

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE SUBPRODUTOS DO
SETOR SUCROENERGÉTICO PARA A PRODUÇÃO DE
BIOGÁS**

Bruna Rodrigues Siqueira Sturaro
Engenheira Agrônoma

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE SUBPRODUTOS DO
SETOR SUCROENERGÉTICO PARA A PRODUÇÃO DE
BIOGÁS**

Bruna Rodrigues Siqueira Sturaro

Orientadora: Profa. Dra. Rose Maria Duda

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Alves Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

S935c	Sturaro, Bruna Rodrigues Siqueira Co-digestão anaeróbia de subprodutos do setor sucroenergético para a produção de biogás / Bruna Rodrigues Siqueira Sturaro. -- Jaboticabal, 2024 74 p. : il., tabs. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientadora: Rose Maria Duda Coorientador: Roberto Alves Oliveira 1. Águas residuais Purificação Tratamento biológico. 2. Cana-de-açúcar Derivados. 3. Biogas. I. Título.
-------	--



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

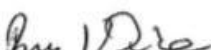
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE SUBPRODUTOS DO SETOR
SUCROENERGÉTICO PARA A PRODUÇÃO DE BIOGÁS

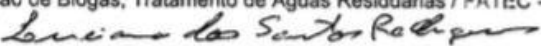
AUTORA: BRUNA RODRIGUES SIQUEIRA STURARO

ORIENTADORA: ROSE MARIA DUDA

COORIENTADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

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


Prof. Dra. ROSE MARIA DUDA (Participação Presencial)
Produção de Biogás, Tratamento de Águas Residuárias / FATEC - Jaboticabal/SP


Prof. Dr. LUCIANO DOS SANTOS RODRIGUES (Participação Presencial)
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Belo Horizonte/MG


Prof. Dr. MARCELO BRUNO (Participação Presencial)
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos / UNIFEB - Barretos/SP

Jaboticabal, 29 de fevereiro de 2024

DADOS CURRÍCULARES DO AUTOR

Bruna Rodrigues Siqueira Sturaro, nascido dia 28 de dezembro de 1993 na cidade de Barretos – SP. Técnica em Meio Ambiente pela E.T.E.C Cel. Raphael Brandão (2011). Bacharel em Engenharia Agrônômica pelo Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB (2019). Durante a graduação participou de projeto interdisciplinar testando diferentes tipos de adubação (2016). No ano de 2019 foi estagiária do laboratório de Microbiologia Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB, trabalhando com projetos voltados a Microbiologia agrícola. Realizou mestrado no programa de Microbiologia Agropecuária, com dedicação exclusiva, na Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal (UNESP - FCAV), atuando na linha de pesquisa de Saneamento Ambiental, no Departamento de Engenharia. Atualmente desenvolve pesquisas na área de Microbiologia Agropecuária, atuando principalmente nos seguintes temas: tratamento anaeróbio de águas residuárias e produção de biogás.

Dedico este trabalho a minha mãe Adeides e meu pai Geraldo, que nunca mediram esforços para que eu conseguisse alcançar meus objetivos, sempre me amparando e dando forças para continuar em todos os momentos.

Dedico a todos os meus amigos e meu namorado Henrique que jamais me deixaram desistir e sempre acreditaram na minha capacidade e força de vontade.

Dedico aos meus avós Aristides e Antônia (*in memoriam*) que foram trabalhadores rurais e não tiveram a mesma oportunidade de estar aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora por estarem ao meu lado sempre.

Aos meus pais Geraldo e Adeides que, com muito empenho, sempre se sacrificou para que os meus sonhos fossem realizados. Esta conquista é de vocês também.

À minha sobrinha Valentina, sou eternamente grata pelo apoio e por ter compreendido a minha ausência, e por sempre estar ao meu lado, mesmo distante.

À minha orientadora Professora Dra. Rose Maria Duda, pela confiança depositada e oportunidade de realização do curso de Pós-Graduação ao nível de Mestrado, pelos conselhos, compreensão, encorajamento e enorme disposição ao longo dos anos em que trabalhamos juntos.

Ao meu coorientador Professor Dr. Roberto Alves de Oliveira, por acreditar em mim, pelos conselhos, pelas críticas e por todas as palavras de apoio.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), em particular, o Laboratório de Saneamento Ambiental e o Departamento de Engenharia, disponibilizando recursos e instalações para realizar este trabalho.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação pela disposição e ajuda sempre prestada. Aos Funcionários do Departamento de Engenharia João e Marquinho e em especial ao Ailton pela amizade, convivência, conselhos e auxílios prestados.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da UNESP – FCAV, pelas disciplinas ministradas e pelo aprimoramento acadêmico.

Também agradeço aos colegas de laboratório sentirei muita saudade de vocês! Obrigado pela amizade, companheirismo, ajuda e por todos os bons momentos que passamos juntos.

Às Usinas Pitangueiras e São Francisco pelo fornecimento dos sub-produtos para realização desta pesquisa.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) por ter concedido o auxílio financeiro 2019/19443-6.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

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

Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por ter me concedido auxílio financeiro durante todo o período do mestrado.

Aos amigos de vida que me apoiaram no decorrer desse projeto.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	Objetivos específicos.....	21
3	REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA.....	21
3.1	Biocombustíveis.....	21
3.2	Bioquímica da digestão anaeróbia.....	22
3.3	Reatores UASB.....	24
3.4	Vinhaça.....	25
3.5	Reatores anaeróbios na co-digestão da vinhaça, melaço e torta.....	27
3.6	Melaço de cana-de-açúcar.....	29
3.6	Torta de filtro.....	30
4.0	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1	Estrutura do experimento.....	33
4.2	Afluente e lodo utilizado.....	34
4.3	Operação do sistema de tratamento.....	35
4.4	Suplementação com torta de filtro.....	36
4.5	Monitorização do sistema composto pelos reatores UASB.....	36
4.6	Análise estatística.....	38
4.7	Extração de DNA.....	38
4.7.1	Sequenciamento na plataforma Illumina.....	38
4.7.2	Análise de dados.....	38
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1	pH, alcalinidade e ácidos orgânicos voláteis totais (AVT).....	40
5.2	Demanda química de oxigênio e sólidos suspensos.....	45
5.3	Produção de biogás e estimativa da produção de energia elétrica..	48
5.4	Nutrientes, sulfeto e sulfato.....	51
5.4.1	Nitrogênio e fósforo.....	51
5.4.2	Sulfeto e sulfato.....	53
5.4.3	Nutrientes.....	58
5.4.4	Sólidos totais e voláteis do lodo dos reatores UASB, R1 e R2.....	59
6.0	DIVERSIDADE MICROBIANA NO LODO.....	60
7.0	CONCLUSÃO.....	62
8.0	REFERÊNCIAS.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

AVT: Ácidos voláteis totais

Al: Alcalinidade intermediária

AP: Alcalinidade parcial

AT: Alcalinidade total

BRS: Bactérias redutoras de sulfato

CH₄: Metano

COV: Carga orgânica volumétrica

CO₂: Dióxido de carbono

CV: Coeficiente de variação

DQO_{total}: Demanda química de oxigênio total

DQO_{diss}: Demanda química de oxigênio dissolvida

N-am: Nitrogênio amoniacal

NK: Nitrogênio total Kjeldahl

pH: Potencial hidrogeniônico

PEM: Produção específica de metano

P-total: Fósforo total

PVC: Policloreto de vinila

PVM: Produção volumétrica de metano

R1: Reator 1

R2: Reator 2

SO₄⁻²: Íon sulfato

SST: Sólidos suspensos totais

SSV: Sólidos suspensos voláteis

TDH: Tempo de detenção hidráulica

UASB: Upflow anaerobic sludge blanket

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características da vinhaça descritas por diversos autores.....	27
Tabela 2. Condições operacionais dos reatores UASB (R1 e R2) em série, utilizados na co-digestão anaeróbia da vinhaça e melaço suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	35
Tabela 3. Exames e determinações, frequência e fontes das metodologias utilizadas.....	36
Tabela 4. Valores médios de alcalinidade parcial (AP), alcalinidade total (AT), razão de alcalinidade intermediária pela alcalinidade parcial e razão de ácidos voláteis pela alcalinidade total (AVT/AT) no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	42
Tabela 5. Valores médios de demanda química de oxigênio total (DQO _{total}), demanda química de oxigênio dissolvida (DQO _{diss}), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e da razão SST/SSV no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	46
Tabela 6. Valores médios da produção volumétrica de metano (PVM), produção volumétrica específica de metano (PEM) e produção de energia elétrica (En) do biogás, nos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	49
Tabela 7. Valores médios de nitrogênio kjedahl (NK), fósforo total (P-total), nitrogênio amoniacal (N-am.) e da relação DQO:NK:P-total no afluente e efluentes, e remoções	

de NK e P-total para os reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....52

Tabela 8. Valores médios de Fe, Mn, Cu, Zn, Co e Ni no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB, R1 e R2), em série para a codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....55

Tabela 9. Valores médios de K, Ca, Mg, Na no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB, R1 e R2), em série para a codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma com as fases de digestão anaeróbia.....	23
Figura 2. Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol na indústria sucroenergética (Adaptado de LEMOS e TANCREDO, 2010).....	26
Figura 3. Representação esquemática das instalações compostas pelos reatores UASB em série R1 e R2, tanque de armazenagem de afluente e efluentes, gasômetros, bomba diafragma e câmara climatizada para a manutenção da temperatura.....	33
Figura 4. (A) Valores de carga orgânica volumétrica (COV), (B) pH, (C) relação da alcalinidade intermediária (AI) pela alcalinidade parcial (AP) e (D) ácidos voláteis totais no afluente (AVT) e efluentes dos reatores UASB em série (R1 e R2) na co-digestão da vinhaça com melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	42
Figura 5. Eficiência de remoção de demanda química de oxigênio total (DQO _{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO _{diss}) nos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	47
Figura 6. Valores da carga orgânica volumétrica (COV) aplicada no reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB – R1) e a produção volumétrica de metano (PVM) nos reatores UASB, R1 e R2, durante a operação dos reatores UASB em série para a codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	48
Figura 7. Valores dos íons sulfato e sulfeto no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB, R1 e R2), em série, na co-digestão da vinhaça com melaço suplementada com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....	55

Figura 8. Valores dos sólidos totais (ST) e voláteis (SV), nos pontos de coleta de lodo dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB, R1 e R2), em série, na co-digestão da vinhaça com melaço suplementada com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.....60

Figura 1. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos do domínio Bacteria do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).....63

Figura 10. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos gêneros do domínio Bacteria do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).....64

Figura 11. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos filos do domínio Archaea do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).... 64

Figura 12. Afiliações taxonômicas e abundância relativa dos gêneros do domínio Archaea do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).....65

Co-digestão anaeróbia de subprodutos do setor sucroenergético para a produção de biogás

RESUMO

A necessidade de redução da poluição global contribuiu para o desenvolvimento de fontes de energia renováveis, como o etanol e o biogás. Isso torna a digestão anaeróbia de subprodutos do setor sucroenergético uma opção interessante para a produção de energia. Portanto o objetivo deste trabalho foi a co-digestão anaeróbia da vinhaça (V) e melaço de cana-de-açúcar (M) (50%V:50%M, em termos de demanda química de oxigênio), suplementado com torta de filtro, em dois reatores UASB (R1 e R2), em série. As cargas orgânicas volumétricas (COV) médias aplicadas no R1 foram de 4,8; 29,5; 31,7 e 11,0 g DQO total (L d)⁻¹ na fase 1, 2, 3 e 4, respectivamente. A suplementação do afluente com a torta de filtro e a recirculação do efluente permitiu obter produções volumétricas de metano e remoções de demanda química de oxigênio total estáveis de 0,39 a 2,55 L CH₄ (L d)⁻¹ e de 50 e 83%, no R1 + R2, respectivamente. Observou-se uma carga de choque na fase 3, indicando que para as condições estudadas o limite de COV é de 47 g DQOtotal (L d)⁻¹, e só foi possível recuperar o sistema após a redução das COV, na fase 4. A partir da produção volumétrica de metano nos reatores UASB estimou-se a produção de até 19 kWh d⁻¹ por m³ de vinhaça, ou seja 68% da energia elétrica necessária para processar uma tonelada de cana-de-açúcar, na fase 2. Foi observado uma diversidade de microrganismos dos domínios arqueias e bactérias. Isso indica que é possível codigerir vinhaça e melaço suplementados com torta de filtro para obtenção de biogás em reatores UASB, em série, propondo opções para reutilização de subprodutos da cana-de-açúcar, com COV de até 45 g DQOtotal (L d)⁻¹.

Palavras-chave: Metano. Melaço. Reator UASB. Vinhaça.

Anaerobic co-digestion of by-products from the sugar-energy sector for biogas production

ABSTRACT

The need to reduce global pollution has contributed to the development of renewable energy sources, such as ethanol and biogas. This makes anaerobic digestion of byproducts from the sugarcane industry an interesting option for energy production. Therefore, the objective of this work was the anaerobic co-digestion of vinasse (V) and sugarcane molasses (M) (50%V:50%M, in terms of chemical oxygen demand), supplemented with filter cake, in two UASB reactors (R1 and R2), in series. The average organic load rate (OLR) applied in R1 were 4.8; 29.5; 31.7 and 11.0 g total COD (L d)⁻¹ in phases 1, 2, 3 and 4, respectively. Supplementation of the influent with filter cake and effluent recirculation allowed obtaining stable volumetric methane production and total chemical oxygen demand removals of 0.39 to 2.55 L CH₄ (L d)⁻¹ and 50 and 83%, in R1 + R2, respectively. A shock load was observed in phase 3, indicating that for the conditions studied the OLR limit is 47 g total COD (L d)⁻¹, and it was only possible to recover the system after the OLR reduction, in phase 4. From the volumetric production of methane in the UASB reactors, the production of up to 19 kWh d⁻¹ per m³ of vinasse was estimated, that is, 68% of the electrical energy required to process one ton of sugarcane, in phase 2. A diversity of microorganisms from the archaeal and bacterial domains was presented. This indicates that it is possible to co-digest vinasse and molasses supplemented with filter cake to obtain biogas in UASB reactors, in series, proposing options for reusing sugarcane by-products, with OLR of up to 45 g total COD (L d)⁻¹.

Keywords: Methane. Molasses. UASB reactor. Vinasse.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial e o desenvolvimento das indústrias nas últimas décadas, elevou o consumo de energia (KANNAN e VAKEESAN, 2016). Aproximadamente 7,4% da produção total de eletricidade no mundo foi atendida por energia renovável em 2016, e essa taxa aumentou para 12,8% no ano de 2021 (YOLCAN, 2023). A conscientização sobre os impactos ambientais tem motivado uma crescente ênfase nas políticas globais que impulsionam a transição para o uso de biocombustíveis e a redução das emissões (JOPPERT et al., 2017). Esta mudança ocorre em virtude da preocupação com os efeitos poluentes advindos da energia proveniente dos combustíveis fósseis, cujo potencial de contribuição para a poluição, mudanças climáticas e desastres naturais tem sido amplamente reconhecido (KANNAN e VAKEESAN, 2016).

As preocupações com o meio ambiente e os recentes avanços tecnológicos tornaram as energias renováveis uma opção para expandir a capacidade de geração de energia, e entre as fontes de energia renovável, pode-se citar o etanol e o biogás.

A produção de etanol de cana-de-açúcar no Brasil, na safra de 2022/2023 foi de aproximadamente 31,2 bilhões de litros (UNICA, 2023). A preocupação com os subprodutos da indústria sucroenergética brasileira, principalmente com a vinhaça, são importantes em virtude das grandes quantidades produzidas. Para cada litro de etanol da cana-de-açúcar produzido são gerados de 10 a 14 L de vinhaça (BARROS et al., 2017; BORDONAL et al., 2018). A vinhaça possui elevada carga orgânica, em virtude da presença de compostos fenólicos, glicerol, etanol, melanoidinas, açúcares, ácidos graxos voláteis e outros (WILKIE et al., 2000) e atualmente é utilizada na fertirrigação dos canaviais (NADALETI et al., 2020).

Os subprodutos da produção de açúcar e etanol da cana-de-açúcar, como o melaço, torta de filtro e vinhaça podem ser uma fonte interessante de matéria-prima para a produção de biogás. O biogás pode proporcionar a gestão responsável de resíduos e a produção de energia renovável, na transição global para a sustentabilidade (BEDOIC et al., 2021).

A digestão anaeróbia da vinhaça tem sido reconhecida como uma alternativa para o tratamento da vinhaça e produção de biogás. A remoção da matéria orgânica

biodegradável de forma controlada nos reatores anaeróbios, reduz as emissões de metano durante o armazenamento e o transporte de vinhaça e além disso, a aplicação da vinhaça biodigerida reduz as emissões de óxido nitroso em 78% comparado à da vinhaça não tratada (MORAES et al., 2017) e ainda pode ser utilizada na fertirrigação dos canaviais, para o aproveitamento dos nutrientes e da água. Os nutrientes contidos na vinhaça são geralmente conservados por digestão anaeróbia (WILKIE et al., 2000).

Apesar dos avanços apontados na digestão anaeróbia da vinhaça ainda são necessários estudos para otimizar a produção de biogás, com estabilidade (ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012; JANKE et al., 2016, BARROS et al., 2017; KIANI DEH KIANI et al., 2022). Algumas alternativas para o aumento da produção de biogás foram demonstradas a partir da co-digestão anaeróbia da vinhaça e outros subprodutos da indústria sucroenergética, como a torta de filtro (BARROS et al., 2017) e o bagaço (FURTADO et al., 2023).

Mas também existe a possibilidade da co-digestão da vinhaça com o melaço da cana-de-açúcar, que pode ser uma alternativa interessante e inovadora e que poderá proporcionar ganhos energéticos interessantes. A co-digestão é uma técnica que consiste em misturar diferentes tipos de resíduos orgânicos em um mesmo reator anaeróbio, com o objetivo de melhorar a produção de biogás e aumentar a eficiência do tratamento. Para a co-digestão, é importante selecionar os resíduos orgânicos que serão misturados de acordo com suas características físico-químicas e a disponibilidade na região. Essa técnica é promissora para melhorar a produção de biogás na indústria sucroenergética, contribuindo para uma gestão mais sustentável dos resíduos e a redução do impacto ambiental (JIANG et al., 2022).

O melaço é considerado um subproduto da etapa de centrifugação no processo de fabricação de açúcar, produzido a uma taxa de aproximadamente 35,5 kg por tonelada de cana processada, e que está comercialmente disponível (CASTAÑEDA-AYARZA e CORTEZ, 2017). A composição do melaço de cana-de-açúcar é muito variável, pois depende de fatores agrícolas e industriais. Os principais componentes do melaço são a água (17 a 25%), sacarose (30 a 40%), frutose (5 a 12%), glicose (4 a 9%), cinzas (7 a 15%), outros carboidratos, proteínas (2,5 a 4,5%) compostos de origem orgânica como os aminoácidos, ácidos

carboxílicos, vitaminas, fenóis e outros (CLARKE, 2003). O melaço de cana-de-açúcar tem sido, utilizado principalmente na produção de etanol, pois o processo industrial está bem estabelecido com a produção de etanol de 7 a 8% (v/v) a partir de melaço diluído (15 a 16%) (ARSHAD et al., 2017).

A digestão anaeróbia do melaço tem sido relatada em diversos estudos como uma estratégia interessante para a produção de biogás. Por exemplo, Meng et al., (2017), utilizaram dois reatores de leito fixo em série, aplicando cargas orgânicas volumétricas (COV) de $13,3 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$ na temperatura de 35°C , e obtiveram produções volumétricas de metano (PVM) de aproximadamente $3,8 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ no sistema, e destacaram a importância dos reatores anaeróbios em série para produção de biogás. Foi observado que o melaço é uma importante fonte de carbono para a produção de energia utilizando os reatores UASB termofílicos ($18,01 \text{ MJ L}^{-1}$ melaço), em comparação com a fermentação alcoólica ($8,30 \text{ MJ L}^{-1}$ de melaço), onde os autores trabalharam com dois reatores UASB em série (R1 e R2), com aplicação da COV de $7,1 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$ no R1 e obtenção de valores médios de PVM de $0,10 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ no R1+R2, durante o período de entressafra da cana-de-açúcar (SANTANA JUNIOR et al., 2019).

No entanto, observou-se na literatura poucos trabalhos da co-digestão da vinhaça e melaço de cana-de-açúcar. Destacando-se o trabalho realizado em um reator sequencial em batelada anaeróbia, com o intuito de obtenção de metano e hidrogênio, realizando a co-digestão da vinhaça e melaço de cana-de-açúcar suplementado com micronutrientes e uréia, nas proporções de melaço e vinhaça de 33 e 67% e 25 e 75%, respectivamente (ALBANEZ et al., 2018, 2016). De acordo com Albanez et al., (2018) o aumento da porcentagem de vinhaça (75-25% vinhaça / melaço) foi desfavorável e tornou o sistema instável.

A co-digestão da vinhaça e melaço pode ser facilitada se houver um equilíbrio nutricional, pois a disponibilidade de nutrientes é um fator importante no tratamento anaeróbio em virtude das elevadas concentrações de material orgânico da vinhaça e melaço. Normalmente as concentrações de macros e micronutrientes na vinhaça não atendem as quantidades recomendadas para a digestão anaeróbia, exceto o potássio (BARROS et al., 2017; JANKE et al., 2016a).

As soluções tecnicamente e economicamente mais apropriadas para o

tratamento anaeróbio de resíduos industriais devem ser exploradas com a suplementação dos nutrientes (VILLA-MONTOYA et al., 2017). A torta de filtro, subproduto da indústria sucroenergética, é uma alternativa interessante, podendo reduzir os custos dispensando o uso de compostos químicos industrializados na digestão anaeróbia. A torta de filtro é rica em nutrientes, com concentrações de N e P de 1,72% e 0,6% dos sólidos totais (ST), respectivamente (JANKE et al., 2016b); e de K, Ca, Mg e S de 0,3; 2,1; 0,6 e 0,25% dos ST, respectivamente (PRADO et al., 2013). A torta de filtro atualmente é utilizada como fonte de energia na produção de vapor para a geração de eletricidade e como fertilizante na agricultura (CAMARGO et al., 2016).

Entre as diversas configurações de reatores anaeróbios, os reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) são os mais populares na digestão anaeróbia da vinhaça, em virtude da possibilidade de aplicação de baixos tempos de detenção hidráulico (TDH). No entanto a estabilidade de produção de biogás é um problema típico na aplicação em escala real (KIANI Deh KIANI et al., 2022). O reator UASB é um sistema de tratamento biológico que utiliza a ação de microrganismos em um ambiente sem oxigênio, para remover a matéria orgânica da vinhaça e produzir biogás (FUESS et al., 2021). Como por exemplo da aplicação de um reator UASB em escala real, localizado na região de Ribeirão Preto – SP. O reator UASB possuía 5000 m³, era operado na temperatura de 55 °C para a produção de biogás da vinhaça de cana-de-açúcar, sem a suplementação de nutrientes. A eficiência do tratamento era normalmente modesta, pois a principal preocupação era apenas a produção adequada de biogás para secagem da levedura (MORAES et al., 2015). Ou seja, existe a necessidade de estratégias economicamente viáveis para o aproveitamento dos sub-produtos da indústria sucroenergética.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de dois reatores UASB (R1 e R2), em série, na co-digestão da vinhaça (V) e do melaço (M) suplementados

com torta de filtro, com aumentos graduais das cargas orgânicas volumétricas (COV), quanto a produção de biogás e qualidade do efluente.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar estratégias de recuperação dos reatores UASB, em série, após um choque de carga;
- Avaliar a diversidade microbiana dos domínios Bacteria e Archaea no lodo dos reatores UASB, utilizando técnicas da biologia molecular.

3. REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biocombustíveis

Os biocombustíveis, como o etanol, biodiesel e biogás, são reconhecidos como fontes fundamentais de energia limpa e sustentável, conforme enfatizado por Fernandes (2011). Originados da degradação microbiana de biomassas, esses recursos desempenham um papel crucial na transição para fontes energéticas mais ambientalmente corretas, reduzindo expressivamente as emissões de gases poluentes ao ambiente.

A biomassa é uma fonte renovável de energia que se destaca pela sua diversidade e é composta por materiais que vão desde resíduos agrícolas até restos de plantas e resíduos industriais e urbanos. A biomassa oferece uma oportunidade significativa para a geração de energia renovável, promovendo práticas ecologicamente responsáveis (JÚNIOR et al.; 2009).

Pedroza et al. (2021) e Angelidaki et al. (2009) reforçam em suas pesquisas que a digestão anaeróbia, além da produção de biogás desempenha um papel fundamental na gestão de resíduos. Esse processo não só produz energia, mas também contribui para a redução do acúmulo de resíduos, minimizando impactos ambientais e promovendo uma abordagem mais circular na economia.

A exploração estratégica de fontes de energia limpa, provenientes da biomassa e dos processos de degradação microbiana, impulsiona a busca por soluções energéticas mais sustentáveis e eficientes. Estas iniciativas não apenas

mitigam os impactos ambientais adversos, mas também incentivam uma abordagem mais consciente e responsável na utilização dos recursos naturais disponíveis.

3.2 Bioquímica da digestão anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia ocorre por meio da fermentação realizada por bactérias e arqueias que degradam a matéria orgânica e produzem o biogás. A fermentação na digestão anaeróbia também pode produzir biofertilizante como subproduto (PEDROZA et al., 2021).

As fontes orgânicas como efluentes e materiais vegetais podem ser digeridas individual ou conjuntamente, o que se caracteriza como co-digestão. A co-digestão anaeróbia, tem se mostrado como um processo muito promissor para produção de biogás (PEDROZA et al., 2021), porém o nível de produção de biogás é diretamente relacionado a composição química dos compostos orgânicos utilizados (BEDOIC et al., 2019).

A digestão anaeróbia do material orgânico ocorre por meio de microrganismos anaeróbios, que transformam o material orgânico em lodo biológico, líquidos e gases. Esse processo pode ser dividido, didaticamente em quatro etapas, conforme descrito por CHERNICHARO (2007) (Figura 1).

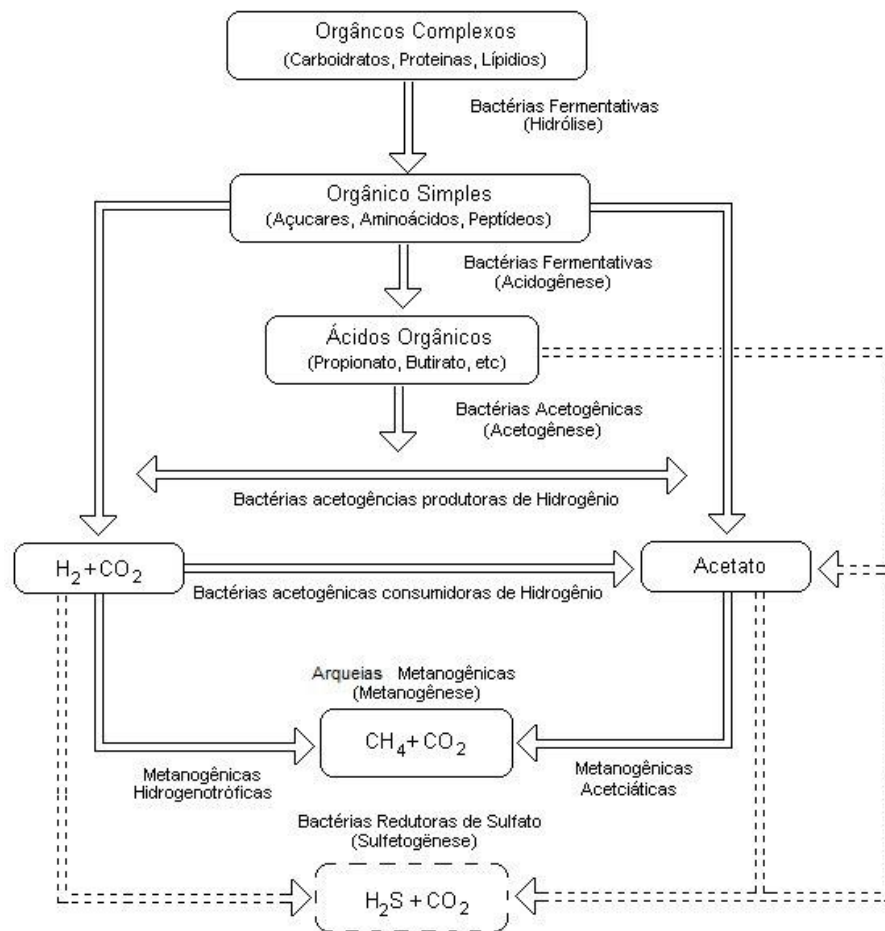
Hidrólise: as bactérias fermentativas degradam o material orgânico em compostos mais simples, utilizando enzimas extracelulares.

Acidogênese: as bactérias fermentativas metabolizam os produtos solúveis da hidrólise.

Acetogênese: as bactérias acetogênicas transformam os produtos gerados na fase anterior em substrato apropriado as arqueias metanogênicas (acetato e hidrogênio).

Metanogênese: as arqueias metanogênicas transformam o acetato e o hidrogênio em metano e gás carbônico preferencialmente.

Diferentes fatores afetam o processo anaeróbio de produção de biogás de fontes orgânicas.



Fonte: Adaptado de CHERNICHARO (2007).

Figura 1. Fluxograma com as fases de digestão anaeróbia.

Segundo Angelidaki et al. (2009), os nutrientes encontrados nos substratos utilizados são fundamentais para a atuação das bactérias anaeróbias. Outras variáveis importantes são os sólidos totais, sólidos voláteis, demanda química de oxigênio (DQO), tamanho de partícula, pH e temperatura.

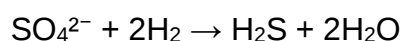
Em um ambiente ácido, as arqueias que produzem metano cessam suas atividades. O pH neutro é muito adequado para produção de biogás (ANGELIDAKI et al., 2009). Já a temperatura ideal para produção de biogás é de aproximadamente 35 °C (CHERNICHARO, 2007). No entanto, em biodigestores fora de cabine, em temperatura ambiente, flutuações de temperatura diurnas e noturnas podem afetar esse processo (PEDROZA et al., 2021).

A presença de compostos de enxofre nos resíduos orgânicos é um catalisador

natural da sulfetogênese, um processo intrínseco à digestão anaeróbia. Essa sequência de eventos é desencadeada pela considerável presença desses compostos, resultando na formação de sulfeto de hidrogênio (H_2S) e sulfato (SO_4^{2-}), os quais têm o potencial de prejudicar a eficiência dos microrganismos nos reatores anaeróbios, conforme apontado por (SILVA et al.; 2003).

A produção de sulfeto e sulfato na digestão anaeróbia é um processo complexo envolvendo uma série de reações químicas mediadas por diferentes grupos de microrganismos anaeróbios, como discutido por Jung; Baek E Lee (2020). Essas etapas cruciais compreendem:

Desulfatação redutiva: Microrganismos redutores de sulfato, como bactérias redutoras de sulfato, utilizam o sulfato (SO_4^{2-}) presente nos substratos como um aceptor de elétrons durante a fermentação anaeróbia. Esse processo resulta na conversão do sulfato em sulfeto de hidrogênio (H_2S), conforme a equação química:



Sulfetogênese: O sulfeto de hidrogênio (H_2S), gerado na etapa anterior, é altamente reativo e pode ser transformado em compostos mais estáveis. Essa transformação pode ocorrer por meio da oxidação do H_2S para enxofre elementar (S) ou para sulfato (SO_4^{2-}), conduzida por microrganismos oxidantes de enxofre, como exposto por Hirasawa (2007).

A formação excessiva de H_2S pode ser prejudicial para os reatores anaeróbios, já que é tóxico para muitos microrganismos. Isso pode comprometer a eficácia da digestão anaeróbia e a estabilidade do sistema, como indicado por Vu et al. (2022).

Embora a formação de sulfato (SO_4^{2-}) seja menos tóxica que a de H_2S , a presença excessiva de sulfato também pode apresentar desafios, como a redução na eficiência do processo de produção de biogás, como discutido por Hao et al. (1996).

3.3 Reatores UASB

A utilização dos reatores anaeróbios UASB, possibilita o tratamento de uma variedade de água residuárias e é muito utilizado em grande escala principalmente

para esgoto doméstico. O reator UASB possui uma dinâmica de fluidos mais eficiente do que outros sistemas convencionais. Este reator, quando os microrganismos estão adaptados às condições climáticas do Brasil, pode ser utilizado para diversos efluentes líquidos (BELLI FILHO et al., 2001).

Utilizando reatores UASB, em série, em condições de temperatura ambiente com aumento gradual da COV, por exemplo, Barros et al., (2017) alcançaram COV, de até 40 g DQO_{total} (L d⁻¹) no R2 e elevadas produções volumétricas de metano. A configuração dos reatores em série e a recirculação do efluente contribuíram para o aumento da conversão anaeróbia da vinhaça a metano e para a estabilidade do processo. Porém, foi observado decréscimo do desempenho no período de inverno em virtude das baixas temperaturas (13,7 °C), destacando a importância da temperatura na estabilidade e obtenção de elevado desempenho desses sistemas, mesmo em países de clima tropical como o Brasil.

Apesar dos avanços apontados em diversos estudos (BARROS et al., 2016; ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012; JANKE et al., 2016, BARROS 2017), ainda são necessários estudos para otimizar a digestão anaeróbia da vinhaça para a produção de biogás, com estabilidade.

A utilização de reatores anaeróbios em série poderá aumentar a produção de biogás, e o potencial para a aplicação da tecnologia da digestão anaeróbia na indústria sucroenergética em escala plena. A co-digestão da vinhaça com o melaço da cana-de-açúcar pode ser uma alternativa interessante e inovadora e que poderá proporcionar ganhos energéticos.

3.4 Vinhaça

O processo de fabricação do etanol começa com a seleção e moagem da matéria-prima, no caso, a cana-de-açúcar (Figura 2).

Após a extração do caldo da cana-de-açúcar, ele é concentrado e posteriormente é adicionado a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para que ocorra a fermentação, que transforma o açúcar em etanol. A mistura resultante é destilada para a obtenção do etanol, restando a vinhaça como subproduto (DA SILVA FERNANDES et al., 2022).

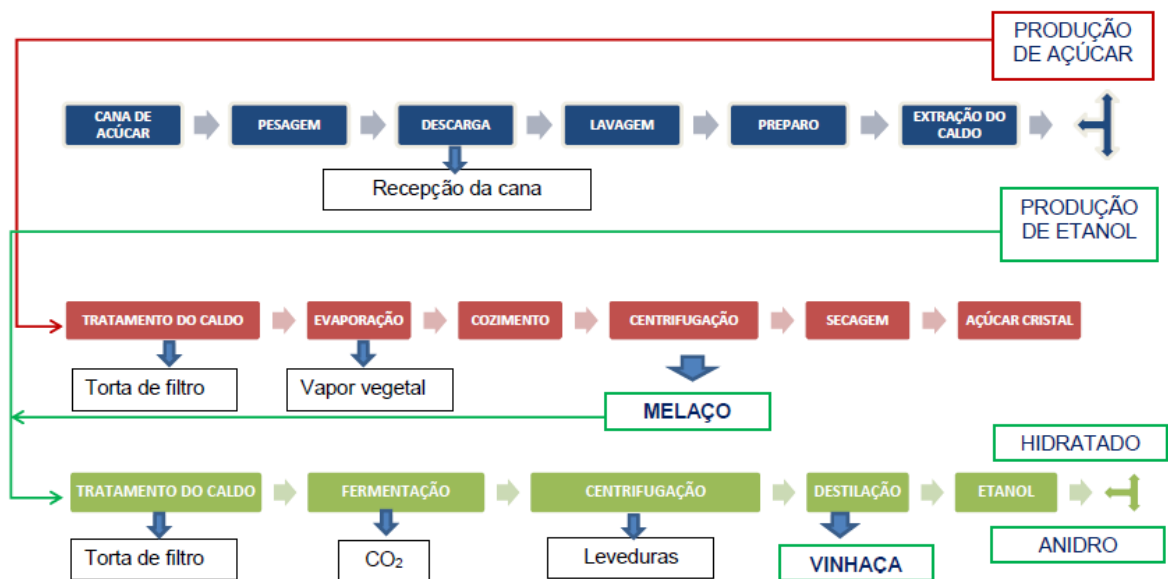


Figura 2. Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol na indústria sucroenergética (Adaptado de LEMOS e TANCREDO, 2010).

Após a extração do caldo da cana-de-açúcar, ele é concentrado e posteriormente é adicionado a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para que ocorra a fermentação, que transforma o açúcar em álcool. A mistura resultante é destilada para a obtenção do etanol, restando a vinhaça como subproduto (DA SILVA FERNANDES et al., 2022).

A vinhaça é considerada um dos principais efluentes gerados pela indústria sucroalcooleira, sendo que cada litro de etanol produzido pode gerar 10 a 14 litros de vinhaça. Em virtude da sua composição complexa e alta carga orgânica, a vinhaça é considerada um efluente líquido altamente poluente (CARPANEZ et al., 2022).

A vinhaça é uma mistura líquida composta principalmente por água e resíduos orgânicos e inorgânicos, como celulose, lignina hemicelulose, açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, potássio, fósforo, nitrogênio, entre outros (VANDENBERGHE et al., 2022). Ela é rica em potássio e água e pode ser utilizada para fertirrigação da cana-de-açúcar. Além disso, a vinhaça pode ser transformada em biogás por meio de processos de digestão anaeróbia. A utilização da vinhaça como subproduto é

importante para tornar a produção de etanol mais sustentável e reduzir o impacto ambiental (MAGOWO, SHERIDAN E RUMBOLD, 2020).

De acordo com Silva et al. (2021) o pH da vinhaça in natura varia de 3,64 a 4,80. O teor de nitrogênio, fósforo e sulfato da vinhaça bruta podem variar de 148 a 1.230 mg L⁻¹; 1 a 190 mg L⁻¹ e 1186 mg L⁻¹, respectivamente (NOGUEIRA et al. 2015). Na tabela 1, estão descritas as características da vinhaça, encontradas por diversos autores.

Tabela 1. Características da vinhaça descritas por diversos autores.

Parâmetros	Aguiar et al., (2022)	Borges et al., (2021)	Fuess et al., (2021 a)	Silva et al., (2021)	Hoarau et al., (2018)	Barros et al., (2017)
pH	4,05	4,5	3,8	4,3	4,0	4,6
DQO	39780	27700	31118	30400	30400	44500
DBO	16780	-	7623	13800	16700	-
P-total	345	-	-	112	130	26
NK	118	620	360	436	630	430
Ca	554	-	708	-	-	16
Na	68	-	7	-	-	16
SO ₄ ²⁻	11148	2308	2475	1400	-	-

Unidades: mg L⁻¹, exceto pH. DQO: demanda química de oxigênio; DBO: demanda bioquímica de oxigênio; P-total: fósforo total; N: nitrogênio kjedahl.

3.5 Melaço de cana-de-açúcar

O processo de fabricação de açúcar inicia com a moagem da cana-de-açúcar, que é lavada e picada em pequenos pedaços para facilitar a extração do caldo (Figura 2). Esse caldo é então aquecido para evaporar a água e concentrar a sacarose, formando o xarope. O xarope é centrifugado para separar o açúcar cristalizado do líquido escuro e viscoso conhecido como melaço. O melaço de cana-de-açúcar é um subproduto gerado durante o processo de produção do açúcar e do etanol a partir da cana-de-açúcar. Ele é composto principalmente de açúcares não cristalizáveis, como a sacarose, glicose e frutose, além de outros compostos orgânicos como ácidos orgânicos, compostos fenólicos, proteínas e minerais (GAO et al., 2022).

O melaço tem diversas aplicações, sendo utilizado como matéria-prima na produção de alimentos, bebidas, ração animal, fertilizantes, produtos químicos ou como ingrediente na culinária. Na alimentação animal, o melaço é utilizado como aditivo energético, fornecendo açúcares facilmente digeríveis aos animais. Na produção de bebidas alcoólicas, o melaço é utilizado como matéria-prima na produção de rum e cachaça (KABEYI e OLANREWAJU, 2022).

Além disso, o melaço também pode ser utilizado como matéria-prima na produção de biogás, sendo uma fonte de energia renovável e uma alternativa aos combustíveis fósseis (SANTANA JUNIOR et al., 2019). Dessa forma, o melaço de cana-de-açúcar é um subproduto importante da indústria sucroalcooleira, com diversas aplicações e possibilidades de aproveitamento sustentável, contribuindo para a gestão mais eficiente dos resíduos e a redução do impacto ambiental (VILELA et al., 2021).

O melaço, gerado durante o processo de produção de açúcar e etanol a partir da cana-de-açúcar, é distinto em suas variantes A e B. O melaço A, obtido na fase inicial do processamento, é mais claro em coloração e possui um sabor mais doce. Ele é composto principalmente por sacarose, glicose e frutose, com uma menor concentração de compostos minerais e orgânicos. Por outro lado, o melaço B, proveniente das etapas posteriores de processamento, apresenta-se mais escuro e viscoso, com um sabor mais robusto e intenso. Esse tipo de melaço possui uma composição mais rica em compostos fenólicos, proteínas e minerais, sendo menos concentrado em açúcares simples (JAMIR et al., 2021).

Ambas as variantes de melaço, A e B, têm uma ampla gama de aplicações industriais. O melaço A é frequentemente utilizado na indústria alimentícia, enquanto o melaço B é valorizado na produção de bebidas alcoólicas, na alimentação animal, como aditivo energético, e na agricultura como um eficaz fertilizante orgânico (ZHANG et al., 2021).

Avaliando o desempenho de dois reatores UASB em série, tratando vinhaça na safra e mantendo os reatores em funcionamento na entre-safra utilizando melaço e posteriormente a retomada do sistema utilizando vinhaça, Santana Junior et al., (2019) observaram produções médias de metano de 0,100; 0,100 e 0,275 L CH₄ (L d)⁻¹, respectivamente. Os valores de ácidos voláteis totais foram de

aproximadamente 4000 mg L⁻¹ e poderiam ser reduzidos com uma adequada suplementação nutricional e o decréscimo de compostos recalcitrantes no efluente recirculado, conforme discutido pelos autores.

3.6 Torta de filtro

A torta de filtro é um subproduto da fabricação de açúcar e consiste em bagaço de cana-de-açúcar, casca e outros resíduos sólidos que são removidos durante o processo de filtração do caldo de cana. Após a filtração, o material sólido é prensado para remover o excesso de líquido e formar a torta de filtro. A torta de filtro pode ser utilizada como fonte de energia na geração de vapor, ou para alimentação animal, pois é rica em fibras e nutrientes (GONÇALVES et al., 2021).

A torta de filtro, como subproduto da indústria sucroalcooleira, pode ser utilizada como suplemento na digestão anaeróbia em reatores do tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), que são amplamente utilizados para o tratamento de efluentes líquidos em diversos gerados. A torta de filtro pode fornecer nutrientes importantes para as bactérias presentes no reator, produzir sua atividade metabólica e, conseqüentemente, aumentar a produção de biogás (WONGARMAT et al., 2022).

A torta de filtro possui altos teores de matéria orgânica, fósforo, nitrogênio e cálcio; teores consideráveis de potássio, magnésio e expressivas quantidades de Fe, Mn, Zn (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2011). Em virtude das quantidades de nutrientes, principalmente N e P; é utilizada como adubo orgânico, após compostagem, no processo de adubação da cana-de-açúcar (JANKE et al., 2015).

A utilização da torta de filtro como suplemento na digestão anaeróbia em reatores UASB pode trazer benefícios biológicos e ambientais, uma vez que permite o aproveitamento de um subproduto gerado pela indústria sucroalcooleira, e aumentando a produção de biogás, que é uma fonte de energia renovável e limpa. Além disso, a utilização da torta de filtro como suplemento pode contribuir para a redução do custo de operação dos reatores UASB, uma vez que é uma alternativa mais barata do que outras fontes de suplementos utilizados na alimentação desses reatores (VOLPI et al., 2022).

3.7 Reatores anaeróbios na co-digestão da vinhaça, melaço e torta de filtro

O tratamento da vinhaça em reatores UASB é uma abordagem eficiente para o gerenciamento desse efluente, altamente poluente gerado na indústria sucroalcooleira. Os reatores UASB são unidades de tratamento anaeróbio que visam reduzir a carga poluente e a matéria orgânica presente na vinhaça, convertendo-a em produtos mais adequados e promovendo a produção de biogás como fonte de energia renovável (PARSAEE et al., 2019).

No processo de tratamento, a vinhaça é introduzida no reator UASB, onde uma biomassa granular anaeróbia específica atua na degradação da matéria orgânica. Esse sistema permite a separação eficiente entre o material sólido e líquido, onde os sólidos suspensos são retidos enquanto o líquido passa pelo sistema, permitindo a conversão dos componentes orgânicos em biogás (VAN HAANDEL et al., 2013).

O principal objetivo do tratamento da vinhaça em reatores UASB é a redução significativa da carga poluente, minimizando a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e dos sólidos suspensos. Concomitantemente, o processo anaeróbio gera biogás, composto principalmente por metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), tornando-se uma fonte valiosa de energia renovável (BARROS et al., 2017; JOPPERT et al., 2017).

A utilização de reatores UASB no tratamento da vinhaça não apenas reduz a carga poluente do efluente, mas também contribui para a gestão ambientalmente consciente dos resíduos gerados pela indústria sucroalcooleira. Ao converter os resíduos em biogás, essa abordagem alinha-se com as diretrizes de sustentabilidade, promovendo a geração de energia renovável e a minimização do impacto ambiental (PAZUCH et al., 2017).

O tratamento da vinhaça em reatores UASB é uma solução promissora, contudo, há necessidade contínua de estudos e investimentos para otimização dos processos, redução de custos operacionais e maior eficiência na conversão de resíduos em biogás. A contínua pesquisa nessa área é essencial para o aprimoramento dessas tecnologias visando benefícios econômicos e ambientais cada vez mais expressivos (BARROS et al., 2017).

Van Haandel et al. (2013) operaram quatro reatores UASB para tratar vinhaça

da produção de cachaça, dois a 54° C e dois a 37° C. Os reatores mesofílicos alcançaram COVs de 40 a 50 g DQO (L d)⁻¹. Constataram que, no tratamento da vinhaça, os reatores mesofílicos superaram os termofílicos. As altas taxas de metano dependem de atividade metanogênica específica no reator, sugerindo possibilidade de gerar eletricidade acima de 2 KW m⁻³ dia, trazendo benefícios econômicos.

A co-digestão de resíduos agroindustriais como vinhaça e melaço oferece um potencial considerável na geração de biocombustíveis, mas sua complexidade exige uma análise minuciosa das proporções e condições de processo. O estudo de Albanez et al. (2018) destacou a sensibilidade do sistema, mostrando como a variação na composição pode afetar a estabilidade do reator anaeróbio. Isso ressalta a importância de uma abordagem cuidadosa ao propor misturas, considerando não apenas as proporções de vinhaça e melaço, mas também os elementos suplementares, como micronutrientes e ureia, que desempenham um papel crucial na atividade microbiana e na produção de biogás.

A instabilidade observada com o aumento da proporção de vinhaça levanta questões sobre os processos de degradação microbiana e as interações complexas entre os diferentes substratos. É fundamental compreender melhor as dinâmicas microbiológicas envolvidas na co-digestão para maximizar a produção de metano e garantir a estabilidade do sistema ao longo do tempo. Isso pode incluir a avaliação de comunidades microbianas, taxas de degradação de matéria orgânica e ajustes nas condições operacionais do reator (MATA-ALVAREZ et al., 2014).

Além disso, estudos de escalonamento e otimização desses processos em nível industrial são necessários para viabilizar a aplicação em larga escala. A compreensão detalhada das condições ideais de co-digestão, incluindo as proporções mais adequadas de vinhaça, melaço e suplementos, é crucial para alcançar não apenas eficiência na produção de biogás, mas também para promover uma transição mais sustentável e ambientalmente correta na indústria açucareira. A utilização do melaço como co-substrato é altamente interessante em virtude à sua prontidão como subproduto da indústria açucareira, o que o torna uma fonte facilmente acessível e abundante para processos de co-digestão (SOAM et al. 2015)

As proporções de 33% e 67% para melaço e vinhaça, e posteriormente 25% e

75%, foram cruciais para compreender a dinâmica da co-digestão. No entanto, o aumento para 75% de vinhaça revelou-se desfavorável, gerando instabilidade no sistema anaeróbio, conforme apontado por Albanez et al. (2018). Esses estudos ressaltam a necessidade de equilíbrio nas proporções para manter a estabilidade e eficácia do processo de co-digestão anaeróbia. Estudos adicionais nesse campo podem contribuir significativamente para o desenvolvimento de estratégias mais eficientes e sustentáveis na produção de biogás.

A eficiência do tratamento da vinhaça em reatores UASB depende da concentração adequada de nutrientes, ajustes na relação carbono/nitrogênio/fósforo (C/N/P) e controle da acidez do efluente. A presença de compostos recalcitrantes pode influenciar a eficácia do processo, exigindo ajustes nutricionais e monitoramento constante para garantir a estabilidade do sistema.

O nitrogênio e fósforo são elementos cruciais para estimular a atividade dos micro-organismos metanogênicos, desempenhando um papel essencial no funcionamento dos reatores anaeróbios (ALPHENAAR et al., 1993).

Vários estudos voltados ao tratamento anaeróbio da vinhaça têm explorado o uso de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e uréia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) como alternativas para suprir a escassez de fósforo e nitrogênio (BARROS; DUDA; OLIVEIRA, 2016; JANKE et al., 2016). No entanto, conforme destacado por Villa-Montoya et al. (2016), é imprescindível buscar soluções mais eficientes, tanto do ponto de vista técnico quanto econômico, para o tratamento anaeróbio de resíduos industriais. Nesse contexto, a inclusão da torta de filtro emerge como uma alternativa promissora para a digestão anaeróbia da vinhaça, aproveitando os nutrientes disponíveis nessa fonte e, potencialmente, reduzindo os custos ao eliminar a necessidade de compostos químicos suplementares.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Estrutura do experimento

A unidade experimental foi constituída por um tanque de armazenamento do afluente e efluente, bomba de diafragma, seguido de dois reatores UASB em série, com volumes de 12,6 L (primeiro estágio – R1) e 5,6 L (segundo estágio – R2), e quatro gasômetros de fibra de vidro (Figura 3).

Os reatores foram construídos com tubos de PVC, de 100 e 75 mm de diâmetro, para o R1 e R2, respectivamente, com separadores de fases na forma de Y, com ângulo de 45° em relação à vertical (CAVALCANTI et al., 1999), adaptado por outros estudos (VILLA-MONTOYA et al., 2017). Cada reator possuía, distribuídos ao longo de sua altura, quatro pontos para a coleta de amostras de lodo, denominados P1, P2, P3 e P4, com distância de 25 cm entre cada ponto. Os reatores UASB foram mantidos em câmara climatizada, com sistema de controle de temperatura (35 °C), que corresponde a temperatura mesofílica ótima para a digestão anaeróbia (CHERNICARO, 2015).

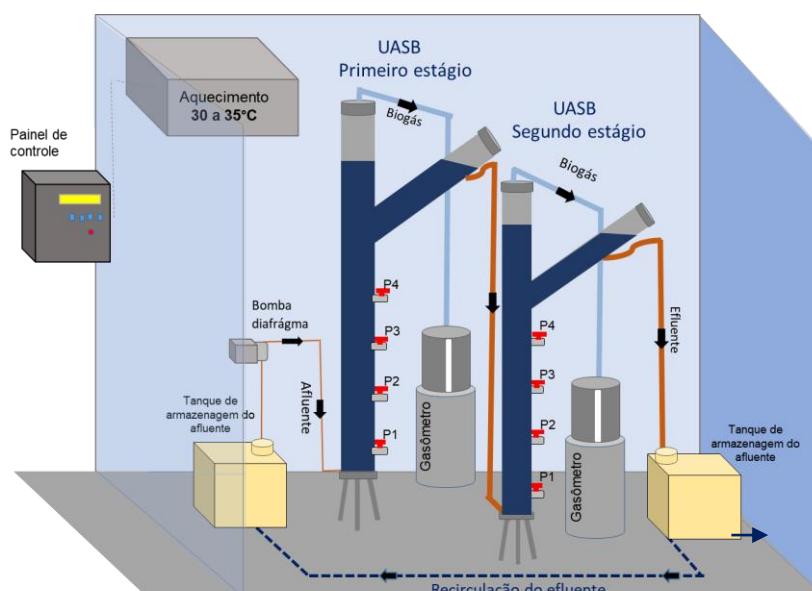


Figura 3. Representação esquemática das instalações compostas pelos reatores UASB em série R1 e R2, tanque de armazenagem de afluente e efluentes, gasômetros, bomba diafragma e câmara climatizada para a manutenção da temperatura.

4.2 Afluente e lodo de inóculo utilizado

A vinhaça foi coletada na primeira coluna de destilação em uma indústria sucroenergética, localizada na região de Ribeirão Preto – SP. Nessa fase, conhecida como primeira coluna de destilação, a separação dos componentes da vinhaça é essencial para obter álcool etílico de alta pureza. Essa etapa utiliza destilação fracionada para aquecer a vinhaça, separando seus elementos voláteis, como o etanol, dos outros compostos. A precisão desta coluna influencia diretamente na qualidade do etanol produzido, usado em biocombustíveis. Além disso, uma destilação eficiente reduz a carga poluente da vinhaça, tornando o processo mais sustentável.

A torta de filtro foi coletada na saída dos filtros rotativos da mesma agroindústria, onde foi coletado a vinhaça. Esses filtros removem impurezas e partículas na produção de açúcar, retraindo resíduos sólidos na torta de filtro após a filtração do caldo de cana-de-açúcar. Essa coleta mensal faz parte do gerenciamento de resíduos da usina, podendo ser processada para recuperação de substâncias úteis ou para um manejo ambientalmente consciente dos resíduos da produção sucroalcooleira.

O melaço utilizado foi o melaço B obtido no final da safra anterior (sólidos solúveis de 84,7%) e mantido armazenado em temperatura ambiente. A combinação do melaço com a vinhaça na codigestão anaeróbia é vantajosa por oferecer nutrientes extras para os microrganismos no processo. O melaço, rico em carboidratos e nutrientes, complementa a vinhaça, que contém materiais orgânicos complexos. Essa mistura equilibrada otimiza a produção de biogás, aumentando a eficiência na geração de energia. Essa cooperação entre ambos os materiais propicia um ambiente para o crescimento das bactérias metanogênicas, melhorando o processo global de produção de metano.

O lodo utilizado nos reatores foi obtido do tratamento anaeróbio de vinhaça e torta de filtro. As características do lodo utilizados nos reatores UASB foram idênticos com sólidos totais (ST) de 46,91 g L⁻¹ e sólidos voláteis (SV) de 28,52 g L⁻¹. O volume de lodo colocado nos reatores UASB foi suficiente para atender a taxa de carregamento orgânico no lodo de 0,05 kg DQO_{total} / kg SSV. d, conforme recomendado por (CHERNICHARO, 2015) e isso correspondeu a aproximadamente

30% do volume dos reatores UASB (R1 e R2).

4.3 Operação do sistema de tratamento

Os tempos de detenção hidráulica (TDH) aplicados foram de 24 horas (R1) para o primeiro estágio e 10,7 horas (R2) para o segundo estágio (Tabela 2).

A co-digestão anaeróbia da vinhaça (V) e melaço de cana-de-açúcar (M) foi realizada utilizando-se 50%V:50%M em termos de demanda química de oxigênio. Para o aumento gradual da COV, foi realizado aumento da quantidade de vinhaça e melaço diluído no efluente recirculado do R2, de modo a aumentar a demanda química de oxigênio (DQO), sempre utilizando a proporção 50%V:50%M. As quantidades utilizadas variaram de 0,22 à 8,2 L de vinhaça; 0,05 à 0,16 L de melaço e de 4,64 à 14,775 L de efluente recirculado.

Tabela 2. Condições operacionais dos reatores UASB (R1 e R2) em série, utilizados na co-digestão anaeróbia da vinhaça e melaço suplementado com torta de filtro, nas fases 1 a 4.

	R1				R2			
Volume (L)	12,6				5,6			
TDH (h)	24,0				10,7			
	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4
COV – R1	4,8	29,5	31,7	11,0	5,0	17,6	47,2	16,2
CV	65	40	20	25	72	72	25	39

TDH: tempo de detenção hidráulico; COV: carga orgânica volumétrica em g DQOtotal (L d)⁻¹; DQOtotal: demanda química de oxigênio total. CV: coeficiente de variação em %

As cargas orgânicas volumétricas (COV) médias aplicadas no reator UASB (R1) e (R2) foram de 4,8; 29,5; 31,7 e 11,0 g DQOtotal (L d)⁻¹ e de 5,0; 17,6; 47,2 e 16,2 g DQOtotal (L d)⁻¹, nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. As COV foram aumentadas gradualmente, aproximadamente a cada 15 dias até o final da fase 2, atingindo-se valores de COV de aproximadamente 48 g DQOtotal (L d)⁻¹, no R1, com a obtenção de biogás estáveis.

Na fase 3, quando as COV próximas a 50 e 100 g DQOtotal (L d)⁻¹ no R1 e R2 foi observado choque de carga nos reatores, e que obrigou a utilização de algumas estratégias, como a retirada de recirculação e a correção do pH do afluente para valores próximos a 7,0 com uma solução de hidróxido de cálcio (56 g L⁻¹). Não foi

utilizado a recirculação nos períodos de 289 a 299; de 334 a 343 e de 378 a 420 dias de operação. E nos períodos de 288 a 293 e de 350 a 450 dias de operação foi utilizado o hidróxido de cálcio para a correção do pH do afluente. Mesmo com essas estratégias não foi possível a estabilização do sistema. Portanto foi reduzido as COV aplicadas no R1 para valores próximos a $11,0 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$ (Fase 4) o que permitiu a redução dos ácidos voláteis totais e da relação Al/AP, nos reatores UASB, R1 e R2.

A taxa de recirculação foi calculada, conforme Zuo et al., (2013) e variaram de 0,98 a 0,74 e de 0,96 a 0,35, nas fases 1 a 4, respectivamente.

4.4 Suplementação com torta de filtro no afluente

A torta de filtro foi coletada úmida na indústria. No entanto, para a estocagem e adição ao afluente, realizou-se a secagem da torta de filtro de forma natural, com simples exposição ao ar livre.

A torta de filtro foi utilizada para suplementação de nitrogênio (N) e fósforo (P), tendo como base a relação DQO:N:P de 350:5:1 recomendada para a digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2016).

Para a adição da torta de filtro no afluente, foi preparada uma solução composta por torta-de-filtro+melaço+vinhaça+efluente do R2. A quantidade de torta de filtro adicionada foi de aproximadamente 1 g de torta de filtro para cada 1000 g de DQO adicionada (BARROS et al., 2017). A solução era mantida em repouso por 24 h. Após este período, o afluente era peneirado em peneira em malha de abertura de 2 mm e posteriormente filtrado em tecido de algodão para separação das fibras presentes na torta de filtro e evitar entupimentos da bomba e tubulações.

A preparação e adição da torta de filtro em sistemas em escala real podem ser facilmente obtidos com equipamentos industriais como peneiras e sistemas de filtração, comuns nas indústrias sucroenergéticas. As fibras e outros materiais da torta de filtro retidos na filtração, poderão ser encaminhados para o campo com a torta de filtro excedente produzida na indústria.

4.5 Monitorização do sistema composto pelos reatores UASB em série

Na Tabela 3 estão apresentados os exames físicos e as determinações

químicas executadas nas amostras compostas dos afluentes e dos efluentes, no lodo e no biogás durante a monitorização dos reatores UASB, bem como as frequências e as fontes das metodologias.

A produção de biogás foi medida diariamente utilizando gasômetros de fibra de vidro como descrito por Oliveira (1997). A composição foi determinada quinzenalmente por cromatografia gasosa (Thermo Scientific) usando coluna Q Poropak, H₂ como gás de arraste e detector de condutividade térmica (APHA et al. (1995).

Tabela 3. Exames e determinações, frequência e fontes das metodologias utilizadas.

Exames e determinações	Frequência	Referências
Afluente e efluentes		
pH	Diariamente	(APHA et al., 2005). (Método: 4500 H ⁺ B)
Demanda química de oxigênio (DQO _{total}) e Demanda química de oxigênio dissolvida (DQO _{diss})	Duas vezes semana	\ (APHA et al., 2005); (Método: 5220 – B);.(Oliveira, 1997)
Alcalinidade total (AT), parcial (AP) e intermediária (AI)	Diariamente	(APHA et al., 2005); (JENKINS et al., 1983)
Ácidos voláteis totais (AVT)	Duas vezes semana	\ (DiLallo and Albertson, 1961)
Nitrogênio Kjeldahl (NK)	Uma vez semana	\ (APHA et al., 2005). (Método:4500-N-C)
Nitrogênio amoniacal (N-am.)	Duas vezes semana	\ (APHA et al., 2005) (Método Semi-Micro Kjeldahl)
Fósforo total (P-total)	Uma vez semana	\ (APHA et al., 2005). (Método: 4500-P-C)
Sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV)	Uma vez semana	\ (APHA et al., 2005). (Métodos: 2540 - C e 2540 – E)
Sulfato e sulfeto	Uma vez semana	\ (APHA et al., 2005)
Fe, Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, Na, K, Ni e Co	Quinzenalmente	(APHA et al., 2005)
Lodo		
Sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)	Final dos ensaios 1, 3 e 4	(APHA et al., 2005). (Método 2540 – B e 2540 – E)
Biogás		
Produção	Diariamente	OLIVEIRA (1997)
Composição	Quinzenalmente	(APHA et al., 2005)

A estimativa de produção de energia elétrica (En) foi calculada segundo (KYTHREOTOU et al., 2012), considerando a eficiência do gerador de 35%, densidade do metano de 0,6556 kg m⁻³ e 55,6 MJ kg⁻¹.

4.6. Análise estatística

Foram realizadas análises estatísticas dos valores médios obtidos por meio do teste F e a Tukey 5%, considerando-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (Fases 1, 2, 3 e 4) para os reatores UASB, R1 e R2, com repetições no tempo para cada atributo avaliado. As análises foram realizadas utilizando o software Sisvar.

4.7. 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 3) nos dias 348 e 505 dias de operação, correspondendo às fases 3 e 4, 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.

4.7.1 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').

4.7.2 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.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 pH, alcalinidade e ácidos orgânicos voláteis totais (AVT)

Os valores de pH dos efluentes dos reatores UASB, R1 e R2 foram superiores ao do afluente (4B), mesmo com o aumento das COV para valores superiores a 45 g DQO_{total} (L d)⁻¹ no R1, nas fases 1, 2 e 4 (Figura 4A), indicando a capacidade de tamponamento do sistema para essas condições operacionais. A recirculação do efluente do R2, também contribuiu para o aumento da AP e do pH, sem a necessidade da utilização de produtos químicos, nas fases 1, 2 e 4. A contribuição da recirculação no tamponamento do sistema anaeróbio também foi observado por Barros et al., (2017); Caraça et al., (2023); Lima et al., (2022), tratando vinhaça e torta de filtro; vinhaça e águas residuárias da bovinocultura leiteira e vinhaça e lodo de estação de tratamento de água, respectivamente. A recirculação do efluente também contribuiu para a diluição do afluente e a adequação das COV.

Os valores de pH foram superiores a 6,99 no afluente dos reatores UASB, R1 e R2 (Figura 4B), nas fases 1, 2 e 4. No efluente dos reatores UASB, R1 e R2, observaram-se valores de pH próximos a 9,0 nos primeiros 65 dias de operação e posteriormente ocorreu um decréscimo para valores próximos a 8,0, nas fases 1 e 2. O pH para que ocorra a multiplicação dos microorganismos nos reatores anaeróbios deve permanecer entre 6,0 e 8,0 (BRÁS et al., 2005) e na faixa ideal de pH 6,8 a 7,4 (MAO et al., 2015). No entanto mesmo com valores superiores aos recomendados foi observada estabilidade no processo, com produção de metano, nas fases 1 e 2. Valores de pH superiores a 8,0 também foram observados por Barros et al., (2017) tratando vinhaça em reatores UASB suplementada com torta de filtro e Caraça et al., (2023), tratando vinhaça e esterco de bovino leiteiros em reatores UASB. De acordo com os autores, também não foram observados problemas na estabilidade no processo anaeróbio.

Na fase 3, em virtude do choque de carga (Figura 4 A), utilizaram-se a estratégia de diminuição de COV, pois observaram-se valores de pH do efluente, inferiores aos observados no afluente (Figura 4 B), mesmo com a retirada da recirculação e a correção do pH com hidróxido de cálcio do afluente. Rao e Bapat

(2006) em estudos sobre tratamento anaeróbico de licor pré-hidrolisado de uma fábrica de celulose, com reatores UASB em escala piloto observaram que a adição de leite de cal foi essencial para neutralização e tamponamento, o que não ocorreu neste experimento.

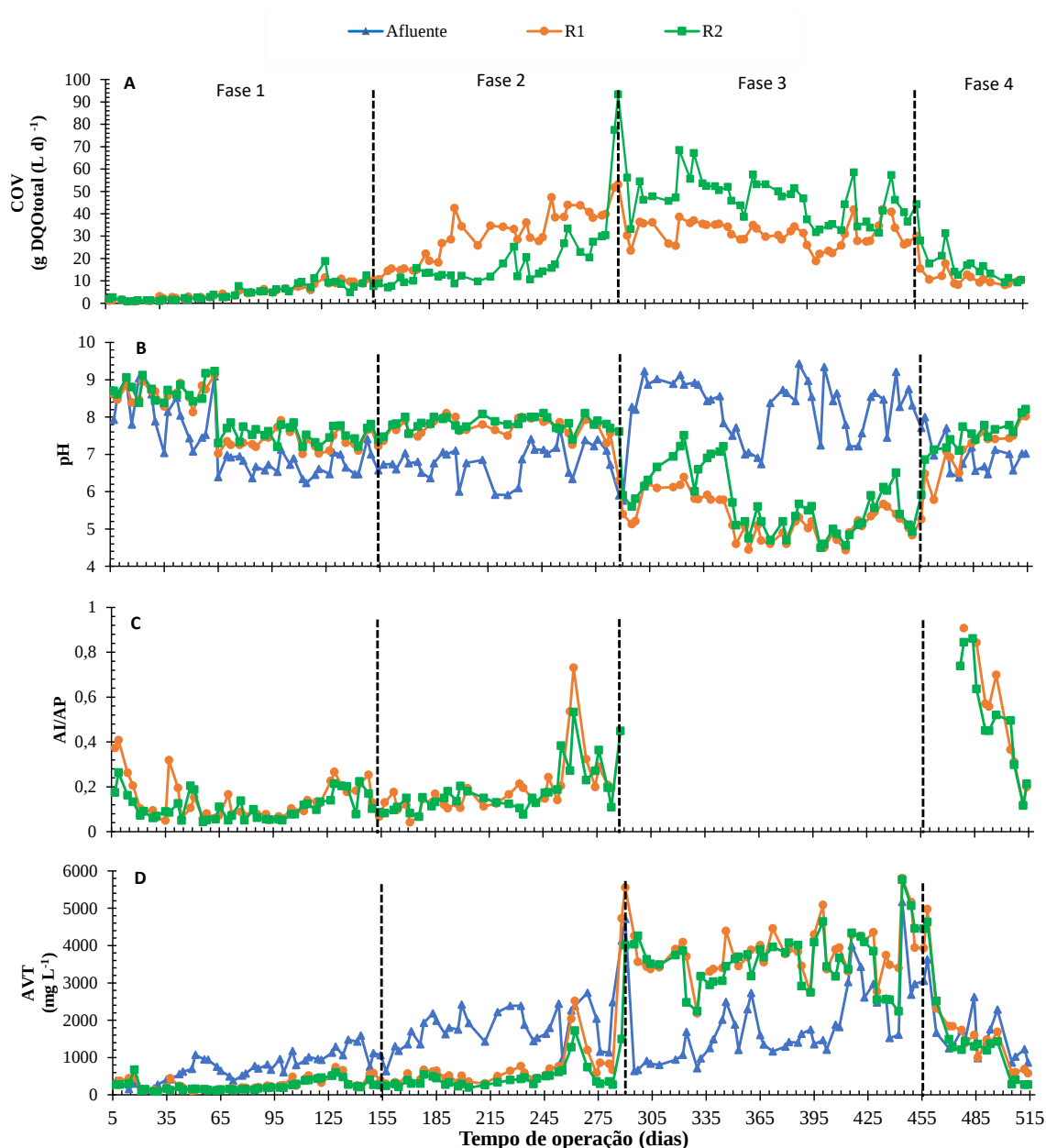


Figura 4. (A) Valores de carga orgânica volumétrica (COV), (B) pH, (C) relação da alcalinidade intermediária (AI) pela alcalinidade parcial (AP) e (D) ácidos voláteis totais no afluente (AVT) e efluentes dos reatores UASB em série (R1 e R2) na co-digestão da vinhaça com melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.

Os valores médios de alcalinidade total (AT) e alcalinidade parcial (AP) aumentaram do afluente para os efluentes do UASB, R1 e R2, nas fases 1, 2 e 4 (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios de alcalinidade parcial (AP), alcalinidade total (AT), e razão de ácidos voláteis pela alcalinidade total (AVT/AT) no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.

Parâmetro	Amostra		Fases								CV*	F
			1		2		3		4			
AP	Afluente	Média	1295	a	1709	a	1570	a	1605	a	47	n.s.
		CV	46		46		4		66			
	R1	Média	1890	b	4053	a	89	c	2156	b	41	**
		CV	39		22		224		60			
	R2	Média	1822	b	4027	a	228	c	2294	b	35	**
		CV	38		16		152		45			
AT	Afluente	Média	1805	b	4085	a	4823	a	4689	a	39	**
		CV	46		43		33		36			
	R1	Média	2139	b	4938	a	2214	b	3858	a	34	**
		CV	38		16		55		25			
	R2	Média	2150	c	4733	a	2656	c	3862	b	35	**
		CV	44		18		46		22			
AI/AP	R1	Média	0,14	c	0,47	c	35,0	a	4,63	b	99	**
		CV	63		351		149		285			
	R2	Média	0,13	c	0,17	c	8,84	a	1,13	b	53	**
		CV	128		62		141		285			
AVT/AT	R1	Média	0,16	b	0,15	b	2,83	a	0,52	b	138	**
		CV	72		101		87		92			
	R2	Média	0,13	b	0,11	b	1,82	a	0,44	a	123	**
		CV	79		105		80		101			

Unidades: mg L⁻¹; CV: coeficiente de variação em % de cada fase. 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. CV*: coeficiente de variação das fases

Os aumentos da alcalinidade nos reatores, comparado ao afluente, indica que houve incremento de alcalinidade, proporcionando capacidade de tamponamento nos reatores. Isto ocorreu em virtude do acréscimo na concentração de bicarbonato, como pode ser observado por meio dos aumentos acentuados dos valores médios da AP do afluente para os efluentes do R1 e R2 (Tabela 4). Os valores de AP estão

na faixa recomendada nos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 1, 2 e 4, para manter um processo de digestão anaeróbia estável, de 1000 a 3000 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (WILCOX et al., 1995), indicando o tamponamento dos sistema anaeróbio, mesmo com elevadas COV aplicadas.

Na fase 3, com aumento das COV médias no R1 e R2, para valores médios de 31,7 e 47,2 g DQOtotal $(\text{L d})^{-1}$ (Tabela 2), no R1 e R2, respectivamente, foram observados os decréscimos na AT e AP do afluente para os efluentes. Isto ocorreu em virtude do aumento da COV atingindo valores de até 50 e 100 g DQOtotal $(\text{L d})^{-1}$ (Figura 4 A), no R1 e R2, respectivamente, o que provocou um choque de carga, proporcionado aumentos nos valores de ácidos voláteis (AVT) para valores de até 6000 mg L^{-1} , nos reatores (Figura 4 D), e o decréscimo na produção volumétrica de metano (Figura 5). Não foram observadas diferenças estatísticas na AP do afluente, mesmo com a carga de choque observada na fase 3, e isso ocorreu em virtude da adição de hidróxido de cálcio no afluente para a correção do pH nesta fase.

Os valores da relação entre a alcalinidade intermediária (AI) pela alcalinidade parcial (AP), foram de até 0,90, nas fases 1, 2 e 4 (Figura 4 C). Na fase 3, no período de 351 a 423 dias de operação não foi verificado a AP para os R1 e R2, e em outros períodos dessa fase valores inferiores a 650 mg L^{-1} ou ausentes para a AP, o que proporcionou valores médios de 35,0 e 8,8 para a relação AI/AP, no R1 e R2, respectivamente (Tabela 4). De acordo com o estudo de Ripley; Boyle; Converse (1986), normalmente referenciado na literatura para a discussão da relação AI/AP. Os autores tratando resíduos da produção de frangos em reatores anaeróbios indicaram que os valores de AI/AP devem ser inferiores a 0,3. No entanto, observa-se na literatura que mesmo com valores superiores a 0,3 é possível monitorar reatores anaeróbios tratando vinhaça com estabilidade. Por exemplo, Barros et al., (2017) observaram valores médios de AI/AP de 0,86 e 0,63 para os reatores UASB, R1 e R2, em série, respectivamente. Os autores trataram vinhaça, com aplicação de COV de 45 g DQOtotal $(\text{L d})^{-1}$ no R1 e observaram produções volumétricas de metano médias de 3,12 L $\text{CH}_4 (\text{L d})^{-1}$, para sistema.

Os valores de AVT foram crescentes com o aumento da COV atingindo valores próximos a 6000 mg L^{-1} nos efluentes dos reatores UASB (Figura 2D). Esses valores são iguais aos observados por Barros et al., (2017), que obtiveram valores

de até 6000 mg L⁻¹, operando reatores UASB, em série tratando vinhaça com COV de 45 g DQO_{total} (L d)⁻¹ suplementada com torta de filtro.

Durante a digestão anaeróbia, na etapa de acidogênese são produzidos grandes quantidades de ácidos voláteis totais (AVT) (CAI et al., 2021). A co-digestão anaeróbia da vinhaça e do melaço possui alto potencial de produção de AVT. A vinhaça da cana-de-açúcar é um substrato que possui alto potencial na produção de AVT por conter alta carga orgânica biodegradável (SILVA et al., 2021), e o melaço compostos como sacarose (30 a 40%), frutose (5 a 12%) e glicose (4 a 9%) (CLARKE, 2003) também são facilmente degradados e convertidos em AVT.

Os valores de ácidos voláteis totais (AVT) dos efluentes dos reatores UASB, R1 e R2, na fase 1, 2 e 4 foram inferiores aos observados no afluente, indicando que ocorreu o seu consumo (Figura 4D), pelos microorganismos acetogênicos e metanogênicos. A suplementação do afluente com a torta de filtro contribuiu para o balanceamento nutricional, pois a disponibilidade de nutrientes é um fator importante no tratamento anaeróbio em virtude das elevadas concentrações de material orgânico da vinhaça e melaço.

Na fase 3, em virtude do choque de carga ocorreu o aumento dos AVT nos reatores R1 e R2, mesmo com a retirada da recirculação e a correção do pH do afluente com leite de cal em diversos períodos. Essa mudança indicou uma atividade predominante dos microorganismos acidogênicos na co-digestão anaeróbia da vinhaça e do melaço. Os microorganismos acidogênicos são responsáveis pela produção de ácidos orgânicos a partir da degradação de matéria orgânica complexa, o que resulta no aumento dos AVT nos efluentes dos reatores.

A estratégia de redução da COV na fase 4, desempenhou um papel crucial na melhoria da estabilidade do sistema de reatores quanto aos AVT, pH e alcalinidade (Figura 4 A a D). Isso evidencia a complexidade e a necessidade de abordagens multifacetadas no gerenciamento de reatores em série, enfatizando que a otimização operacional pode ser tão eficaz quanto a correção química direta para alcançar resultados desejáveis no tratamento de águas residuárias.

Quando os parâmetros de ácidos voláteis totais (AVT) foram analisados em conjunto com a alcalinidade total (AT), observou-se médias da razão AVT/AT foram registradas foram de 0,15 e 0,13 e de 0,13 e 0,11 no R1 e R2, nas fases 1 e 2,

respectivamente. Já nas fases 3 e 4 foram de 2,83 e 1,82 e de 0,52 e 0,44, nos reatores R1 e R2, respectivamente (Tabela 3). Valores superiores a 0,8 que pode indicar inibição das arqueias metanogênicas (ZHAO e VIRARAGHAVAN, 2004), o que não foi observado neste trabalho. No entanto, de acordo com RABII et al., (2019), é mais significativo a estabilidade da razão AVT/AT, que os valores desse parâmetro.

5.2 Demanda química de oxigênio e sólidos suspensos

Os valores médios de DQO_{total}, DQO_{diss}, SST e SSV diminuíram do afluente para os efluentes do reator UASB, R1 e R2, nas fases 1, 2, 3 e 4 (Tabela 5).

As remoções médias de DQO_{total} foram de 53, 30 e 67% e de 74, 31 e 83% no R1, R2 e R1+R2, nas fases 1 e 2, respectivamente (Figura 3). Observou-se na fase 2, os maiores valores de remoção de DQO_{total}, que pode ter ocorrido principalmente em virtude da adaptação do lodo ao substrato.

Nas fases 3 e 4, as remoções de DQO_{total} foram inferiores as fases anteriores, com valores de 31, 23 e 47% e de 33; 20 e 46%, no R1, R2 e R1+R2, respectivamente, nas fases 3 e 4 (Figura 5). Essa redução expressiva dos índices de remoção está diretamente relacionada à ocorrência de acidificação durante a fase 3, afetando negativamente todo o sistema. Conforme observado por Ramos e Silva (2018), a eficiência na remoção de DQO_{total} no tratamento anaeróbio da vinhaça também diminuiu à medida que a concentração de COV aumentou.

A fase 3 foi especialmente desafiadora, prejudicando a eficiência do tratamento anaeróbio. A acidificação pode ter contribuído para a diminuição da capacidade dos microorganismos em degradar a matéria orgânica, refletindo-se nos valores mais baixos de remoção de DQO_{total}. Essa condição adversa impactou tanto o R1 quanto o R2, afetando a eficiência combinada do sistema.

No entanto, após a recuperação na fase 3, na fase, as taxas de remoção de DQO_{total} se mantiveram estáveis indicando que a estratégia adotada foi eficaz para restabelecer o equilíbrio do sistema. A estabilização pós-recuperação permitiu que os processos de degradação da matéria orgânica retomassem seu desempenho

usual, mantendo as taxas de remoção de DQO_{total} consistentes com a fase anterior à acidificação.

Tabela 5. Valores médios de demanda química de oxigênio total (DQO_{total}), demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e da razão SST/SSV no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.

Parâmetro	Amostra		Fases									
			1		2		3		4		CV*	F
DQOtotal	Afluente	Média	4857	c	29505	a	31696	A	10932	b	34	**
		CV	66		39		20		25			
	R1	Média	2297	c	8125	b	21701	A	7490	b	41	**
		CV	78		63		25		39			
	R2	Média	1573	c	5245	b	16701	A	5987	c	40	**
		CV	71		65		26		40			
DQOdiss	Afluente	Média	2408	d	15098	b	24965	A	7588	c	38	**
		CV	55		50		22		15			
	R1	Média	998	c	4268	b	12522	A	4344	b	44	**
		CV	71		79		33		29			
	R2	Média	796	c	2464	b	10108	A	3502	b	37	**
		CV	74		59		35		29			
SST	Afluente	Média	2203	ab	4694	a	3290	Ac	1183	c	53	**
		CV	79		41		45		43			
	R1	Média	3040	a	3089	a	3469	A	2250	a	98	**
		CV	166		40		50		48			
	R2	Média	1305	b	2808	a	2296	Ab	1294	b	55	**
		CV	78		47		43		82			
SSV	Afluente	Média	1634	ac	3433	a	2334	Ab	950	c	55	**
		CV	83		41		50		48			
	R1	Média	1617	a	2313	a	2783	A	1784	a	68	**
		CV	99		47		59		51			
	R2	Média	1030	c	2048	b	1774	Ab	1074	c	54	**
		CV	83		49		43		66			
SSV/SST	Afluente	Média	0,77	a	0,75	a	0,69	A	0,80	a	35	**
		CV	53		25		24		11			
	R1	Média	0,71	a	0,73	a	0,79	A	0,78	a	21	**
		CV	26		20		17		14			
	R2	Média	0,74	b	0,74	b	0,78	Ab	0,99	a	25	**
		CV	33		17		14		36			

Unidades: mg L⁻¹; CV: coeficiente de variação em % de cada fase. 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. CV*: coeficiente de variação das fases

A relação SSV/SST diminuíram do afluente para os efluentes do R1 e R2 (Tabela 5), nas fases 1 e 2, indicando que houve aumento dos sólidos fixos (SF) do afluente do R1 e R2, em virtude do consumo dos sólidos voláteis, o que ocorreu em menores proporções nas fases 3 e 4. As eficiências médias de remoção de SST e SSV no sistema composto pelos reatores UASB, R1 e R2, foram de 43 e 45% e de 51 e 52%, respectivamente.

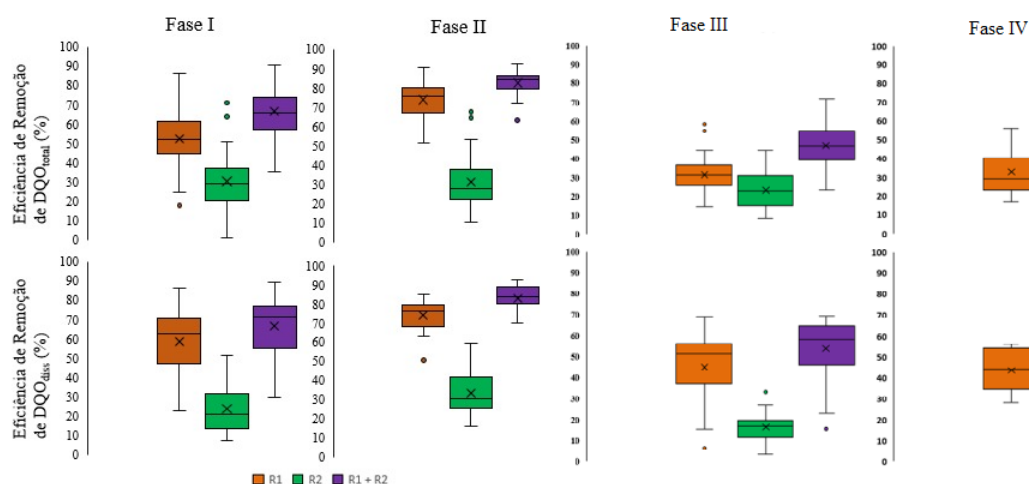


Figura 5. Eficiência de remoção de demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}) nos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.

Os valores da relação DQO_{diss}/DQO_{total} foram de 0,49; 0,43 e 0,50; de 0,53; 0,55 e 0,53; de 0,78; 0,57 e 0,60 e de 0,69; 0,72 e 0,58 no afluente e efluentes do R1 e R2, nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Esses valores são inferiores aos observados por exemplo por Barros et al., (2016) de 0,84 a 0,86, no afluente de reatores UASB tratando vinhaça, com aplicação de COV de até 11,5 g DQO_{total} (L d)⁻¹. Os menores valores de DQO_{diss}/DQO_{total} observados neste trabalho, principalmente nas fases 1 e 2, pode ter ocorrido porque a co-digestão da vinhaça com o melaço suplementada com a torta de filtro, contribuiu para a conversão dos compostos solúveis (DQO_{diss}) à ácidos e posteriormente em biogás, indicadas pelas remoções médias de DQO_{diss} de 83 e 82%, para os reatores R1+R2, nas fases 1 e 2, respectivamente (Figura 5).

5.3 Produção de biogás e estimativa da produção de energia elétrica

Foi observado valores crescentes da produção volumétrica de metano (PVM) nos reatores UASB, R1 e R2, com o aumento da COV, que atingiram valores de até 5,794 e 1,288 L CH₄ (L d)⁻¹ na fase 2 (Figura 6).

As PVM médias dos reatores R1 e R1+R2 foram de 0,52; 3,39; 0,73 e 1,14 L CH₄ (L d)⁻¹ e de 0,39; 2,55; 0,67 e 1,00 L CH₄ (L d)⁻¹, nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente (Tabela 6), com recirculação do efluente do R2 para o aproveitamento da alcalinidade, nas fases 1, 2 e 4.

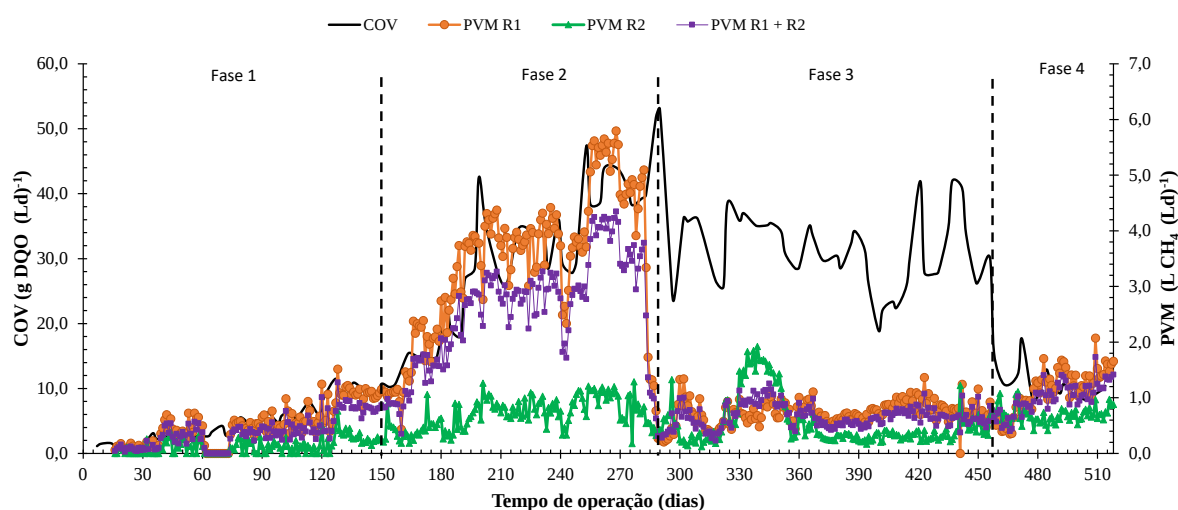


Figura 6. Valores da carga orgânica volumétrica (COV) aplicada no reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB – R1) e a produção volumétrica de metano (PVM) nos reatores UASB, R1 e R2, durante a operação dos reatores UASB em série para a codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.

As comparações das PVM com outros autores na literatura precisam ser cuidadosas, pois podem variar com as COV, tipo de reator, TDH, alcalinizantes, temperatura etc. Por exemplo, as PVM médias obtidas foram de 0,94 L CH₄ (L d)⁻¹ em um reator UASB tratando vinhaça com COV de 11,5 g DQO_{total} (L d)⁻¹, utilizando a recirculação do efluente, na faixa de temperatura mesofílica (BARROS et al., 2016). Já Barros et al., (2017) obtiveram respectivamente, PVM de 2,1 e 1,2 L CH₄ (L d)⁻¹ nos reatores UASB, R1 e R2, com aplicação de COV de 33 g DQO_{total} (L d)⁻¹ no R1, tratando vinhaça suplementada com torta de filtro, na faixa de

temperatura termofílica, com a recirculação do efluente do R2 para o aproveitamento da alcalinidade. Barbosa et al., (2022), obtiveram valores de 10,24 L CH₄ (L d)⁻¹ tratando vinhaça em um reator UASB, na faixa de temperatura mesofílica, com aplicação de COV de 33 g DQO_{total} (L d)⁻¹, e a utilização de bicarbonato de sódio para a manutenção da alcalinidade. No entanto, apesar da estabilidade adicional dos reatores anaeróbios tratando vinhaça, o uso de altas doses de produtos químicos afeta negativamente a favorabilidade econômica do aumento de escala de plantas de digestão anaeróbia (FUESS et al., 2017).

Tabela 6. Valores médios da produção volumétrica de metano (PVM), produção volumétrica específica de metano (PEM) e produção de energia elétrica (En) do biogás, nos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.

Parâmetro	Amostra		Fases								CV*	F
			1		2		3		4			
PVM	R1	Média	0,52	d	3,39	a	0,73	c	1,14	34	52	**
		CV	70		39		31		34			
	R2	Média	0,14	c	0,71	a	0,54	b	0,70	A	61	**
		CV	103		40		79		21			
	R1+R2	Média	0,39	d	2,55	a	0,67	c	1,00	B	48	**
		CV	71		38		30		28			
PEM	R1	Média	0,21	b	0,17	c	0,09	d	0,35	A	49	**
		CV	56		32		52		37			
	R2	Média	0,11	c	0,20	b	0,06	d	0,30	A	90	**
		CV	122		68		70		73			
	R1+R2	Média	0,19	b	0,16	b	0,08	c	0,33	A	49	**
		CV	66		28		42		37			
En	R1	Média	0,022	b	0,147	a	0,032	b	0,051	B	52	**
		CV	70		40		31		34			
	R2	Média	0,003	b	0,014	ab	0,011	ab	0,014	B	61	**
		CV	103		40		79		20			
	R1+R2	Média	0,029	b	0,162	a	0,043	b	0,065	B	48	**
		CV	71		39		30		28			

Unidades: mg L⁻¹; CV: coeficiente de variação em % de cada fase. 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. CV*: coeficiente de variação das fases

A produção específica de metano (PEM) média foi de 0,21; 0,17; 0,09 e 0,35 m^3CH_4 ($\text{kg DQO}_{\text{total removida}}^{-1}$) para o R1, e de 0,19 e 0,16; 0,08 e 0,33 m^3CH_4 ($\text{kg DQO}_{\text{total removida}}^{-1}$), para o R1+R2 nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Os valores teóricos são de 0,35 $\text{m}^3 \text{CH}_4$ ($\text{kg DQO}_{\text{removida}}^{-1}$) (McCARTY, 1964). Isto indica que para sistema (R1+R2), foi obtido aproximadamente 54, 48 e 100% do rendimento teórico de metano, nas fases 1, 2 e 3, respectivamente.

A produção de energia elétrica estimada (En) foi de 0,029; 0,162; 0,043 e 0,065 kWh d^{-1} (Tabela 6), para as condições estudadas. Considerando-se a vazão de vinhaça diária afluyente, para a fase 2, onde ocorreram as maiores produções volumétricas de metano nos reatores UASB, pode-se produzir 19 kWh d^{-1} por m^3 de vinhaça, ou seja 68% da energia elétrica necessária para processar uma tonelada de cana-de-açúcar. Considerou-se que são necessários 28 kWh de energia elétrica para o processamento de cada tonelada de cana (JOPPERT et al., 2017) e uma tonelada de cana-de-açúcar pode gerar em média um metro cúbico de vinhaça (SANTANA JUNIOR et al., 2019).

O reator UASB, R2, contribuiu com aproximadamente 10, 1, 25 e 21% da estimativa de En, nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Isto deixa evidente a importância do R2, principalmente em situações com cargas de choque, como observados na fase 3. Já para as condições das fases 1 e 2, sugere-se em estudos posteriores a avaliação econômica de instalação de reatores UASB, em série, para a co-digestão da vinhaça e melaço suplementados com torta de filtro nas condições estudadas, considerando-se a En produzida no R2. Embora os reatores anaeróbios em dois estágios melhorem a produção de biogás, a compensação entre a energia extra produzida e o custo de instalação de outro reator, sugere que não é necessariamente mais econômico do que os reatores em estágio único (RAJENDRAN et al., 2020).

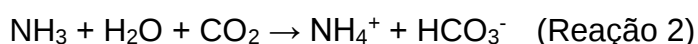
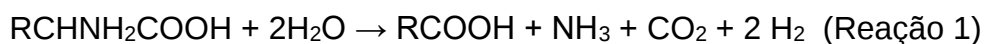
A análise das percentagens de metano no biogás nos reatores R1 e R2 revela variações significativas ao longo das diferentes fases do estudo. No R1, as percentagens foram de 70,4% (fase 1), 71,5% (fase 2), 72,6% (fase 3) e 73,4% (fase 4). Já no R2, observou-se 60,59% (fase 1) e 39,5% (fase 2), indicando variações na eficiência de produção de metano conforme as condições operacionais e a influência dos substratos adicionados, como o melaço. Comparativamente, Barros et al. (2016)

relataram quedas nas percentagens de metano no biogás nos reatores R1 e R2 com o aumento da carga orgânica volumétrica (COV), alcançando valores mínimos de 2% e 12%, respectivamente, em um estudo com vinhaça na safra de 2012.

5.4 Nutrientes, sulfeto e sulfato

5.4.1 Nitrogênio e fósforo

A atividade microbiana está intimamente relacionada à presença de nitrogênio amoniacal (N-am.), que serve como fonte de nitrogênio para os microrganismos envolvidos na digestão anaeróbica (WANG et al., 2022). O N-am. pode exercer efeito inibitório na digestão anaeróbia, mas os valores de até 160 mg L⁻¹ (Tabela 7), como observadas neste trabalho, são consideradas benéficas (ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012). Também é necessário a formação de N-am. para neutralizar os ácidos produzidos durante o processo de fermentação e para manter as condições de pH neutro para o crescimento celular (RABII et al., 2019). As proteínas são os principais contribuintes para o alcalinidade gerada no processo de digestão anaeróbia (SPEECE, 1983). A geração de alcalinidade a partir da proteína segue as reações 1 e 2.



Os valores de NK diminuíram do afluente para o efluente dos reatores UASB, R1 e R2 (Tabela 7), o que proporcionou remoções médias, sem diferença estatística, de 12, 17, 17 e 13% no R1 + R2, nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. O nitrogênio é necessário para a síntese de aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos (Rabii et al., 2019).

Para o P-total não foram observadas remoções na fase 1 e remoções médias de 63, 48 e 57% nas fases 2, 3 e 4, para o R1+R2 (Tabela 7). No efluente do R2, ainda foram observadas concentrações médias de NK e P-total de 114, 232, 273 e 261 mg L⁻¹ e de 20, 32, 29 e 47 mg L⁻¹, nas fases 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Isso é uma característica importante, pois o efluente excedente poderia ser utilizado na fertirrigação da cana-de-açúcar, por exemplo.

Tabela 7. Valores médios de nitrogênio kjedahl (NK), fósforo total (P-total), nitrogênio amoniacal (N-am.) e da relação DQO:NK:P-total no afluente e efluentes, e remoções de NK e P-total para os reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), R1 e R2, utilizados na codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4.

Parâmetro	Amostra		Fases									
			1		2		3		4		CV*	F
N-am.	Afluente	Média	18	c	58	b	68	b	123	a	57	**
		CV	72		66		61		27			
	R1	Média	22	b	41	b	41	b	145	a	61	**
		CV	77		64		94		24			
	R2	Média	27	b	45	b	44	b	160	a	52	**
		CV	68		65		92		29			
NK	Afluente	Média	136	b	430	a	405	a	342	a	53	**
		CV	75		54		48		10			
	R1	Média	123	b	273	a	337	a	301	a	43	**
		CV	71		28		46		8			
	R2	Média	114	b	232	a	273	a	261	a	42	**
		CV	69		24		46		7			
	Remoção (R1+R2)	Média	12	a	17	a	17	a	13	a	96	n.s.
		CV	100		68		94		42			
P-total	Afluente	Média	21	d	75	b	61	c	122	a	46	**
		CV	39		29		65		40			
	R1	Média	22	c	53	a	40	b	58	a	40	**
		CV	62		32		39		13			
	R2	Média	20	c	32	ac	29	ab	47	a	47	**
		CV	52		60		43		14			
	Remoção (R1+R2)		-	-	63	a	48	a	57	a	54	**
			-		42		40		24			
DQO:N:P	R1		350:18:3,3		350:13:3,2		350:5:0,6		350:14:2,7			
	R2		350:25:4,5		350:18:3,3		350:6:0,6		350:12:2,8			

Unidades: mg L⁻¹, exceto remoção (%). CV: coeficiente de variação em % de cada fase. 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. CV*: coeficiente de variação das fases

A utilização da torta de filtro na codigestão da vinhaça e melaço tem como o objetivo atender a relação da DQO, NK e P-total e garantir um equilíbrio nutricional adequado para os microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia. Observaram-se relação DQO:NK:P-total no efluente do R1 e R2 superiores ao recomendado de 350:5:1, para a digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2007), nas fases 1, 2 e 4, o

que pode ter contribuído para as PVM (Figura 6). Na fase 3, foi observado a deficiência de fósforo que pode ter ocorrido em virtude da sua precipitação com o cálcio, proveniente do hidróxido de cálcio utilizado na correção do pH. À medida que o valor do pH aumenta, os íons de cálcio em excesso, reagem com o fosfato, precipitando um composto chamado de hidroxiapatita, que podem ter ficado retido no lodo dos reatores UASB.

A torta de filtro utilizada neste estudo apresentou características importantes que podem influenciar a digestão anaeróbica. Com pH de 6,2, a torta possui um teor de carbono orgânico de 341 g kg^{-1} , o que a torna uma fonte rica de matéria orgânica. Além disso, contém 17 g kg^{-1} de nitrogênio total, fornecendo nutrientes essenciais para o crescimento microbiano. Os teores de cálcio de $301,4 \text{ g kg}^{-1}$, magnésio de $81,2 \text{ g kg}^{-1}$ e potássio de 20 g kg^{-1} contribuem para o equilíbrio nutricional do sistema, enquanto o fósforo total de 16 g kg^{-1} e o enxofre de 17 g kg^{-1} são fundamentais para processos metabólicos. Os metais traços também se destacam, com concentrações de cobre de $78,6 \text{ mg dm}^{-3}$, ferro de 892 mg dm^{-3} , manganês de $275,3 \text{ mg dm}^{-3}$ e zinco de $547,9 \text{ mg dm}^{-3}$, que desempenham papéis cruciais na atividade enzimática e na eficiência da metanogênese, favorecendo a produtividade do sistema UASB ao potencializar a degradação da matéria orgânica e a conversão de substratos em biogás (THANH et al., 2016).

A vinhaça utilizada neste estudo apresentou um pH de 4,7 e uma carga orgânica expressiva, com $23600 \text{ DQO}_{\text{total}} \text{ mg (L d)}^{-1}$, o valor médio de pH do melaço foi de 5,4. Já os valores de $\text{DQO}_{\text{total}}$, NK, P-total e Sulfato foram de 1028; 23; 13 e 11 g L^{-1} , respectivamente. Esse perfil ácido da vinhaça, embora desafiador para a digestão anaeróbica, é rico em matéria orgânica, o que pode ser aproveitado para a produção de biogás. A combinação da vinhaça com a torta de filtro, que possui pH de 6,2 e alto teor de carbono, nitrogênio e minerais, pode ajudar a equilibrar as condições do sistema, favorecendo a atividade microbiana. A correção do pH e a adição de nutrientes essenciais da torta de filtro podem mitigar os efeitos inibitórios da acidez da vinhaça, promovendo um ambiente mais favorável para a degradação da DQO e aumentando a eficiência da produção de metano nos reatores UASB (SIQUEIRA et al., 2022).

5.4.2 Sulfeto e sulfato

A principal fonte de sulfato na vinhaça é o ácido sulfúrico utilizado nas destilarias para a correção do pH do mosto, antes da fermentação etanólica. E no melaço a fonte de sulfato é gás sulfuroso utilizado em indústrias para a produção de açúcar branco. De acordo com a literatura os valores do teor de sulfato na vinhaça variam de 500 a 1500 mg L⁻¹ (LEME e SEABRA, 2017).

No afluente dos reatores UASB, foram observados valores crescentes de íons sulfato e sulfeto no afluente, com o aumento das COV, atingindo valores de aproximadamente 1800 e 10 mg L⁻¹, respectivamente (Figura 7). Na fase 3, houve um aumento significativo nos valores de íons sulfato no afluente e efluentes. Esse aumento expressivo pode ser atribuído à acidificação e ao possível aumento na disponibilidade de enxofre nos substratos utilizados. Durante a acidificação, pode ocorrer a liberação de sulfato a partir de compostos orgânicos sulfurados, contribuindo para o aumento observado.

Na fase 4, houve uma redução dos valores de sulfato para aproximadamente 500 mg L⁻¹ no afluente, mantendo-se menores no efluente. Isso pode ser resultado da recuperação do sistema após a redução da COV. Ao diminuir a quantidade de matéria orgânica disponível, reduziu-se a produção de sulfato proveniente da decomposição de compostos orgânicos sulfurados.

Foi observado a remoção de sulfato nos reatores UASB, R1 e R2, e isso é importante, pois elevadas concentrações de sulfato não causam por si só toxicidade para as arqueias metanogênicas. Entretanto, por favorecerem a proliferação de bactérias redutoras de sulfato (BRS), pode provocar a redução da produção de metano. Isso porque as BRS competem com arqueias metanogênicas por substratos, pois possuem maior afinidade com hidrogênio e acetato e suportam maior amplitude de pH (LIMA et al., 2022).

As concentrações dos sulfeto dissolvido de 100 à 800 mg L⁻¹, podem causar inibição nos microrganismos anaeróbios (CHEN et al., 2008), no entanto os valores observados neste trabalho foram inferiores a 10 mg L⁻¹, indicando que não ocorreu toxicidade por sulfeto.

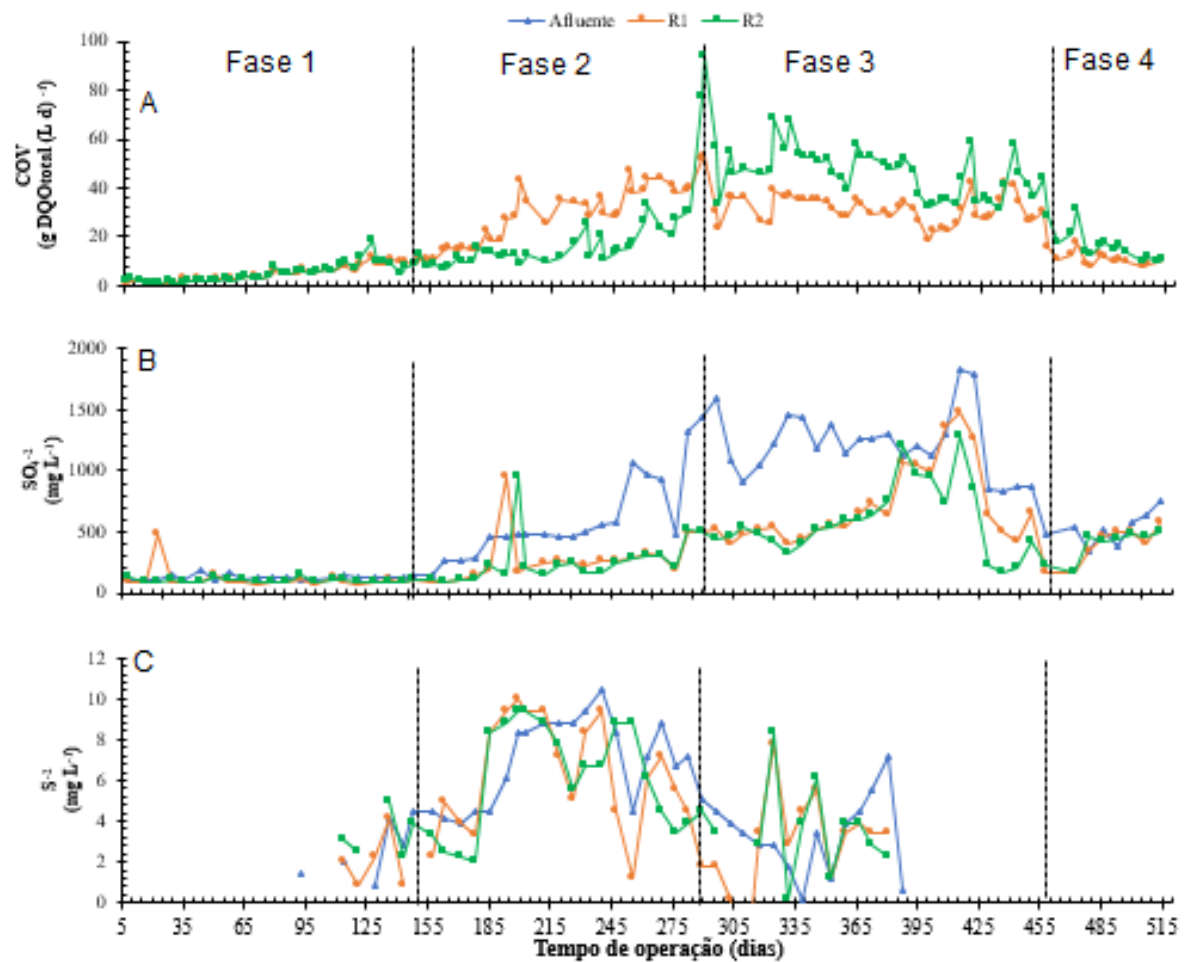


Figura 7. Valores dos íons sulfato e sulfeto no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB, R1 e R2), em série, na co-digestão da vinhaça com melaço suplementada com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3, e 4.

5.4.3 Nutrientes

Os metais são componentes essenciais de cofatores e enzimas (THANH et al., 2016) e a adição da torta de filtro pode ser uma alternativa importante para suplementação dos nutrientes do afluente dos reatores UASB, codigerindo vinhaça e melaço.

Neste trabalho as maiores PVM médias, de 2,55 L CH₄ (L d)⁻¹ para o sistema R1+R2, ocorrerão na fase 2, com a aplicação das COV de 29,5 g DQOtotal (L d)⁻¹ no R1. Nesta fase as concentrações médias de K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Co e Ni no afluente foram, respectivamente, de 1286,3; 6,65; 178,64; 10,75; 2,57; 0,24; 0,5; 0,13 e 0,18 mg L⁻¹ (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8. Valores médios de K, Na, Ca e Mg no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB, R1 e R2), em série para a codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1 e 2.

Parâmetro	Amostras		Fases								CV*	F
			1		2		3		4			
K	Afluente	Média	23,61	a	1286,3	ab	2637,48	b	1672,76	b	75	**
		CV	78		114		40		16			
	R1	Média	22,21	a	1161	ab	2449,33	c	1776,76	bc	66	**
		CV	69		109		33		15			
	R2	Média	22,57	a	1157,1	ab	2508,07	c	1688,31	bc	67	**
		CV	59		109		32		21			
Na	Afluente	Média	15,25	a	79,76	a	207,74	a	70,55	a	159	n.s
		CV	41		105		131		28			
	R1	Média	14,375	a	66,64	ab	184,6	b	67,72	ab	133	**
		CV	28		86		109		27			
	R2	Média	15	a	70,25	ab	150,73	b	66,95	ab	96	**
		CV	18		91		78		44			
Ca	Afluente	Média	5,18	a	6,65	a	291,86	b	234	ab	146	**
		CV	56		54		102		57			
	R1	Média	5,23	a	5,33	a	276,37	b	261,1	b	120	**
		CV	44		48		82		71			
	R2	Média	4,95	a	5,45	a	280	b	233,25	b	122	**
		CV	36		51		83		70			
Mg	Afluente	Média	2,94	a	178,64	ab	238,01	ab	300,87	b	96	**
		CV	63		115		44		31			
	R1	Média	2,82	a	152,2	ab	204,5	ab	294,4	b	111	**
		CV	52		114		38		29			
	R2	Média	2,94	a	138,39	ab	290	b	312,35	b	94	**
		CV	42		130		52		41			

Unidades: mg L⁻¹. CV: coeficiente de variação em % de cada fase. 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. CV*: coeficiente de variação das fases.

Tabela 9. Valores médios de Fe, Mn, Cu, Zn, Co e Ni no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB, R1 e R2), em série para a codigestão da vinhaça e melaço, suplementado com torta de filtro, nas fases 1 e 2.

Parâmetro	Amostras		Fases									
			1		2		3		4		CV*	F
Fe	Afluente	Média	3,65	a	10,75	ab	24,13	b	6,22	a	86	**
		CV	103		63		72		76			
	R1	Média	2,68	a	9,75	ab	27,17	b	6,03	a	106	**
		CV	84		117		76		30			
	R2	Média	1,82	a	9,34	ab	23,71	b	5,36	a	100	**
		CV	83		84		77		23			
Mn	Afluente	Média	1,34	ab	2,57	b	0,23	a	0,05	a	79	**
		CV	78		55		178		4			
	R1	Média	1,16	bc	1,73	c	0,2	a	0,05	ab	78	**
		CV	56		63		170		9			
	R2	Média	0,98	ab	2,22	b	0,18	a	0,05	a	86	**
		CV	51		65		236		15			
Cu	Afluente	Média	0,06	a	0,24	b	0,23	b	0,14	ab	55	**
		CV	105		35		61		53			
	R1	Média	0,06	a	0,13	b	0,11	ab	0,16	b	49	**
		CV	104		45		29		34			
	R2	Média	0,05	a	0,17	b	0,14	ab	0,15	ab	62	**
		CV	110		53		63		45			
Zn	Afluente	Média	0,13	a	0,5	b	0,29	ab	0,24	a	58	**
		CV	100		45		62		46			
	R1	Média	0,1	a	0,28	a	0,27	a	0,23	A	65	**
		CV	91		43		78		47			
	R2	Média	0,1	a	0,34	b	0,18	ab	0,21	ab	69	**
		CV	75		51		99		50			

Co	Afluente	Média	0,02	a	0,13	b	0,14	b	0,24	C	53	**
		CV	97		55		37		14			
	R1	Média	0,02	a	0,13	b	0,13	b	0,25	C	49	**
		CV	117		43		41		7			
	R2	Média	0,02	a	0,15	b	0,14	b	0,25	C	41	**
		CV	179		21		26		11			
Ni	Afluente	Média	0,01	a	0,18	a	0,43	B	0,48	B	54	**
		CV	211		114		21		9			
	R1	Média	0,01	a	0,18	a	0,44	B	0,55	B	50	**
		CV	170		113		18		14			
	R2	Média	0,01	a	0,19	a	0,43	B	0,51	B	56	**
		CV	170		116		22		12			

Unidades: mg L⁻¹. CV: coeficiente de variação em % de cada fase. 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. CV*; coeficiente de variação das fases.

No estudo realizado por Barros et al., (2017) utilizando reatores UASB termofílicos em série, tratando vinhaça suplementada com torta de filtro, as maiores PVM médias de 3,12 L CH₄ (L d)⁻¹ para o sistema R1+R2 foram observadas com a aplicação de COV de 45 g DQO_{total} (L d)⁻¹ no R1 e os autores observaram concentrações médias superiores de Mg, Fe, Mn, Zn e Cu no afluente de 15,4; 25,5; 5,2; 10,4 e 3,8 mg L⁻¹. Os autores atribuíram ao bom desempenho dos reatores UASB aos valores superiores principalmente do Fe, que aumentaram a concentração de biomassa de bactérias e arqueias metanogênicas envolvidas na degradação do propionato. Isso permitiu uma operação estável e mais eficiente da digestão anaeróbica termofílica da vinhaça, com aceleração de degradação de acetato e propionato para produção de metano.

Foi observado decréscimos nos valores médios de Ca, Fe, Na, Mn, Cu e Zn do afluente para os efluentes dos reatores UASB, R1 e R2. Mas mesmo com os decréscimos, ainda permaneceram no efluente do R2. Isso é importante, principalmente porque o efluente biodigerido poderá ser aproveitado para a fertirrigação dos canaviais. O potássio, por exemplo, conforme

revisado por Parsaee; Kiani Deh Kiani; Karimi, (2019) não diminui após a biodigestão da vinhaça e pode ser utilizado como fertilizante, como também observado neste trabalho.

A deficiência de metais traços pode causar problemas no desempenho dos sistemas anaeróbios quanto a PVM e aumento na concentração de ácidos (SCHMIDT et al., 2018). A relação de Fe, Ni, Co e Zn encontrados por Takashima et al., (2011) para a digestão anaeróbia da glicose na faixa de temperatura mesofílica deve ser, respectivamente de 0,20; 0,0063; 0,017 e 0,049 mg g⁻¹DQOremovida. Neste trabalho, foram observados, no R1, os seguintes valores de concentração por DQO removida. Para o Fe, foram obtidos 0,0537, 0,1614, 0,3055 e 0,0723 mg g⁻¹ DQOremovida nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Para o Co, os valores encontrados foram 0,00029, 0,00197, 0,00177 e 0,00279 mg g⁻¹ DQOremovida nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Já para o Zn, as concentrações foram 0,00191, 0,00758, 0,00367 e 0,00279 mg g⁻¹ DQOremovida nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Para o Ni, foram observados 0,00015, 0,00273, 0,00544 e 0,00558 mg g⁻¹ DQOremovida nas fases 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

As funções dos metais traços estão relatados na literatura, e como exemplo, conforme revisado por Thanh et al., (2016) o Fe é utilizado no sistema de transporte das bactérias metanogênicas para a conversão de CO₂ em CH₄, e funciona tanto como acceptor quanto como doador de elétrons, além de disso o Fe também atua como um componente de ligação na precipitação de sulfeto e isto pode ter contribuído para a obtenção de níveis do íon sulfeto inferiores a 10 mg L⁻¹ (Figura 5). Já Co, pode se ligar à coenzima metilase que catalisa a formação de metano tanto em metanogênicos acetoclásticos e em bactérias hidrogenotróficas. O Zn participa do funcionamento de enzimas envolvidas na metanogênese, como a coenzima M metiltransferase (THANH et al., 2016).

5.5 Sólidos totais e voláteis do lodo dos reatores UASB, R1 e R2

Os maiores valores de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) no lodo foi observado no R1 (Figura 8), embora os reatores R1 e R2, tenham recebido 30% dos seus volumes com inóculo. Isto pode ter ocorrido em virtude das maiores COV aplicadas no R1 e o aumento da atividade metanogênica, o que proporcionou o aumento da multiplicação dos microorganismos e consequentemente o aumento das PVM.

A relação SV/ST do lodo inoculado foi de 0,57. A presença de altas relações de sólidos voláteis (SV) em relação aos sólidos totais (ST) indica a predominância de matéria orgânica no lodo dos reatores R1 e R2, e isso foi observado nas fases 1, 3 e 4, com relações SV/ST acima de 0,6 (Figura 8). Essa relação mais elevada sugere a presença de microorganismos, os quais desempenham um papel fundamental na degradação dos compostos orgânicos presentes. Essa observação é consistente com as altas taxas de conversão de demanda química de oxigênio (DQO) em metano observadas nos reatores R1 e R2, principalmente nas fases 1, 2 e 4.

Durante a fase 3, com a carga de choque, ocorreu o aumento dos ácidos orgânicos e a redução do pH, o que pode influenciar a aderência e a coesão da biomassa ao leito do reator. Além disso, a presença de ácidos orgânicos pode criar um ambiente mais favorável para o crescimento de certos microorganismos acidogênicos, levando a um aparente aumento na biomassa no reator.

No entanto, à medida que a fase de recuperação se estabelece, e medidas corretivas ou estratégias operacionais são implementadas, como a redução da carga orgânica ou a estabilização do pH, a condição do sistema melhora. Com a restauração do equilíbrio, pode ocorrer uma redução no crescimento excessivo desses microorganismos adaptados à condição acidificada, levando a uma diminuição aparente do lodo nos reatores (Figura 8).

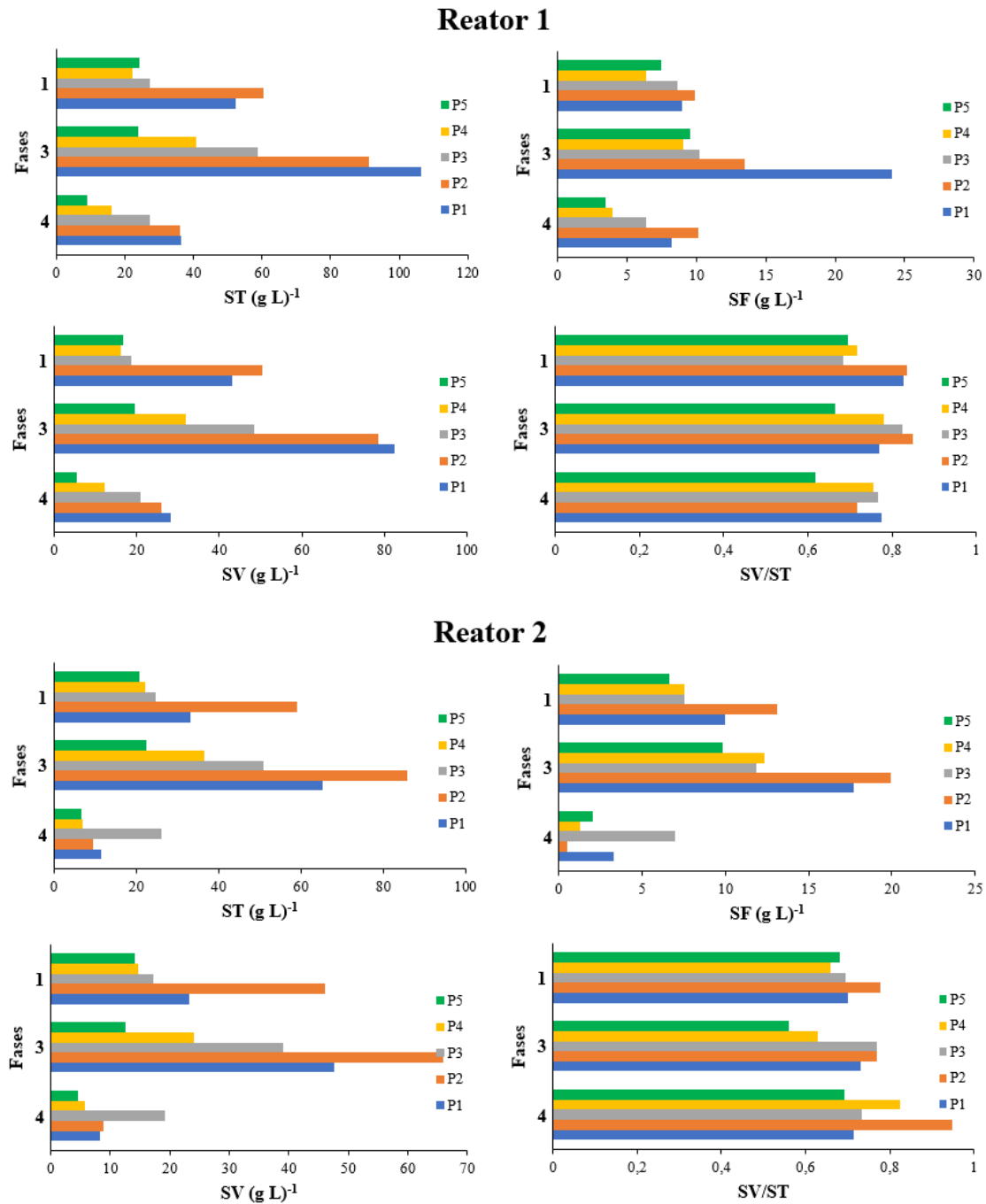


Figura 8. Valores dos sólidos totais (ST) e voláteis (SV), nos pontos de coleta de lodo dos reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB, R1 e R2), em série, na co-digestão da vinhaça com melaço suplementada com torta de filtro, nas fases 1, 2, 3 e 4. P1: base do reator.

6. Diversidade microbiana nos reatores anaeróbios UASB.

A avaliação da composição microbiana foi realizada no lodo inóculo e no lodo contido nos reatores UASB, R1 e R2 nos dias 342 e 505, durante as fases 3 e 4, respectivamente (Figuras 9, 10, 11 e 112). A caracterização do perfil da comunidade microbiana foi conduzida em nível taxonômico de gênero, utilizando o último nível taxonômico identificável.

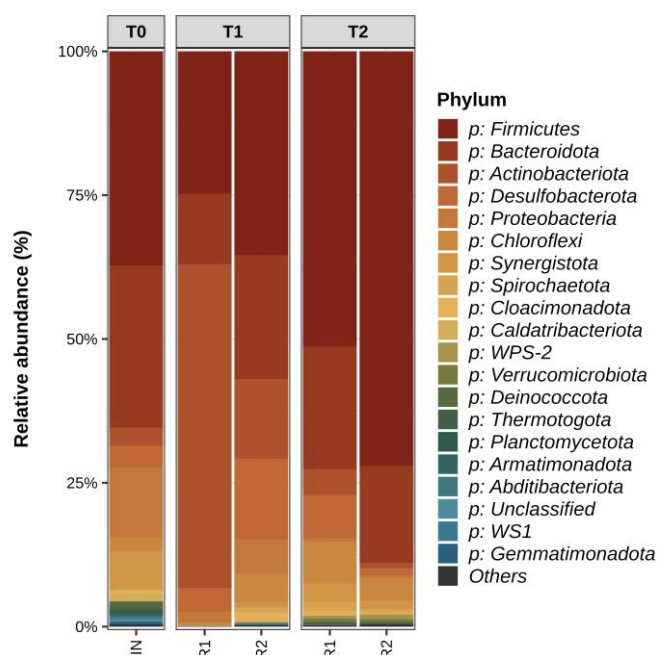


Figura 2. Taxonomia e abundância relativa dos filos do domínio Bacteria do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).

Os filos bacterianos mais abundantes no inóculo foram o Firmicutes seguidos dos Bacteroidota e Proteobacteria. Nos reatores UASB, R1 e R2, os filos que apresentaram as maiores abundâncias relativas foram os Firmicutes seguidos dos Bacteroidota e Actinobacteriota, que são reconhecidos como bactérias fermentativas hidrolíticas no processo de digestão anaeróbia (PASALARI et al., 2021). Os filos bacterianos Firmicutes e Bacteroidotas desempenham papéis cruciais na digestão anaeróbia, especialmente em ambientes ricos em matéria orgânica, como os lodos de reatores UASB. As bactérias do filo Firmicutes, por exemplo, são

capazes de fermentar carboidratos complexos, produzindo ácidos graxos de cadeia curta, que são importantes intermediários na digestão anaeróbia (ALALAWY et al., 2021). Além disso, Bacteroidetes é destacado por sua diversidade metabólica, permitindo a degradação de uma ampla gama de polissacarídeos e compostos fenólicos, com impacto positivo na eficiência do processo de biogás (ZHANG et al., 2023), indicando que esses microrganismos capazes de degradar esses compostos estavam presentes na vinhaça, contribuindo para a estabilidade do sistema com alta produção de metano.

No R1, na fase 3, a observação do filo Actinobacteriota, especialmente do gênero *Bifidobacterium*, revela uma dinâmica importante na fermentação anaeróbia. As bactérias deste gênero são conhecidas por sua habilidade de realizar fermentação heterofermentativa, gerando ácidos orgânicos, como ácido lático e ácido acético (ROCHA et al., 2023). Entretanto, uma acidificação excessiva teve efeitos adversos no reator, resultando em uma diminuição significativa do pH, o que pode inibir a atividade de microrganismos essenciais, como as bactérias metanogênicas, comprometendo a produção de biogás (NKUNA et al., 2022). O manejo adequado das condições operacionais é, portanto, crucial para maximizar a atividade metabólica desejada e garantir a estabilidade do sistema (ZHANG et al., 2023b). O filo Actinobacteria, embora menos abundante, também contribui para a degradação de compostos recalcitrantes, complementando a atividade fermentativa e a conversão de matéria orgânica em biogás (ZHANG et al., 2021). Esses grupos bacterianos interagem de forma sinérgica, otimizando a conversão de resíduos em energia renovável e subprodutos valorizáveis.

No R2 da fase 3 e R1 e R2, da fase 4 prevaleceu o filo Firmicutes, gênero *Trichococcus*. O *Trichococcus* também pode produzir ácido lático, fórmico e acético utilizando glicose como substrato. A presença de *Trichococcus* em um ambiente anaeróbio é crucial, pois esses ácidos orgânicos não apenas contribuem para o perfil metabólico do reator, mas também desempenham um papel fundamental na manutenção do equilíbrio do pH e na promoção de condições favoráveis para outras populações microbianas (RAINEY, 2010). A produção de ácido fórmico, por exemplo, pode servir como um importante intermediário, favorecendo o crescimento

de bactérias metanogênicas que utilizam esses compostos para a geração de biogás (CARVALHO et al., 2020).

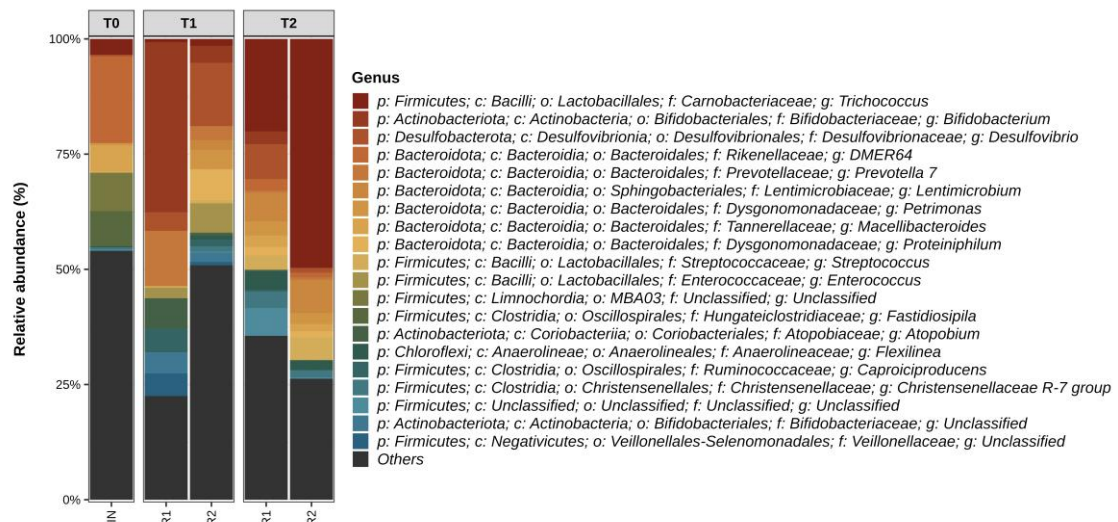


Figura 10. Taxonomia e abundância relativa dos gêneros do domínio Bacteria do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).

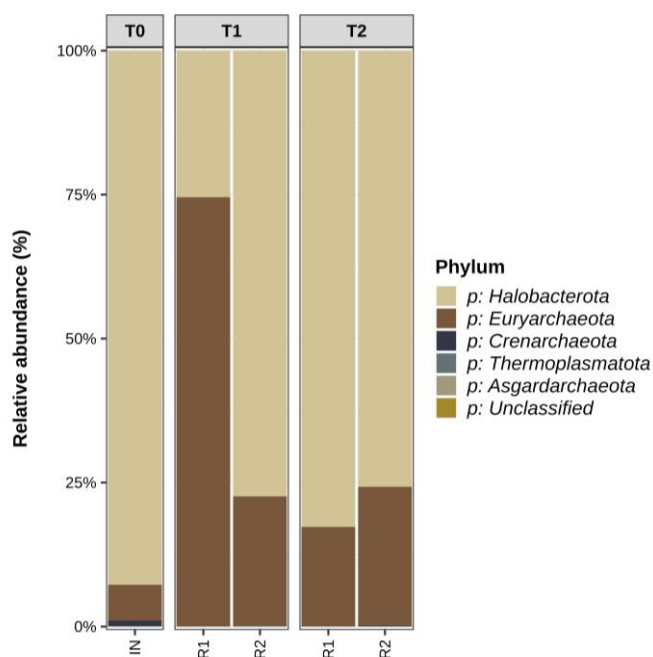


Figura 11. Taxonomia e abundância relativa dos filos do domínio Archaea do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).



Figura 12. Taxonomia e abundância relativa dos gêneros do domínio Archaea do lodo inóculo (In), e dos reatores UASB, R1 e R2, nas fases 3 (T1) e 4 (T2).

A diversidade metabólica observada em *Trichococcus* sugere que essa bactéria não apenas resiste a variações nas condições do reator, mas também desempenha um papel ativo na recuperação e na eficiência geral do processo de digestão anaeróbia (RAINEY, 2010). Essa adaptabilidade é essencial para a robustez do sistema, permitindo que ele se recupere de períodos de estresse e mantenha a produção de biogás em níveis ideais.

No domínio Archaea, observou-se no inóculo a maior abundância do filo Halobacterota, o gênero *Methanosarcina*. No R1 da fase 3 prevaleceu a *Methanobacterium*, que são arqueias hidrogenotróficas utilizadoras de CO₂, H₂, formiato (AMIN et al. 2021). A capacidade das *Methanobacterium* de metabolizar hidrogênio e dióxido de carbono é particularmente relevante em reatores UASB, onde essas condições podem ser favorecidas. A interação entre diferentes grupos de arqueias e bactérias em reatores anaeróbicos é fundamental para otimizar a produção de biogás, sendo que a presença de hidrogênio pode impulsionar a atividade metanogênica (AMIN et al., 2021).

No R2 da fase 3 e R1 e R2 da fase 4 gênero *Methanosarcina* prevaleceram. As *Methanosaeta* são conhecidas por sua capacidade de converter acetato em

metano de forma eficiente, o que é crucial para a digestão anaeróbia (MADIGAN et al, 2010). Em contraste, *Methanosarcina* é mais versátil, utilizando tanto acetato quanto outros substratos, incluindo metanol, demonstrando flexibilidade metabólica o que pode contribuir para a estabilidade do sistema em condições variáveis (BARROS et al., 2017).

Apesar da predominância de *Methanosaeta*, a versatilidade das *Methanosarcina* e a capacidade das *Methanobacterium* de utilizar hidrogênio e CO_2 são essenciais para a diversidade metabólica e a estabilidade do sistema de digestão anaeróbica (CARVALHO et al., 2020).

7.CONCLUSÃO

As eficiências de remoção DQO_{total} e PVM média para sistema de tratamento composto pelos reatores UASB (R1+R2) foram de 83% e 2,55 L CH_4 (L d)⁻¹, respectivamente, com a aplicação de elevadas COV de até 47,28 g DQO_{total} (L d)⁻¹, durante o processo de co-digestão anaeróbia da vinhaça e melaço, suplementado com a torta de filtro. No entanto, observou-se que COV superiores a 45 g DQO_{total} (L d)⁻¹ levam ao colapso do sistema, com a acidificação dos reatores. Isso demonstra a robustez e a adaptabilidade do sistema a cargas orgânicas mais elevadas, desde que respeitado os limites de COV, tornando-o uma opção viável para o tratamento de subprodutos da indústria sucroenergética,

A recuperação bem-sucedida após a acidificação dos reatores UASB foi observada, com a redução das COV e isso destaca a resiliência desses sistemas anaeróbios. As estratégias operacionais, como a redução da carga orgânica, correção de pH com leite de cal e recirculação do efluente do R2, foram cruciais para restaurar o equilíbrio. A diminuição gradual de indicadores negativos durante a recuperação reflete a eficácia dessas medidas. Esse processo reforça a importância do monitoramento contínuo e da adaptação estratégica para garantir a estabilidade e eficiência dos reatores UASB no tratamento de efluentes complexos.

Além disso, a suplementação de nitrogênio (N) e fósforo (P) por meio da utilização da torta de filtro, um subproduto da produção de açúcar, mostrou-se adequada, juntamente com a recirculação do efluente do R2 para a estabilidade dos reatores UASB, quanto a alcalinidade e ácidos voláteis totais. A análise taxonômica indicou a presença de diversos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbica e na produção de metano.

A análise taxonômica indicou a presença de diversos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbica e na produção de metano. Os filos Firmicutes e Bacteroidetes dominaram os reatores UASB, sendo cruciais na degradação de compostos orgânicos. As arqueias *Methanosaeta* e *Methanosarcina* foram importantes para a conversão de acetato em metano, otimizando a eficiência do sistema.

8. REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. M., Wadt, L. C., Vilar, D. S., Hernández-Macedo, M. L., Kumar, V., Monteiro, R. T. R., Mulla, S. I., Bharagava, R. N., Iqbal, H., M., N., Bilal, M., Ferreira, L. F. R. (2022). Vinasse bio-valorization for enhancement of *Pleurotus* biomass productivity: chemical characterization and carbohydrate analysis. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-02198-y>
- ALALAWY, A. I., Guo, Z., Almutairi, F. M., El Rabey, H. A., Al-Duais, M. A., Mohammed, G. M., ... & Sakran, M. I. (2021). Explication of structural variations in the bacterial and archaeal community of anaerobic digestion sludges: an insight through metagenomics. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 105910.
- ALBANEZ, R., Lovato, G., Ratusznei, S.M., Zaiat, M., Rodrigues, J.A.D., 2018. Feasibility of biohydrogen production by Co-digestion of vinasse (Sugarcane stillage) and Molasses in an Ansbbr. *Brazilian J. Chem. Eng.* 35, 27–41. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180351s20150807>
- ALBANEZ, R., Lovato, G., Zaiat, M., Ratusznei, S.M., Rodrigues, J.A.D., 2016. Optimization, metabolic pathways modeling and scale-up estimative of an AnSBBR applied to biohydrogen production by co-digestion of vinasse and molasses. *Int. J. Hydrogen Energy* 41, 20473–20484. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.08.145>.
- AMIN, F.R., Khalid, H., El-Mashad, H.M., Chen, C., Liu, G., Zhang, R., 2021. Functions of bacteria and archaea participating in the bioconversion of organic waste for methane production. *Sci. Total Environ.* 763, 143007. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143007>
- APHA, AWWA, WPCF, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21 th. ed. American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation. American Public Health Association, Washington DC, USA, Washington D. C.
- ARSHAD, M., Hussain, T., Iqbal, M., Abbas, M., 2017. Enhanced ethanol production at commercial scale from molasses using high gravity technology by mutant *S. cerevisiae*. *Brazilian J. Microbiol.* 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.003>
- BARBOSA, M.Y.U., Alves, I., Del Nery, V., Sakamoto, I.K., Pozzi, E., Damianovic, M.H.R.Z., 2022. Methane production in a UASB reactor from sugarcane vinasse: shutdown or exchanging substrate for molasses during the off-season? *J. Water Process Eng.* 47, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102664>
- BARROS, V.G. de, Duda, R.M., Oliveira, R.A. de, 2016. Biomethane production from vinasse in UASB reactors inoculated with granular sludge. *Brazilian J. Microbiol.* 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.021>
- BARROS, V.G., Duda, R.M., Vantini, J. da S., Omori, W.P., Ferro, M.I.T., Oliveira, R.A. de, 2017. Improved methane production from sugarcane vinasse with filter cake in thermophilic UASB reactors, with predominance of *Methanothermobacter* and *Methanosarcina* archaea and *Thermotogae* bacteria. *Bioresour. Technol.* 244, 371–381. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.106>
- BEDOIC, R., Dorotić, H., Schneider, D.R., Čuček, L., Čosić, B., Pukšec, T., Duić, N., 2021. Synergy between feedstock gate fee and power-to-gas: An energy and economic analysis of renewable methane production in a biogas plant. *Renew.*

- Energy 173, 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.03.124>
- BORDONAL, R. de O., Carvalho, J.L.N., Lal, R., de Figueiredo, E.B., de Oliveira, B.G., La Scala, N., 2018. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 38. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>
- BORGES, A.V., Fuess, L. T., Alves, I., Takeda, P. Y., Damianovic, M. H. R. Z. (2021). Co-digesting sugarcane vinasse and distilled glycerol to enhance bioenergy generation in biofuel-producing plants. *Energy Conversion and Management*, 250, 114897.
- BRÁS, R., Gomes, A., Ferra, M.I.A., Pinheiro, H.M., Gonçalves, I.C., 2005. Monoazo and diazo dye decolourisation studies in a methanogenic UASB reactor. *J. Biotechnol.* 115, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.08.001>
- CAI, G., Zhao, L., Wang, T., Lv, N., Li, J., Ning, J., Pan, X., Zhu, G., 2021. cfatty acid oxidation and methane production during the bioaugmentation of anaerobic digestion system: Microbial community analysis revealing the influence of microbial interactions on metabolic pathways. *Sci. Total Environ.* 754, 142425. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142425>
- CAMARGO, J.M.O., Ríos, J.M.G., Antonio, G.C., Leite, J.T.C., 2016. Physicochemical Properties of Sugarcane Industry Residues Aiming at Their Use in Energy Processes, in: Muhammad Sarwar Khan (Ed.), *Sugarcane - Biotechnology for Biofuels*. intechopen, p. 13.
- CARVALHO, J. R. S., Amaral, F. M., Florencio, L., Kato, M. T., Delforno, T. P., & Gavazza, S. (2020). Microaerated UASB reactor treating textile wastewater: The core microbiome and removal of azo dye Direct Black 22. *Chemosphere*, 242, 125157.
- CASTAÑEDA-AYARZA, J.A., Cortez, L.A.B., 2017. Final and B molasses for fuel ethanol production and some market implications. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 70, 1059–1065. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.010>
- CAVALCANTI, P.F., Souto Medeiros, E.J., Menezes Silva, J.K., Van Haandel, A., 1999. Excess sludge discharge frequency for UASB reactors. *Water Sci. Technol.* 40, 211–219. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00628-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00628-9)
- CHEN, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresour. Technol.* 99, 4044–4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>
- CHERNICHARO, C.A. de L., 2016. Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias., 2. ed. ed. DESA/UFMG; 2007., Belo Horizonte.
- CHERNICHARO, C.A. de L., 2007. Anaerobic Reactors, 2nd ed. ed. DESA/UFMG; 2007., Belo Horizonte.
- CLARKE, M.A., 2003. SYRUPS. *Encycl. Food Sci. Food Technol. Nutr.* <https://doi.org/10.1201/b12065>
- CHERNICHARO, C.A. de L., 2015. Anaerobic Reactors, *Water Intelligence Online*. <https://doi.org/10.2166/9781780402116>
- DE SANTI CARAÇA, M., de Oliveira, R.A., Duda, R.M., 2023. Bioenergy Recovery from Anaerobic Co-Digestion of Sugarcane Vinasse and Dairy Cattle Wastewater in Two Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket Reactors in Series. *Bioenergy Res.* <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10614-6>
- DILALLO, R., Albertson, O.E., 1961. Volatile Acids by Direct Titration. *Water Pollut. Control Fed.* 33, 356–365.
- ESPAÑA-GAMBOA, E.I., Mijangos-Cortés, J.O., Hernández-Zárate, G., Maldonado,

- J.A.D., Alzate-Gaviria, L.M., 2012. Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. *Biotechnol. Biofuels* 5, 82. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-82>
- FERNANDES, D. M. Eficiência da biodigestão anaeróbia no manejo da biomassa residual na unidade granja Colombari. 2011. 82p. Monografia (Especialização em Gestão Ambiental em Municípios), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira.
- FUESS, L.T., de Araújo Júnior, M.M., Garcia, M.L., Zaiat, M., 2017. Designing full-scale biodigestion plants for the treatment of vinasse in sugarcane biorefineries: How phase separation and alkalization impact biogas and electricity production costs? *Chem. Eng. Res. Des.* 119, 209–220. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2017.01.023>
- FUESS, L. T., Altoé, M. E., Felipe, M. C., Garcia, M. L. (2021). Pros and cons of fertirrigation with in natura sugarcane vinasse: Do improvements in soil fertility offset environmental and bioenergy losses? *Journal of Cleaner Production*, 319, 128684. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128684>
- FURTADO, L.A., Guerreiro Ribeiro, S., Pradelle, F., Parise, J.A.R., 2023. Modeling and techno-economic analysis of a hybrid sugarcane plant fed by vinasse biogas and bagasse surplus for electricity generation. *J. Clean. Prod.* 413. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137511>
- HAMZA, R.A., Iorhemen, O.T., Tay, J.H., 2016. Advances in biological systems for the treatment of high-strength wastewater. *J. Water Process Eng.* 10, 128–142. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2016.02.008>
- HOARAU, J., Caro, Y., Grondin, I., Petit, T. (2018). Sugarcane vinasse processing: Toward a status shift from waste to valuable resource. A review. *Journal of water process engineering*, 24, 11-25. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.05.003>
- JANKE, L., Leite, A.F., Batista, K., Silva, W., Nikolausz, M., Nelles, M., Stinner, W., 2016a. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. *Bioresour. Technol.* 217, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.110>
- JANKE, L., Leite, A.F., Nikolausz, M., Radetski, C.M., Nelles, M., Stinner, W., 2016b. Comparison of start-up strategies and process performance during semi-continuous anaerobic digestion of sugarcane filter cake co-digested with bagasse. *Waste Manag.* 48, 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.11.007>
- JENKINS, S. R., Morgan, J. M., Sawyer, L.C., 1983. Measuring Anaerobic Sludge Digestion and Growth by a Simple Alkalimetric Titration. *Water Pollut. Control Fed.* 55, 448–453.
- JIANG, Q., Xin, Y., Jiang, Y., Huang, L., Shen, P., 2022. Improving the efficiency of anaerobic digestion of Molasses alcohol wastewater using Cassava alcohol wastewater as a mixed feedstock. *Bioresour. Technol.* 344, 126179. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126179>
- JUNG, Heejung; BAEK, Gahyun; LEE, Changsoo. Magnetite-assisted in situ microbial oxidation of H₂S to S₀ during anaerobic digestion: A new potential for sulfide control. **Chemical Engineering Journal**, v. 397, p. 124982, 2020.
- JÚNIOR, Cícero Bley et al. Agroenergia da biomassa residual. 2009.
- JOPPERT, C.L., dos Santos, M.M., Costa, H.K.M., dos Santos, E.M., Moreira

- Simões, J.R., 2017. Energetic shift of sugarcane bagasse using biogas produced from sugarcane vinasse in Brazilian ethanol plants. *Biomass and Bioenergy* 107, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.09.011>
- KANNAN, N., Vakeesan, D., 2016. Solar energy for future world: - A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 62, 1092–1105. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.05.022>
- KIANI Deh KIANI, M., Parsaee, M., Safieddin Ardebili, S.M., Reyes, I.P., Fuess, L.T., Karimi, K., 2022. Different bioreactor configurations for biogas production from sugarcane vinasse: A comprehensive review. *Biomass and Bioenergy* 161, 106446. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106446>
- KYTHREOTOU, N., Tassou, S. a., Florides, G., 2012. An assessment of the biomass potential of Cyprus for energy production. *Energy* 47, 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2012.09.023>
- LEME, R.M., Seabra, J.E.A., 2017. Technical-economic assessment of different biogas upgrading routes from vinasse anaerobic digestion in the Brazilian bioethanol industry. *Energy* 119, 754–766. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.11.029>
- LIMA, V. de O., Barros, V.G. De, Duda, R.M., Oliveira, R.A. De, 2022. Anaerobic digestion of vinasse and water treatment plant sludge increases methane production and stability of UASB reactors. *J. Environ. Manage.* xx, 116451. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116451>
- MAO, C., Feng, Y., Wang, X., Ren, G., 2015. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renew. Sustain. Energy Rev.* <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.032>
- MCCARTY, P.L., 1964. *Anaerobic Waste Treatment Fundamentals - part one - Chemistry and Microbiology*. Public Work. 95, 107–112.
- 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. *Bioresour. Technol.* 241, 1050–1059. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.181>
- MORAES, B.S., Petersen, S.O., Zaiat, M., Sommer, S.G., Triolo, J.M., 2017. Reduction in greenhouse gas emissions from vinasse through anaerobic digestion. *Appl. Energy* 189, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.009>
- MORAES, B.S., Zaiat, M., Bonomi, A., 2015. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 44, 888–903. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.023>
- NADALETI, W.C., Lourenço, V.A., Filho, P.B., Santos, G.B. Dos, Przybyla, G., 2020. National potential production of methane and electrical energy from sugarcane vinasse in Brazil: A thermo-economic analysis. *J. Environ. Chem. Eng.* 8, 103422. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103422>
- NKUNA, R., Roopnarain, A., Rashama, C., & Adeleke, R. (2022). Insights into organic loading rates of anaerobic digestion for biogas production: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(4), 487-507.
- OLIVEIRA, R.A. de, 1997. Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura. Universidade de São Paulo.
- PARSAEE, M., Kiani Deh Kiani, M., Karimi, K., 2019. A review of biogas production

- from sugarcane vinasse. *Biomass and Bioenergy* 122, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.034>
- PRADO, R.D.M., Caione, G., Campos, C.N.S., 2013. Filter cake and vinasse as fertilizers contributing to conservation agriculture. *Appl. Environ. Soil Sci.* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/581984>
- 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. <https://doi.org/10.3390/en12061106>
- RAINEY F. A. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2^a Ed. Volume 4, 2010.p. 585.
- RAJENDRAN, K., Mahapatra, D., Venkatraman, A.V., Muthuswamy, S., Pugazhendhi, A., 2020. Advancing anaerobic digestion through two-stage processes: Current developments and future trends. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 123, 109746. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109746>
- RAO, A. Gangagni; Bapat, A. N. Anaerobic treatment of pre-hydrolysate liquor (PHL) from a rayon grade pulp mill: pilot and full-scale experience with UASB reactors. *Bioresource technology*, v. 97, n. 18, p. 2311-2320, 2006.
- RIPLEY, L.E., Boyle, W.C., Converse, J.C., 1986. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *J. Water Pollut. Control Fed.* 58, 406–411.
- ROCHA, D.H.D., Sakamoto, I.K., Varesche, M.B.A., 2023. Evaluation of significant factors in hydrogen production and volatile fatty acids in co-fermentation of citrus peel waste and processing wastewater. *Fuel* 354. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.129306>.
- SANTANA JUNIOR, A.E., Duda, R.M., Oliveira, R.A. De, 2019. Improving the energy balance of the industry of ethanol with methane production from vinasse and molasses in two-stage anaerobic reactors. *J. Clean. Prod.* <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.052>
- SCHMIDT, T., McCabe, B.K., Harris, P.W., Lee, S., 2018. Effect of trace element addition and increasing organic loading rates on the anaerobic digestion of cattle slaughterhouse wastewater. *Bioresour. Technol.* 264, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.050>
- SILVA, A.F.R., Brasil, Y.L., Koch, K., Amaral, M.C.S., 2021. Resource recovery from sugarcane vinasse by anaerobic digestion – A review. *J. Environ. Manage.* 295. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113137>
- SPEECE, R.E., 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* 17, 416A-427A. <https://doi.org/10.1021/es00115a001>
- TAKASHIMA, M., Shimada, K., Speece, R.E., 2011. Minimum requirements for trace metals (iron, nickel, cobalt, and zinc) in thermophilic and mesophilic methane fermentation from glucose. *Water Environ. Res.* 83, 339–346. <https://doi.org/10.2175/106143010X12780288628895>
- THANH, P.M., Ketheesan, B., Yan, Z., Stuckey, D., 2016. Trace metal speciation and bioavailability in anaerobic digestion : A review. *Biotechnol. Adv.* 34, 122–136. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.006>
- UNICA, 2023. . Histórico produção açúcar e etanol. URL <https://unicadata.com.br/listagem.php?idMn=4> (accessed 7.30.23).
- VILLA-MONTOYA, A.C., Ferro, M.I.T., de Oliveira, R.A., 2017. Removal of phenols and methane production with coffee processing wastewater supplemented with

- phosphorous. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 14, 61–74. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1124-y>
- WILCOX, S.J., Hawkes, D.L., Hawkes, F.R., Guwy, A.J., 1995. A neural network, based on bicarbonate monitoring, to control anaerobic digestion. *Water Res.* 29, 1465–1470. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00314-W](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00314-W)
- WILKIE, A.C., Riedesel, K.J., Owens, J.M., 2000. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. *Biomass and Bioenergy* 19, 63–102. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00017-9](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00017-9)
- YOLCAN, O.O., 2023. World energy outlook and state of renewable energy: 10-Year evaluation. *Innov. Green Dev.* 2, 100070. <https://doi.org/10.1016/j.igd.2023.100070>
- ZHAO, H.W., Viraraghavan, T., 2004. Analysis of the performance of an anaerobic digestion system at the Regina wastewater treatment plant. *Bioresour. Technol.* 95, 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.023>
- ZUO, Z., Wu, S., Zhang, W., Dong, R., 2013. Effects of organic loading rate and effluent recirculation on the performance of two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. *Bioresour. Technol.* 146, 556–561. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.128>
- FERNANDES, D. M. Eficiência da biodigestão anaeróbia no manejo da biomassa residual na unidade granja Colombari. 2011. 82p. Monografia (Especialização em Gestão Ambiental em Municípios), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira.
- JÚNIOR, Cícero Bley et al. *Agroenergia da biomassa residual*. 2009.
- PEDROZA, M. M.; SILVA, W. G.; CARVALHO, L. S.; SOUZA, A. R.; MACIEL, G. F. Methane and electricity production from poultry litter digestion in the amazona region of Brazil: A large-scale study. *Waster and Biomass Valorization. Review*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01360-x>.
- ANGELIDAKI, I.; ALVES, B. M. D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J. B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science Technology*. 59:927–934. 2009. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.040>.
- BELLI FILHO, P.; CASTILHOS JÚNIOR, A. B.; COSTA, R. H. R.; SOARES, S. R.; PERDOMO, C. C. Tecnologias para o tratamento de dejetos de suínos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.5, n.1, p.166-170, 2001.
- DA SILVA FERNANDES, Flávia et al. Current ethanol production requirements for the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Microbiology*, v. 2022, 2022.
- CARPANEZ, T. G. et al. Sugarcane vinasse as organo-mineral fertilizers feedstock: Opportunities and environmental risks. *Science of The Total Environment*, p. 154998, 2022.
- LEMOS, J.C.M.; TANCREDO, M. O. de. Uma análise comparativa entre o difusor e a moenda na extração da sacarose. 2010. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade de Franca, Franca, 2010
- VANDENBERGHE, L. P. S. et al. Beyond sugar and ethanol: The future of sugarcane biorefineries in Brazil. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 167, p. 112721, 2022.

- MADIGAN M. T., CLARK D. P., STAHL D., MARTINKO J. M. Brock Biology of Microorganisms. 13th ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 2010.
- MAGOWO, Webster Edzai; SHERIDAN, Craig; RUMBOLD, Karl. Global Co-occurrence of Acid Mine Drainage and Organic Rich Industrial and Domestic Effluent: Biological sulfate reduction as a co-treatment-option, *Journal of Water Process Engineering* , v. 38, p. 101650, 2020.
- SILVA, da A. Vinhaça concentrada da cana-de-açúcar: monitoramento das propriedades químicas do solo e mineralização líquida do líquido. 2012. 109 p. Tese (Doutorado em Ciências. Área de concentração: Energia na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- NOGUEIRA, CEC; SOUZA, SNM; MICUANSKI, VC; AZEVEDO, RL (2015). Explorando possibilidades de inserção energética do biogás da vinhaça na matriz energética do Paraná Estado, Brasil. *Comentários sobre energia renovável e sustentável*. v. 48, n. 1, 300-305p.
- VAN HAANDEL, A. et al. Methanosaeta dominate acetoclastic methanogenesis during high-rate methane production in anaerobic reactors treating distillery wastewaters. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 89, n. 11, p. 1751–1759, 2014
- PAZUCH, Felix Augusto; NOGUEIRA, Carlos Eduardo Camargo; SOUZA, Samuel Nelson Melegari; MICUANSKI, Viviane Cavaler; FRIEDRICH, Leandro; LENZ, Anderson Miguel. 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. *63 Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 76, no. December 2015, p. 34–42, 2017. DOI 10.1016/j.rser.2017.03.047. Available at:<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.047>.
- GAO, Ruiling et al. Production of acetone-butanol-ethanol and lipids from sugarcane molasses via coupled fermentation by *Clostridium acetobutylicum* and oleaginous yeasts. *Industrial Crops and Products*, v. 185, p. 115131, 2022.
- KABEYI, Moses Jeremiah Barasa; OLANREWAJU, Oludolapo Akanni. Sugarcane molasses to energy conversion for sustainable production and energy transition. In: 12th annual Istanbul international conference on industrial engineering and operations management. Istanbul, Turkey. 2022. p. 405.
- VILELA, R. S. et al. Biofuel production from sugarcane molasses in thermophilic anaerobic structured-bed reactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 144, p. 110974, 2021.
- VOLPI, Maria Paula C. et al. Use of lignocellulosic residue from second-generation ethanol production to enhance methane production through co-digestion. *BioEnergy Research*, v. 15, n. 1, p. 602-616, 2022.
- ZHANG, C. et al. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 38, p. 383–392, out. 2014.
- ZHANG, Shuhang; WANG, Jingjing; JIANG, Hong. Microbial production of value-added bioproducts and enzymes from molasses, a by-product of sugar industry. *Food chemistry*, v. 346, p. 128860, 2021.
- ZHANG, X., Jiao, P., Zhang, M., Wu, P., Zhang, Y., Wang, Y., ... & Ma, L. (2023). Impacts of organic loading rate and hydraulic retention time on organics degradation, interspecies interactions and functional traits in thermophilic

- anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge. *Bioresource Technology*, 370, 128578.a
- ZHANG, S., Ma, X., Sun, H., Zhao, P., Wang, Q., Wu, C., & Gao, M. (2023). Resposta da digestão anaeróbica semi-contínua de resíduos alimentares ao aumento progressivo da temperatura: comunidade metanogênica, análise de correlação e balanço energético. *Culturas e produtos industriais*, 192, 116066.b
- GONÇALVES, Carlos André et al. Chemical and technological attributes of sugarcane as functions of organomineral fertilizer based on filter cake or sewage sludge as organic matter sources. *Plos one*, v. 16, n. 12, p. e0236852, 2021.
- WONGARMAT, Worapong et al. Acidogenic phase anaerobic digestion of pretreated sugarcane filter cake for co-digestion with biogas effluent to enhance the methane production. *Fuel*, v. 310, p. 122466, 2022.
- ALMEIDA JÚNIOR, A. B. et al. Fertilidade do solo e absorção de nutrientes em cana-de-açúcar fertilizada com torta de filtro. *Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 15, p. 1004–1013, 2011.
- SIQUEIRA, J. C., Assemany, P., & Siniscalchi, L. A. B. (2022). Microbial dynamics and methanogenic potential of co-digestion of sugarcane vinasse and dairy secondary effluent in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Bioresource Technology*, 361, 127654.
- RAMOS, Lucas Rodrigues; SILVA, Edson Luiz. Continuous hydrogen production from cofermentation of sugarcane vinasse and cheese whey in a thermophilic anaerobic fluidized bed reactor, 2018. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 43, n. 29, p. 13081-13089.
- WANG, M., Fan, Z., Wang, R., Liu, Z., Gao, F., Zhang, Z., ... & Lu, M. (2022). Nitrogen removal performance, and microbial community structure of water and its association with nitrogen metabolism of an ecological engineering pond aquaculture system. *Aquaculture Reports*, 25, 101258.
- APHA (1995) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, American Public Health Association Inc., New York.
- OLIVEIRA, R. A. DE. Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura. 1997. 359 f. (vol. I e II). Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997., 1997.
- PASALARI, H., Gholami, M., Rezaee, A., Esrafil, A., & Farzadkia, M. (2021). Perspectives on microbial community in anaerobic digestion with emphasis on environmental parameters: a systematic review. *Chemosphere*, 270, 128618.