos. Para otimizar o processo de digestão anaeróbia, é fundamental equilibrar a nutrição de forma que a atividade metabólica dos metanogênicos seja potencializada, sem comprometer o desempenho dos acidogênicos (Lo et al., 2012).

A adição gradual da torta de filtro pode ter contribuído para o aumento nas concentrações de macronutrientes, como Ca, Na e Mg, observados neste estudo. Segundo Janke et al. (2015), a torta de filtro é rica em oligoelementos e possui um balanço favorável de macronutrientes, o que justifica essas maiores concentrações.

O Ca é o principal elemento presente na torta de filtro, seguido por Mg, utilizado neste estudo (Tabela 1). Materiais ricos em Ca, como a torta de filtro, atuam no tamponamento e fornecem nutrientes inorgânicos essenciais para a estabilidade do processo de digestão anaeróbia. Essa estabilização contribui para o aumento da produção de hidrogênio e metano (Yang et al., 2021). Além disso, o Ca ajuda na formação e sedimentação de grânulos bacterianos, minimiza o efeito inibitório de ácidos graxos de cadeia longa e melhora o acúmulo de biomassa no sistema anaeróbio (Kalemelawa et al., 2012; Parra-Orobio et al., 2018).

O Mg desempenha um papel fundamental no fortalecimento do metabolismo dos metanogênios acetoclásticos, favorecendo, assim, a produção de metano (Kavamura e Esposito, 2010). Além disso, Scherer, Lippert e Wolff (1984) relataram que o Mg, representando entre 0,09% e 0,53% do total de elementos nas bactérias

metanogênicas, é crucial para seu crescimento e divisão celular. Além disso, Stieb e Schink (1985) relataram que a oxidação de ácidos graxos, uma das principais vias para a produção de acetato na digestão anaeróbia, é geralmente realizada por bactérias sintróficas e exige Mg para ocorrer de maneira eficiente. Esse fator pode explicar as concentrações mais elevadas desse nutriente na fase IV deste estudo, período em que foi registrada a maior concentração de AVT.

O Na também é essencial no metabolismo dos microrganismos anaeróbios, regulando o equilíbrio osmótico e o transporte de nutrientes, o que impacta diretamente a eficiência na produção de biogás (Chen et al., 2008). De acordo com McCarty (1964), concentrações de Na entre 100 e 200 mg L⁻¹, como observado neste estudo, podem estimular o processo de digestão anaeróbia. Em contrapartida, concentrações superiores a 3500 mg L⁻¹ tornam-se inibitórias para os metanogênicos em temperaturas mesofílicas, segundo o mesmo autor. No entanto, em casos de elevações excessivas de Na, o Mg pode mitigar os efeitos adversos, protegendo as enzimas microbianas e permitindo que o processo continue de forma eficiente (Bashir e Matin, 2005), não sendo o caso deste estudo.

O K atua em diversos processos celulares, como a manutenção da eletroneutralidade, atividade enzimática, síntese proteica e regulação do pH intracelular (Yenush, 2016). Estudo de Wang et al. (2023), o K ajudou a mitigar os efeitos inibitórios da alta salinidade e de promover uma maior degradação de matéria orgânica, aumentando a produção de metano e melhorando a eficiência de remoção de DQO, além de favorecer o consumo de AGVs.

Além dos macronutrientes, a recuperação do bom desempenho dos reatores na fase IV, após o período de instabilidade na fase anterior, pode estar relacionada à suplementação de micronutrientes como Fe, Ni, Co, Zn e Mn. Esses elementos atuam como cofatores essenciais na síntese de coenzimas da via metanogênica (Thanh et al., 2016; Voelklein et al., 2017) e são conhecidos por estimular a atividade dos microrganismos hidrolíticos, acidogênicos e metanogênicos. Ao promover o funcionamento em sintrofia, esses aditivos contribuem para o crescimento dos microrganismos metanogênicos durante a síntese enzimática (Singh et al., 1999; Baniamerian et al., 2021; Mudhoo e Kumar, 2013).

Um estudo realizado por Schmidt et al. (2018) analisou a digestão anaeróbia de efluentes de matadouros com a adição de elementos traço em reatores CSTR operando em condições mesofílicas. Os resultados indicaram que a suplementação de Fe, Ni, Co, Mn e Mo melhorou a eficiência de degradação e a estabilidade do processo, aumentando a produção diária de biogás em 84% quando comparada aos reatores controle.

O Fe é um elemento essencial para o crescimento de microrganismos, desempenhando um papel crucial no metabolismo energético (Mudhoo e Kumar, 2013). Além disso, o ferro pode facilitar as etapas de hidrólise e acidificação, levando a uma maior produção AGV e demonstrando a capacidade de precipitar sulfetos (Meng et al., 2017). Barros (2017) observou que, ao suplementar vinhaça com torta de filtro, o aumento da concentração de Fe melhorou a conversão de açúcares voláteis e o desempenho geral do processo, um resultado que também se alinha com as descobertas deste estudo.

O Ni é fundamental na oxidação do acetato em dióxido de carbono e hidrogênio, contribuindo para a metanogênese hidrogenotrófica (Abdelsalam et al., 2017; Kumar et al., 2023), o que pode ter influenciado as atividades do gênero *Methanobacterium* na fase IV. Além disso, as bactérias anaeróbias e as arqueias requerem cobalto para a síntese de metaloenzimas, sua ativação e a produção de vitamina B12 (Abdelsalam et al., 2017). Por outro lado, o Zn também desempenha um papel vital no metabolismo dos metanogênicos, particularmente na via acetoclástica, e pode colaborar com a via hidrogenotrófica (Chan et al., 2019). Durante a fase IV, ambas as vias metabólicas foram quase proporcionais, o que potencializou a produção de biogás. Portanto, de acordo com Chernicharo (2016), o Fe, Ni e Co são micronutrientes essenciais para as bactérias que geram metano a partir do acetato, como a *Methanosarcina* e *Methanosaeta* observada na fase IV.

Na fase V, com a adição do biochar de torta de filtro, observou-se uma diminuição nas concentrações de macro e micronutrientes. A estrutura porosa do biochar e sua alta capacidade de adsorção contribuem para esse fenômeno (Basumatary et al., 2024), aumentando a retenção dos nutrientes (Fagbohunbe et al., 2016; Hale et al., 2015). Essa redução pode ser atribuída à retenção desses

elementos no biochar agregado ao lodo, o que, por sua vez, pode ter disponibilizado nutrientes essenciais para os microrganismos, resultando no aumento da PVM.

5.6. Sólidos totais e voláteis no lodo dos reatores UASB em série

Durante as fases de operação, os valores de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) no lodo dos reatores UASB em série (R1 e R2) aumentaram progressivamente, acompanhando o aumento da concentração de COV, o que sugere um acúmulo de lodo no sistema de tratamento (Figura 17 e Tabela 15 e 16). De acordo com Von Sperling (2014) os processos de tratamento biológico geram lodo, originado pela própria biomassa que aumenta em virtude do alimento fornecido pelo afluente do sistema. Segundo Chernicharo (2016), a avaliação da quantidade de biomassa é comumente conduzida por meio da determinação de sólidos, e os sólidos voláteis são considerados uma medida da biomassa presente ao longo do perfil dos reatores, representando a massa de material celular.

Constatou que as maiores concentrações de ST e SV foram observadas no lodo das camadas inferiores (P1 e P2) nos reatores R1 e R2, em virtude da estratificação proporcionada pela mistura proveniente do fluxo ascendente e da produção de biogás. Durante as fases III e IV, observou-se um aumento significativo na concentração de ST e SV do lodo em ambos os reatores. Esse aumento pode ser atribuído aos elevados valores de NK, pois o nitrogênio é o nutriente importante para a multiplicação dos microrganismos (Chernicharo, 2016). Já na fase V o aumento ocorreu em virtude da adição do biochar, visto que este material contém superfície porosa, acarretando a colonização de microrganismos (Xu et al., 2024).

De acordo com Sousa (2022), teoricamente, quanto maior a concentração de sólidos voláteis (SV), maior deverá ser a taxa de conversão do substrato a biogás. Isso ocorre porque os sólidos voláteis representam a fração orgânica do lodo, que é biodegradável e passível de ser convertida em biogás por meio de processos microbiológicos.

Em relação aos valores da taxa de carregamento orgânico do lodo (TCL), observou-se que estes diminuíram conforme elevou-se a COV, variando de 0,4 a

1,1 g DQO_{total} (g SV d)⁻¹ no reator R1 e de 0,5 a 0,9 g DQO_{total} (g SV d)⁻¹ no reator R2 (Tabela 15). Conforme mencionado por Chernicharo (2016), dependendo do tipo de afluente a ser tratado, valores em torno de 2,0 g DQO_{total} (g SV d)⁻¹ podem ser encontrados. Portanto, os valores observados estão dentro dos limites recomendados.

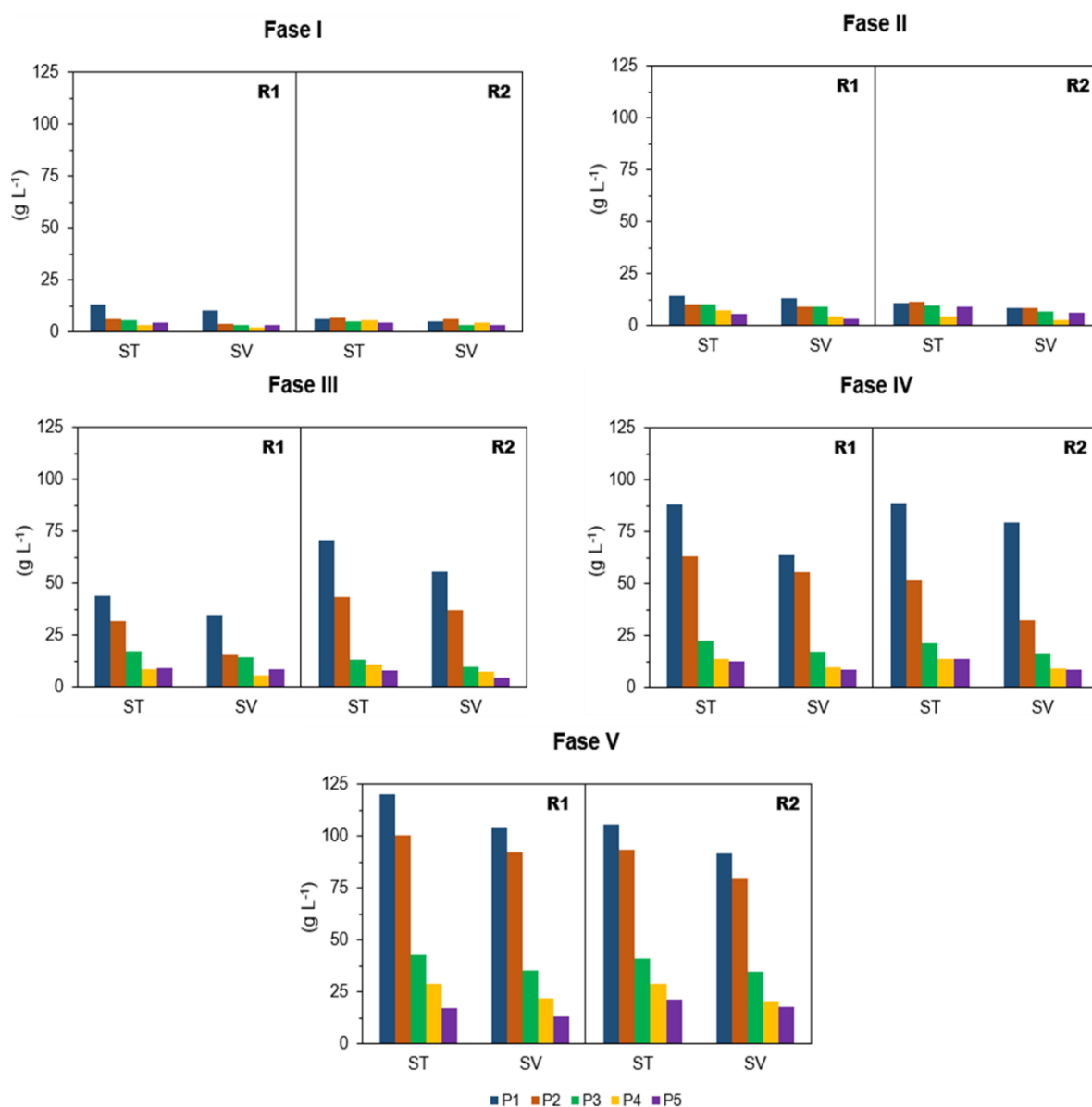


Figura 17. Concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) nos cinco pontos de coletas de lodo dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

O tempo de retenção de sólidos (TRS) variou de 6 a 17 dias R1 e de 5 a 21 dias no R2 (Tabela 14). Segundo Von Sperling (2014), o TRS refere ao período médio em que uma unidade de biomassa permanece no sistema de tratamento. Os valores de TRS aumentaram do R1 para o R2, exceto na fase III, e foram superiores ao TDH. Quando o TRS é superior ao TDH, a concentração de material biológico no sistema é elevada, conforme destacado por Nunes (2022), indicando que os reatores UASB apresentam comportamento característico de reatores de alta taxa.

Tabela 14. Valores da taxa de carregamento orgânico do lodo (TCL) e tempo de retenção de sólidos (TRS) nos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases				
		I	II	III	IV	V
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7	3,9	8,9	19,1	19,4
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0	6,8	14,5	22,8	19,6
TCL (g DQO (g SV d) ⁻¹)	R1	1,1	0,9	0,6	0,5	0,4
	R2	0,9	0,8	0,5	0,5	0,5
TRS (dias)	R1	8	17	13	11	6
	R2	8	12	21	5	11

Outro parâmetro importante é a relação SV/ST, uma medida que expressa a proporção de matéria orgânica volátil em relação à matéria orgânica total presente em uma amostra. Essa relação é frequentemente utilizada para avaliar a composição da biomassa em sistemas biológicos, como os reatores anaeróbios (Villa-Montoya; Ferro; De Oliveira, 2017).

As relações SV/ST do lodo no R1 variaram de 0,72 a 0,88 no P1, de 0,48 a 0,92 no P2, de 0,60 a 0,89 no P3, de 0,56 a 0,76 no P4 e de 0,57 a 0,75 no P5 (Figura 18 e Tabela 16). No R2, variaram de 0,73 a 0,89 no P1, de 0,62 a 0,86 no P2, de 0,68 a 0,84 no P3, de 0,66 a 0,85 no P4 e de 0,61 a 0,84 no P5 (Figura 18, Tabela 15 e 16). As altas relações SV/ST observadas durante o tratamento evidenciam a predominância de matéria orgânica no lodo, e consequentemente a presença de microrganismos (Oliveira, 1997).

De acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 498/2020, para fins de utilização agrícola, o lodo de esgoto ou produto derivado será considerado estável se a relação entre sólidos voláteis e sólidos totais for inferior a 0,7. Dessa forma, a maioria dos dados indica que o lodo não atende os padrões exigidos para ser considerado estável e adequado para uso agrícola. Será necessário um tratamento adicional ou destinação apropriada conforme a regulamentação vigente para descarte de lodo não estabilizado.

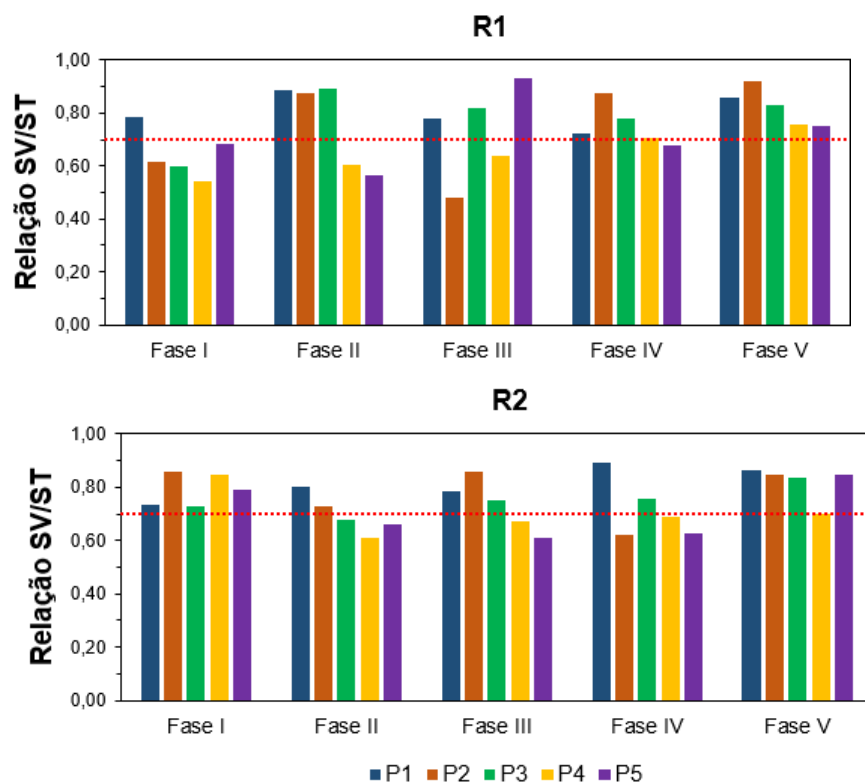


Figura 18. Relação SV/ST dos cinco pontos de coletas de lodo dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Tabela 15. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em mg L⁻¹ e da relação SV/ST nos cinco pontos de coleta de lodo do reator UASB R1, utilizado na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
P1	ST	12,9 d	14,5 d	44,2 c	88,1 b	120,4 a	7,9	383,2**
	SF	2,7 d	1,7 d	9,8 c	24,7 a	16,8 b	7,8	83,3**
	SV	10,2 d	12,8 d	34,4 c	63,4 b	103,6 a	7,8	537,4**
	SV/ST	0,79 b	0,88 a	0,78 b	0,72 c	0,86 a	1,4	29,9**
P2	ST	5,9 d	10,3 d	31,9 c	63,3 b	100,2 a	3,3	1342,1**
	SF	2,3 c	1,3 c	16,5 a	7,7 b	7,9 b	7,3	346,8**
	SV	3,6 e	9,0 d	15,4 c	55,6 b	92,3 a	5,2	1236,5**
	SV/ST	0,61 b	0,87 a	0,48 c	0,88 a	0,92 a	2,7	184,2**
P3	ST	5,8 e	9,9 d	17,1 c	22,2 b	42,6 a	6,1	423,6**
	SF	2,3 c	1,1 d	3,1 c	4,9 b	7,3 a	6,1	91,8**
	SV	3,5 e	8,8 d	14,0 c	17,3 b	35,3 a	6,7	351,1**
	SV/ST	0,60 d	0,89 a	0,82 bc	0,78 c	0,83 b	1,2	122,9**
P4	ST	3,4 d	7,1 c	8,2 c	13,8 b	28,8 a	4,3	195,9**
	SF	1,5 d	2,8 c	3,1 c	4,0 b	7,0 a	2,1	407,5**
	SV	1,9 d	4,3 cd	5,3 c	9,8 b	21,8 a	4,9	148,5**
	SV/ST	0,56 d	0,61 c	0,65 c	0,71 b	0,76 a	1,7	74,9**
P5	ST	4,6 c	5,3 c	14,1 ab	12,2 b	17,2 a	7,3	44,8**
	SF	1,5 b	2,3 b	5,1 a	3,9 a	4,3 a	13,9	21,4**
	SV	3,1 c	3,0 c	9,0 b	8,3 b	12,9 a	6,4	66,8**
	SV/ST	0,67 b	0,57 c	0,64 b	0,68 b	0,75 a	1,8	43,3**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01).

Tabela 16. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da concentração de sólidos totais (ST) e voláteis (SV), em mg L⁻¹ e da relação SV/ST nos cinco pontos de coleta de lodo do reator UASB, R2, utilizado na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
P1	ST	6,4 d	10,6 d	70,7 c	88,9 b	105,8 a	4,5	357,3**
	SF	1,7 d	2,1 d	15,0 a	9,7 b	14,1 ab	13,2	35,8**
	SV	4,7 d	8,5 d	55,7 c	79,2 b	91,7 a	3,7	558,8**
	SV/ST	0,73 c	0,80 b	0,79 bc	0,89 a	0,87 a	2,1	25,8**
P2	ST	6,8 d	11,5 d	43,3 c	51,6 b	93,4 a	5,1	1050,0**
	SF	1,0 e	3,1 d	6,2 c	19,5 a	14,2 b	4,7	571,5**
	SV	5,8 c	8,4 c	37,1 b	32,1 b	79,2 a	5,8	749,4**
	SV/ST	0,85 a	0,73 b	0,86 a	0,62 c	0,85 a	1,3	51,4**
P3	ST	4,8 e	9,6 d	12,9 c	21,1 b	41,3 a	5,3	421,4**
	SF	1,3 d	3,1 c	3,2 c	5,1 b	6,7 a	9,1	66,8**
	SV	3,5 e	6,5 d	9,7 c	16,0 b	34,6 a	6,1	367,7**
	SV/ST	0,73 b	0,68 c	0,75 b	0,76 b	0,84 a	2,2	37,4**
P4	ST	5,4 d	9,0 c	10,8 bc	13,4 b	28,8 a	8,4	161,5**
	SF	0,8 d	3,1 c	3,5 c	4,2 b	8,6 a	4,1	776,3**
	SV	4,6 c	5,9 c	7,3 bc	9,2 b	20,2 a	10,1	92,6**
	SV/ST	0,85 a	0,66 b	0,68 b	0,69 b	0,70 b	1,7	57,8**
P5	ST	4,2 c	4,6 c	7,7 c	13,5 b	21,2 a	5,6	74,7**
	SF	0,9 c	1,8 bc	3,0 b	5,0 a	3,3 b	8,7	22,7**
	SV	3,3 c	2,8 c	4,7 c	8,5 b	17,9 a	6,1	148,3**
	SV/ST	0,79 b	0,61 c	0,61 c	0,63 b	0,84 a	1,7	132,3**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01).

5.7. Sulfato e sulfeto

A concentração de sulfato no afluente aumentou ao longo do experimento, com valores crescentes nas fases I, II, III, IV e V (Figura 19 e Tabela 17). Segundo as análises de Lima (2022) e Nunes (2022), essa elevação pode estar relacionada ao aumento da carga orgânica aplicada, conforme também observado neste estudo.

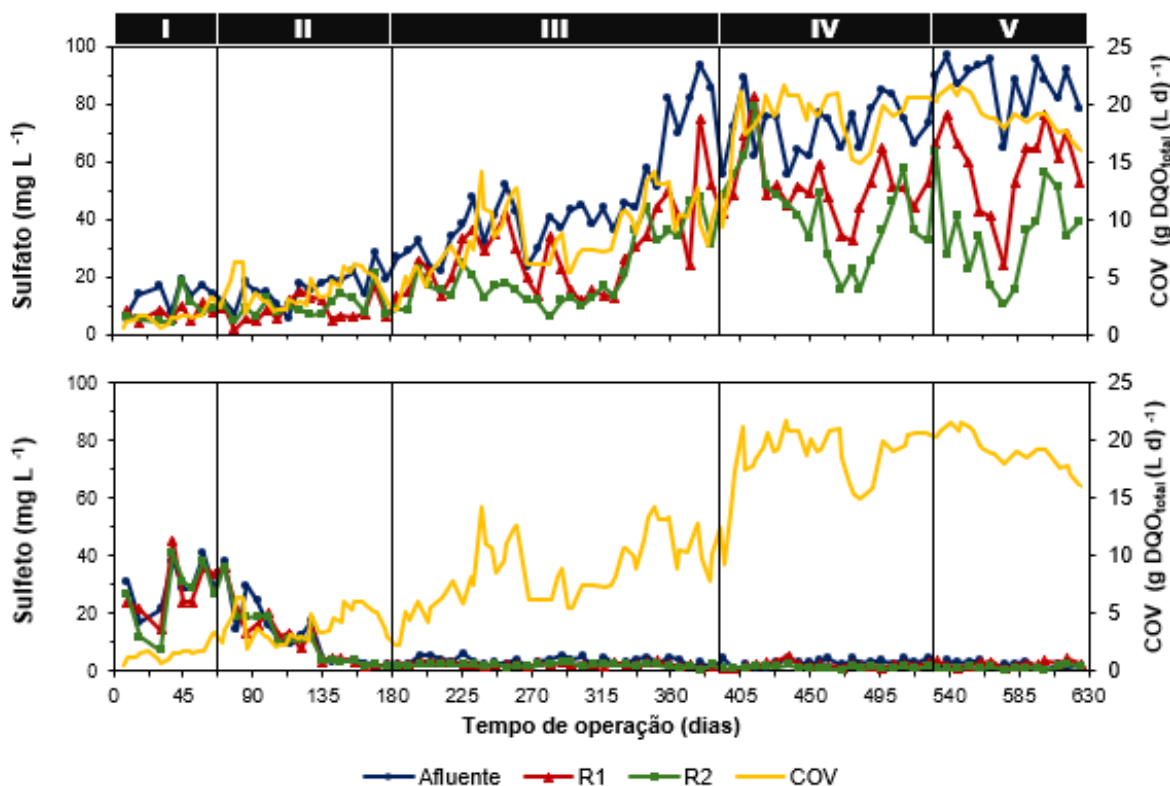


Figura 19. Concentração de sulfato e sulfeto no afluente e efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, em relação a carga orgânica volumétrica (COV), utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

A presença de sulfato (SO_4^{2-}) pode limitar o processo de metanogênese, pois grandes concentrações de sulfato favorecem o crescimento de bactérias redutoras que utilizam o sulfato como receptor de elétrons na oxidação do substrato, gerando sulfeto de hidrogênio. Esse processo pode causar corrosão em tubulações do sistema de tratamento, aumentando os custos de reparo, além de competir pelos mesmos substratos que as metanogênicas, como hidrogênio, dióxido de carbono e acetato (Chernicharo, 2016). Entretanto, as arqueias metanogênicas dependem da

produção de sulfetos para seu crescimento, evidenciando a necessidade de enxofre para o desenvolvimento bacteriano, ainda que em quantidades reduzidas (Chernicharo, 2016).

Apesar do aumento nos valores de sulfato ao longo das fases, observou-se uma tendência oposta nas concentrações de sulfeto (S^{2-}) no afluente, que diminuíram da fase I à fase V mesmo com aumento da COV (Figura 19 e Tabela 17). A inclusão do biochar na fase V pode ter favorecido a baixa concentração de sulfeto, pois o biochar tem potencial para reduzir as concentrações de sulfeto no biogás em virtude à sua capacidade de adsorção (Collins et al., 2023). Segundo Chen et al. (2008), concentrações de sulfeto dissolvido entre 100 e 800 mg L⁻¹ podem inibir microrganismos anaeróbios. As concentrações médias de sulfeto no afluente e efluentes do sistema de tratamento neste estudo foram inferiores a 100 mg L⁻¹ (Figura 19 e Tabela 17).

Tabela 17. Valores médios e coeficiente de variação (CV) da concentração de sulfato e sulfeto no afluente e efluente dos reatores UASB em série, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)	Teste F
		I	II	III	IV	V		
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630		
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7 d	3,9 c	8,9 b	19,1 a	19,4 a		
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0 e	6,8 d	14,5 c	22,8 a	19,6 b		
Sulfato (mg L ⁻¹)	Afluente	14 d	17 d	47 c	73 b	88 a	26,2	92,6**
	R1	8 c	9 c	30 b	52 a	59 a	37,9	51,5**
	R2	9 c	10 c	23 b	41 a	35 ab	43,3	20,7**
Sulfeto (mg L ⁻¹)	Afluente	29 a	12 b	4 c	3 c	2 c	48,8	47,9**
	R1	28 a	11 b	2 c	2 c	2 c	44,9	45,0**
	R2	26 a	10 b	2 c	1 c	1 c	52,2	43,9**

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01).

Os valores médios da razão DQO/SO₄²⁻ no sistema neste estudo foram bem superiores a 10 (Tabela 18). De acordo com Chernicharo (2016), uma relação maior que 10 significa que grande parte do H₂S é removido da fase líquida, minimizando seus efeitos inibitórios sobre a microbiota. Portanto, com a relação DQO/SO₄²⁻ alta, as bactérias redutoras de sulfato não são favorecidas por sua menor afinidade ao substrato, diante disso, o desempenho da metanogênese não foi impactado negativamente pela sulfetogênese e a instabilidade dos reatores não foi causada pelo sulfato.

Tabela 18. Relações de DQO/SO₄²⁻ e coeficiente de variação (CV) no afluente e efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, utilizados na codigestão melaço e torta de filtro, nas fases I a V.

Paramêtros		Fases					CV (%)
		I	II	III	IV	V	
Tempo de operação (dias)		1 a 70	71 a 184	185 a 394	395 a 530	531 a 630	
COV - R1 (g DQO (L d) ⁻¹)		1,7	3,9	8,9	19,1	19,4	
COV - R2 (g DQO (L d) ⁻¹)		3,0	6,8	14,5	22,8	19,6	
DQO/SO ₄ ²⁻	Afluente	125	254	183	246	205	
	R1	180	479	249	185	160	57,3
	R2	138	249	266	195	222	59,8

5.8. Diversidade microbiana nos reatores anaeróbios mesofílicos

A avaliação da composição microbiana foi realizada no lodo inóculo antes do início do experimento e no lodo contido nos reatores UASB, R1 e R2 nos dias 150, 442 e 630 durante as fases II, IV e V, respectivamente. A caracterização do perfil da comunidade microbiana foi conduzida em nível taxonômico de gênero, utilizando o último nível taxonômico identificável. Quando a identificação e atribuição do microrganismo ao nível de gênero não foram possíveis, o último nível disponível foi utilizado para sua classificação (por exemplo, família, ordem, classe, filo). Conforme observado por Hao et al. (2016), ainda há escassez de informações sobre a relação entre estratégias operacionais de sistemas de tratamento anaeróbio, eficiência do

processo de digestão e as populações bacterianas em níveis taxonômicos abaixo do nível de classe.

A análise do lodo inóculo revelou uma diversidade de arqueias e bactérias, identificando diferentes filos (Tabela 19 e Figura 20). As arqueias foram predominantemente representadas pelo filo Halobacterota, com 93%, destacando-seos gêneros *Methanosaeta*, *Methanobacterium* e *Methanofollis*, todos associados à etapa de degradação metanogênica (Sampaio, 2022; Dengler et al., 2022). O inóculo utilizado foi proveniente de reatores UASB em série para tratamento de vinhaça com codigestão de torta de filtro (Barros et al., 2017).

Quanto aos filos bacterianos, observou-se maior proporção de Firmicutes, com 37%, e Bacteroidota, com 28%, com destaque para os gêneros *Fastidiosipila* e *DMER64*, respectivamente (Tabela 19 e Figura 20). O primeiro filo é conhecido por sua capacidade de degradar compostos orgânicos complexos e produção de AGVs e o segundo por degradar os ácidos em acetato e hidrogênio (Garcia-Peña et al., 2011; Kadnikov et al., 2013; Kougias et al., 2017; Meng et al., 2022), incluindo proteínas e lipídios (Yao et al., 2019).

O gênero *Fastidiosipila* é composto por bactérias gram-positivas anaeróbias (Kjær Hansen et al., 2020), da família Hungateiclostridiaceae, responsáveis pela fermentação de carbono e geração de acetato e hidrogênio (Zhang et al., 2018). O *DMER64* é reconhecido como um membro ativo da comunidade bacteriana sintrófica em sistemas de digestão anaeróbia, desempenhando potencialmente benéfico na transferência de hidrogênio entre as espécies (Lee et al., 2019).

A pequena parcela do filo Desulbacterota, de 4%, com microrganismos do gênero *Desulfomicrobium* observada no lodo inóculo pode ter contribuído para valores elevados de sulfeto na fase I, visto que esses microrganismos são fermentativos e sintróficos redutores de sulfato (Liu et al., 1999). No decorrer do experimento, os sulfatos presentes nos reatores não foram completamente convertidos em sulfeto, indicando presença limitada de bactérias sulforedutoras no sistema.

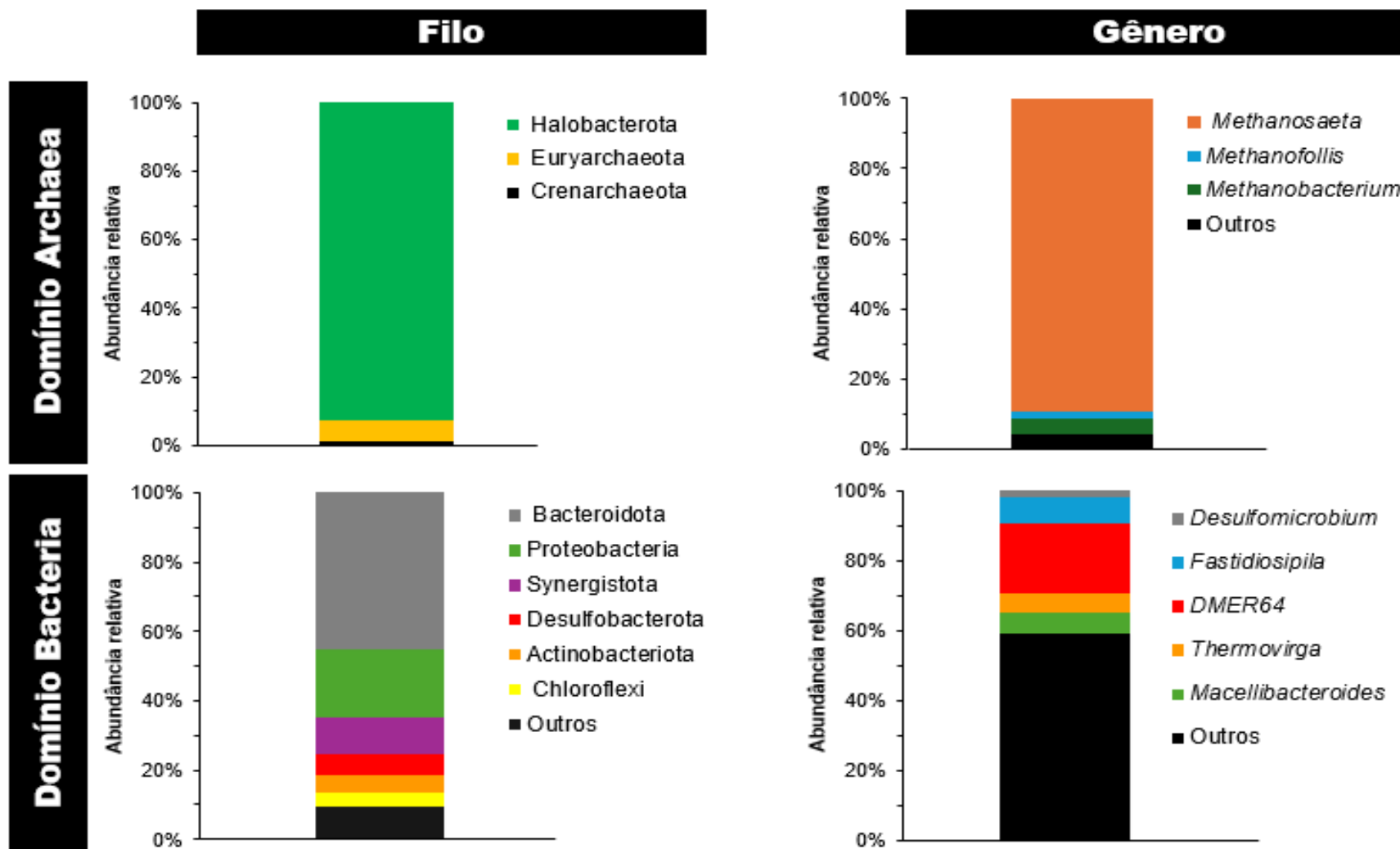


Figura 20. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo inóculo.

Tabela 19. Abundância dos principais gêneros dos domínios Archaea e Bacteria identificadas no lodo inóculo usados para partida dos reatores UASB R1 e R2, na codigestão do melaço e torta de filtro.

Domínio	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	*Etapas de degradação	Lodo
Archaea	Halobacterota	Methanosarcinia	Methanosarcinales	Methanosaetaceae	<i>Methanosaeta</i>	Metanogênese	88,7%
		Methanomicrobia	Methanomicrobiales	Methanomicrobiaceae	<i>Methanofollis</i>	Metanogênese	2,0%
		Methanosarcinia	Methanosarcinales	Methanosarcinaceae	<i>Methanosarcina</i>	Metanogênese	0,7%
		Methanomicrobia	Methanomicrobiales	Methanomicrobiaceae	<i>Methanoculleus</i>	Metanogênese	1,2%
	Euryarchaeota	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	<i>Methanobacterium</i>	Metanogênese	4,8%
		Thermococci	Methanofastidiosales	Methanofastidiosaceae	<i>Candidatus Methanofastidiosum</i>	Metanogênese	1,4%
	Crenarchaeota	Bathyarchaeia	Não classificado	Não classificado	Não classificado	Metanogênese	1,0%
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Oscillospirales	Hungateiclostridiaceae	<i>Fastidiosipila</i>	Hidrólise e acidogênese	8,0%
		Limnochordia	MBA03	Não classificado	Não classificado	Acidogênese	8,0%
		Clostridia	Proteinivoracales	Não classificado	Não classificado	Hidrólise e acidogênese	5,0%
		Bacilli	Lactobacillales	Carnobacteriaceae	<i>Trichococcus</i>	Acidogênese	3,0%
		Clostridia	Eubacteriales	Anaerofustaceae	<i>Anaerofustis</i>	Hidrólise e acidogênese	1,0%
		Clostridia	Peptococcales	Peptococcaceae	Não classificado	Hidrólise e acidogênese	1,0%
		Clostridia	Peptostreptococcales-Tissierellales	Sedimentibacteraceae	<i>Sedimentibacter</i>	Acidogênese	1,0%
	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Rikenellaceae	<i>DMER64</i>	Acetogênese	19,0%
		Bacteroidia	Bacteroidales	Tannerellaceae	<i>Macellibacteroides</i>	Acetogênese	6,0%
	Synergistota	Synergistia	Synergistales	Synergistaceae	<i>Thermovirga</i>	Acidogênese	5,0%
		Synergistia	Synergistales	Synergistaceae	Não classificado	Acidogênese	1,0%
	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	1013-28-CG33	Não classificado	Não classificado	Acidogênese	2,0%
	Desulfobacterota	Desulfovibrionia	Desulfovibrionales	Desulfomicrobiaceae	<i>Desulfomicrobium</i>	Sulfetogênese	2,0%
	Cloacimonadota	Cloacimonadia	Cloacimonadales	Cloacimonadaceae	<i>Candidatus Cloacimonas</i>	Acidogênese	1,0%
	Caldatribacteriota	Caldatribacteriia	Caldatribacteriales	Caldatribacteriaceae	<i>Candidatus Caldatribacterium</i>	Acidogênese	1,0%
	Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Não classificado	Hidrólise e acidogênese	1,0%

*Fontes: Chernicharo (2016); Barros (2017); Sampaio (2022); Sousa (2022); Albertsen et al. (2013); Wang et al. (2017); Khan et al. (2022); Jin et al. (2024); Carlton et al. (2023); Pilaska (2018); Zhang et al. (2023); Meng et al. (2022); Liu et al. (1999) e Yi et al. (2014).

Na fase II, após um período de adaptação, foi realizada uma nova coleta de lodo dos reatores para análise. No domínio Archaea, observou-se maior abundância do filo Euryarchaeota, seguido do filo Halobacterota. No domínio Bacteria, observou-se maior abundância dos filos Firmicutes, Actinobacteriota, Bacteroidota, Spirochaetota, Chloroflexi, Patescibacteria, Proteobacteria e Armatimonadota (Tabela 20 e Figura 21).

O filo Halobacterota diminuiu no sistema, apresentando 22% no R1 e 28% no R2, predominando os gêneros *Methanosaeta* e *Methanosarcina*. *Methanosaeta* é estritamente anaeróbio, utilizando apenas acetato como fonte de energia para crescimento, produzindo metano e dióxido de carbono como subprodutos (Kong et al., 2018). *Methanosarcina*, por sua vez, é mais versátil, pode metabolizar hidrogênio e acetato (Kong et al., 2018). Além disso, a baixa presença de *Methanosaeta* no UASB, comparado ao do lodo inóculo, pode ser atribuída à sua taxa de crescimento excepcionalmente lenta observada durante a operação com uma TDH de apenas 1 dia (Liu et al., 2011). Embora o TDH curto tenha sido inicialmente considerado um fator limitante para o crescimento de *Methanosaeta*, o alto TRS esperado em reatores de alta taxa, sugere que o tempo de crescimento não seria o principal problema. Neste caso, a concentração de acetato, devido ao aumento da COV, parece ser uma explicação mais plausível para o predomínio de *Methanosarcina* sobre *Methanosaeta* nos reatores.

O filo Euryarchaeota aumentou, com 78% no R1 e 72% no R2, provavelmente em virtude do aumento nas concentrações de AVT no sistema. Esse filo é mais tolerante a mudanças no sistema e responsável por converter AGV em metano (Zhang et al., 2022). Grande parcela do gênero encontrado no R1 e R2 foi *Methanobacterium*, predominantemente em digestores anaeróbios operados na faixa mesofílica de temperatura e composto por arqueias hidrogenotróficas (Chernicharo, 2016), indicando que o rendimento de metano foi favorecido pela transferência direta de elétrons (Langxian et al., 2024).

Estudos de Gao et al. (2024) demonstraram um enriquecimento de metanogênicos do gênero *Methanobacterium* no sistema de digestão anaeróbia em condições ácidas, produzindo metano apenas através de hidrogênio ou ácido

fórmico. Diante disso, o consumo de hidrogênio no sistema, o manteve sob baixa pressão parcial, promovendo a oxidação de AGV difíceis de degradar, como o ácido propiônico e o ácido butírico, aumentando a produção de metano (Toumi et al., 2015), uma vez que estes microrganismos estão envolvidos principalmente na transferência de hidrogênio entre espécies (Liu et al., 2022).

A análise do conjunto de bactérias revelou os principais filos, destacando-se Firmicutes, com predominância de 27% no R1 e 33% no R2 (Tabela 20 e Figura 21). De acordo com Sampaio (2022), a presença predominante desses filos parece ser preferencial para a digestão anaeróbia de resíduos ricos em matéria orgânica, como o melaço e torta de filtro. Além disso, foi observada a presença do filo Actinobacteriota, com 20% no R1 e 17% no R2, e pequenas porções dos filos Spirochaetota, Chloroflexi, Bacteroidota, Patescibacteria e Armatimonadota. A maioria das bactérias acidogênicas é representada pelos filos Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Chloroflexi e Actinobacteria (Leng et al., 2018), e pelo filo Spirochaetota (Yang et al., 2020). O aumento da concentração de AGV na fase II provavelmente tornou o ambiente favorável para o desenvolvimento desses microrganismos acidogênicos.

O filo Firmicutes é capaz de produzir AGV e pequenas quantidades de hidrogênio usando frutose ou glicose como substratos (Vos et al., 2009). Segundo Mordenti et al. (2021), o melaço é composto por 30–40% de sacarose, 4–9% de glicose e 5–12% de frutose, o que pode ter favorecido a presença desse filo. O gênero *Cryptanaerobacter* do filo Firmicutes, foi mais abundante no R2. Segundo Wu et al. (2022), este gênero está envolvido na degradação do propionato em acetato. O filo Chloroflexi é destacado em condições mesofílicas e em menores abundâncias em condições termofílicas (Guo et al., 2014), sendo o principal gênero *Anaerolineaceae* UCG-001 e *Leptolinea*, da família Anaerolineaceae, responsáveis pela hidrólise de orgânicos macromoleculares, produzindo acetato e hidrogênio (Yi et al., 2014).

O filo Patescibacteria é considerado fermentativo hidrolítico (Liu et al., 1999). No R2, houve uma grande proporção do gênero *TM7a* do filo Patescibacteria, conhecido por seu metabolismo fermentativo e envolvido na degradação de

compostos orgânicos complexos (Albertsen et al., 2013), visto que as maiores COVs durante a fase II era no R2. O filo Armatimonadota é conhecido por degradar compostos complexos de carbono, realizando acidogênese e participando da ciclagem de nitrogênio e enxofre (Carlton et al., 2023). Os gêneros presentes do filo Actinobacteriota foi *Bifidobacterium*, também conhecido por ser fermentativo hidrolítico (Pilarska, 2018) e *Actinomyces*, produtor de AGV (Wang et al., 2017). Já a presença do filo Spirochaetota, da família Spirochaetaceae, consistem em bactérias produtoras de ácido acético que são capazes de oxidação heterotrófica do ácido acético e podem colaborar com bactérias metanogênicas hidrogenotróficas (Zhang et al., 2023).

As abundâncias relativas de bactérias oxidantes de acetato (por exemplo, Spirochaetaceae) e arqueias metanogênicas (por exemplo, *Methanobacterium*, *Methanosarcina* e *Methanosaeta*) está associada ao fato de a transferência direta de elétrons entre espécies ser favorável à metanogênese sintrófica (Zhu et al., 2022). Para as comunidades microbianas da família Bacteroidetes_vadinHA17 e do gênero *Methanobacterium* observados na tabela 20, ambos eletroativos, a transferência direta de elétrons entre espécies pode ser estabelecida para promover a produção de metano, melhorando assim o desempenho da digestão anaeróbica (Jin et al., 2024).

No domínio Bacteria, De Vrieze et al. (2014) trabalhando com digestão anaeróbia de melaço por meio de um biorreator anaeróbio de membrana submersa vibratório e não vibratório, observaram que as populações bacterianas dominantes pertenciam aos filos Actinobacteria, Bacteroidetes e Firmicutes. Khan et al. (2022) relataram uma alta concentração da família Anaerolineaceae, seguida por Bacteroidetes_vadinHA17 e Propionibacteriaceae, conforme também observado neste estudo.

Na fase IV, uma nova análise do lodo foi realizada após o distúrbio no sistema na fase III, em virtude do acúmulo de AGV não convertido em biogás. Este acúmulo de AGV pode ter afetado a capacidade das células microbianas de manter o pH interno, resultando em um baixo nível de ATP intracelular e, conseqüentemente, inibição da absorção do substrato (Singh et al., 2010), o que provavelmente ocorreu

neste estudo, já que na fase III foram obtidos baixos valores de PVM. De acordo com Bahadur et al. (2024), o aumento de AGV teve impacto significativo na alteração da diversidade de comunidades microbianas responsáveis por várias vias funcionais. Assim, observou-se um aumento significativo no filo Halobacterota, representando 65% e 58% no R1 e R2, respectivamente, juntamente com o consumo de AGV no sistema, indicando que as arqueias acetoclásticas metanogênicas estavam ativas. Em contrapartida, houve redução no filo Euryarchaeota, com 35% no R1 e 41% no R2, provavelmente devido à estabilidade dos reatores, como a baixa na concentração de AVT (Tabela 20 e Figura 23).

O gênero predominante foi *Methanosarcina*, metanogênica acetoclástica, seguido por *Methanobacterium* em ambos os reatores. O aumento na presença de *Methanosarcina* pode ter sido influenciado pela maior capacidade de desenvolver em reatores mais robustos, com maior taxa máxima de crescimento específico e melhor tolerância do sistema (Menezes et al., 2023). Além disso, *Methanosarcina* tem uma alta tolerância a muitos fatores adversos, incluindo altos níveis de sal, amônia e carga orgânica (Yamamoto-Ikemoto, 2023), conforme observado neste estudo. De Vrieze et al. (2016) investigaram a alta salinidade nas águas residuais do melaço, que alterou a digestão anaeróbica para a produção de carboxilato. Os autores também relataram a presença das famílias Methanosaetaceae, Methanosarcinaceae e Methanobacteriaceae, demonstrando a coexistência de metanogênios acetoclásticos e hidrogenotróficos, assim tendo ambas as vias para produção de metano.

Na figura 22 deste estudo, foram observadas características semelhantes à desses organismos presentes no grânulo de lodo inóculo, nos reatores das fases II e IV. A morfologia do gênero *Methanosaeta* geralmente apresenta forma de bastonetes longos e delgados, podendo formar filamentos ou agregados celulares (Najafpour et al., 2006; Chernicharo, 2016). Estudos de Gao et al. (2023) indicam que os microrganismos do gênero *Methanobacterium* também têm formato de bastonete. Por outro lado, os microrganismos do gênero *Methanosarcina* possuem formato de cocos, que podem se agregar formando “pacotes” (Chernicharo, 2016).

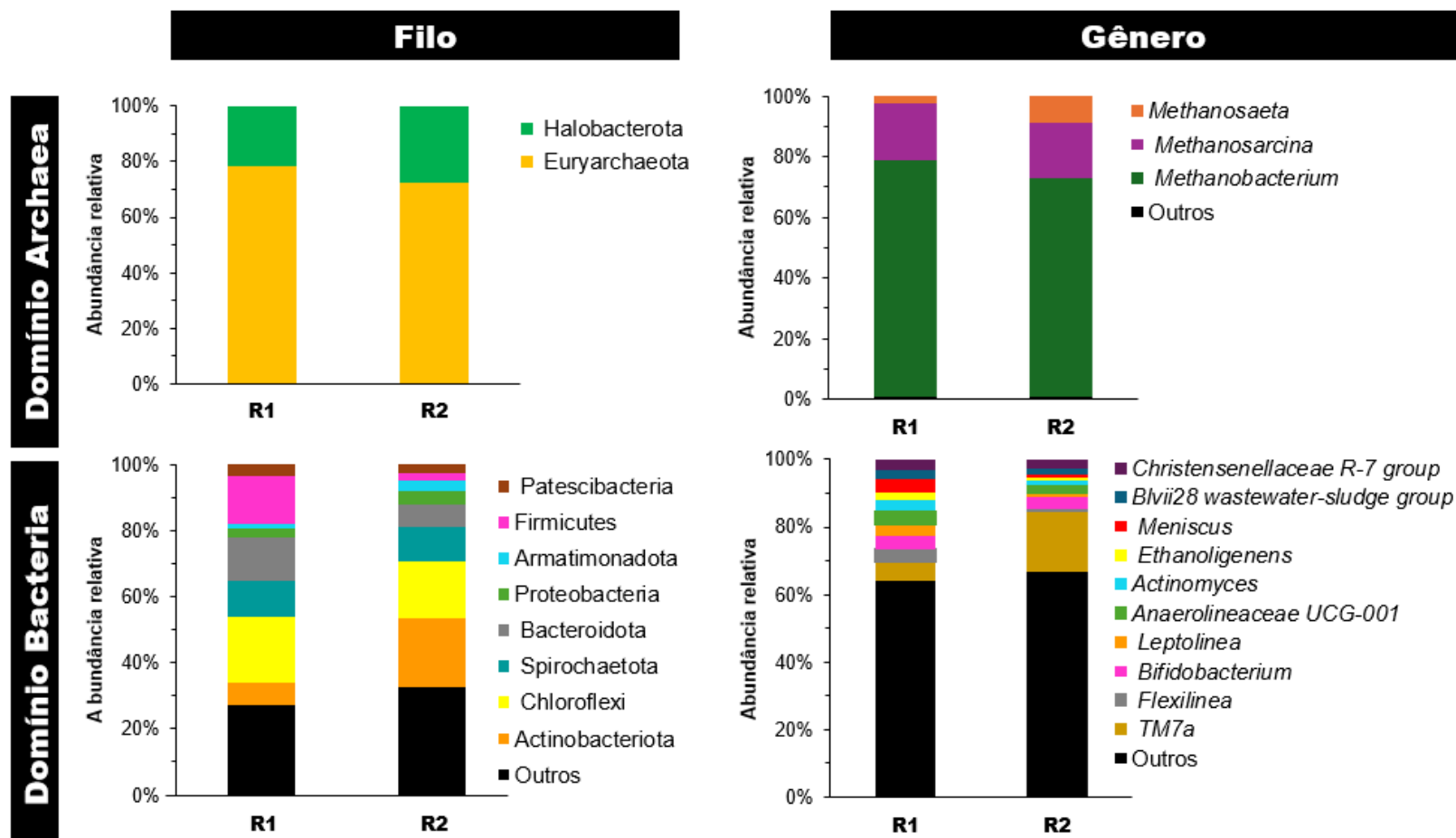


Figura 21. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo dos reatores UASB R1 e R2, na fase II, utilizados na codigestão de melaço e torta de filtro.

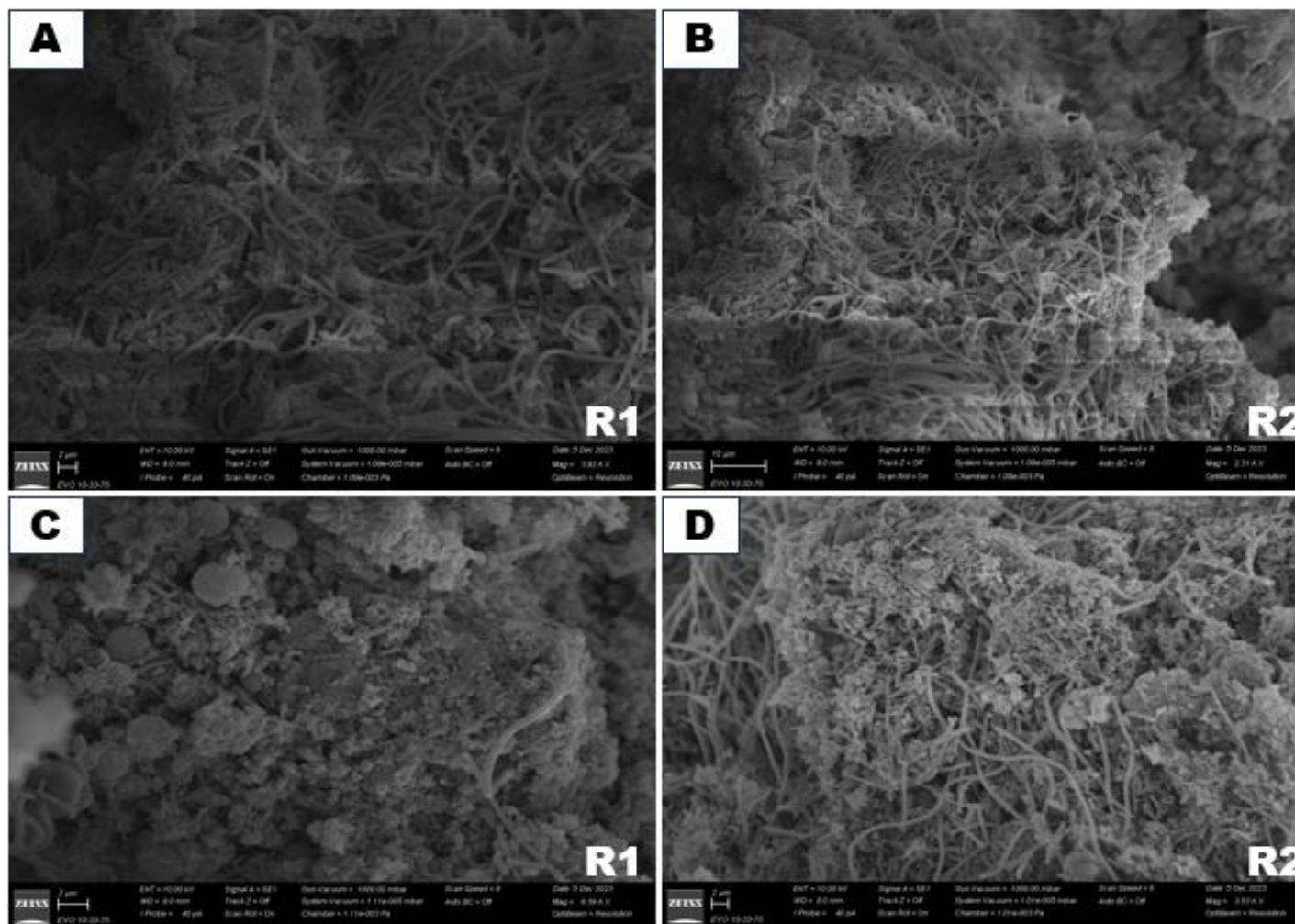


Figura 22. Eletromicrografia morfológica superficial do lodo dos reatores anaeróbios R1 e R2 na fase II (A e B) e fase IV (C e D) da digestão anaeróbia do melaço e torta de filtro, visualizadas por MEV (Evo 10-33-75–ZEISS), com tensão de aceleração de 10,0 kV e ampliação de 3,53 kx (A), 2,31 kx (B), 6,39 kx (C) e 3,92 kx (D).

Em relação aos principais filos de bactérias observados foi encontrado em maior porcentagem a Patescibacteria, com 25% e 22% em R1 e R2, respectivamente, seguido por Actinobacteriota, Firmicutes, Chloroflexi, Armatimonadota e Bacteroidota. A composição bacteriana apresentou uma leve diminuição do filo Firmicutes ao longo do experimento, possivelmente devido a variações nas condições operacionais do sistema, competição por nutrientes ou interações entre diferentes grupos de microrganismos. O gênero predominante foi *TM7a*, do filo Patescibacteria, cuja presença aumentou em comparação com a fase II, explicado pelo provável aumento da COV. Outro gênero observado foi *Flexilinea*, do filo Chloroflexi, estritamente anaeróbico e gram-negativo (Sun et al., 2016), oriundo da família Anaerolineaceae (Tabela 20 e Figura 23). Essas bactérias fermentam glicose, resultando em hidrogênio e AGV (Yamada et al., 2006; Tian et al., 2021), servindo como substratos para a produção de metano pela *Methanosarcina*, contribuindo para os altos valores de PVM.

Ao final do experimento, na fase V, após 630 dias de operação com o uso de biochar de torta de filtro, foi realizada uma nova análise do lodo em ambos os reatores (R1 e R2). No domínio Archaea, o filo Euryarchaeota foi predominante, com 90% no R1 e 96% no R2. Observou-se uma redução do filo Halobacterota no sistema, com abundância relativa de 10% no R1 e 3% no R2, e uma pequena parcela de Thermoplasmatota no R2. Do domínio Bacteria, observaram-se os filos Actinobacteriota, Firmicutes, Bacteroidota, Chloroflexi, Patescibacteria, Verrucomicrobiota, Desulfobacterota e Synergistota (Figura 25 e Tabela 20).

Em ambos os reatores, o gênero predominante foi *Methanobacterium*, com aproximadamente 90% no R1 e 96% no R2, do filo Euryarchaeota, seguido por *Methanosarcina* no R1, com 9%, e *Methanosaeta* no R2 com 3%, do filo Halobacterota (Figura 25 e Tabela 20). *Methanobacterium*, um metanogênio hidrogenotrófico típico, é capaz de reduzir CO₂ e produzir metano utilizando formiato ou H₂ como doadores de elétrons (Sun et al., 2021; Zhang e Wang, 2021).

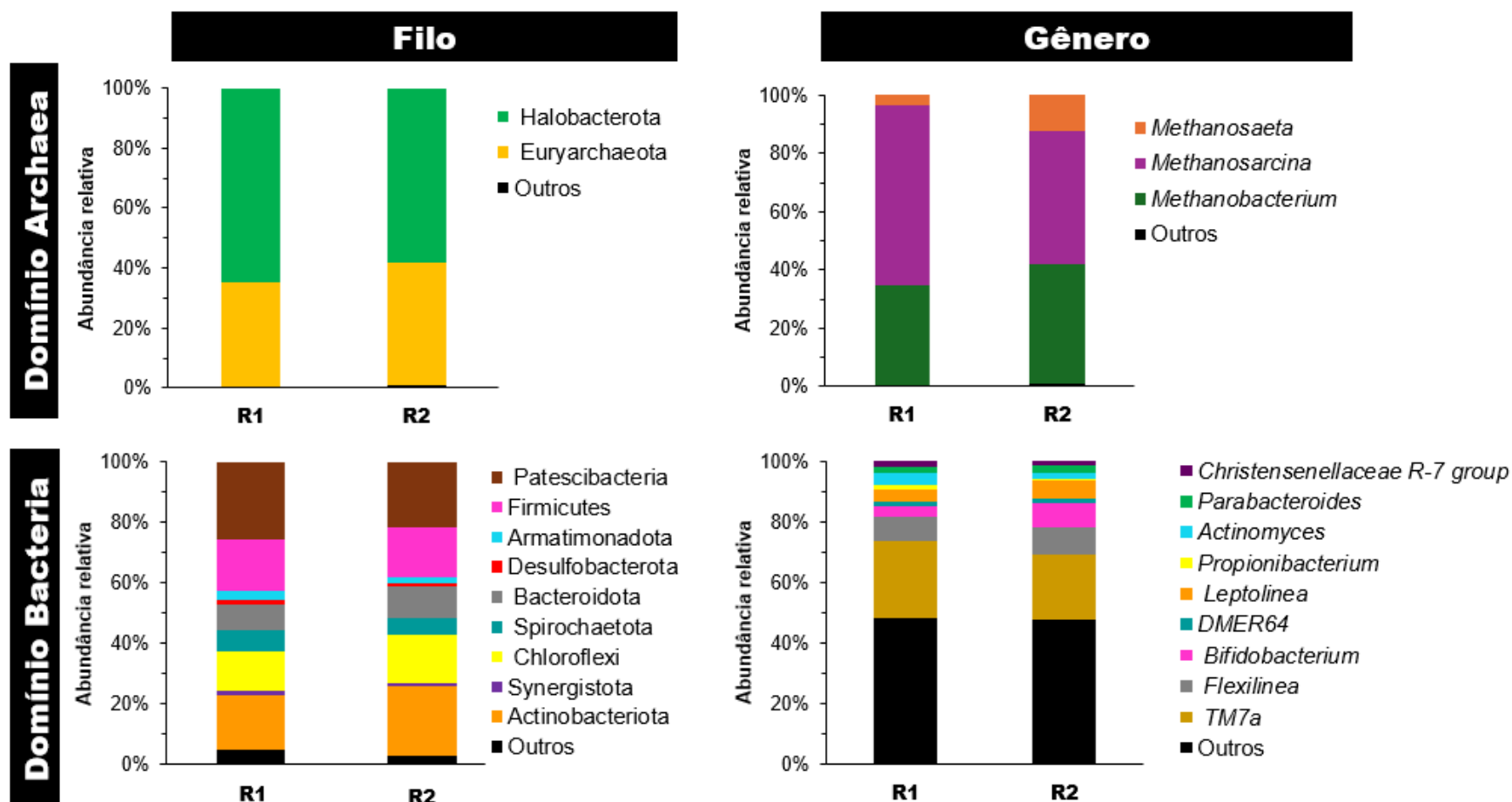


Figura 23. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo dos reatores UASB R1 e R2, na fase IV, codigerindo melaço e torta de filtro.

A presença de grupos funcionais na superfície do biochar desempenhou um papel importante na transferência de elétrons entre espécies microbianas (Yuan et al., 2018), permitindo relações sintróficas com oxidantes de ácidos orgânicos (Zhang et al., 2022).

Embora Rotaru et al. (2014) tenham sugerido que *Methanobacterium* não aceita elétrons diretamente de bactérias sintróficas, Zhang et al. (2024) demonstraram que ele pode receber elétrons diretamente de *Desulfovibrio*, um gênero acetogênico que converte AGVs em acetato (Wag et al., 2021). Além disso, o *Syntrophomonas*, um gênero acetogênico observado na fase V, também converte AGVs em acetato e hidrogênio e promove a transferência de elétrons entre espécies metanogênicos acetoclásticos, como a *Methanosaeta* e *Methanosarcina*, que podem participar da transferência direta de elétrons, utilizando materiais condutores para produzir metano. (Zhao et al., 2018; Zhang et al., 2020; Feng et al., 2023; Pang et al., 2024), como o uso de biochar.

A principal via metanogênica identificada foi a hidrogenotrófica. Segundo Chicaiza-Ortiz et al. (2025), o biochar facilita a atividade microbiana ao promover a transferência de elétrons, aumentando significativamente a metanogênese hidrogenotrófica. Além disso, o biochar não apenas forneceu espaços intersticiais físicos para colonização microbiana, mas também melhora a retenção de CO₂, potencializando a produção de metano (Bovsun et al., 2021), garantindo os maiores valores de PVM observados na fase V.

Os filos do domínio Bacteria mais abundante foram Actinobacteriota, com aproximadamente 79% no R1 e 68% no R2, seguido de Firmicutes, Bacteroidota e Chloroflexi (Figura 25 e Tabela 20), sendo esses filos comuns no sistema de digestão anaeróbica (Duan et al., 2023). O filo Actinobacteriota tem capacidade de degradar monossacarídeos e polissacarídeos, além de exibirem atividade eletroquímica, permitindo a transferência de elétrons durante o metabolismo (Kutlar, Tunca e Yilmazel, 2022). O aumento da abundância relativa dessas bactérias, correlaciona-se com melhor desempenho do biochar, que atua como facilitador na condução de elétrons. Essa interação melhora a eficiência na degradação, pois

estabelece uma via eficiente de transferência de elétrons entre as bactérias e os compostos poluentes (Ma et al., 2024).

O gênero *Actinomyces*, pertencente ao filo Actinobacteriota, apresentou a maior abundância relativa, com aproximadamente 59% no R1 e 47% no R2, quando o biochar foi utilizado (Figura 25 e Tabela 20). Este gênero desempenha um papel fundamental na conversão de substratos em AGVs, que são posteriormente transformados em metano por microrganismos metanogênicos, como *Methanobacterium* e *Methanosarcina* (Tyagi et al., 2021). Essa interação pode melhorar as vias de biometanação (Xie et al., 2022). A alta abundância de *Actinomyces* pode estar associada ao aumento da COV e adição de biochar, que retém nutrientes essenciais, como matéria orgânica, fornecendo carbono prontamente disponíveis, favorecendo o crescimento desses microrganismos. Os *Actinomyces* se destacam na decomposição de matéria orgânica e na produção de AGVs, beneficiando-se diretamente das propriedades físicas e químicas do biochar. Dias et al. (2010) observaram que o biochar também atua como fonte de matéria orgânica, promovendo de forma eficaz o crescimento microbiano, o que pode ter contribuído para o aumento da abundância desse gênero durante a fase V.

O gênero *Streptococcus*, do filo Firmicutes, também foi observado com aproximadamente 9% no R1 e 20% no R2 (Figura 25 e Tabela 20). Os *Streptococcus* são representados por bactérias fermentadoras facultativas capazes de fermentar glicose em AGVs, como ácido lático como produto principal e ácidos acético e fórmico como produtos menores (García-Depraect et al., 2019; Zhang et al., 2024). A presença de *Streptococcus* pode contribuir para o aumento da produção de hidrogênio devido ao seu efeito sinérgico (Song et al., 2021). Lei et al. (2016) relataram que *Streptococcus* e *Syntrophomonas* pode estabelecer uma interação sintrófica baseada em transferência direta de elétrons com metanogênicos hidrogenotróficos, como *Methanobacterium*, também observada neste estudo durante a fase V. Assim, esses microrganismos se tornaram componentes significativos da comunidade microbiana no experimento, contribuindo para a oxidação eficiente de AGVs por meio da transferência de elétrons.

O gênero *Blvii28 wastewater-sludge group*, do filo Bacteroidota, com aproximadamente 6% no R1 e 3% no R2 (Figura 25 e Tabela 20), é um anaeróbio estrito que fermenta carboidratos em acetato, com CO₂ e H₂ como produtos finais, fornecendo substratos para metanogênios hidrogenotróficos e acetoclásticos (Maza-Márquez et al., 2023). Esse grupo também foi relatado como capaz de permitir a oxidação de AGVs e facilitar a transferência de elétrons para bactérias produtoras de metano (He et al., 2022; Usman et al., 2021). Dessa forma, o *Blvii28 wastewater-sludge group* estabelece uma relação sintrófica, atuando como doador de elétrons para a metanogênese.

O crescimento do gênero *Longilinea*, pertencente ao filo Chloroflexi, com abundância de aproximadamente 1% no R1 e 2% no R2 (Figura 25 e Tabela 20), desempenha um papel fundamental na degradação de matéria orgânica e na produção de propionato e hidrogênio, processos essenciais para a metanogênese hidrogenotrófica em sistemas anaeróbios. Durante a digestão anaeróbia, a abundância relativa de *Longilinea* aumentou, favorecendo a degradação do propionato no lodo e intensificando a produção de hidrogênio, o que contribui diretamente para a atividade dos metanogênicos hidrogenotróficos (Yamada et al., 2007). O biochar desempenha um papel importante nesse contexto, enriquecendo microrganismos funcionais como *Longilinea*, o que promove a fermentação, a degradação orgânica e, conseqüentemente, uma maior produção de metano devido à melhoria na eficiência metabólica (Yang et al., 2024).

Portanto, o uso do biochar aprimorou a digestão anaeróbia por suas propriedades físico-químicas, como porosidade e grupos funcionais, que estimularam a diversidade microbiana e a transferência de elétrons, favorecendo interações sintróficas entre microrganismos. Isso resultou em maior degradação orgânica e produção de metano, evidenciando seu potencial no processo.

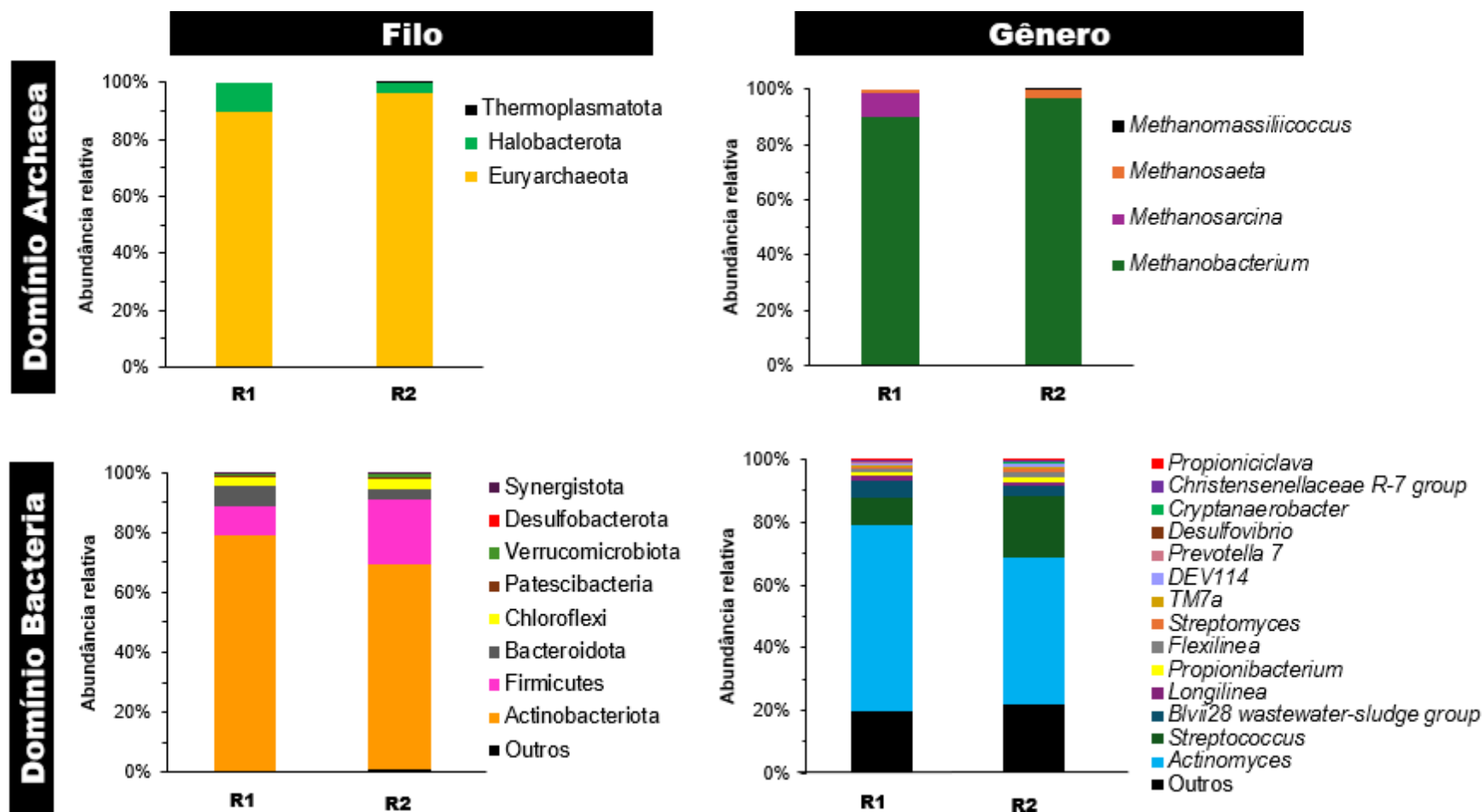


Figura 24. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos e gêneros dos domínios Bacteria e Archaea do lodo dos reatores UASB R1 e R2, na fase V, codigerindo melaço e torta de filtro.

Tabela 20. Abundância dos principais gêneros das bactérias e aqueias identificadas no lodo dos reatores UASB R1 e R2 nas fases II, IV e V do tratamento anaeróbio do melaço.

Domínio	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	*Etapas de degradação	Fase II		Fase IV		Fase V	
							R1	R2	R1	R2	R1	R2
Archaea	Halobacterota	Methanosarcinia	Methanosarcinales	Methanosaetaceae	<i>Methanosaeta</i>	Metanogênese	2,0%	9,0%	4,0%	13,0%	1,3%	3,0%
		Methanosarcinia	Methanosarcinales	Methanosarcinaceae	<i>Methanosarcina</i>	Metanogênese	19,0%	19,0%	61,0%	45,0%	9,0%	0,4%
	Euryarchaeota	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	<i>Methanobacterium</i>	Metanogênese	78,0%	72,0%	35,0%	41,0%	89,7%	96,4%
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Christensenellales	Christensenellaceae	<i>Christensenellaceae R-7 group</i>	Hidrólise e acidogênese	3,0%	3,0%	2,0%	1,0%	0,3%	0,3%
		Negativicutes	Acidaminococcales	Acidaminococcaceae	Não classificado	Acidogênese	2,0%	1,0%	1,0%	3,0%	0,3%	0,2%
		Clostridia	Peptococcales	Peptococcaceae	Não classificado	Acidogênese	1,0%	1,0%	2,0%	1,0%	0,0%	0,0%
		Bacilli	Lactobacillales	Carnobacteriaceae	<i>Trichococcus</i>	Acidogênese	1,0%	2,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%
		Desulfotomaculia	Desulfotomaculales	Pelotomaculaceae	<i>Cryptanaerobacter</i>	Hidrólise e acidogênese	1,0%	8,0%	0,0%	1,0%	0,1%	0,5%
		Clostridia	Oscillospirales	Ethanoligenenaceae	<i>Ethanoligenens</i>	Acidogênese	2,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
		Clostridia	Oscillospirales	UCG-010	Não classificado	Acidogênese	1,0%	0,0%	2,0%	2,0%	0,0%	0,0%
		Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	<i>Leuconostoc</i>	Acidogênese	1,0%	2,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
		Negativicutes	Acidaminococcales	Acidaminococcaceae	<i>Unclassified</i>	Acidogênese	1,7%	0,7%	1,4%	3,2%	0,3%	0,2%
		Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	Hidrólise e acidogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	8,5%	19,7%
		Syntrophomonadia	Syntrophomonadales	Syntrophomonadaceae	<i>Syntrophomonas</i>	Acetogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%
		Clostridia	Christensenellales	Christensenellaceae	Não classificado	Acidogênese	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	0,0%	0,1%
	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidetes vadinHA17	Não classificado	Acidogênese	1,0%	4,0%	1,0%	1,0%	0,1%	0,1%
		Bacteroidia	Bacteroidales	Rikenellaceae	<i>DMER64</i>	Acetogênese	0,0%	0,0%	2,0%	2,0%	0,1%	0,1%
		Bacteroidia	Bacteroidales	Prolixibacteraceae	<i>Meniscus</i>	Acidogênese	4,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
		Bacteroidia	Bacteroidales	Williamwhitmaniaceae	<i>Blvii28 wastewater-sludge group</i>	Acidogênese	3,0%	2,0%	0,0%	0,0%	5,8%	2,8%
		Bacteroidia	Bacteroidales	Prevotellaceae	<i>Prevotella 7</i>	Hidrólise e acidogênese	0,0%	0,0%	0,6%	2,0%	0,6%	0,3%
		Bacteroidia	Sphingobacteriales	Lentimicrobiaceae	Não classificado	Acidogênese	1,0%	0,6%	0,0%	0,0%	0,4%	0,3%
		Bacteroidia	Bacteroidales	Tannerellaceae	<i>Parabacteroides</i>	Acidogênese	0,0%	0,0%	2,0%	3,0%	0,0%	0,0%

Continuação Tabela 20.

	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	Não classificado	Acidogênese	7,0%	9,0%	6,0%	9,0%	16,6%	17,6%
		Actinobacteria	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	<i>Bifidobacterium</i>	Hidrólise e acidogênese	4,0%	4,0%	3,0%	8,0%	0,1%	0,3%
		Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae	<i>Actinomyces</i>	Hidrólise e acidogênese	3,0%	1,0%	4,0%	2,0%	59,4%	47,3%
		Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	Hidrólise e acidogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,6%	1,2%
		Actinobacteria	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	<i>Propioniciclava</i>	Hidrólise e acidogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,3%
		Actinobacteria	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	<i>Acidipropionibacterium</i>	Acidogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,2%
		Actinobacteria	Corynebacteriales	Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>	Hidrólise e acidogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%
		Actinobacteria	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	<i>Propionibacterium</i>	Acidogênese	0,0%	0,0%	2,0%	1,0%	1,4%	1,3%
	Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	<i>Flexilinea</i>	Hidrólise e acidogênese	4,0%	1,0%	8,0%	9,0%	0,8%	1,6%
		Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	<i>Leptolinea</i>	Hidrólise e acidogênese	3,0%	1,0%	4,0%	6,0%	0,2%	0,1%
		Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	<i>Longilinea</i>	Acidogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,4%	1,5%
		Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	<i>Anaerolineaceae UCG-001</i>	Hidrólise e acidogênese	4,0%	3,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	Não classificado	Acidogênese	15,0%	2,0%	6,0%	3,0%	0,1%	0,1%
		Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Sphaerochaeta</i>	Acidogênese	0,0%	0,0%	1,0%	2,0%	0,0%	0,0%
	Desulfobacterota	Desulfovibrionia	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae	<i>Desulfovibrio</i>	Acetogênese	0,0%	0,0%	1,3%	0,6%	0,3%	0,1%
		Syntrophobacteria	Syntrophobacteriales	Syntrophobacteraceae	<i>Syntrophobacter</i>	Acetogênese	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%
	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	Saccharimonadaceae	<i>TM7a</i>	Hidrólise e acidogênese	5,3%	17,8%	25,4%	21,5%	0,7%	0,8%
	Armatimonadota	Não classificado	Não classificado	Não classificado	Não classificado	Hidrólise e acidogênese	3,0%	2,0%	3,0%	2,0%	0,1%	0,1%
	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiae	Pedosphaerales	Pedosphaeraceae	<i>DEV114</i>	Hidrólise	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,7%
	Planctomycetota	Planctomycetes	Pirellulales	Pirellulaceae	Não classificado	Hidrólise	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,3%
	Synergistota	Synergistia	Synergistales	Synergistaceae	<i>Lactivibrio</i>	Acidogênese	0,0%	0,0%	1,2%	0,9%	0,1%	0,1%

*Fontes: Chernicharo (2016); Barros (2017); Sampaio (2022); Sousa (2022); Albertsen et al. (2013); Wang et al. (2017); Khan et al. (2022); Jin et al. (2024); Carlton et al. (2023); Pilaska (2018); Zhang et al. (2023); Meng et al. (2022); Liu et al. (1999); Yi et al. (2014); Tyagi et al. (2021); García-Depraect et al. (2019); Zhang et al. (2024); Maza-Márquez et al. (2023); Yamada et al. (2007); Yang et al. (2024).

5.8.1. Predição de funções metabólicas

As funções metabólicas foram listadas em ordem decrescente de abundância relativa, apresentando pouca ou nenhuma variação entre as amostras de lodo inóculo e dos reatores R1 e R2, durante as fases II, IV e V (Figura 26). As predições metabólicas incluíram metabolismo de aminoácidos, biossíntese de outros metabólitos secundários, metabolismo de carboidratos, metabolismo energético, biossíntese e metabolismo de glicanos, metabolismo de lipídios, metabolismo de cofatores e vitaminas, metabolismo de outros aminoácidos, metabolismo de terpenoides e poliquetídeos, metabolismo de nucleotídeos e biodegradação e metabolismo de xenobióticos.

Neste estudo, as vias de metabolismo de carboidratos foram predominantes, seguidas pelo metabolismo de aminoácidos, energético, de vitaminas e de nucleotídeos. O metabolismo de carboidratos envolve a degradação e fermentação de carboidratos e são responsáveis pela conversão de açúcares e aminoácidos em AGVs, H_2 , CO_2 e amônia (Le et al., 2024). Normalmente, o melaço de cana-de-açúcar é rico em carboidratos, como sacarose, glicose e frutose, além de conter ácidos orgânicos, aminoácidos, vitaminas e minerais (Sahu, 2018; Sen, Hussin e Baidurah, 2019). Algumas bactérias tendem a utilizar compostos orgânicos simples, como glicose, enquanto um pequeno número de bactérias pode utilizar compostos mais complexos, como aminoácidos, carboidratos, coenzimas, nucleotídeos e vitaminas (Hu et al., 2023).

Em trabalhos anteriores, foi observado que a glicose pode ser convertida em piruvato via glicólise (Schröder et al., 1994), e o piruvato pode ser posteriormente convertido em acetil-CoA (Xiao et al., 2021), assim como os aminoácidos (Zhu et al., 2024). O piruvato e o acetil-CoA são intermediários importantes na produção de metano. Estudos de Ma et al. (2023) mostraram que, para arqueas, o metabolismo energético foi significativamente melhor do que para as bactérias devido à sua função de produção de metano. Além disso, o metabolismo energético é essencial para a manutenção do metabolismo básico das células, por exemplo, metanogênicos (Borrel et al., 2016). Os cofatores, vitaminas e aminoácidos são

componentes essenciais para o bem-estar celular, explicando sua participação relevante (Heyer et al., 2019). Vários cofatores e vitaminas servem como transportadores de elétrons cruciais que desempenham papéis significativos na transferência de elétrons extracelulares, por exemplo, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP) e riboflavina (vitamina B2) (Zou et al., 2021), além disso, NAD e NADP são cruciais para processos de metabolismo energético (Ordinola-Zapata et al., 2023).

Estudos de Wang et al. (2024), trabalhando com o efeito do supressor de poeira microbiana à base de melaço na comunidade microbiana do solo, mostraram que o melaço afetou significativamente a abundância relativa da comunidade microbiana, otimizando a estrutura e melhorando as funções das vias de metabolismo de carboidratos e energia. Hu et al. (2023), investigando interações sinérgicas entre células de combustível microbiana e tecnologia de precipitação de carbonato induzida por micróbios com melaço como substrato, observaram vias de biossíntese e metabolismo de glicanos, essenciais para a degradação do melaço. Esses autores também observaram a via de biossíntese de outros metabólitos secundários, resultantes de várias reações anabólicas e catabólicas das estruturas celulares, um processo derivado do metabolismo primário, que origina os metabólitos primários indispensáveis à vida celular (carboidratos, proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos) (Delbone e Lando, 2010).

Além disso, foi observada a presença do metabolismo de terpenoides e poliquetídeos. Estes são importantes grupos de metabólitos secundários produzidos por uma variedade de organismos (Ram e Misra, 2021; Smanski, Peterson e Shen, 2012). Segundo Wikandari et al. (2013), os terpenoides podem inibir a produção de metano, enquanto os poliquetídeos possuem um processo de biossíntese semelhante ao dos ácidos graxos a partir de moléculas carboxílicas de cadeia curta (Rawlings, 1997; Keller et al., 2005).

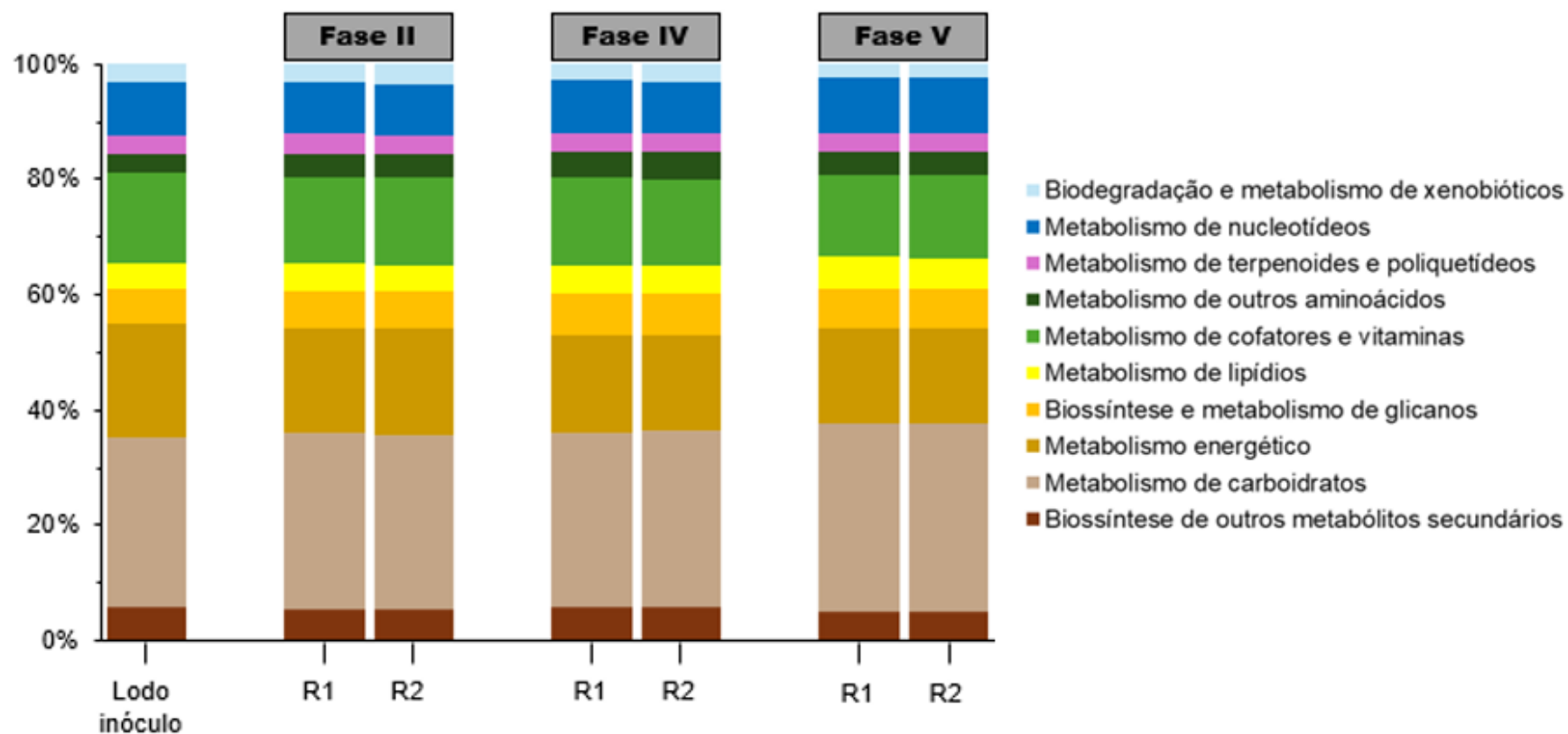


Figura 25. Predição funcional das principais vias metabólicas nas amostras lodo inóculo e dos reatores UASB R1 e R2 na fase II, IV e V, codigerindo melaço e torta de filtro.

Portanto, os resultados deste estudo demonstram que a digestão anaeróbia do melaço de cana-de-açúcar é um processo complexo e eficiente, sustentado por diversas vias metabólicas. As vias de metabolismo de carboidratos, aminoácidos e energia foram predominantes, refletindo a composição rica em carboidratos do melaço, que inclui sacarose, glicose e frutose, além de aminoácidos, vitaminas e minerais. A conversão de glicose em piruvato e subsequente formação de acetil-CoA destaca-se como um processo central na produção de metano. Vias metabólicas específicas podem contribuir para a produção de metano ou para atividades sintróficas e desempenhar papéis variados em diversos processos (Le et al., 2024).

6. CONCLUSÃO

A utilização dos reatores UASB em série, a recirculação do efluente, a utilização da torta de filtro e do biochar, contribuíram significativamente para a conversão anaeróbia do melaço em sistema mesofílico. Observou-se uma eficiência média de remoção de DQO_{total} de 46% e uma produção volumétrica de metano de $1,7 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ no sistema (R1+R2), com a aplicação COV elevadas, de 19,4 e $22,8 \text{ g DQO}_{total} (\text{L d})^{-1}$ no R1 e R2, respectivamente, e a utilização do biochar, resultando em concentrações de metano de até 76%.

A taxa de produção de metano ($401 \text{ L CH}_4 \text{ L}^{-1}$ de melaço) superou a produção de etanol ($0,33 \text{ L L}^{-1}$ de melaço), resultando em uma recuperação energética de $14,8 \text{ MJ L}^{-1}$ de melaço quando inserido em reatores UASB, versus $7,8 \text{ MJ L}^{-1}$ quando o melaço é usado para fermentação alcoólica. Isso sugere que a conversão de melaço em biogás pode ser uma alternativa mais eficiente para a geração de energia, com um potencial energético superior ao da produção de etanol.

A suplementação do melaço com torta de filtro manteve a relação DQO:N:P dentro da faixa ideal, assegurando a estabilidade dos reatores UASB, especialmente com a aplicação de valores elevados de COV. A retirada do recirculado, adição de hidróxido de cálcio, bem como aplicação de biochar de torta

de filtro no afluente dos reatores, foram fundamentais para lidar com instabilidades no processo. Estas estratégias demonstraram potencial para melhorar a estabilidade do sistema de digestão anaeróbia, especialmente pelo consumo considerável de AVT, dado que o melaço é propenso à acidificação, potencializando o desempenho dos reatores UASB, em série.

A análise taxonômica indicou a presença de diversos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbica e na produção de metano. No domínio Bacteria, os filos predominantes foram Firmicutes, Pastescibacteria, Actinobacteriota e Chloroflexi, enquanto no domínio Archaea, os filos Halobacteota, com os gêneros *Methanosaeta* e *Methanosarcina*, e Euryarchaeota, com o gênero *Methanobacterium*, foram as mais abundantes neste estudo. Esses resultados indicam que a via de produção de metano a partir da digestão anaeróbica do melaço pode ser tanto hidrogenotrófica quanto acetoclástica, dependendo da sua estabilidade e desempenho.

Estudos futuros devem focar na otimização operacional da digestão anaeróbia e na investigação do impacto de diferentes cosubstratos e fontes de biochar. É importante desenvolver outras estratégias para mitigar a acidificação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdulkhani A, Alizadeh P, Hedjazi S, Hamzeh Y (2017) Potential of Soya as a raw material for a whole crop biorefinery. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 75: 1269–1280.

Abdullah B, Syed Muhammad SAF, Shokravi Z, Ismail S, Kassim KA, Mahmood AN, Aziz MMA (2019) Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 107: 37–50.

Ahmad M, Rajapaksha A U, Lim JE, Zhang M, Bolan N, Mohan D, Vithanage M, Lee S S, Ok, YS (2014) Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. **Chemosphere** 99: 19–33.

Albertsen M, Hugenholtz P, Skarshewski A, Nielsen KL, Tyson GW, Nielsen PH (2013) Genome sequences of rare, uncultured bacteria obtained by differential coverage binning of multiple metagenomes. **Nature Biotechnology** 31: 533–538.

APHA (2005) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd ed. American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation. **American Public Health Association**, Washington DC, USA.

Arantes MK, Alves HJ, Sequinel R, Silva EA da (2017). Treatment of brewery wastewater and its use for biological production of methane and hydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy** 42: 26243-26256.

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 Management** 38: 388–398.

Bahadur A, Zhang L, Guo W, Sajjad W, Ilahi N, Banerjee A, Faisal S, Usman M, Chen T, Zhang W (2024) Temperature-dependent transformation of microbial community: A systematic approach to analyzing functional microbes and biogas production. **Environmental Research** 249: 118351

Bajpai P (2017) **Basics of Anaerobic Digestion Process** 7–12.

Barbosa MYU, Alves I, del Nery V, Sakamoto IK, Pozzi E, Damianovic MHRZ (2022) Methane production in a UASB reactor from sugarcane vinasse: shutdown or exchanging substrate for molasses during the off-season? **Journal of Water Process Engineering** 47: 102664.

Barros VG (2013) **Conversão anaeróbia de vinhaça e melaço em reatores UASB inoculados com lodo granulado**. 69 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Unesp, Jaboticabal.

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 (2017) Improved methane production from sugarcane vinasse with filter cake in thermophilic UASB reactors, with predominance of *Methanothermobacter* and *Methanosarcina* archaea and *Thermotogae* bacteria. **Bioresource Technology** 244: 371–381.

Bernardino, CAR, Mahler CF, Veloso MCC, Romeiro, GA, Schroeder P (2018) Filter Cake, Residue of the Sugarcane Industry - A Evaluation by Slow Pyrolysis. **Revista Virtual de Química** 10: 551–573.

Borrel G, Adam PS, Gribaldo S (2016) Methanogenesis and the Wood–Ljungdahl Pathway: An Ancient, Versatile, and Fragile Association. **Genome Biology and Evolution** 8: 1706–1711.

Botello Suárez WA, da Silva Vantini, J, Duda RM, Giachetto PF, Cintra LC, Tiraboschi Ferro MI, de 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. **Bioresource Technology** 268:158–168.

Bougrier C, Dognin D, Laroche C, Gonzalez V, Benali-Raclot D, Cacho Rivero JA (2018) Anaerobic digestion of Brewery Spent Grains: Trace elements addition requirement. **Bioresource Technology** 247:1193–1196.

Bruno M, Oliveira RA de (2013) Performance of UASB reactors in two stages followed by post-treatment with activated sludge in wastewater batch of wet-processed coffee. **Engenharia Agrícola** 33: 808–819.

Carlton JD, Langwig MV, Gong X, Aguilar-Pine EJ, Vázquez-Rosas-Landa M, Seitz KW, Baker BJ, De Anda V (2023) Expansion of *Armatimonadota* through marine sediment sequencing describes two classes with unique ecological roles. **ISME communications** 3: 64.

Castañeda-Ayarza JA, Cortez LAB (2017) Final and B molasses for fuel ethanol production and some market implications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 70: 1059–1065.

Castellano-Hinojosa A, Armato C, Pozo C, González-Martínez A, GonzálezLópez J (2018) New concepts in anaerobic digestion processes: recent advances and biological aspects. **Applied Microbiology and Biotechnology** 102: 5065- 5076.

Cavalcanti PFF, Medeiros EJS, Silva JKM, Van Haandel A (1999) Excess sludge discharge frequency for UASB reactors. **Water Science and Technology** 40: 211–219.

Chai YE, Miller QRS, Schaef HT, Barpaga D, Bakhshoodeh R, Bodor M, van Gerven T, Santos RM (2021) Pressurized in situ X-ray diffraction insights into super/subcritical carbonation reaction pathways of steelmaking slags and constituent silicate minerals. **The Journal of Supercritical Fluids** 171: 105191.

Chen L, Fang W, Liang J, Nabi M, Cai Y, Wang Q, Zhang P, Zhang G (2023) Biochar application in anaerobic digestion: Performances, mechanisms, environmental assessment and circular economy. **Resources Conservation and Recycling** 188: 106720.

Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS (2008) Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology** 99: 4044–4064.

Cheng D, Ngo HH, Guo W, Chang SW, Nguyen DD, Zhang X, Liu Y (2020) Feasibility study on a new pomelo peel derived biochar for tetracycline antibiotics removal in swine wastewater. **Science of The Total Environment** 720:137662

Chernicharo, CAL. (2016) **Reatores anaeróbios**. 2^a ed. v. 5. Belo Horizonte: Editora UFMG.

Chiappero M, Norouzi O, Hu M, Demichelis F, Berruti F, Di Maria F, Mašek O, Fiore S (2020) Review of biochar role as additive in anaerobic digestion processes. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 131: 110037.

Choudhury A, Lansing S (2020) Biochar addition with Fe impregnation to reduce H₂S production from anaerobic digestion. **Bioresource Technology** 306:123121.

Chowdhury TH (2021) Technical-economical analysis of anaerobic digestion process to produce clean energy. **Energy Reports** 7: 247–253.

Christofoletti CA, Escher JP, Correia JE, Marinho JFU, Fontanetti CS (2013) Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management** 33: 2752–2761.

Coelho WLV, Silva FS, Dallacort R, Carneiro PAV (2016) Análise do potencial de geração de energia elétrica a partir dos resíduos do setor sucroenergético no estado de mato grosso em diferentes cenários produtivos. **Revista brasileira de energias renováveis** 5: 332 – 351.

Collins BA, Birzer CH, Kidd SP, Hall T, Medwell PR (2023). Coupling a biochar filter to a leach bed reactor for anaerobic digestion of chicken litter. **Bioresource Technology Reports** 21: 101362.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (2023) **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Brasília, DF, 11. Disponível em: < [Conab - Boletim da Safra de Cana-de-açúcar](#) >. Acesso em: 12 de maio de 2024.

Daud MK, Rizvi H, Akram MF, Ali S, Rizwan M, Nafees M, Jin ZS (2018) Review of Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor Technology: Effect of Different Parameters and Developments for Domestic Wastewater Treatment. **Journal of Chemistry** 2018: 1–13.

de Vrieze J, Hennebel T, van den Brande J, Bilad RM, Bruton TA, Vankelecom IFJ, Verstraete W, Boon N (2014) Anaerobic digestion of molasses by means of a vibrating and non-vibrating submerged anaerobic membrane bioreactor. **Biomass and Bioenergy** 68: 95–105.

de Vrieze J, Coma M, Debeuckelaere M, van der Meeren P, Rabaey K (2016) High salinity in molasses wastewaters shifts anaerobic digestion to carboxylate production. **Water Research** 98: 293–301.

Delbone CAC, Lando RL (2010) **Importância ecológica e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais**. Congresso de Educação do Norte Pioneiro. 10^a ed. UENP-CCNE-CLA- Campus Jacarezinho. 2010. ISSN-1808-3579.

Deng Y, Xia J, Zhao R, Xu J, Liu X (2022) Iron-coated biochar alleviates acid accumulation and improves methane production under ammonium enrichment conditions. **Science of The Total Environment** 809: 151154.

Dias MF, Colturato LF, de Oliveira JP, Leite LR, Oliveira G, Chernicharo CA, de Araújo JC (2016) Metagenomic analysis of a desulphurisation system used to treat biogas from vinasse methanisation. **Bioresource Technology** 205: 58-66.

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

Ferraz Júnior ADN, Koyama MH, de Araújo Júnior, MM, Zaiat M (2016) Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy** 89: 245–252.

Fabbri D, Torri C (2016) Linking pyrolysis and anaerobic digestion (Py-AD) for the conversion of lignocellulosic biomass. **Current Opinion in Biotechnology** 38: 167–173.

Fan Q, Fan X, Fu P, Sun Y, Li Y, Long S, Guo T, Zheng L, Yang K, Hua D (2022). Microbial community evolution, interaction, and functional genes prediction during anaerobic digestion in the presence of refractory organics. **Journal of Environmental Chemical Engineering** 10: 107789.

Fava FE, Romanelli TL (2023) Biogas and biomethane production routes in the sugar-energy sector: Economic efficiency and carbon footprint. **Bioresource Technology Reports** 22: 101388.

Feltrin VP, Sant'annai ES, Porto ACS, Torres RCO (2000) Produção de *Lactobacillus plantarum* em melaço de cana-de-açúcar. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 43:1-6.

Feng R, Zaidi AA, Zhang K, Shi Y (2018) Optimisation of Microwave Pretreatment for Biogas Enhancement through Anaerobic Digestion of Microalgal Biomass. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering** 63: 65–72.

Fernandes DJ, Ferreira AF, Fernandes EC (2023) Biogas and biomethane production potential via anaerobic digestion of manure: A case study of Portugal. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 188: 113846.

Frosch RA, Gallopoulos NE (1989) Strategies for Manufacturing. **Scientific American** 261: 144-152.

Fuess LT, dos Santos GM, Delforno TP, de Souza Moraes B, da Silva AJ (2020) Biochemical butyrate production via dark fermentation as an energetically efficient alternative management approach for vinasse in sugarcane biorefineries. **Renewable Energy** 158: 3–12.

Fuess LT et al. (2017) Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. **Applied Energy** 189: 480–491.

Fuess LT, Zaiat M, Nascimento CAO (2021). Thermophilic biodigestion of fermented sugarcane molasses in high-rate structured-bed reactors: Alkalinization strategies define the operating limits. **Energy Conversion and Management** 239: 114203.

Ganguly A, Martin IM, Brown RC, Wright MM (2020) Application of Hydroprocessing, Fermentation, and Anaerobic Digestion in a Carbon-Negative Pyrolysis Refinery. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering** 8: 16413–16421.

Gao Y, Chen B, Li W, Han Y, Liu Z, Sun Y, Zhuo G, Lu X, Gadow SI, Hu W, Zhen G (2023) Role of sulfate in regulating performance and metabolic mechanisms of bioelectrochemical up-flow anaerobic sludge blanket fed with methanolic wastewater. **Journal of Cleaner Production** 430: 139714.

Gao Y, Yun S, Wang K, Liu L, Abbas Y, Saqlain Jamil M, Ke T, Liu J, Zhang X (2024) Understanding of the potential role of carbon dots in promoting interspecies electron transfer process in anaerobic co-digestion under magnetic field: Focusing on methane and hydrogen production. **Chemical Engineering Journal** 489: 151381.

Garcia-Peña EI, Parameswaran P, Kang DW, Canul-Chan M, Krajmalnik-Brown R (2011) Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: Process and microbial ecology. **Bioresource Technology** 102: 9447–9455.

Greses S, Gaby JC, Aguado D, Ferrer J, Seco A, Horn SJ (2017) Microbial community characterization during anaerobic digestion of *Scenedesmus* spp. under mesophilic and thermophilic conditions. **Algal Research**, 27: 121-130.

Guo X, Fang G, Li G, Ma H, Fan H, Yu L, Ma C, Wu X, Deng D, Wei M, Tan D, Si R, Zhang S, Li J, Sun L, Tang Z, Pan X, Bao X (2014) Direct, nonoxidative conversion of methane to ethylene, aromatics, and hydrogen. **Science**, 344: 616- 619.

Han Y, Huang B, Liu S, Zou N, Yang J, Zhong Z, Zhang X, Song L, Qin Y, Pan C (2016) Residue levels of five grain-storage-use insecticides during the production process of sorghum distilled spirits. **Food Chemistry** 206: 12–17.

Hao L, Bize A, Conteau D, Chapleur O, Courtois S, Kroff P, Desmond-Le Quémener E, Bouchez T, Mazéas L (2016) New insights into the key microbial phylotypes of anaerobic sludge digesters under different operational conditions. **Water Research** 102: 158–169

He M, Xu Z, Hou D, Gao B, Cao X, Ok YS, Rinklebe J, Bolan NS, Tsang DCW (2022) Waste-derived biochar for water pollution control and sustainable development. **Nature Reviews Earth & Environment**, 3: 444–460.

Hjinfelt A, Angelidaki I (2009) Anaerobic digestion of slaughterhouse byproducts. **Biomass and Bioenergy** 33:1046–1054.

Heyer R, Schallert K, Siewert C, Kohrs F, Greve J, Maus I, Klang J, Klocke M, Heiermann M, Hoffmann M, Püttker S, Calusinska M, Zoun R, Saake G, Benndorf D, Reichl U (2019) Metaproteome analysis reveals that syntrophy, competition, and phage-host interaction shape microbial communities in biogas plants. **Microbiome**, 7: 69.

Hu X, Liu J, Cheng W, Li X., Zhao, Y., Wang, F., Geng, Z., Wang, Q., & Dong, Y. (2023a). Synergistic interactions of microbial fuel cell and microbially induced carbonate precipitation technology with molasses as the substrate. **Environmental Research**, 228: 115849.

Hu Y, Wang X, Zhang S, Liu S, Hu T, Wang X, Hu F (2023) Microbial response behavior to powdered activated carbon in high-solids anaerobic digestion of kitchen waste: Metabolism and functional prediction analysis. **Journal of Environmental Management** 337: 117756.

Huang X, Miao X, Chu X, Luo L, Zhang H, Sun Y (2023) Enhancement effect of biochar addition on anaerobic co-digestion of pig manure and corn straw under biogas slurry circulation. **Bioresource Technology** 372: 128654.

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 150

urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresource Technology** 217: 10-20.

Janke L, Leite A, Nikolausz M, Schmidt T, Liebetrau J, Nelles M, Stinner W (2015). Biogas Production from Sugarcane Waste: Assessment on Kinetic Challenges for Process Designing. **International Journal of Molecular Sciences**, 16: 20685–20703.

Jie H, Khan I, Alharthi M, Zafar MW, Saeed A (2023) Sustainable energy policy, socio-economic development, and ecological footprint: The economic significance of natural resources, population growth, and industrial development. **Utilities Policy** 81: 101490.

Jin C, Sun S, Yang D, Sheng W, Ma Y, He W, Li G (2021) Anaerobic digestion: An alternative resource treatment option for food waste in China. **Science of The Total Environment**, 779: 146397.

Jin HY, Yao XY, Tang CC, Zhou AJ, Liu W, Ren YX, Li Z, Wang A, He ZW (2024) Magnetite modified zeolite as an alternative additive to promote methane production from anaerobic digestion of waste activated sludge. **Renewable Energy** 224: 120181.

Kadnikov VV, Mardanov AV, Podosokorskaya OA, Gavrilov SN, Kublanov LV, Bonch-Osmolovskaya EA, Ravin NV (2013) Genomic analysis of *Melioribacter roseus*, facultatively anaerobic organotrophic bacterium representing a novel deep lineage within. **PLoS One** 8: e53047.

Kalemelawa F, Nishihara E, Endo T, Ahmad Z, Yeasmin R, Tenywa MM, Yamamoto S (2012) An evaluation of aerobic and anaerobic composting of banana peels treated with different inoculums for soil nutrient replenishment. **Bioresource Technology** 126: 375–382.

Kaup F (2015) The Sugarcane Complex in Brazil. **Springer International Publishing**.

Keller N P, Turner G, Bennett JW (2005) Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. **Nature Reviews Microbiology** 3: 937–947.

Khan S, Ahmad R, Phulpoto IA, Kashif M, Shen P (2022) Effect of rice winery wastewater as a co-substrate to enhance anaerobic digestion of molasses for methane production. **Bioresource Technology Reports** 18: 101062.

Kitamura SHP, Silva LM, Batista FK, Mello BS, Rodrigues BCG, Sarti A (2022) Codigestão anaeróbia de resíduos agroindustriais (melaço de soja e glicerol) em reator anaeróbio horizontal de leito fixo / Anaerobic co-digestion of agro-industrial

wastes (soybean molasses and glycerol) in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor. **Brazilian Journal of Development**, 8: 6144–6163.

Kjær Hansen S, Løfberg SV, Nielsen DK, Kobberø H, Justesen US (2020) Bacteraemia with *Moryella indoligenes* and *Fastidiosipila sanguinis*: a case report. **Access Microbiology** 2.

Kong Z, Li L, Kurihara R, Kubota K, Li YY (2018) Anaerobic treatment of N, Ndimethylformamide-containing wastewater by co-culturing two sources of inoculum. **Water research** 139: 228-239

Kougias PG, Campanaro S, Treu L, Zhu X, Angelidaki I (2017) A novel archaeal species belonging to *Methanoculleus* genus identified via de-novo assembly and metagenomic binning process in biogas reactors. **Anaerobe** 46: 23-32.

Kumar M, Dutta S, You S, Luo G, Zhang S, Show PL, Sawarkar AD, Singh L, Tsang DCW (2021) A critical review on biochar for enhancing biogas production from anaerobic digestion of food waste and sludge. **Journal of Cleaner Production** 305:127143.

Kuo J, Dow J (2017) Biogas production from anaerobic digestion of food waste and relevant air quality implications. **Journal of the Air & Waste Management Association**, 67: 1000–1011.

Kythreotou N, Tassou SA, Florides G (2012) An assessment of the biomass potential of Cyprus for energy production. **Energy** 47: 253–261.

Langxian S, Lintong Z, Xin Y, Maoyou Y, Jialin L, Minchun H, Xidan F, Lianhua L (2024) Dual roles in interspecies electron transfer of carbon-based materials for accelerating anaerobic digestion of food waste. **Biochemical Engineering Journal** 203: 109182.

Le TS, Bui XT, Nguyen PD, Ngo HH, Dang BT, Le Quang DT, Diels L (2024) Bacterial community composition in a two-stage anaerobic membrane bioreactor for co-digestion of food waste and food court wastewater. **Bioresource Technology** 391: 129925.

Lee J, Koo T, Yulisa A, Hwang S (2019) Magnetite as an enhancer in methanogenic degradation of volatile fatty acids under ammonia-stressed condition. **Journal of Environmental Management**, 24: 418–426.

Lee JT, Dutta N, Zhang L, Tsui TT, Lim S, Tio ZK, Tong YW (2022) Bioaugmentation of *Methanosarcina thermophila* grown on biochar particles during semi-continuous thermophilic food waste anaerobic digestion under two different bioaugmentation regimes. **Bioresource technology** 360: 127590.

Leite PFAF (2019) **Tratamento de águas residuárias da suinocultura em reator anaeróbio com pós-tratamento aeróbio/anóxico**. 105 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

Leng L, Yang P, Singh S, Zhuang H, Xu L, Chen WH, Dolfin J, Li D, Zhang Y, Zeng H, Chu W, Lee PH (2018) A review on the bioenergetics of anaerobic microbial metabolism close to the thermodynamic limits and its implications for digestion applications. **Bioresource Technology** 247: 1095–1106.

Li L, Yuan Z, Sun Y, Kong X, Dong P, Zhang J (2017) A reused method for molasses-processed wastewater: Effect on silage quality and anaerobic digestion performance of *Pennisetum purpureum*. **Bioresource Technology** 241: 1003–1011.

Li Y, Zhao J, Krooneman J, Euverink GJW (2021) Strategies to boost anaerobic digestion performance of cow manure: Laboratory achievements and their full-scale application potential. **Science of The Total Environment** 755: 142940.

Lima VO, Barros VG, Duda RM, Oliveira RA (2023) Anaerobic digestion of vinasse and water treatment plant sludge increases methane production and stability of UASB reactors. **Journal of Environmental Management** 327: 116451.

Lin Q, De Vrieze J, Li J, Li X (2016) Temperature affects microbial abundance, activity and interactions in anaerobic digestion. **Bioresource Technology** 209: 228-236.

Liu H, Xu Y, Li L, Yuan S, Geng H, Tang Y, Dai X (2022) A novel green composite conductive material enhancing anaerobic digestion of waste activated sludge via improving electron transfer and metabolic activity. **Water Research** 220: 118687.

Liu X, Yan Z, Yue ZB (2011) Biogas. **Comprehensive Biotechnology** 99–114.

Liu Y, Balkwill DL, Aldrich HC, Drake GR, Boone DR (1999) Characterization of the anaerobic propionate-degrading syntrophs *Smithella propionica* gen. nov., sp. nov. and *Syntrophobacter wolinii*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 49: 545–556.

Liu Y, Li X, Wu S, Tan Z, Yang C (2021) Enhancing anaerobic digestion process with addition of conductive materials. **Chemosphere** 278:130449.

Lü F, Luo C, Shao L, He P (2016) Biochar alleviates combined stress of ammonium and acids by firstly enriching *Methanosaeta* and then *Methanosarcina*. **Water research** 90: 34-43.

Lucelia AR, Regina MQL, Gaspar HK, Adriane AS (2017) Effect of organo-mineral fertilizer and poultry litter waste on sugarcane yield and some plant and soil chemical properties. **African Journal of Agricultural Research** 12: 20–27.

Ma H, Hu Y, Kobayashi T, Xu KQ (2020) O papel da adição de biocarvão de casca de arroz na digestão anaeróbica de sorgo sacarino sob condições de alta carga. **Relatórios de Biotecnologia** 27: 00515.

Ma X, Ji J, Song P, Mao C, Li X (2023) Treatment of nanofiltration membrane concentrates integrated magnetic biochar pretreatment with anaerobic digestion. **Environmental Research**, 22: 115245.

Majd S S, Abdoli MA, Karbassi A, Pourzamani HR, Rezaee M (2017) Effect of physical and chemical operating parameters on anaerobic digestion of manure and biogas production: A review. **Journal of Environmental Health and Sustainable Development** 2: 235-247.

Mata-Alvarez J, Dosta J, Romero-Güiza MS, Fonoll X, Peces M, Astals S (2014) A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 36: 412–427.

McCarty, PerryL (1964) Anaerobic Waste Treatment Fundamentals - part one - Chemistry and Microbiology. **Public Works** 95:107–112.

Meegoda J N, Li B, Patel K, Wang LB (2018) A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion. **International Journal of Environmental Research and Public Health** 15: 2224.

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

Meng X, Cao Q, Sun Y, Huang S, Liu X, Li D (2022) 16S rRNA genes- and metagenome-based confirmation of syntrophic butyrate-oxidizing methanogenesis enriched in high butyrate loading. **Bioresource Technology** 345: 126483.

Meng, X, Yuan X, Ren J, Wang X, Zhu W, Cui Z (2017) Methane production and characteristics of the microbial community in a two-stage fixed-bed anaerobic reactor using molasses. **Bioresource Technology** 241: 1050–1059.

Menzel T, Neubauer P, Junne S (2020) Role of microbial hydrolysis in anaerobic digestion. **Energies** 13: 5555.

Moradi M, Sadani M, Shahsavani A, Bakhshoodeh R, Alavi N (2023) Enhancing anaerobic digestion of automotive paint sludge through biochar addition. **Heliyon** 9: e17640.

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

Mordenti AL, Giaretta E, Campidonico L, Parazza P, Formigoni A (2021) A Review Regarding the Use of Molasses in Animal Nutrition. **Animals** 11: 115.

Najafpour GD, Zinatizadeh AAL, Mohamed AR, Hasnain Isa, M, Nasrollahzadeh H (2006) High-rate anaerobic digestion of palm oil mill effluent in an upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor. **Process Biochemistry** 41: 370–379.

Nie W, He S, Lin Y, Cheng JJ, Yang C (2023). Functional biochar in enhanced anaerobic digestion: Synthesis, performances, and mechanisms. **Science of the Total Environment** 906:167681.

Nunes JOS (2022) **Efeito da recirculação de vinhaça biodigerida em reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) submetida ao processo oxidativo avançado fenton**. 82 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Unesp, Jaboticabal.

Oh ST, Kang SJ, Azizi A (2018). Electrochemical communication in anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal** 353: 878-889.

Okiemute SA, Smarte IM, Jeremiah A, Lewis KS (2022) Biochar development as a catalyst and its application. In B. Dr. Mattia, G. Dr. Mauro, & T. Prof. Alberto (Eds.), **Biochar - Productive Technologies, Properties and Application** (Cap. 25).

Oliveira CA (2018) **Digestão anaerobia termofílica do melaço de cana-de-açúcar em reatores de leito fixo estruturado de duas fases e fase única para produção de biogás**. 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia hidráulica e saneamento e área de concentração em hidráulica e saneamento) – Usp, São Carlos.

Oliveira CA, Fuess LT, Soares LA, Damianovic, MHRZ (2020) Thermophilic biomethanation of sugarcane molasses comparing single and two-stage systems: Process performance and energetic potential. **Bioresource Technology Reports** 12: 100590.

Oliveira RA (1997) **Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluentes no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura**. 389 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e saneamento) – Usp, São Carlos.

Oliveira RA, Foresti E (2004) Balanço de massa de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola** 24: 807–820.

Olugbenga OS, Adeleye PG, Oladipupo SB, Adeleye AT, John KI (2023) Biomass-derived biochar in wastewater treatment-a circular economy approach. **Waste Management Bulletin**.

O'Reilly J, Lee C, Chinalia F, Collins G, Mahony T, O'Flaherty V (2010) Microbial community dynamics associated with biomass granulation in low-temperature

(15°C) anaerobic wastewater treatment bioreactors. **Bioresource Technology** 101: 6336-6344.

Pajampa K, Laloon K, Suksri A, Phadungton S, Ratpukdi T, Posom J, Wongwuttanasatian T (2023) A way towards zero-waste campaign and sustainability in sugar industries; filter cake valorisation as energy pellets. **Ain Shams Engineering Journal** 102459.

Pajampa K, Wongwuttanasatian T (2023) A trial of filter cake pellets and bagasse co-combustion in a sugar mill steam generator: Thermal and economical assessments. **Energy Reports** 9: 422–430.

Paliwal C, Mitra M, Bhayani K, Bharadwaj SVV, Ghosh T, Dubey S, Mishra S (2017) Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. **Bioresource Technology** 244: 1216–1226.

Pan J, Ma J, Liu X, Zhai L, Ouyang X, Liu H, (2019). Effects of different types of biochar on the anaerobic digestion of chicken manure. **Bioresource Technology** 275: 258–265.

Pan SY, Du MA, Huang IT, Liu IH, Chang EE, Chiang PC (2015). Strategies on implementation of waste-to-energy (WTE) supply chain for circular economy system: a review. **Journal of Cleaner Production** 108: 409–421.

Panigrahi S, Dubey BK (2019) A critical review on operating parameters and strategies to improve the biogas yield from anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. **Renewable Energy** 143: 779–797.

Pap B, Györkei Á, Boboescu IZ, Nagy IK, Bíró T, Kondorosi É, Maróti G (2015) Temperature-dependent transformation of biogas-producing microbial communities points to the increased importance of hydrogenotrophic methanogenesis under thermophilic operation. **Bioresource Technology** 177: 375–380.

Parra-Orobio BA, Donoso-Bravo A, Ruiz-Sánchez JC, Valencia-Molina KJ, Torres-Lozada P (2018) Effect of inoculum on the anaerobic digestion of food waste accounting for the concentration of trace elements. **Waste Management** 71: 342–349.

Park MJ, Jo JH, Park D, Lee DS, Park JM (2010) Comprehensive study on a twostage anaerobic digestion process for the sequential production of hydrogen and methane from cost-effective molasses. **Renew. Energy** 35: 6194-6202.

Patala S, Salmi A, Bocken N (2020) Intermediation dilemmas in facilitated industrial symbiosis. **Journal of Cleaner Production** 261: 121093.

Pavan MCO, Soares Ramos D, Yones Soares M, Carvalho MM (2021) Circular business models for bioelectricity: A value perspective for sugar-energy sector in Brazil. **Journal of Cleaner Production** 311: 127615.

Pazuch FA, Nogueira CEC., Souza SNM, Micuanski VC, Friedrich L, Lenz AM (2017) Economic evaluation of the replacement of sugar cane bagasse by vinasse, as a source of energy in a power plant in the state of Paraná, Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 76: 34–42.

Pilarska, A. (2018). Anaerobic Co-Digestion of Waste Wafers from Confectionery Production with Sewage Sludge. **Polish Journal of Environmental Studies** 27: 237–245.

Qiu L, Deng YF, Wang F, Davaritouchaee M, Yao YQ (2019) A review on biochar-mediated anaerobic digestion with enhanced methane recovery. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 115: 109373.

Rabii A, Aldin S, Dahman Y, Elbeshbishy E (2019) A Review on Anaerobic Co-Digestion with a Focus on the Microbial Populations and the Effect of Multi-Stage Digester Configuration. **Energies** 12: 1106.

Rajagopal R, Massé DI, Singh G (2013) A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. **Bioresource Technology** 143: 632–641.

Rajkovich S, Enders A, Hanley K, Hyland C, Zimmerman AR, Lehmann, J (2011) Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil. **Biology and Fertility of Soils** 48: 271–284.

Raketh M, Kongjan P, Trably E, Samahae N, Jariyaboon R (2023) Effect of organic loading rate and effluent recirculation on biogas production of desulfated skim latex serum using up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **Journal of Environmental Management** 327: 116886.

Ram M, Misra H (2021) Metabolic engineering for the production of plant therapeutic compounds. In **Medicinal and Aromatic Plants** 169–207.

Raut MP, Pandhal J, Wright PC (2021) Effective pretreatment of lignocellulosic co-substrates using barley straw-adapted microbial consortia to enhanced biomethanation by anaerobic digestion. **Bioresource Technology** 321: 124437.

Rawlings BJ (1997) Biosynthesis of polyketides. **Natural Product Reports**, 14: 523.

Ripley LE, Boyle WC, Converse JC (1986) Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of the Water Pollution Control Federation** 58:406–411.

Rocky-Salimi K, Hashemi M, Safari M, Mousivand M (2017) Valorisation of untreated cane molasses for enhanced phytase production by *Bacillus subtilis* K46b and its potential role in dephytinisation. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 97: 222–229.

Rodrigues V, Blasius JP, Castro MCAA (2020) Estratégia de adaptação de lodo anaeróbio mesofílico como fonte de inóculo para biodigestão de resíduos alimentares. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental** 9: 372.

Romero-Güiza 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.

Rossetto R, Santiago AD (2022) **Plantio Mecanizado**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/correcao-e-adubacao/diagnose-das-necessidades-nutricionais/recomendacao-de-correcao-e-adubacao/adubacao-organica>> Acesso em: 17 de abril de 2024.

Sahu O (2018) Assessment of sugarcane industry: Suitability for production, consumption, and utilization. **Annals of Agrarian Science** 16: 389–395.

Salla DA, Furlaneto FPB, Cabello C, Kanthack RAD (2010) Estudo energético da produção de biocombustível a partir do milho. **Ciência Rural** 40: 2017–2022.

Sampaio RR (2022) **Tratamento anaeróbio e aeróbio de águas residuárias da bovinocultura leiteira em reatores de alta taxa**. 235 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) – Unesp, Jaboticabal.

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

Sawyer N, Trois C, Workneh T, Okudoh V (2019) An Overview of Biogas Production: Fundamentals, Applications and Future Research. **International Journal of Energy Economics and Policy** 9.

Schreder C, Selig M, Schenheit P (1994) Glucose fermentation to acetate, CO₂ and H₂ in the anaerobic hyperthermophilic eubacterium *Thermotoga maritima*: involvement of the Embden-Meyerhof pathway. **Archives of Microbiology** 161: 460–470.

Sen KY, Hussin MH, Baidurah S (2019) Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) by *Cupriavidus necator* from various pretreated molasses as carbon source. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology** 17: 51–59.

Shahzad K, Rehan M, Rashid MI, Ali N, Summan AS, Ismail IMI (2021) Sustainability Evaluation of Polyhydroxyalkanoate Production from Slaughterhouse Residues Utilising Emergy Accounting. **Polymers** 14: 118.

Shao B, Liu Z, Tang L, Liu Y, Liang Q, Wu T, Pan Y, Zhang X, Tan X, Yu J (2022) The effects of biochar on antibiotic resistance genes (ARGs) removal during different environmental governance processes: a review. **Journal of Hazardous Materials** 435:129067.

Sharma P, Melkania U (2017) Biochar-enhanced hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste using co-culture of *Enterobacter aerogenes* and *E. coli*. **International Journal of Hydrogen Energy** 42:18865- 18874.

Shen Y, Linville JL, Urgun-Demirtas M, Schoene RP, Snyder SW (2015) Producing pipeline-quality biomethane via anaerobic digestion of sludge amended with corn stover biochar with in-situ CO₂ removal. **Applied Energy** 158: 300–309.

Schmidt T, McCabe BK, Harris PW, & Lee S (2018) Effect of trace element addition and increasing organic loading rates on the anaerobic digestion of cattle slaughterhouse wastewater. **Bioresource Technology** 264: 51–57.

Silva JGM, Pinto FCM, Oliveira GM, Silva AA, Campos Júnior O, Oliveira da Silva R, Teixeira VW, Melo IMF, Paumgarten FJR, Souza TP, Carvalho RR, Oliveira ACAX, Aguiar, JLA, Teixeira AAC (2020) Non-clinical safety study of a sugarcane bacterial cellulose hydrogel. **Research, Society and Development** 9: e960997932.

Singh RP, Kumar S, Ojha CSP (1999) Nutrient requirement for UASB process: a review. **Biochemical Engineering Journal** 3: 35–54.

Singh S, Sudhakaran AK, Sarma PM, Subudhi S, Mandal AK, Gandham G, Lal B (2010) Dark fermentative biohydrogen production by mesophilic bacterial consortia isolated from riverbed sediments. **International Journal of Hydrogen Energy** 35: 10645–10652.

Smanski MJ, Peterson RM, Shen B (2012) Platensimycin and Platencin Biosynthesis in *Streptomyces platensis*, **Showcasing Discovery and Characterization of Novel Bacterial Diterpene Synthases** 163–186.

Son HJ, Park GT, Cha MS, Heo MS (2006) Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. **Bioresource Technology** 97: 204–210.

Sousa SR (2022) **Digestão anaeróbia da vinhaça em reatores horizontais de alta taxa: desempenho do processo e composição da microbiota**. 208 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Unesp, Jaboticabal.

Sua-lam G, Makul N (2017) Effect of incinerated sugarcane filter cake on the properties of self-compacting concrete. **Construction and Building Materials** 130: 32–40.

Sun L, Toyonaga M, Ohashi A, Matsuura N, Tourlousse DM, Meng XY, Sekiguchi Y (2016) Isolation and characterization of *Flexilinea flocculi* gen. nov., sp. nov., a filamentous, anaerobic bacterium belonging to the class Anaerolineae in the phylum Chloroflexi. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 66: 988-996.

Sun Z, Feng L, Li Y, Han Y, Zhou H, Pan J (2022). The role of electrochemical properties of biochar to promote methane production in anaerobic digestion. **Journal of Cleaner Production** 362: 132296.

Talang RP, Sirivithayapakorn S (2020) Environmental impacts and economic benefits of different wastewater management schemes for molasses-based ethanol production: A case study of Thailand. **Journal of Cleaner Production** 247: 119141.

Tian G, Xi J, Yeung M, Ren G (2020) Characteristics and mechanisms of H₂S production in anaerobic digestion of food waste. **Science of The Total Environment** 724: 137977.

Tian W, Li J, Zhu L, Li W, He L, Gu L, Deng R, Shi D, Chai H, Gao M (2021) Insights of enhancing methane production under high-solid anaerobic digestion of wheat straw by calcium peroxide pretreatment and zero valent iron addition. **Renewable Energy** 177: 1321-1332.

Toumi J, Miladi B, Farhat A, Nouria S, Hamdi M, Gtari M, Bouallagui H (2015) Microbial ecology overview during anaerobic codigestion of dairy wastewater and cattle manure and use in agriculture of obtained bio-fertilisers. **Bioresource Technology** 198: 141–149.

van Haandel A, de Vrieze J, Verstraete W, dos Santos VS (2014) Methanosaeta dominate acetoclastic methanogenesis during high-rate methane production in anaerobic reactors treating distillery wastewaters. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology** 89: 1751–1759.

Van Lier JB (1995) Thermophilic anaerobic wastewater treatment: Temperature aspects and process stability. **Wageningen**: Wageningen Agricultural University.

Vasconcelos RL, Almeida HJ, Prado RM, Santos LFJ, Pizauro Júnior JM (2017) Filter cake in industrial quality and in the physiological and acid phosphatase activities in cane-plant. **Industrial Crops and Products** 105, 133–141.

Vilela R, Saia FT, Gregoracci GB, Duarte R, Andrade P, van der Zaan B, Langenhoff A, Damianovic, MHRZ (2019) Hydrogen production in reactors: The influence of

organic loading rate, inoculum and support material. **International Journal of Hydrogen Energy** 44: 27259–27271.

Von Sperling, M. (2014) **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4^a ed. v. 5. Belo Horizonte: Editora UFMG.

Villa-Montoya AC, Ferro MIT, de Oliveira RA (2016) Removal of phenols and methane production with coffee processing wastewater supplemented with 161 phosphorous. *International Journal of Environmental Science and Technology* 1–14.

Vos P, Garrity G, et al (2009) **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Volume 3: The Firmicutes (2nd ed.). Springer-Verlag, New York.

Wang J, Hu X, Zhao Y, Li X, Zhao P, Guo Y (2024) Effects of molasses-based microbial dust suppressant on soil dust and microbial community. **Powder Technology** 441: 119831.

Wang D, Ai J, Shen F, Yang G, Zhang Y, Deng S, Zhang J, Zeng Y, Song C (2017) Improving anaerobic digestion of easy-acidification substrates by promoting buffering capacity using biochar derived from vermicompost. **Bioresource technology** 227: 286–296.

Weldehans MG (2023) Optimization of distillery-sourced wastewater anaerobic digestion for biogas production. **Cleaner Waste Systems** 6: 100118.

Wikandari R, Gudipudi S, Pandiyan I, Millati R, Taherzadeh MJ (2013) Inhibitory effects of fruit flavors on methane production during anaerobic digestion. **Bioresource Technology** 145: 188–192.

Wolfe AJ (2005) The acetate switch. **Microbiology Molecular Biology Review** 69: 12–50.

Wongarmat, W., Sittijunda, S., Mamimin, C., & Reungsang, A. (2022). Acidogenic phase anaerobic digestion of pretreated sugarcane filter cake for co-digestion with biogas effluent to enhance the methane production. *Fuel*, 310, 122466. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122466>

Wu D, Li L, Zhen F, Liu H, Xiao F, Sun Y, Peng X, Li Y, Wang X (2022) Thermodynamics of volatile fatty acid degradation during anaerobic digestion under organic overload stress: The potential to better identify process stability. **Water Research** 214: 118187.

Wu J, Niu Q, Li L, Hu Y, Mribet C, Hojo T, Li YY (2018) A gradual change between methanogenesis and sulfidogenesis during a long-term UASB treatment of sulfate-rich chemical wastewater. **Science of The Total Environment** 636: 168–176.

Xiao H, Zhang D, Tang Z, Li K, Guo H, Niu X, Yi L (2022) Comparative environmental and economic life cycle assessment of dry and wet anaerobic digestion for treating food waste and biogas digestate. **Journal of Cleaner Production** 338: 130674.

Xu S, Bu J, Li C, Tiong YW, Sharma P, Liu K, Tong YW (2024) Biochar enhanced methane yield on anaerobic digestion of shell waste and the synergistic effects of anaerobic co-digestion of shell and food waste. **Fuel** 357: 129933.

Yamada T, Sekiguchi Y, Hanada S, Imachi H, Ohashi A, Harada H, Kamagata Y (2006) *Anaerolinea thermolimosa* sp. nov., *Levilinea saccharolytica* gen. nov., sp. nov. and *Leptolinea tardivitalis* gen. nov., sp. nov., novel filamentous anaerobes, and description of the new classes *Anaerolineae* classis nov. and *Caldilineae* classis nov. in the bacterial phylum Chloroflexi. **International journal of systematic and evolutionary microbiology** 56: 1331-1340.

Yamamoto-Ikemoto R, Matsuura N, Honda R, Hara-Yamamura H, Some K, Prak S, Koike K, Togari T (2023) Ammonia tolerance and microbial community in thermophilic co-digestion of sewage sludge initiated with lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology** 376: 128834.

Yang B, Xu H, Liu, Y., Li, F., Song, X., Wang, Z., & Sand, W. (2020). Role of GAC-MnO₂ catalyst for triggering the extracellular electron transfer and boosting CH₄ production in syntrophic methanogenesis. **Chemical Engineering Journal** 383, 123211.

Yao JQ, Liu JQ, Zhang YJ, Xu S, Hong Y, Chen YG (2019). Adding an anaerobic step can rapidly inhibit sludge bulking in SBR reactor. *Scientific Reports* 9: 10843.

Yi J, Dong B, Jin J, Dai X (2014) Effect of Increasing Total Solids Contents on Anaerobic Digestion of Food Waste under Mesophilic Conditions: Performance and Microbial Characteristics Analysis. **PLoS ONE** 9: e102548.

Yuan J, Zhu Y, Wang J, Liu Z, He M, Zhang T, Qiu F (2021) Facile modification of biochar derived from agricultural straw waste with effective adsorption and removal of phosphorus from domestic sewage. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials** 31: 3867-3879.

Zamanzadeh M, Hagen LH, Svensson K, Linjordet R, Horn SJ (2016). Anaerobic digestion of food waste—effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. **Water Research** 96: 246-254

Zhang C, Yang R, Sun M, Zhang S, He M, Tsang DCW, Luo G (2022). Wood waste biochar promoted anaerobic digestion of food waste: focusing on the characteristics of biochar and microbial community analysis. **Biochar** 4: 62.

Zhang S, Chen Y, Zhang Z, Ping Q, Li Y (2023) Co-digestion of sulfur-rich vegetable waste with waste activated sludge enhanced phosphorus release and hydrogenotrophic methanogenesis. **Water Research** 242: 120250.

Zhang L, Loh KC (2019) Synergistic effect of activated carbon and encapsulated trace element additive on methane production from anaerobic digestion of food wastes – Enhanced operation stability and balanced trace nutrition. **Bioresource Technology** 278: 108–115.

Zhang S, Chen Y, Zhang Z, Ping Q, Li Y (2023) Co-digestion of sulfur-rich vegetable waste with waste activated sludge enhanced phosphorus release and hydrogenotrophic methanogenesis. **Water Research** 242: 120250.

Zhang S, Wang J, Jiang H (2021) Microbial production of value-added bioproducts and enzymes from molasses, a by-product of sugar industry. **Food Chemistry** 346: 128860.

Zhang W, Wu S, Guo J, Zhou J, Dong R (2015) Performance and kinetic evaluation of semi-continuously fed anaerobic digesters treating food waste: role of trace elements. **Bioresource technology** 178: 297-305.

Zhang X, Tu B, Dai L, Lawson PA, Zheng Z, Liu LY, Deng Y, Zhang H, Cheng (2018) *Petroclostridium xylanilyticum* gen. nov., sp. nov., a xylan-degrading bacterium isolated from an oilfield, and reclassification of clostridial cluster III members into four novel genera in a new Hungateiclostridiaceae fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 68: 3197–3211.

Zhao HW, Viraraghavan T (2004) Analysis of the performance of an anaerobic digestion system at the Regina wastewater treatment plant. **Bioresource technology** 95: 301–307.

Zheng Z, Cai Y, Zhang Y, Zhao Y, Gao Y, Cui Z, Hu Y, Wang X (2021) The effects of C/N (10–25) on the relationship of substrates, metabolites, and microorganisms in “inhibited steady-state” of anaerobic digestion. **Water Research** 188: 116466.

Zhu R, Wang DH, Zheng Y, Zou H, Fu SF (2022) Understanding the mechanisms behind micro-aeration to enhance anaerobic digestion of corn straw. **Fuel** 318: 123604.

Zhu X, Yellezuome D, Wang Z, Liu X, Liu R (2024) Comprehensive insights into the effects of acidogenic off-gas utilization on successive biogas production, microbial community structure and metabolite distribution during two-stage anaerobic digestion. **Water Research** 258: 121740.

Ziemiński K, Frąc M (2012) Methane fermentation process as anaerobic digestion of biomass: Transformations, stages and microorganisms. **African Journal of Biotechnology** 11: 4127-4139.

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. **Bioresource Technology** 146: 556–561.