

GUILHERME HENRIQUE DA SILVA

ESTUDO DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA VEGETAL E DEJETO BOVINO: AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E DO CULTIVO DE MICROALGAS NO DIGESTATO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Natália dos Santos Renato

Coorientadores: Marcelo Henrique Otenio
Marcio Arêdes Martins

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586e
2024
Silva, Guilherme Henrique da, 1994-
Estudo da co-digestão anaeróbia de biomassa vegetal e
dejeito bovino: avaliação da produção de biogás e do cultivo de
microalgas no digestato / Guilherme Henrique da Silva. –
Viçosa, MG, 2024.

1 tese eletrônica (155 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Natália dos Santos Renato.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Engenharia Agrícola, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.566>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Resíduos agrícolas - Reaproveitamento. 2. Esgotos -
Purificação - Tramento anaeróbico. 3. *Cenchrus purpureus*.
4. Biocombustíveis. 5. Biogás. 6. Microalgas. I. Renato, Natália
dos Santos, 1984-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Engenharia Agrícola. Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 628.746


GUILHERME HENRIQUE DA SILVA

ESTUDO DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA VEGETAL E DEJETO BOVINO: AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E DO CULTIVO DE MICROALGAS NO DIGESTATO


Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADO 25 de junho de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **GUILHERME HENRIQUE DA SILVA**
Data: 09/09/2024 13:54:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Guilherme Henrique da Silva
Autor

Documento assinado digitalmente
 **NATALIA DOS SANTOS RENATO**
Data: 09/09/2024 18:37:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Natália do Santos Renato
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por guiar meus caminhos e me ajudar a vencer todas as dificuldades.

Aos meus pais, João Cleber e Sandra, serei eternamente grato pelos ensinamentos e educação que me tornaram a pessoa que sou hoje, agradeço pelo exemplo de vida, pelo esforço para que meu sonho se tornasse realidade.

A minha esposa Gislaine, pelo companheirismo durante toda essa jornada, me apoiando e acreditando em mim em todos os momentos. Por ser o amor da minha vida e estar sempre presente comigo nas alegrias e dificuldades.

A minha família, ao meu irmão, e aos meus sogros por todo o amor, sempre me dando forças para que eu chegasse até aqui.

Agradeço à minha orientadora Natália do Santos Renato pela oportunidade, sobretudo a confiança durante essa jornada.

Agradeço ao meu coorientador Marcelo Otenio Henrique, por toda a orientação, suporte e confiança depositada em mim desde o estágio da graduação, e pelas inúmeras oportunidades.

Agradeço ao Dr. Alberto José Delgado dos Reis, pela orientação durante o período de doutoramento sanduíche em Portugal.

Aos meus amigos que fiz durante toda minha trajetória, que contribuíram direta ou indiretamente nesse trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação, e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realização deste curso.

À Embrapa Gado de Leite e ao Laboratório Nacional de Energia e Geologia (LNEG), pela oportunidade de realizar os experimentos e o acolhimento.

À banca examinadora, pela disponibilidade em participar e pelas contribuições ao trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 00 e ao CNPq (200150/2022-7), pela concessão de bolsa de estudos, pelos recursos destinados à realização dessa pesquisa.

A todos que de alguma forma cruzaram o meu caminho durante esses anos, meu muito obrigado.

“Não fui Eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

(Josué 1.9)

RESUMO

SILVA, Guilherme Henrique da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2024. **Estudo da co-digestão anaeróbia de biomassa vegetal e dejetos bovinos: avaliação da produção de biogás e do cultivo de microalgas no digestato.** Orientadora: Natália dos Santos Renato. Coorientadores: Marcelo Otenio Henrique e Marcio Arêdes Martins.

O propósito desta tese foi investigar o processo de co-digestão anaeróbia como biotecnologia para valorização de resíduos agropecuários, em especial o efluente de bovinocultura leiteira e a biomassa vegetal proveniente do caldo do capim-elefante (CCe) e *Arundo donax* L. O trabalho iniciou-se com uma investigação do potencial energético do caldo de capim-elefante para a produção de biogás. Foram avaliados seis genótipos de capim-elefante, em termos de produtividade de caldo e valor energético. O rendimento de caldo das variedades de capim-elefante variou de 66,7 a 189,1 mL kg⁻¹. O valor de energia bruta do bagaço dos genótipos estudados variou entre 4041,14 e 4304,06 kcal kg⁻¹. O caldo extraído foi considerado um subproduto da biomassa com alto valor energético remanescente, com valores de energia bruta entre 293,14 e 409,99 cal kg⁻¹, e com potencial para ser utilizado como substrato no processo de co-digestão anaeróbia. Em seguida, a produção de biogás a partir da co-digestão do caldo do capim-elefante e águas residuárias de bovinocultura leiteira (ARBL) foi investigada. Primeiramente, foram feitos ensaios em batelada em diferentes condições de temperatura e valores de razão entre os co-substratos para o bom desempenho dos reatores. A produção cumulativa máxima de biogás e metano foi registrada na temperatura mesófila na proporção de 20 CCe: 80 ARBL, com o rendimento de biogás de 414,11 mL e de metano de 80,64 mL CH₄ g⁻¹ SV. Foram construídos modelos de regressão para se estimar a produção de biogás. A transposição do melhor resultado entre os experimentos em batelada foi testada no reator modelo UASB de 7,8 L com diferentes tempos de retenção de 10, 6, 2 dias e 24 horas. A produção de biogás variou de 0,78 a 2,28 m³ m⁻³ d⁻¹ com concentrações médias de CH₄ de 63 a 72%. Por fim, no último capítulo, foi proposto o tratamento mediado por microalgas do digestato da co-digestão anaeróbia de biomassa de *Arundo donax* L. e ARBL, com cultivo da microalga *Tetradismus obliquus* em fotobiorreatores. A produção de biogás alcançou valores de 50,20 a 94,69 mL g⁻¹ SV. O modelo cinético primeira ordem com dependência de tempo modificado (FOMT)

proporcionou melhor ajuste para produção de biogás. O processo mediado por microalgas foi promissor para biorremediação, por meio do potencial da biomassa de microalgas para a produção de bioprodutos. A composição macromolecular da biomassa algal alcançou os valores de teor de lipídios de 33,4 a 42,7%. A co-digestão anaeróbia de dejetos animais com resíduos lignocelulósicos oferece uma rota promissora para a produção eficiente de biogás. Sistemas de microalgas podem ser favoráveis para o tratamento ambientalmente eficiente de águas residuárias, além da produção de bioprodutos por meio da biomassa algal.

Palavras-chave: Biodigestão anaeróbia; *Cenchrus purpureus* Schumach; Bioenergia; Bioprodutos; Microalgas.

ABSTRACT

SILVA, Guilherme Henrique da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2024.
Study of anaerobic co-digestion of plant biomass and cattle manure: evaluation of biogas production and microalgae cultivation in the digestate.
Adviser: Natália dos Santos Renato. Co-advisers: Marcelo Otenio Henrique and Marcio Arêdes Martins.

The purpose of this thesis was to investigate the anaerobic co-digestion process as a biotechnology for the valorization of agricultural waste, in particular dairy cattle effluent and vegetable biomass from elephant grass broth (CCe) and *Arundo donax* L. The work began with an investigation of the energy potential of elephant grass broth for the production of biogas. Six genotypes of elephant grass were evaluated in terms of broth productivity and energy value. The broth yield of elephant grass varieties ranged from 66,7 to 189,1 mL kg⁻¹. The gross energy value of the bagasse of the studied genotypes varied between 4041.14 and 4304.06 kcal kg⁻¹. The extracted broth was considered a biomass byproduct with high remaining energy value, with gross energy values between 293.14 and 409.99 cal kg⁻¹, and with the potential to be used as a substrate in the anaerobic co-digestion process. Next, the production of biogas from the co-digestion of elephant grass broth and dairy cattle wastewater (ARBL) was investigated. Firstly, batch tests were carried out under different temperature conditions and ratio values between co-substrates for the good performance of the reactors. The maximum cumulative production of biogas and methane was recorded at mesophilic temperature in the ratio of 20 CCe: 80 ARBL, with the biogas yield of 414.11 mL and methane yield of 80.64 mL CH₄ g⁻¹ SV. Regression models were built to estimate biogas production. The transposition of the best result between the batch experiments was tested in the 7,8 L UASB model reactor with different retention times of 10, 6, 2 days and 24 hours. Biogas production ranged from 0.78 to 2.28 m³ m⁻³ d⁻¹ with average CH₄ concentrations of 63 to 72%. Finally, in the last chapter, microalgae-mediated treatment of digestate from the anaerobic co-digestion of *Arundo donax* L. and ARBL biomass was proposed, with cultivation of the microalgae *Tetradesmus obliquus* in photobioreactors. Biogas production reached values of 50.20 to 94.69 mL g⁻¹ SV. The first-order kinetic model with modified time dependence (FOMT) provided a better fit for biogas production. The microalgae-mediated process was promising for bioremediation, through the

potential of microalgae biomass for the production of bioproducts. The macromolecular composition of the algal biomass reached lipid content values of 33.4 to 42.7%. Anaerobic co-digestion of animal waste with lignocellulosic waste offers a promising route for efficient biogas production. Microalgae systems can be favorable for the environmentally efficient treatment of wastewater, in addition to the production of bioproducts through algal biomass.

Keywords: Anaerobic biodigestion; *Cenchrus purpureus* Schumach; Bioenergy; Bioproducts; Microalgae.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS.....	15
CAPÍTULO 1: POTENCIAL ENERGÉTICO DO CALDO DE CAPIM-ELEFANTE: PROPOSTA DE BIOMASSA PARA A PRODUÇÃO DE BIOGÁS	21
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1. Amostragem de matérias-primas	26
2.2. Análises físico-químicas	27
2.3. Análise estatística	28
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
3.1. Produtividade e qualidade da Planta e do Bagaço	29
3.2. Produtividade e qualidade do caldo e aproveitamento energético ...	33
4. CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO 2: PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DO CALDO DE CAPIM-ELEFANTE E ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE BOVINOS: DESEMPENHO EM BATELADA E EM REATOR UASB	48
1. INTRODUÇÃO	50
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	55
2.1. Amostragem, preparação dos substratos e do inóculo	55
2.2. Ensaios em bateladas: delineamento experimental, sistema de aquecimento e agitação.	56
2.3. Biodigestores UASB: Sistema de aquecimento, agitação e armazenamento do biogás	58
2.4. Quantificação da produção e composição do biogás	60
2.5. Potencial Bioquímico de Biogás (PBB) e o Potencial Bioquímico do Metano (PBM)	62
2.6. Modelo de regressão	63
2.7. Análise estatística	63
2.8. Análises laboratoriais	64
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
3.1. Ensaios em batelada: Caracterização dos substratos	65
3.2. Desempenho das condições experimentais: Teste I e Teste II	66
3.2.1 pH, Alcalinidade, Acidez e Ácidos Graxos Voláteis (AGVs).....	66
3.2.2 Sólidos Totais (ST), Fixos (SF) e Voláteis (SV); Sólidos Solúveis (°Brix) e Energia Bruta.....	72

3.2.3 Proteína Bruta (PB), Nitrogênio (N), Carbono (C) e Relação C: N.....	78
3.2.4. Efeito da Co-digestão na Produção de Biogás e Metano	80
3.2.5. Modelos de regressão exponencial e interação de variáveis.....	85
3.3. Ensaio no Biodigestor UASB.....	88
4. CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS.....	94
CAPÍTULO 3: CRESCIMENTO DE MICROALGAS <i>TETRADESMUS OBLIQUUS</i> EM DIGESTATO DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA DE <i>ARUNDO DONAX L.</i> E ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE BOVINOS: ANÁLISE DO DESEMPENHO DE BIOGÁS E PRODUÇÃO DE BIOMASSA ALGAL.....	
1. INTRODUÇÃO	107
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	109
2.1. Substratos e inóculo	109
2.2. Métodos analíticos.....	110
2.3. Co-digestão anaeróbia de ARBL com a gramínea de <i>Arundo donax L</i>	111
2.4. Microalgas.....	112
2.5. Tratamento do digestato com cultivo de microalgas em fotobiorreatores.....	112
2.6. Processamento da biomassa e análise bioquímica.....	113
2.7. Modelo cinética.....	114
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	115
3.1. Fase I: Co-digestão.....	115
3.1.1 pH, Alcalinidade e remoção de sólidos	115
3.1.2 Remoção de DQO total e solúvel.....	118
3.1.3 Compostos de nitrogênio e de fosfato	119
3.1.4 Produção de biogás	121
3.1.5 Digestato.....	127
3.2. Fase II: Fotobiorreatores.....	129
3.2.1 Biomassa seca e produtividade volumétrica.....	130
3.2.2 Biorremediação: remoção de matéria orgânica e nutrientes.....	134
3.2.3 Composição macromolecular.....	139
4. CONCLUSÃO	142
REFERÊNCIAS.....	144

INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas, a demanda global por energia limpa levou a uma maior atenção à sustentabilidade do fornecimento de energia. Tornou-se uma prioridade global a necessidade de reduzir as emissões de gases de efeito estufa (GEE) e avançar em direção a fontes de energia sustentável (GIELEN et al., 2019; MIGNOGNA et al., 2023). O desempenho energético é um dos principais pilares de todas as políticas para garantir um crescimento econômico inclusivo e sustentável em todo o mundo (AHMAD et al., 2020). O rápido desenvolvimento da população e o esgotamento dos combustíveis fósseis são os principais determinantes que desencadeiam o foco na energia renovável (HOSSAIN et al., 2023). Em resposta aos grandes desafios mencionados, estudos têm se concentrados em desenvolver uma tecnologia sustentável para energia mais confiável, econômica, limpa e renovável (ØSTERGAARD et al., 2020; JAISWAL et al., 2022; BEI e WANG, 2023). A digestão anaeróbia (DA) é considerada uma das tecnologias que fomenta a recuperação de energia de biomassa, utilizada para o tratamento de resíduos e na produção de biogás (WAINAINA et al., 2020)

A biotecnologia anaeróbia é considerada uma tecnologia adequada e eficiente, por combinar o tratamento de resíduos com a recuperação da matéria orgânica em produtos com valor agregado relevante (KHANAL, 2011), vista como uma alternativa que desempenha um papel vital no futuro da produção de energia renovável (SEVILLANO et al., 2021). Tecnologias e processos envolvendo o uso da biomassa para produção de bioenergia revelam-se como alternativas de valorização energética, e com elevado potencial de aplicabilidade (AWASTHI et al., 2020; SIWAL et al., 2021; YAHYA et al., 2023). Biomassa é um termo geral usado para descrever recursos biológicos derivados de animais e plantas. Dentre as técnicas de tratamento de biomassa residual, a DA é uma tecnologia custo-efetiva, devido à sua alta recuperação energética na forma de metano e seus limitados impactos ambientais (ZHEN et al., 2017; MA et al., 2018).

A atividade pecuária produz uma expressiva quantidade de dejetos animais, e o gerenciamento desses resíduos torna-se um grande desafio das fazendas de criação de bovinos em sistema de confinamento, a fim de minimizar o seu impacto negativo sobre o ambiente (KHOSHNEVISAN et al., 2021; KOUL et al., 2022). A DA é considerada uma solução viável para o tratamento de dejetos bovinos, o que

proporciona ganhos adicionais para o sistema produtivo, além de benefícios ambientais e econômicos (TUFANER e AVŞAR, 2016; MASSIMO e MONTORSI, 2018). Devido à elevada proporção de biomassa, o dejetos bovino é uma interessante matéria-prima para a produção de biogás no processo de biodigestão anaeróbia (BA), reduzindo a carga poluente (LI et al., 2021; BALASUBRAMANI et al., 2023; NADAN e BAROUTIAN, 2023). A BA apresenta-se como um excelente caminho para o tratamento e a reciclagem energética dos nutrientes presentes nos dejetos animais, reduzindo o potencial poluidor e os riscos sanitários, além de promover a geração de bioenergia (MENDONÇA et al., 2017^a; MENDONÇA et al., 2017^b; SILVA et al., 2021).

A biomassa proveniente de cultivos dedicados de gramíneas energéticas representa uma das mais abundantes e promissoras alternativas de matéria-prima para geração de energia por meio da combustão direta (CHEN et al., 2021), da produção combinada de energia térmica e mecânica por meio do processo de cogeração (AISHWARYA et al., 2022; CHEN et al., 2022), de processos termoquímicos específicos, e processos biológicos, exemplo, produção de biogás através da DA (BEDOÍĆ et al., 2019). Dentre as culturas energéticas, o capim-elefante (*Cenchrus purpureus* (Schumach) Morrone), tem sido uma opção notável para a produção de bioenergia, sendo considerado um biorrecurso atrativo para aplicação em diversos campos, como agricultura, energia e materiais (ROCHA et al., 2017^a; ROCHA et al., 2017^b; NASCIMENTO e REZENDE, 2018; NGUYEN et al., 2021; IYYAPPAN et al., 2023). A espécie, tradicionalmente utilizada como planta forrageira, tem atraído consideravelmente a atenção para o uso como matéria-prima bioenergética, em razão da sua eficiência fotossintética; alto potencial produtivo; rápido crescimento; ampla adaptação; capacidade de fixação biológica de nitrogênio; além de suas propriedades químicas (CABRERA et al., 2017). A técnica da extração do caldo do capim-elefante (CCe) apresenta como principais vantagens a redução da umidade e aumento do poder calorífico da biomassa para queima, e a possibilidade de uso do caldo para a produção de biogás e biofertilizante (MARAFON et al., 2020; MARAFON et al., 2021; MARAFON e MACHADO, 2021; SILVA et al., 2022).

Estudos têm sido conduzidos para investigar os benefícios da bioenergia utilizando a energia proveniente da biomassa animal e lignocelulósica para conversão energética de forma rentável para a produção mais sustentável

(TUFANER e AVŞAR, 2016; ASHOKKUMAR et al., 2022; SONG et al., 2023). Neste contexto, pesquisas para melhorar a eficiência dos sistemas operacionais são fundamentais, com novas soluções relacionadas ao tratamento apropriado do substrato e obtenção de maior produtividade energética. Os benefícios da produção aprimorada de bioenergia associado com a eficiência da produção de biogás dos digestores usando co-substratos têm atraído pesquisadores a investigar a co-digestão anaeróbia de dejetos bovinos com outras diferentes biomassas para o melhoramento da produção de biogás (FENG et al., 2017; NESHAT et al., 2017; OJEDIRAN et al., 2021; KARKI et al., 2021; ABBAS et al., 2023).

O processo de co-digestão anaeróbia consiste no tratamento simultâneo de duas ou mais substâncias biodegradáveis pela BA. A mistura entre diferentes substratos desempenha um papel fundamental na produção de biogás para equilibrar os níveis de carbono e nitrogênio na matéria orgânica para que possam permanecer dentro das faixas ideais de consumo para a população de microrganismos, aumentando a produção de metano (KARKI et al., 2021). O processo de co-digestão é promissor na área de biotecnologia, superando as desvantagens da mono-digestão que estão relacionadas às características do substrato e à otimização do sistema (KARKI et al., 2021). Estudos sobre o progresso, desafios e perspectivas do processo de co-digestão anaeróbia, confirmam a tecnologia como uma alternativa para potencializar a produção de biogás, apresentando resultados satisfatórios devido aos efeitos sinérgicos produzidos por diferentes frações orgânicas do substrato (HAGOS et al., 2017).

Nos processos de digestão anaeróbia os principais produtos são o biogás e o digestato (CZEKALA et al., 2022). O manejo inadequado do digestato, considerado o efluente final do processo, gera um grave problema ambiental e questões legais ao descartar sem o devido tratamento. Neste contexto, é importante explorar técnicas e diferentes estratégias sobre o manejo correto desse resíduo produzido na DA. O digestato é um resíduo remanescente que pode servir como fonte benéfica de nutrientes como meio de crescimento de microalgas (AYRE e BOROWITZKA, 2017). O cultivo de microalgas no digestato ajudará o processo de tratamento de efluentes, evitar sanções legais de descarte de efluentes e torna-se um processo ecologicamente correto para ser transformado em produtos de alto valor, como biodiesel, biofertilizante, *biochar* e alimentação animal (CHOZHAVENDHAN et al., 2022 e 2023).

Logo, sobre o que já foi realizado com o processo de co-digestão anaeróbia, tornando-se viável com base em diversos estudos e as potencialidades que ainda precisam ser estudadas, os objetivos deste trabalho foram: i) analisar e caracterizar do caldo de capim-elefante remanescente da biomassa em termos de produtividade e valor energético; ii) investigar o potencial da co-digestão anaeróbia do caldo de capim-elefante com águas residuárias da bovinocultura, testando diferentes temperaturas e proporções de mistura do substrato, e posteriormente aplicar a melhor resposta no reator UASB com diferentes TRHs e iii) investigar o cultivo de microalgas como estratégia de pós-tratamento do digestato da co-digestão anaeróbia de águas residuárias de bovinocultura leiteira com biomassa vegetal de *Arundo donax* L., e caracterizar a biomassa de microalgas produzida.

A fim de atender aos objetivos estabelecidos, este trabalho foi estruturado nos seguintes capítulos:

Capítulo 1: Potencial energético do caldo de capim-elefante: proposta de biomassa para produção de biogás.

Capítulo 2: Produção de biogás a partir da co-digestão anaeróbia do caldo de capim-elefante e águas residuárias de bovinos: desempenho em batelada e em reator UASB.

Capítulo 3: Crescimento de microalgas *Tetrademus Obliquus* em digestato da co-digestão anaeróbia de biomassa de *Arundo donax* L. e águas residuárias de bovinos: análise do desempenho de biogás e produção de biomassa algal.

REFERÊNCIAS

ABBAS, Y.; YUN, S.; MEHMOOD, A.; SHAH, F. A.; WANG, K.; ELDIN, E. T.; AL-QAHTANI, W. H.; ALI, S.; BOCCHETTA, P. Co-digestion of cow manure and food waste for biogas enhancement and nutrients revival in bio-circular economy. *Chemosphere*, 311, 2, 137018, 2023. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.137018

AHMAD, T.; ZHANG, D. A critical review of comparative global historical energy consumption and future demand: The story told so far. *Energy Reports*, 6, 1973-1991, 2020. doi: 10.1016/j.egy.2020.07.020

AISHWARYA, S. G.; SRUTHI, M. N.; ADITYA, K.; SIVAGAMI, S. CHAKRABORTY. Biomass Energy Conversion Using Thermochemical and Biochemical Technologies. In: Pal, D. B., Jha, J. M. (eds) Sustainable and Clean Energy Production Technologies. *Clean Energy Production Technologies*, 93-131, 2022, Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-16-9135-5_5.

ASHOKKUMAR, V.; VENKATKARTHICH, R.; JAYASHREE, S.; CHUETOR, S.; DHARMARAJ, S.; KUMAR, G.; CHEN, W. H.; NGAMCHARUSSRIVICHAI, C. Recent advances in lignocellulosic biomass for biofuels and value-added bioproducts - A critical review. *Bioresource Technology*, 344, Part B, 126195, 2022. doi: 10.1016/j.biortech.2021.126195

AWASTHI, M. K.; SARSAIYA, S.; PATEL, A.; JUNEJA, A.; SINGH, R. P.; YAN, B.; AWASTHI, S. K.; JAIN, A.; LIU, T.; DUAN, Y.; PANDEY, A.; ZHANG, Z.; TAHERZADEH, M. J. Refining biomass residues for sustainable energy and bioproducts: An assessment of technology, its importance, and strategic applications in circular bio-economy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 127, 109876, 2020. doi: 10.1016/j.rser.2020.109876

AYRE, J. M.; BOROWITZKA, N. R. M. A. Growth of microalgae on undiluted anaerobic digestate of piggery effluent with high ammonium concentrations. *Algal Research*, 24, 218-226, 2017. doi: 10.1016/j.algal.2017.03.023

BALASUBRAMANI, R.; AWASTHI, M. K.; VARJANI, S.; KARMEGAM, N. Aerobic and Anaerobic Digestion of Agro-Industrial and Livestock Wastes: A Green and Sustainable Way toward the Future. *Agronomy*, 13(10), 2607, 2023. doi: 10.3390/agronomy13102607

BEDOÍĆ, R.; ČUČEK, L.; ČOSIĆ, B.; KRAJNC, D.; SMOLJANIĆ, G.; KRAVANJA, Z.; LJUBAS, D.; PUKŠEC, T.; DUIĆ, N. Green biomass to biogas – A study on anaerobic digestion of residue grass. *Journal of Cleaner Production*, 213, 700-709, 2019. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.12.224.

BEI, J.; WANG, C. Renewable energy resources and sustainable development goals: Evidence based on green finance, clean energy and environmentally friendly investment. *Resources Policy*, 80, 103194, 2023. doi: 10.1016/j.resourpol.2022.103194

CABRERA, J. R.; ERICKSON, J. E.; LEON, R. G.; SILVEIRA, M. L.; ROWLAND, D.

L.; SOLLENBERGER, L. E.; MORGAN, K. T. Converting bahiagrass pasture land to elephantgrass bioenergy production enhances biomass yield and water quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 248, 20-28, 2017. doi: 10.1016/j.agee.2017.07.021.

CHEN, H.; WANG, Y.; LI, J.; XU, G.; LEI, J.; LIU, T. Thermodynamic analysis and economic assessment of an improved geothermal power system integrated with a biomass-fired cogeneration plant. *Energy*, 240, 122477, 2022. doi: 10.1016/j.energy.2021.122477.

CHEN, W. H.; LIN, B. J.; LIN, Y. Y.; CHU, Y. S.; UBANDO, A. T.; SHOW, P. L.; ONG, H. C.; CHANG, J. S.; HO, S. H.; CULABA, A. B.; PÉTRISSANS, A.; PÉTRISSANS, M. Progress in biomass torrefaction: Principles, applications and challenges. *Progress in Energy and Combustion Science*, 82, 100887, 2021. doi: 10.1016/j.pecs.2020.100887.

CHOZHAVENDHAN, S.; KARTHIGADEVI, G.; BHARATHIRAJA, B.; KUMAR, P. R.; ABO, L. D.; PRABHU, S. V.; BALACHANDAR, R.; JAYAKUMAR, M. Current and prognostic overview on the strategic exploitation of anaerobic digestion and digestate: A review. *Environmental Research*, 216, 2, 114526, 2023. doi: 10.1016/j.envres.2022.114526

CHOZHAVENDHAN, S.; KARTHIGADEVI, G.; PRAVEENKUMAR, R.; ANISKUMAR, M.; JAYAKUMAR, M.; GURUNATHAN, B. Chapter 9 - Potentials and challenges in biodiesel production from algae—technological outlook. *Biofuels and Bioenergy Opportunities and Challenges*, 183-203, 2022. doi: 10.1016/B978-0-323-85269-2.00014-9

CZEKALA, W.; JASIŃSKI, T.; GRZELAK, M.; WITASZEK, K.; DACH, J. Biogas Plant Operation: Digestate as the Valuable Product. *Energies*, 15 (21), 8275, 2022. doi: 10.3390/en15218275.

FENG, L.; WAHID, R.; WARD, A. J.; MOLLER, H. B. Anaerobic co-digestion of cattle manure and meadow grass: Effect of serial configurations of continuous stirred tank reactors (CSTRs). *Biosystems Engineering*, 2017, 160, 1-11. doi: 10.1016/j.biosystemseng.2017.05.002

GIELEN, D.; BOSHELL, F.; SAYGIN, D.; BAZILIAN, M. D.; WAGNER, N.; GORINI, R. The role of renewable energy in the global energy transformation. *Energy Strategy Reviews*, 24, 38-50, 2019. doi: 10.1016/j.esr.2019.01.006

HAGOS, K.; ZONG, J.; LI, D.; LIU, C.; LU, X. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 1485-1496, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2016.11.184.

HOSSAIN, M. R.; SINGH, S.; SHARMA, G. D.; APOSTU, S. A.; BANSAL, P. Overcoming the shock of energy depletion for energy policy? Tracing the missing link between energy depletion, renewable energy development and decarbonization in the USA. *Energy Policy*, 174, 113469, 2023. doi: 10.1016/j.enpol.2023.113469

IYYAPPAN, J.; PRAVIN, R.; AL-GHANIM, K. A.; GOVINDARAJAN, M.; NICOLETTI, M.; BASKAR, G. Dual strategy for bioconversion of elephant grass biomass into fermentable sugars using *Trichoderma reesei* towards bioethanol production. **Bioresource Technology**, 374, 128804, 2023. doi: 10.1016/j.biortech.2023.128804.

JAISWAL, K. K.; CHOWDHURY, C. R.; YADAV, D.; VERMA, R.; DUTTA, S.; JAISWAL, K. S.; SANGMESHB; KARUPPASAMY, K. S. K. Renewable and sustainable clean energy development and impact on social, economic, and environmental health. **Energy Nexus**, 7, 100118, 2022. doi: 10.1016/j.nexus.2022.100118

KARKI, R.; CHUENCHART, W.; SURENDRA, K. C.; SHRESTHA, S.; RASKIN, L.; SUNG, S.; HASHIMOTO, A.; KHANAL, S. K. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. **Bioresource Technology**, 330, 125001, 2021. doi: 10.1016/j.biortech.2021.125001.

KHANAL, S.K. Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications. University of Hawai'i at Mānoa. **John Wiley & Sons**, 2011. Disponível em: https://eva.fing.edu.uy/pluginfile.php/130281/mod_resource/content/2/Anaerobic-Biotechnology-for-Bioenergy-Production.pdf> Acesso em: 10 de janeiro de 2024.

KHOSHNEVISAN, B.; DUAN, N.; TSAPEKOS, P.; AWASTHI, M. K.; LIU, Z.; MOHAMMADI, A.; ANGELIDAKI, I.; TSANG, D.C.; ZHANG, Z.; PAN, J.; MA, L.; AGHBASHLO, M.; TABATABAEI, M.; LIU, H. A critical review on livestock manure biorefinery technologies: Sustainability, challenges, and future perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 135, 110033, 2021. doi: 10.1016/j.rser.2020.110033

KOUL, B.; YAKOUB, M.; SHAH, M. P. Agricultural waste management strategies for environmental sustainability. **Environmental Research**, 206, 112285, 2022. doi: 10.1016/j.envres.2021.112285

LI, Y.; ZHAO, J.; KROONEMAN, J.; EUVERINK, G. J. W. Strategies to boost anaerobic digestion performance of cow manure: Laboratory achievements and their full-scale application potential. **Science of the Total Environment**, 755, Part 1, 142940, 2021. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142940

MA, H.; GUO, Y.; QIN, Y.; LI, Y. Y. Nutrient recovery technologies integrated with energy recovery by waste biomass anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, 269, 520-531, 2018. doi: 10.1016/j.biortech.2018.08.114

MARAFON, A. C.; AMARAL, A. F. C.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, J. C.; BIERHALS, A. N.; GUIMARÃES, V. S. Chemical composition and calorific value of elephant grass varieties and other feedstocks intended for direct combustion. **Grassland Science**, 67, 241–249, 2021. doi: 10.1111/grs.12311.

MARAFON, A. C.; AMARAL, A. F. C.; MACHADO, J. C.; BIERHALS, A. N.; PAIVA, H. L.; GUIMARAES, V. S. Secagem solar da biomassa do capim-elefante para uso em combustão direta. In: FELSEMBURGH, C.A. (Org.). Cap. 15, A produção do

conhecimento na engenharia florestal. Ponta Grossa: **Atena**, 156-166, 2020. doi: 10.22533/at.ed.00620261015

MARAFON, A.C.; MACHADO, J.C. Secagem solar e extração do caldo do capim-elefante para uso bioenergético da biomassa. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, Circular Técnica 93, 2021. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1138217/1/CIRC-93-21-Embrapa-Tabuleiros-Costeiros.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MASSIMO, M.; MONTORSI, L. Energy recovery of the biomass from livestock farms in Italy: the case of modena province. **J. Sustain. Dev. Energy, Water Environ. Syst.**, 6, 464-480, 2018. DOI: 10.13044/j.sdewes.d6.0199

MENDONÇA, H. V.; OMETTO, J. P. H. B.; OTENIO, M. H. Production of Energy and Biofertilizer from Cattle Wastewater in Farms with Intensive Cattle Breeding. **Water, Air, & Soil Pollution**, 228, 72, 2017a. doi: 10.1007/s11270-017-3264-1

MENDONÇA, H.V.; OMETTO, J.P.H.B.; OTENIO, M.H.; DOS REIS, A.J.D.; MARQUES, I.P.R. Bioenergy recovery from cattle wastewater in an UASB-AF hybrid reactor. **Water Science & Technology**, 76, 2268–2279, 2017b. doi: 10.2166/wst.2017.325

MIGNOGNA, D.; CECI, P.; CAFARO, C.; CORAZZI, G.; AVINO, P. Production of Biogas and Biomethane as Renewable Energy Sources: A Review. **Applied Sciences**, 13(18), 10219, 2023. doi: 10.3390/app131810219

NADAN, M. K.; BAROUTIAN, S. Prospective of pretreatment and anaerobic digestion of dairy cow manure in Fiji. **J. Chemical Technology Biotechnology**, 98, 7, 1584-1597, 2023. doi: 10.1002/jctb.7388

NASCIMENTO, S. A.; REZENDE, C. A. Combined approaches to obtain cellulose nanocrystals, nanofibrils and fermentable sugars from elephant grass. **Carbohydrate Polymers**, 180, 38-45, 2018. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.09.099

NESHAT, S. A., MOHAMMADI, M., NAJAFPOUR, G. D., LAHIJANI, P. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 79, 308-322, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2017.05.137

NGUYEN, B. T.; LE, L. B.; PHAM, L. P.; NGUYEN, H. T.; TRAN, T. D.; THAI, N. V. The effects of biochar on the biomass yield of elephant grass (*Pennisetum Purpureum Schumacher*) and properties of acidic soils. **Industrial Crops and Products**, 161, 113224, 2021. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.113224

OJEDIRAN, O. J.; DAHUNSI, S. O.; ADERIBIGBE, V.; ABOLUSORO, S.; ADESULU-DAHUNSI, A. T.; ODEKANLE, E. L.; ODEJOBI, O. J.; IBIKUNLE, R. A.; OGUNWOLE, J. O. Valorization of *Pennisetum purpureum* (Elephant grass) and piggery manure for energy generation. **Fuel**, 302, 121209, 2021. doi: 10.1016/j.fuel.2021.121209

ØSTERGAARD, P. A.; DUIC, N.; NOOROLLAHI, Y.; MIKULCIC, H.; KALOGIROU, S. Sustainable development using renewable energy technology. *Renewable Energy*, 146, 2430-2437, 2020. doi: 10.1016/j.renene.2019.08.094

ROCHA, J. R. A. S. C.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. C.; RESENDE, M. D. V.; PEREIRA, A. V.; CARNEIRO, J. E. S. Elephant grass ecotypes for bioenergy production via direct combustion of biomass. *Industrial Crops and Products*, 95, 27-32, 2017a. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.10.014.

ROCHA, J. R. A. S. C., MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. C.; RESENDE, M. D. V.; LÉDO, F. J. S.; CARNEIRO, J. E. S. Bioenergetic potential and genetic diversity of elephant grass via morpho-agronomic and biomass quality traits. *Industrial Crops and Products*, 95, 485-492, 2017b. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.10.060.

SEVILLANO, C. A.; PESANTES, A. A.; CARPIO, E. P.; MARTÍNEZ, E. J.; GÓMEZ, X. Anaerobic Digestion for Producing Renewable Energy—The Evolution of This Technology in a New Uncertain Scenario. *Entropy*, 23(2), 145, 2021. doi: 10.3390/e23020145

SILVA, G. H.; BARROS, N. O.; SANTANA, L. A. R.; CARNEIRO, J. C.; OTENIO, M. H. Shifts of acidogenic bacterial group and biogas production by adding two industrial residues in anaerobic co-digestion with cattle manure. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 1, 1-9, 2021. doi: 10.1080/10934529.2021.2015987.

SILVA, O. E. R.; FARIAS, A. B. V.; PEITER, F. S.; MARAFON, A. C.; VICH, D. V.; AMORIM, E. L. C. Anaerobic co-digestion of sugarcane vinasse and elephant grass juice for biomethan production. *Revista AIDIS*, 15, 3, 1502-1515, 2022. doi: 10.22201/iingen.0718378xe.2022.15.3.80857.

SIWAL, S. S.; ZHANG, Q.; DEVI, N.; SAINI, A. K.; SAINI, V.; PAREEK, B.; GAIDUKOV, S.; THAKUR, V. K. Recovery processes of sustainable energy using different biomass and wastes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 150, 111483, 2021. doi: 10.1016/j.rser.2021.111483

SONG, Y.; PEI, L.; CHEN, G.; MU, L.; YAN, B.; LI, H.; ZHOU, T. Recent advancements in strategies to improve anaerobic digestion of perennial energy grasses for enhanced methane production. *Science of the Total Environment*, 861, 160552, 2023. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.160552

TUFANER, F.; AVŞAR, Y. Effects of co-substrate on biogas production from cattle manure: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13, 2303-2312, 2016. doi: 10.1007/s13762-016-1069-1.

WAINAINA, S.; AWASTHI, M. K.; SARSAIYA, S.; CHEN, H.; SINGH, E.; KUMAR, A.; RAVINDRAN, B.; AWASTHI, S. K.; LIU, T.; DUAN, Y.; KUMAR, S.; ZHANG, Z.; TAHERZADEH, M. J. Resource recovery and circular economy from organic solid waste using aerobic and anaerobic digestion Technologies. *Bioresource Technology*, 301, 122778, 2020. doi: 10.1016/j.biortech.2020.122778

YAHYA, A. M.; ADELEKE, A. A.; NZEREM, P.; IKUBANNI, P. P.; AYUBA, S.; RASHEED, H. A.; GIMBA, A.; OKAFOR, I.; OKOLIE, J. A.; PARAMASIVAM, P. Comprehensive Characterization of Some Selected Biomass for Bioenergy Production. **ACS Omega**, 8, 46, 43771–43791, 2023. doi: 10.1021/acsomega.3c05656

ZHEN, G.; LU, X.; KATO, H.; ZHAO, Y.; LI, Y.Y. Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: current advances, full-scale application and future perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2016.11.187

CAPÍTULO 1: POTENCIAL ENERGÉTICO DO CALDO DE CAPIM-ELEFANTE: PROPOSTA DE BIOMASSA PARA A PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Resumo

A procura de fontes de energia limpa para substituir os combustíveis fósseis é um tema de interesse crescente. Com uma introdução aos objetivos de desenvolvimento sustentável, o conceito de fontes alternativas apresenta uma ideia inovadora na valorização da biomassa vegetal para fornecimento de energia, como é o caso das espécies de capim-elefante com boa adaptabilidade a diferentes solos e climas, elevada produção de matéria seca e elevado potencial energético. Foi proposto a caracterização de seis genótipos de capim-elefante pré-selecionados em termos de produtividade de caldo e valor energético. A partir da avaliação da produtividade e das análises físico-químicas do caldo, foi possível concluir que o subproduto extraído da biomassa possui alto valor energético remanescente. Esta energia pode ser utilizada, por exemplo, na produção de biogás, na co-digestão anaeróbia em associação com outro substrato, bem como na produção de biocombustíveis ou biofertilizantes. Além disso, a extração do caldo reduz a umidade da biomassa do capim, aumentando seu poder calorífico e a qualidade do bagaço para queima em caldeiras, otimizando a produção de energia. Adicionalmente, neste estudo foi possível apontar os genótipos de capim-elefante T47.1, T41.2, T23.1, com valores satisfatórios entre 4248,12 e 4304,06 kcal kg⁻¹ no aproveitamento total de biomassa para fins energéticos.

Palavras-chaves: Bioenergia; Biotecnologia Ambiental; Biomassa lignocelulósicos; *Cenchrus purpureus* Schumach; Desperdício de energia.

Abstract

The demand for clean energy sources to replace fossil fuels is a topic of growing interest. With an introduction to sustainable development goals, the alternative sources concept presents a novel idea in the valorization of plant biomass for providing energy, such elephant grass species in good adaptability to different soils and climates, high production of dry matter and high energy potential. The characterization of six pre-selected elephant grass genotypes in terms of broth productivity and energy value was proposed. From the evaluation of the yield and the physical chemical analyzes of broth, it was possible to conclude that the by-product extracted from the biomass has a high value remaining energy. This energy can be used, for example, the production of biogas, in anaerobic co-digestion in association with another substrate, as well as to produce biofuel or biofertilizers. Furthermore, the extraction of the broth reduces the humidity of the grass biomass, increasing its calorific value and the quality of the bagasse for burning in boilers, optimizing energy production. Additionally, this study it was possible to point out the genotypes of elephant grass 47.1, T41.2, T23.1, with satisfactory values between 4248.12 and 4304.06 kcal kg⁻¹ in the total use of biomass for energy purposes.

Keywords: Bioenergy; Environmental biotechnology; Lignocellulosic biomass; *Cenchrus purpureus* Schumach; Waste-to-energy.

1. INTRODUÇÃO

As tecnologias energéticas sustentáveis são necessárias para que o desenvolvimento seja sustentável, para isso é importante a redução das emissões de gases, a substituição da energia baseada em combustíveis fósseis por energia renováveis e a melhoria da eficiência energética (AL-SHETWI, 2022). Nos últimos anos, a crescente utilização de fontes energéticas provenientes da queima de combustíveis fósseis tem gerado grandes consequências para o planeta, sendo uma das principais causas da emissão gases poluentes na atmosfera e, conseqüentemente, das alterações climáticas, que vem se intensificando com o passar do tempo (KALAIR et al., 2020; SOEDER, 2021). Dentre as diversas fontes de energia renováveis, a biomassa tem sido considerada uma alternativa viável para substituir os derivados de combustíveis fósseis (WANG et al., 2021).

As indústrias estão trabalhando para minimizar sua dependência de insumos para a petroquímica e a redução de componentes derivados do petróleo e substituí-los por alternativas de base biológica, sustentáveis e ambientalmente corretas devido ao surgimento do aquecimento global causado pela produção descontrolada de gases de efeito estufa (GEE) (MUJTABA et al., 2023). A produção de energia a partir da biomassa vegetal é uma estratégia importante para a redução de GEE (COSTA et al., 2022; LIU e RAJAGOPAL, 2019; YU et al., 2023).

A biomassa proveniente de culturas de gramíneas energéticas representa uma das matérias-primas alternativas mais abundantes e promissoras para a geração de energia através da combustão direta (CHEN et al., 2021); por cogeração que consiste na produção combinada de energia térmica e mecânica, através de processo termoquímico específico (AISHWARYA et al., 2022; CHEN et al., 2022) e processos biológicos, como a digestão anaeróbia (BEDOIĆ et al., 2019). Várias formas de energia podem ser obtidas a partir de resíduos do setor agrícola, portanto, seus principais usos como insumo energético são: geração de energia elétrica, produção de biocombustíveis, como o bioetanol, e geração de biogás (FRANKOWSKI e CZEKALA, 2023; MARAFON et al., 2016; MARAFON et al., 2021; MOHANTY et al., 2022).

A biomassa lignocelulósica é a terceira maior fonte de energia do planeta e uma das fontes renováveis de carbono mais abundantes na natureza, o que a torna uma candidata muito adequada para a produção de biocombustíveis e outros

produtos de valor acrescentado (OJHA et al., 2021). A biomassa contendo carbono pode ser convertida em bioenergia (calor e energia elétrica), biocombustíveis, bioquímicos e materiais por meio de vários processos, como combustão, gaseificação, pirólise, tratamento hidrotérmico e conversão biológica (JUNIOR et al., 2022; MARX et al., 2023). Assim, é crucial desenvolver novas fontes de energia renovável.

Diversas fontes de biomassa têm sido estudadas e exploradas economicamente, dentre as quais o capim-elefante (*Cenchrus purpureus* (Schumach) Morrone) é considerado uma fonte promissora e um biorrecurso atrativo para aplicação em diversas áreas, como agricultura, energia e materiais (NASCIMENTO e REZENDE, 2018). O capim-elefante é tradicionalmente explorado para fins de alimentação animal, no entanto, o cultivo de espécies dedicadas à produção de energia de biomassa é uma fonte energética crescente, adaptando-se muito bem às condições de clima e solo de praticamente todos os países da região tropical, por exemplo, o Brasil (CABRERA et al., 2017; FAVARE et al., 2019; MARAFON et al., 2020).

O programa de melhoramento de capim-elefante para fins de bioenergia desenvolvidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) tem alcançado resultados promissores, levando ao desenvolvimento de novas cultivares desenvolvidas especificamente para produção de energia (ROCHA et al., 2015; SOUSA et al., 2016; SILVA et al., 2020; ROCHA et al., 2017^a; ROCHA et al., 2017^b). Esse progresso fornece insights valiosos para identificar e incorporar materiais genéticos superiores em bancos de germoplasma, aprimorando assim os programas de melhoramento genético. Para otimizar a utilização dos recursos genéticos disponíveis, uma compreensão abrangente das características relevantes e da viabilidade do EG como fonte de energia é essencial para a seleção de genótipos de elite. (Marafon et al., 2019).

Estudos recentes sobre a viabilidade econômica da utilização do capim-elefante como fonte de energia vêm ganhando notoriedade e evidenciam a possibilidade de sucesso desta biomassa como matriz energética (IYYAPPAN et al., 2023; JUNIOR et al., 2022). A biomassa no capim-elefante tem viabilidade prática como fonte de matéria-prima para geração de energia térmica devido às suas características qualitativas desejáveis semelhantes às do bagaço de cana-de-açúcar, que é a principal matéria-prima para energia térmica derivada da biomassa

vegetal (MARAFFON et al., 2021; MARTINS et al., 2019). Empresas privadas no Brasil e em outras partes do mundo estão utilizando o capim-elefante como substrato para geração de eletricidade, produção de etanol celulósico, produção de celulose e nanopartículas de lignina em biorrefinarias e outras aplicações biotecnológicas de alto valor (FONTOURA et al., 2015; SCOPEL et al., 2020; SCOPEL et al., 2023).

Porém, a umidade do material para queima pode ser um problema para as termelétricas, assim, a etapa de extração do caldo pode melhorar o desempenho do processo, no qual o restante extraído necessita de estudos para seu melhor aproveitamento (MARAFFON et al., 2020). Além disso, parâmetros como teor de cinzas, materiais voláteis e outros podem fornecer uma estimativa de como um determinado tipo de biomassa se comportará durante a combustão direta (GREINERT et al., 2020). O processo de extração do CCe tem como principais vantagens a redução da umidade e o aumento do valor calorífico da biomassa (MARAFFON et al., 2020). Neste cenário, a extração de capim-elefante pode ser considerada uma excelente alternativa para aumentar a densidade energética da biomassa, com possibilidade de utilização do caldo resultante do processo de extração na produção de biogás, biometano, biofertilizante ou outra aplicação (SILVA et al., 2022).

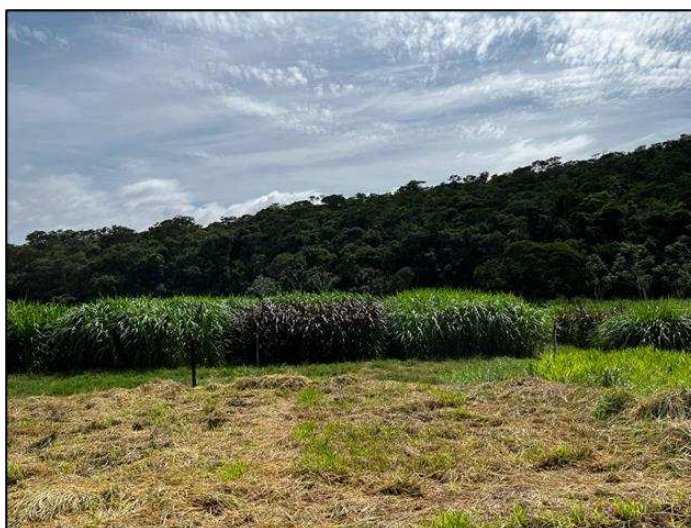
No contexto do aproveitamento energético total da biomassa vegetal, o capim-elefante é cortado no campo, depois submetido às moendas para remoção do caldo, o bagaço restante e posteriormente seco em temperaturas adequadas, reduzindo a umidade até o ponto de ser possível o aproveitamento imediato do bagaço na combustão direta. No entanto, à medida que a área de cultivo do capim-elefante se torna maior, são gerados resíduos desse processo de preparação da biomassa seca da planta. Diante do exposto, o resíduo do CCe remanescente da biomassa foi o foco deste estudo, considerado um subproduto da cadeia bioenergética, possuindo potencial para produção de biogás através da biodigestão anaeróbia e biofertilizantes (HUANG et al., 2019; MARAFFON et al., 2019; MARAFFON et al., 2020). Portanto, neste trabalho teve-se como objetivo principal analisar e caracterizar genótipos elite do programa de melhoramento de capim-elefante da Embrapa Gado de Leite, em termos de produtividade de caldo e valor energético.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem de matérias-primas

Os genótipos de capim-elefante utilizados no experimento para avaliar o potencial energético da biomassa vegetal e do caldo extraído para produção de biogás foram coletados na Fazenda Experimental José Henrique Bruschi, localizada no município de Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil (21°33 '58"S; 43°15'21"W e altitude de 445 m em relação ao nível do mar) (Figura 1). O clima da região é classificado como tropical (Cwa) na escala de Köppen e Geiger, com temperatura média anual de 22 °C, máxima de 35 °C e mínima de 18 °C, e precipitação média anual de 1516 mm. Os dados climáticos foram obtidos de uma estação meteorológica automática localizada a 200 m do local experimental (SILVA et al., 2021).

Figura 1 – Área de plantio de genótipos de capim-elefante na Fazenda Experimental José Henrique Bruschi, localizada no município de Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil.

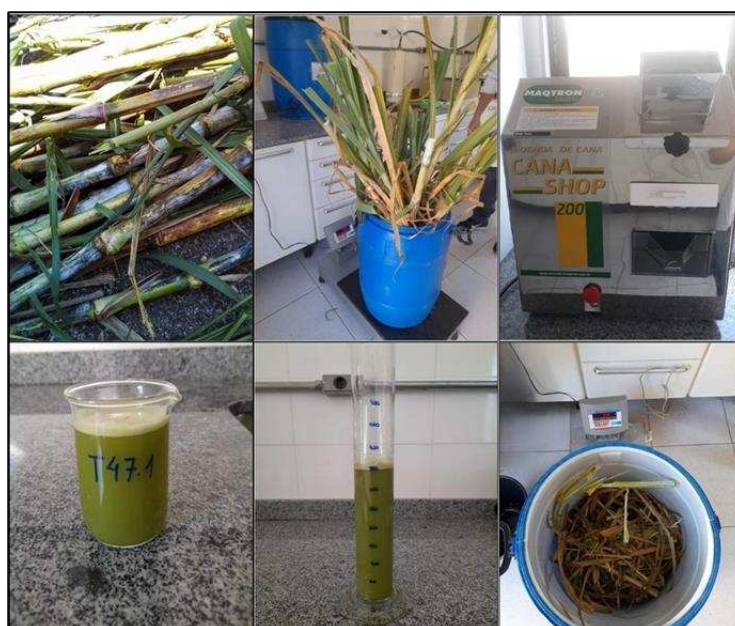


Fonte: Autor (2022).

No presente experimento, foram avaliados seis genótipos elite, sendo eles BRS Capiáçu, T_23.1, T_23.2, T41.2, T_47.1 e T_51.5, gramíneas oriundas de programas de melhoramento genético desenvolvidos pela Embrapa, que se destacaram pela produção de bioenergia. As espécies de gramíneas foram cortadas a uma altura de 0,25 a 0,28 m da superfície do solo com auxílio de tesoura de poda,

com idade de 125 dias após o plantio. Neste cenário, os genótipos separados e identificados com suas respectivas denominações foram transportados para a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Gado de Leite, localizada no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Inicialmente, para avaliar a produtividade de cada genótipo, foi medida a massa de dez plantas inteiras de cada genótipo. Para determinar o rendimento do caldo, as plantas foram moídas em moinho semi-industrial com rolos de aço inoxidável. O caldo foi coletado e anotado seu volume (mL). Também foi pesado o resíduo de biomassa do bagaço prensado, resultando na relação volume: massa do caldo para cada genótipo (mL kg^{-1}), conforme Figura 2.

Figura 2 – a) Os genótipos separados e identificados; (b) mediu-se o peso de dez plantas inteiras de cada genótipo; (c) moinho semi-industrial com rolos de aço inoxidável; (d) foi coletado caldo; (e) medição do volume (em mL); e (f) mediu o peso dos resíduos de biomassa do bagaço prensado.



Fonte: Autor (2022).

2.2. Análises físico-químicas

As análises da composição físico-química da planta, caldo e bagaço do capim-elefante foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Rúmen e no Laboratório de Análise de Alimentos na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa Gado de Leite, localizada no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil (Figura 3).

Figura 3 – Método de preparo da amostra de bagaço: (a) amostra triturada; (b) amostra separada para obtenção de matéria seca; e (c) moagem fina de bagaço para análise.



Fonte: Autor (2022).

Para se caracterizar cada genótipo foram determinados: teor de sólidos solúveis totais (°Brix) quantificado em um refratômetro digital modelo MA871; sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV), sólidos fixos (SF), alcalinidade e pH foram determinados com repetições, conforme o Standard Methods (APHA 2023) e NBR 8112 (ABNT 1986). As análises da energia bruta (EB) para avaliação do poder calorífico foram realizadas em duplicata, conforme a NBR 11956 (ABNT 1990), em bomba calorimétrica, após trituração das amostras. Os resultados da biomassa seca foram expressos em quilocalorias por quilograma (kcal kg^{-1}), os resultados do caldo foram expressos em calorias por quilograma (cal kg^{-1}).

Foram comparados entre os genótipos capim-elefante a produtividade, o rendimento e a composição físico-química do bagaço. Em seguida, foi comparada a composição físico-química do caldo dos genótipos de capim-elefante. Estudos realizados pelo grupo de pesquisa da Embrapa sobre a temática foram utilizados para apoiar o desenvolvimento metodológico do experimento (MARAFON et al., 2016; MARAFON e MACHADO, 2021; COELHO et al., 2022).

2.3. Análise estatística

O delineamento experimental foi realizado com 6 genótipos (biomassa vegetal) e três repetições. As diferenças de médias foram avaliadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida de comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) com o software PAST 4.03.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Produtividade e qualidade da Planta e do Bagaço

No presente trabalho, o rendimento de caldo das variedades de capim-elefante variou de 66,7 mL kg⁻¹ (T_23.1) a 189,1 mL kg⁻¹ (T_23.2). Destacando-se o melhor desempenho do genótipo T_23.2 em produtividade de plantas (kg) e rendimento de caldo (mL kg⁻¹), acentuou-se o potencial energético da biomassa, com possibilidade de aproveitamento do caldo remanescente (Tabela 1). Após a extração do caldo dos seis genótipos, o teor médio de água dos diferentes materiais foi de 16%. Conforme apresentando na Tabela 1, os genótipos T_41.2, T_47.1, T_23.1 foram os que apresentaram os menores valores de teor de água, próximos do ideal (12%) de acordo com a literatura (SETTE JR. et al., 2018; SILVA et al., 2015). O teor de água é considerado um dos parâmetros primordiais da biomassa para fins energéticos, pois o valor do poder calorífico é inversamente proporcional à quantidade de água presente no material lignocelulósico, onde o alto teor de água diminui o calor liberado durante a combustão (VASSILEV et al., 2010). Assim, quanto menor a umidade da biomassa, maior será a eficiência energética da combustão.

Neste contexto, podemos afirmar que o bagaço capim-elefante possui menor teor de umidade em comparação a outras biomassas. Resultados relatados por Singh (2019) afirmam que o teor de água no bagaço de cana-de-açúcar após o processo de moagem em uma planta de britagem possui cerca de 50% de umidade. Da mesma forma, Marx et al. (2023) mencionaram que o bagaço de cana-de-açúcar apresentou maior umidade do que as outras amostras analisadas em seu estudo. Assim, resíduos agrícolas com menores níveis de umidade apresentam maior eficiência energética e são mais adequados para a produção de bioenergia por combustão direta, pois rendem mais matéria seca.

O bagaço dos genótipos apresentou em média 95% de matéria seca, certificando a espécie como excelente alternativa para cultivo dedicado à produção de biomassa energética (Tabela 1). As cultivares capim-elefante são caracterizadas principalmente pela alta produção de matéria seca (PEREIRA et al., 2018), também conhecidas como importantes forrageiras tropicais que tem potencial para se tornar matéria-prima alternativa para produção de energia (SOUZA et al., 2019).

Geralmente, a biomassa apresenta altos níveis de materiais voláteis (ILHAM, 2022). Dados da literatura indicam que a biomassa contém até 2,5 vezes mais matéria volátil do que o carvão, parâmetro importante quanto às condições de sua ignição e combustão (HOLTMEYER et al., 2013).

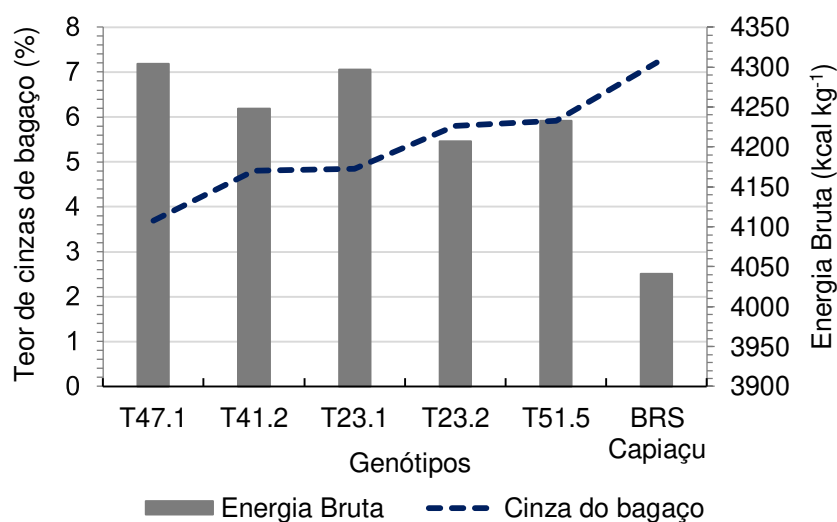
Os teores de matéria seca, cinzas e energia bruta do bagaço apresentaram diferenças significativas entre as matérias-primas, conforme Tabela 1. O teor de cinzas (%) do genótipo BRS Capiáçu (7,22%) foi superior aos demais. A variedade T_41.2 foi a que apresentou menor teor de cinzas (3,69%). O teor médio de cinzas (5,38%) das variedades capim-elefante ficou dentro da faixa desejável para uso em combustão direta. Níveis elevados de cinzas na biomassa (>5%) são indesejáveis no processo de combustão (LLORENTE e GARCIA, 2008). Os genótipos T_47.1, T_41.2, T_23.1 apresentaram os menores valores de teor de cinzas, todos abaixo de 5%, resultado interessante na escolha da biomassa para geração de energia elétrica, que ocorre dentro de usinas termelétricas com a queima do bagaço. Os valores encontrados neste trabalho foram próximos aos de Marafon et al. (2021), os autores encontraram valores de teor de cinzas de capim-elefante variando de 3,21% (genótipo Madeira) a 6,14% (genótipo Panamá). Os autores encontraram o teor médio de cinzas das variedades capim-elefante próximo ao da palha de milho, bambu e cana-de-açúcar. García-Montoya et al. (2023) também realizaram uma análise semelhante caracterizando o potencial de três variedades de bagaço de cana-de-açúcar, como resíduo agrícola para uso de bioenergia; os resultados mostraram valores médios de cinzas de 6,20%.

O conhecimento do teor de cinzas da biomassa é importante para que medidas preventivas possam ser adotadas para problemas de corrosão. É desejável que valores baixos de cinzas sejam encontrados na biomassa, pois é a principal substância geradora de incrustações em caldeiras e fornos nas indústrias de cana-de-açúcar e etanol (BOSCHIERO et al., 2023). Depósitos de cinzas sob altas temperaturas de combustão reduzem a eficiência de transferência de calor da superfície de aquecimento, comprometendo a segurança operacional da caldeira (MÍGUEZ et al., 2021; WANG et al., 2020).

Em resumo, valores baixos de teor de cinzas são relevantes no contexto energético, pois quantidades elevadas de cinzas reduzem o valor calorífico, causando perda de energia (HOFFMANN e SZKLO, 2011; RUSCH et al., 2021). Quando a biomassa é colocada em altas temperaturas de combustão, as cinzas

podem influenciar negativamente no desempenho e na durabilidade dos equipamentos utilizados no processo de conversão energética. Observa-se também que os valores encontrados para energia bruta nos genótipos T_47.1, T_41.2, T_23.1 foram inversamente proporcionais aos valores de teor de cinzas, o que está de acordo com a literatura, apresentando assim excelente potencial energético e baixo teor de cinzas (Figura 4).

Figura 4 – A produção de Energia Bruta (kcal kg^{-1}) apresentada em colunas. A evolução do teor de cinzas de bagaço (%) apresentada em linhas. O maior valor de um corresponde ao menor de outro.



O poder calorífico é uma propriedade importante da biomassa quando se trata de seu uso como combustível, portanto, uma bomba calorimétrica é utilizado para analisar seu valor calorífico, parâmetro que consiste na quantidade de calor liberada durante a combustão completa de um material (ESTEVES et al., 2023). Os valores de energia bruta dos genótipos estudados variaram entre $4041,14 \text{ kcal kg}^{-1}$ e $4304,06 \text{ kcal kg}^{-1}$ (Tabela 1) e foram calculados com base no calor de combustão determinado pelo método calorimétrico utilizando uma bomba calorimétrica adiabática de Parr. Valores semelhantes aos encontrados neste estudo foram observados por Marafon et al. (2016), que obtiveram valores entre $4209 \text{ kcal kg}^{-1}$ e $4400 \text{ kcal kg}^{-1}$ para 18 variedades de capim-elefante. Rocha et al. (2017^a) avaliaram a adequação dos grupos Cameroon e Napier, visando o melhoramento das espécies para produção de bioenergia via combustão direta. Os autores encontram valores de $4325 \text{ kcal kg}^{-1}$ para capim-elefante genótipo Napier e $4437 \text{ kcal kg}^{-1}$ para capim-

elefante genótipo Cameroon. Martins et al. (2020), avaliaram os valores energéticos do capim-elefante verde colhido aos 56, 84 e 112 dias de idade. Encontraram valores de energia bruta de 4030, 4030 e 4040 kcal kg⁻¹ de matéria seca no capim. Os valores de energia bruta mencionados nos trabalhos foram resultados próximos aos encontrados no presente estudo, afirmando o potencial das espécies via combustão direta de biomassa.

Tabela 1 – Produtividade, rendimento e composição físico-química do bagaço de genótipos de capim-elefante.

Genótipos	Parâmetros							
	PC	PB	TA	CCe	Ren	MB	CB	EB
BRS Capiaçú	2,7	2,2	18,5	350	131,5	95,00 ^b	7,22 ^a	4041,14 ^d
T_23.1	1,5	1,3	13,3	100	66,7	94,95 ^b	4,84 ^d	4296,93 ^a
T_23.2	4,6	3,6	21,7	870	189,1	95,60 ^a	5,80 ^c	4206,84 ^c
T_41.2	2,5	2,2	12,0	245	98,0	95,47 ^{ab}	4,81 ^d	4248,12 ^b
T_47.1	2,3	2,0	13,0	260	113,0	95,03 ^b	3,69 ^e	4304,06 ^a
T_51.5	2,4	2,0	16,6	250	104,2	95,55 ^{ab}	5,92 ^b	4232,68 ^b

PC – Peso do capim (kg); PB – Peso do bagaço (kg); TA – Teor de água (%); CCe - Volume do caldo extraído (mL); Ren. – Rendimento do caldo (mL kg⁻¹); MB – Teor de matéria seca do bagaço (%); CB – Teor de cinzas do bagaço (%); EB – Energia Bruta (kcal kg⁻¹). Os valores entre parênteses indicam desvio padrão. Valores médios seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey com significância a 5% de probabilidade de erro.

A seleção genética de genótipos de capim-elefante de alta produtividade é importante para aumentar a utilização desta biomassa para geração de energia. Rocha et al. (2017^c) realizaram estudo sobre melhoramento genético de capim-elefante para bioenergia, avaliando o potencial dos genótipos para cogeração de energia. De modo geral, as características morfoagronômicas, a composição físico-química e o poder calorífico são fundamentais para definir a qualidade da biomassa para geração de calor, pois são parâmetros que influenciam todo o processo de conversão e aproveitamento térmico (MARAFON et al., 2021). Assim, o crescente interesse pela matéria-prima para produção de bioenergia tem destacado as

espécies de capim-elefante como um promissor insumo energético (ROCHA et al., 2017^b).

No processamento industrial da biomassa, o aumento da umidade além dos limites operacionais projetados é motivo de instabilidade no sistema, devido à redução considerável da temperatura na zona de combustão. O teor de água é um parâmetro fundamental nos processos termoquímicos, os valores baixos contribuem para o seu alto poder calorífico. Quanto maior o teor de água, menor a quantidade de energia disponível, pois embora as reações de combustão sejam tipicamente exotérmicas, ou seja, a energia é liberada para o ambiente, geralmente na forma de calor, a vaporização da água é um processo endotérmico, portanto, absorve energia (LAUTH, 2023).

3.2. Produtividade e qualidade do caldo e aproveitamento energético

Atualmente, a tecnologia mais utilizada nas usinas brasileiras de açúcar e etanol para a produção de energia térmica e elétrica é a combustão direta do bagaço e da palha da cana-de-açúcar em caldeiras (FIORANELLI e BIZZO, 2023). Diante desse panorama, a utilização do bagaço do capim-elefante poderia ser uma alternativa complementar para aumentar a eficiência energética da combustão direta nas indústrias sucroalcooleiras, uma opção caso ocorra alguma eventualidade durante a produção. Assim, é importante investir e implementar sistemas de pré-tratamento e secagem de biomassa, como, por exemplo, a extração do CCE, proporcionando benefícios associados à melhoria da eficiência energética do processo, resultando em economias significativas devido à redução de custos de manutenção da caldeira.

É necessário buscar novas alternativas para o fornecimento de energia. Neste contexto, surge a possibilidade de utilização do CCE remanescente da extração como substrato em processos de digestão anaeróbia para produção de biogás. O caldo possui nutrientes aplicáveis para uso na indústria e na fermentação microbiana para produção de bioenergia. A produção de biogás em usinas pode gerar retorno financeiro, contribuir para a sustentabilidade ambiental e apoiar a economia circular (MENDIETA et al., 2021; PATIL et al., 2022).

As principais vantagens da extração do CCE são a redução da umidade, o aumento do poder calorífico da biomassa e a possibilidade de aproveitamento da

energia remanescente do caldo para a produção de biogás (MARAFFON e MACHADO, 2021), bem como para biofertilizante, ou outra aplicação. O caldo extraído de cada genótipo foi caracterizado quanto à sua composição físico-química, conforme Tabela 2. Em relação ao teor de sólidos solúveis totais (°Brix) do caldo, os genótipos variaram de 7,20 a 8,70, sendo a variedade T_23.2 a que apresentou maior valor. Resultados semelhantes foram observados por Marafon e Machado (2021), verificando-se que os valores de teor de açúcar em seis acessos capim-elefante, após 180 dias de crescimento, variaram entre 5,50 e 7,50 °Brix. Os resultados também são consistentes com Cunha et al., (2022) que avaliaram o °Brix em 95 acessos de germoplasma de capim-elefante e avaliado o efeito da idade da planta na concentração de açúcar. O material de biomassa lignocelulósica é o recurso de carbono renovável mais abundante, composto principalmente de celulose, hemicelulose e lignina, e são excelentes fontes de açúcares fermentáveis. Essas características devem ser consideradas, por exemplo, com a utilização de caldo no processo de digestão anaeróbia (DAHUNSI, 2019; SILVA et al., 2022).

Métodos de pré-tratamento têm sido estudados em diversas biomassas, destacando estratégias para melhorar a produção de biogás a partir do processo de digestão de materiais à base de lignocelulose (ABRAHAM et al., 2020; KARIMIPOUR-FARD et al., 2024; KOUPAIE et al., 2019). O valor do pH é um dos principais fatores operacionais que afetam significativamente o processo de digestão anaeróbia. Pesquisas anteriores relataram que valores de pH inferiores a 6,60 inibem o crescimento de arqueias metanogênicas (ALKAYA et al., 2011; ZUO et al., 2013). Nossos resultados corroboram em um pH ácido para o caldo dos genótipos, tais resultados foram semelhantes aos obtidos por Marafon e Machado (2021).

De acordo com Kunz et al. (2019), o valor ideal da relação entre alcalinidade intermediária (AI) e alcalinidade parcial (AP) para processos de digestão anaeróbica varia entre 0,3–0,4. A relação AI/AP é útil para identificar a possível inibição que o excesso de acidificação desencadeia no processo de DA. O parâmetro é comumente utilizado como índice de estabilidade do processo em biodigestores, valores maiores que o recomendado indicam acúmulo de ácido e a ocorrência de distúrbios no processo de estabilidade da digestão, e, no entanto, valores menores garantem a manutenção do sistema tampão (PLATOŠOVÁ et al., 2021). Os valores de AI/AP encontrados neste trabalho foram 0,69 (BRS Capiáçu), 0,77 (T_23.1), 0,76 (T_23.2), 0,82 (T_41.2), 0,75 (T_47.1) e 0,76 (T_51.5), todos acima do limite

recomendado. Assim, o caráter ácido dos caldos dos genótipos analisados pode representar um fator limitante para a produção direta de biogás, porém, abre-se uma oportunidade interessante com a co-digestão anaeróbia.

Embora o CCe restante seja considerado um subproduto da cadeia de bioenergia e um substrato líquido rico em carbono e minerais, o baixo pH e o alto teor de acidez na composição do CCe retardam o processo de digestão devido ao aumento de ácidos graxos voláteis (AGVs), o que o torna resistente ao processo biológico (HUANG et al., 2019). Por estas razões, a biomassa lignocelulósica co-digerida com matéria-prima rica em nitrogênio poderia manter um valor relativamente ideal da relação C: N para o processo anaeróbico (UDDIN e WRIGHT, 2022).

Os resíduos de animais ruminantes, especialmente bovinos, são um substrato com potencial energético na produção de biogás, devido à presença de microrganismos metanogênicos como inóculo para a fase de fermentação (TUFANER e AVŞAR, 2016; SILVA et al., 2021). Tradicionalmente, os resíduos animais são usados como substrato principal em processos anaeróbicos, no entanto, o alto teor de nitrogênio se opõe a um obstáculo para fornecer a relação C: N ideal necessária para a digestão anaeróbica (JASIŃSKA et al., 2023; MA et al., 2020). Esse alto teor de nitrogênio pode levar a um alto nível tóxico de amônia (ZAHAN et al., 2018; MU et al., 2020). Por ter baixa concentração de carbono no dejetos animal, esse déficit pode ser prejudicial ao processo em relação à relação C: N. Para resolver esse problema, o teor de carbono precisa ser aumentado antes de prosseguir para a digestão anaeróbica (NESHAT et al., 2017). Assim, é necessária a co-digestão do dejetos animal com materiais ricos em carbono orgânico, como resíduos carbonáceos, para compensar a deficiência no dejetos bovino (MEYER et al., 2018).

Silva et al. (2021), demonstraram em seus resultados que o processo de co-digestão pode fornecer informações fundamentais e técnicas para o co-tratamento de resíduos derivados industrialmente em instalações centralizadas de biodigestão anaeróbia de forma sustentável com alta capacidade de processo e recuperação de metano. A co-digestão anaeróbia tem sido amplamente utilizada para aumentar a produção de biogás em digestores, dois ou mais tipos diferentes de resíduos orgânicos são misturados para obter maior produção de biogás (HAGOS et al., 2017). Por exemplo, Freitas et al. (2022) realizaram Avaliação do Ciclo de Vida (ACV) da co-digestão de dejetos suínos com dois co-substratos (silagem de milho e

capim-elefante) e um aditivo (biochar) para produção de biogás para geração de eletricidade. Silva et al. (2022) avaliaram a produção de biogás a partir da co-digestão anaeróbia de capim-elefante com vinhaça em reator batelada. No estudo, o CCe do genótipo Madeira e a vinhaça de cana-de-açúcar foram utilizados como substratos no processo de co-digestão anaeróbia. Os resultados mostraram que os substratos, em condições mesófilas, sem pré-tratamento do caldo, mostraram-se eficientes no processo de digestão anaeróbia.

Pesquisas recentes têm explorado várias abordagens para otimizar a produção de biogás e bioenergia, incluindo pré-tratamento enzimático para co-digestão de silagem de polpa de beterraba e vinhaça (ZIEMIŃSKI e WENTEL, 2015), co-digestão de resíduo de cana-de-açúcar prensado com vinhaça para aumentar a produção de metano (GONZÁLEZ et al., 2017), reciclagem de vinhaça de fermentação alcoólica de celulose para recuperação aprimorada de bioenergia (MENG et al., 2020) e co-digestão de lodo de esgoto, esterco de aves e esterco suíno para produzir biohidrogênio (SILLERO et al., 2022).

Os resultados para matéria seca foram inferiores a 10% (Tabela 2), em relação às características do bom funcionamento dos biodigestores, são substratos adequados para que ocorra a digestão anaeróbia úmida, sendo favoráveis para questões hidrodinâmicas do processo (KUNZ et al., 2019). A composição das lignoceluloses pode ser um fator limitante na etapa de hidrólise da digestão anaeróbia, o tempo para degradar enzimaticamente a biomassa pode ser maior (HASHEMI et al., 2021). Vale destacar a importância da utilização do CCe que possui baixo ST como substrato para introdução no digestor anaeróbio, a fim de evitar problemas operacionais, como entupimentos, camadas flutuantes no digestor (LOPES et al., 2019) e recalcitrância do sólido à degradação enzimática (KATUKURI et al., 2017). Os valores de SV apresentaram média de 87% em relação ao ST, representando elevada quantidade de matéria orgânica disponível para fermentação (Tabela 2). A extração do caldo em moendas proporciona reduções significativas no teor de água e nutrientes minerais (constituintes das cinzas), melhorando a qualidade do combustível sólido (bagaço) por aumentar seu poder calorífico.

A quantidade de energia interna contida na biomassa é um fator de grande importância na indústria, resultando em informações sobre quanto calor é gerado por quilograma de biomassa. Os resultados da análise de energia bruta do caldo comprovam que há energia remanescente após sua extração, tornando-o um

substrato de interesse para co-digestão na produção de biogás. Os genótipos T_41.2, T_47.1, T_23.1 apresentaram os maiores valores de energia bruta obtida (Tabela 2), tais variedades possuem potencial em seu caldo extraído para serem utilizadas como substrato no processo de co-digestão anaeróbia. Vale ressaltar que a co-digestão anaeróbia, através da associação de dois ou mais substratos, pode aumentar os resultados da produção de biogás e equilibrar as desvantagens do uso de apenas um substrato (SIDDIQUE e WAHID, 2018; WEI et al., 2023).

A co-digestão anaeróbica tem grande potencial para melhorar a digestibilidade de várias matérias-primas para gerenciamento de resíduos e geração de bioenergia e outros produtos de alto valor (KARKI et al., 2021). No entanto, pesquisas futuras devem se concentrar no desenvolvimento de novas abordagens para caracterizar matérias-primas como substratos e entender melhor a dinâmica da comunidade microbiana e as vias associadas na degradação do substrato. Nesse contexto, o CCe é um resíduo com potencial significativo para ser utilizado como biomassa remanescente em processos industriais e agrícolas. Para explorar totalmente o potencial do CCe, pesquisas futuras sobre co-digestão são cruciais. Esse processo é promissor tanto para o gerenciamento de resíduos quanto para a geração de energia renovável.

Tabela 2 – Composição físico-química do caldo do genótipo de capim-elefante.

Genótipos	Parâmetros					
	^o Brix	pH	ST	SF	SV	EB
BRS Capiaçú	7,30 ^c (0.08)	5,64 ^a (0.02)	7,38 ^d (0.04)	1,30 ^a (0.01)	6,08 ^d (0.02)	307,16 ^c (0.30)
T23.1	7,20 ^c (0.05)	5,45 ^{cd} (0.02)	8,56 ^c (0.01)	1,02 ^c (0.01)	7,54 ^c (0.01)	391,72 ^b (0.56)
T23.2	8,70 ^a (0.10)	5,39 ^d (0.01)	6,98 ^e (0.03)	0,97 ^d (0.01)	6,20 ^d (0.03)	302,10 ^d (0.85)
T41.2	8,55 ^a (0.18)	5,51 ^{bc} (0.01)	8,77 ^b (0.03)	0,72 ^e (0.01)	8,05 ^a (0.03)	409,99 ^a (0.84)
T47.1	7,60 ^c (0.15)	5,42 ^d (0.02)	9,11 ^a (0.03)	1,19 ^b (0.01)	7,92 ^b (0.03)	392,57 ^b (0.67)
T51.5	8,15 ^b (0.04)	5,57 ^{ab} (0.05)	7,07 ^e (0.02)	1,20 ^b (0.02)	5,87 ^e (0.01)	293,14 ^e (0.12)

^oBrix – Sólidos solúveis; ST – Sólidos totais (%), SF – Sólidos fixos (%), SV – Sólidos voláteis (%), EB – Energia Bruta (cal kg⁻¹). Os valores entre parênteses indicam desvio padrão. Valores médios seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey com significância a 5% de probabilidade de erro.

4. CONCLUSÃO

Existe uma energia remanescente no caldo extraído do capim-elefante, tornando-se uma importante alternativa de substrato para a produção de biogás através da fermentação anaeróbia, principalmente se associado em co-digestão com outro substrato de interesse. Além disso, a extração do caldo reduz a umidade, melhorando a qualidade do combustível sólido (bagaço) por aumentar seu poder calorífico. Em escala industrial, os genótipos T_47.1, T_41.2, T_23.1 apresentaram valores satisfatórios de teor de cinzas de bagaço (%) e energia bruta (kcal kg^{-1}) para eficiência energética.

O genótipo de capim-elefante T_23.2 apresentou valores satisfatórios para volume de caldo extraído (mL) e rendimento de caldo (mL kg^{-1}). Entretanto, ao se analisar os resultados da composição físico-química do caldo dos genótipos capim-elefante, verificou-se que o genótipo T_41.2 apresentou maior valor de sólidos voláteis (%) e energia bruta (cal kg^{-1}), diferindo estatisticamente das demais espécies. Esses parâmetros são fundamentais para a eficiência da digestão anaeróbia. Porém, todos os genótipos estudados foram considerados adequados para fins energéticos, as espécies apresentam potencial para utilização do caldo remanescente como co-substrato para o processo de co-digestão anaeróbia com vantagens bioenergéticas.

Concluimos que ao analisar e caracterizar genótipos, as variedades T_47.1, T_41.2, T_23.1, apresentam os melhores resultados quando aplicadas para fins energéticos com aproveitamento integral de biomassa em escala industrial seguido do processo de digestão anaeróbia do caldo. A investigação futura deverá incluir a eficácia ambiental e econômica do capim-elefante como fonte de energia a partir de resíduos, centrando-se na produção de biogás.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K.; PARK, H.; CHOI, O.; SINDHU, R.; PARAMESWARAN. B.; PANDEY, A.; SANG, B. I. Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 301, 122725, 2020. doi: 10.1016/j.biortech.2019.122725.
- AISHWARYA, S.; SRUTHI, G.; ADITYA, M. N.; SIVAGAMI, K.; CHAKRABORTY, S. Biomass Energy Conversion Using Thermochemical and Biochemical Technologies. In: Pal, D. B., Jha, J. M. (eds) Sustainable and Clean Energy Production Technologies. *Clean Energy Production Technologies*, 93-131, 2022, Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-16-9135-5_5.
- ALKAYA, E.; DEMIRER, G. N. Anaerobic acidification of sugar-beet processing wastes: effect of operational parameters. *Biomass Bioenergy*, 35, 32-39, 2011. doi: 10.1016/j.biombioe.2010.08.002.
- AL-SHETWI, A. Q. Sustainable development of renewable energy integrated power sector: Trends, environmental impacts, and recent challenges. *Science of The Total Environment*, 822, 153645, 2022. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153645.
- APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, USA, 24^a, 2023.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 11956** – Coque – Determinação do poder calorífico superior – Método de ensaio. ABNT, 1990.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 8112** – Carvão vegetal: Análise imediata. ABNT, 1986.
- BEDOÍĆ, R.; ČUČEK, L.; ČOSIĆ, B.; KRAJNC, D.; SMOLJANIĆ, G.; KRAVANJA, Z.; LJUBAS, D.; PUKŠEC, T.; DUIĆ, N. Green biomass to biogas – A study on anaerobic digestion of residue grass. *Journal of Cleaner Production*, 213, 700-709, 2019. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.12.224.
- BOSCHIERO, B. N.; CASTRO, S. G. Q.; CRUZ, L. P.; CARVALHO, J. L. N.; SILVA, S. R.; BRESSIANI, J. A.; KÖLLN, O. T. Biomass yield, nutrient removal, and chemical composition of energy cane genotypes in Southeast Brazil. *Industrial Crops and Products*, 191, 115993, 2023. doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115993
- CABRERA, J. R.; ERICKSON, J. E.; LEON, R. G.; SILVEIRA, M. L.; ROWLAND, D. L.; SOLLENBERGER, L. E.; MORGAN, K. T. Converting bahiagrass pasture land to elephantgrass bioenergy production enhances biomass yield and water quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 248, 20-28, 2017. doi: 10.1016/j.agee.2017.07.021.
- CHEN, H.; WANG, Y.; LI, J.; XU, G.; LEI, J.; LIU, T. Thermodynamic analysis and economic assessment of an improved geothermal power system integrated with a biomass-fired cogeneration plant. *Energy*, 240, 122477, 2022. doi:

10.1016/j.energy.2021.122477.

CHEN, W. H.; LIN, B. J.; LIN, Y. Y.; CHU, Y. S.; UBANDO, A. T.; SHOW, P. L.; ONG, H. C.; CHANG, J. S.; HO, S. H.; CULABA, A. B.; PÉTRISSANS, A.; PÉTRISSANS, M. Progress in biomass torrefaction: Principles, applications and challenges. ***Progress in Energy and Combustion Science***, 82, 100887, 2021. doi: 10.1016/j.pecs.2020.100887.

COELHO, F. F.; DONATO, T. P.; SILVA, G. H.; OTENIO, M. H.; MACHADO, J. C. Caracterização do potencial energético do suco de capim-elefante para produção de biogás. ***Anais do XXVI Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite*** - PIBIC/CNPq, 2022. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1148826>> Acesso em: 10 de janeiro de 2024.

COSTA, G. G.; SANTOS, I. F. S.; BARROS, R. M.; FILHO, G. L. T. F.; MACHADO, G. O.; BARBEDO, M. D. G. Mapping and energy analysis of Brazilian bioenergy power potential for three agricultural biomass byproducts. ***Journal of Cleaner Production***, 349, 131466, 2022. doi: 10.1016/j.jclepro.2022.131466.

CUNHA, T. B.; PEREIRA, A. V.; LÉDO, F. J. S.; DAHER, R. F.; MACHADO, J. C. Sugar content variation in elephant grass germplasm. ***Ciência Zona Rural***, 52, 1, 2022. doi: 10.1590/0103-8478cr20200739.

DAHUNSI, S. O. Mechanical pretreatment of lignocelluloses for enhanced biogas production: Methane yield prediction from biomass structural components. ***Biore-source Technology***, 280, 18-26, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.02.006.

ESTEVEES, B.; SEN, U.; PEREIRA, H. Influence of Chemical Composition on Heating Value of Biomass: A Review and Bibliometric Analysis. ***Energies***, 16(10), 4226, 2023. doi: 10.3390/en16104226.

FAVARE, H. G.; ABREU, J. G.; BARROS, L. V.; SILVA, F. G.; FERREIRA, L. M. M.; BARELLI, M. A. A.; NETO, I. M. S.; CABRAL, C. E. A.; PEIXOTO, W. M.; CAMPOS, F. I. S.; LEDO, F. J. S.; SILVA, V. Q. R.; HERRERA, L. D. S. Effect of Elephant Grass Genotypes to Bioenergy Production. ***Journal of Experimental Agriculture International***, 38(1), 1-11, 2019. doi: 10.9734/jeai/2019/v38i130289.

FIORANELLI, A.; BIZZO, W. A. Generation of surplus electricity in sugarcane mills from sugarcane bagasse and straw: Challenges, failures and opportunities. ***Renewable and Sustainable Energy Reviews***, 186, 113647, 2023. doi: 10.1016/j.rser.2023.113647.

FONTOURA, C. F.; BRANDÃO, L. E.; GOMES, L. L. Elephant grass biorefineries: towards a cleaner Brazilian energy matrix?. ***Journal of Cleaner Production***, 96, 85-93, 2015. doi: 10.1016/j.jclepro.2014.02.062.

FRANKOWSKI, J.; CZEKALA, W. Agricultural Plant Residues as Potential Co-Substrates for Biogas Production. ***Energies***, 16(11), 4396, 2023. doi: 10.3390/en16114396.

FREITAS, F. F.; FURTADO, A. C.; PIÑAS, J. A. V.; VENTURINI, O. J.; BARROS, R. M.; LORA, E. E. S. Holistic Life Cycle Assessment of a biogas-based electricity generation plant in a pig farm considering co-digestion and an additive. **Energy**, 261, 125340, 2022. doi: 10.1016/j.energy.2022.125340.

GARCÍA-MONTOYA, J.; QUINTEROS, O.; CHIMBO-YÉPEZ, G.; ÁLVAREZ, L.; VELÁZQUEZ-MARTÍ, B. Characterization of Three Sugarcane Varieties as Agro-Residue for Bioenergy Use in the Ecuadorian Andes. **Agronomy**, 13(12), 2967, 2023. doi: 10.3390/agronomy13122967

GONZÁLEZ, L. M. L.; REYES, I. P.; ROMERO, O. R. Anaerobic co-digestion of sugarcane press mud with vinasse on methane yield. **Waste Management**, 68, 139-145, 2017. doi:10.1016/j.wasman.2017.07.016

GREINERT, A.; MRÓWCZYNSKA, M.; GRECH, R.; SZEFLNER, W. The Use of Plant Biomass Pellets for Energy Production by Combustion in Dedicated Furnaces. **Energias**, 13(2), 463, 2020. doi: 10.3390/en13020463.

HAGOS, K.; ZONG, J.; LI, D.; LIU, C.; LU, X. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 76, 1485–1496, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2016.11.184.

HASHEMI, B.; SARKER, S.; LAMB, J. J.; LIEN, K. M. Yield improvements in anaerobic digestion of lignocellulosic feedstocks. **Journal of Cleaner Production**, 288, 125447, 2021. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.125447.

HOFFMANN, B. S.; SZKLO, A. Integrated gasification combined cycle and carbon capture: a risky option to mitigate CO₂ emissions of coal-fired power plants. **Applied Energy**, 88(11), 3917-3929, 2011. doi: 10.1016/j.apenergy.2011.04.002.

HOLTMEYER, M. L.; LI, G.; KUMFER, B. M.; LI, S.; AXELBAUM, R. L. The impact of biomass cofiring on volatile flame length. **Energy Fuels**, 27, 7762-7771, 2013. doi: 10.1021/ef4013505.

HUANG, C.; XIONG, L.; GUO, H. J.; LI, H. L.; WANG, C.; CHEN, X. F.; ZHAO, C.; CHEN, X. D. Anaerobic digestion of elephant grass hydrolysate: Biogas production, substrate metabolism and outlet effluent treatment. **Bioresource Technology**, 283, 191-197, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.03.079.

ILHAM, Z. Chapter 3 - Biomass classification and characterization for conversion to biofuels. **Value-Chain of Biofuels, Fundamentals, Technology, and Standardization**, 69-87, 2022. doi: 10.1016/B978-0-12-824388-6.00014-2.

IYYAPPAN, J.; PRAVIN, R.; AL-GHANIM, K. A.; GOVINDARAJAN, M.; NICOLETTI, M.; BASKAR, G. Dual strategy for bioconversion of elephant grass biomass into fermentable sugars using *Trichoderma reesei* towards bioethanol production. **Bioresource Technology**, 374, 128804, 2023. doi: 10.1016/j.biortech.2023.128804.

JASIŃSKA, A.; GROSSER, A.; MEERS, E. Possibilities and Limitations of Anaerobic

Co-Digestion of Animal Manure - A Critical Review. *Energies*, 16(9), 3885, 2023. doi: 10.3390/en16093885.

JUNIOR, E. G. S.; SILVEIRA, T. C.; PEREZ, V. H.; JUSTO, O. R.; DAVID, G. F.; FERNANDES, S. A. Fast pyrolysis of elephant grass: Intensification of levoglucosan yield and other value-added pyrolytic by-products. *Journal of the Energy Institute*, 101, 254–264, 2022. doi: 10.1016/j.joei.2022.02.003.

KALAIR, A.; ABAS, N.; SALEEM, M. S.; KALAIR, A. R.; KHAN, N. Role of energy storage systems in energy transition from fossil fuels to renewables. *Energy Storage*, 3, 1, 2020. doi: 10.1002/est2.135.

KARIMIPOUR-FARD, P.; CHIO, C.; BRUNONE, A.; MARWAY, H.; THOMPSON, M.; ABDEHAGH, N.; QIN, W.; YANG, T. C. Lignocellulosic biomass pretreatment: Industrial oriented high-solid twin-screw extrusion method to improve biogas production from forestry biomass resources. *Bioresource Technology*, 393, 130000, 2024. doi: 10.1016/j.biortech.2023.130000.

KARKI, R.; CHUENHART, W.; SURENDRA, K. C.; SHRESTHA, S.; RASKIN, L.; SUNG, S.; HASHIMOTO, A.; KHANAL, S. K. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*, 330, 125001, 2021. doi: 10.1016/j.biortech.2021.125001.

KATUKURI, N. R.; FU, S.; HE, S.; XU, X.; YUAN, X.; YANG, Z.; GUO, R. Enhanced methane production of *Miscanthus floridulus* by hydrogen peroxide pretreatment. *Fuel*, 562-566, 2017. doi: 10.1016/j.fuel.2017.03.014

KOUPAIE, E. H., DAHADHA, S.; LAKEH, A. A. B.; AZIZI, A.; ELBESHBISHY, E. Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review. *Journal of Environmental Management*, 233, 774-784, 2019. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.09.106.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DO AMARAL, A. C. Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato. Concórdia: **Sbera: Embrapa Suínos e Aves**, 209 p, 2019. ISBN 978-65-88155-02-8.

LAUTH, J. S. Changes of State. In: Physical Chemistry in a Nutshell. *Springer Berlin Heidelberg*, 2023. doi: 10.1007/978-3-662-67637-0_1.

LIU, B.; RAJAGOPAL, D. Life-cycle energy and climate benefits of energy recovery from wastes and biomass residues in the United States. *Nature Energy*, 4, 700-708, 2019. doi: 10.1038/s41560-019-0430-2.

LLORENTE, M. J. F.; GARCIA, J. E. C. Suitability of thermo-chemical corrections for determining gross calorific value in biomass. *Thermochimica Acta*, 468, 101-107, 2008. doi: 10.1016/j.tca.2007.12.003.

LOPES, M.; BAPTISTA, P.; DUARTE, E.; MOREIRA, A. L. N. Enhanced biogas production from anaerobic co-digestion of pig slurry and horse manure with mechanical pre-treatment. *Environmental Technology*, 1289-1297, 2019. doi:

10.1080/09593330.2017.1420698.

MA, G.; NDEGWA, P.; HARRISON, J. H.; CHEN, Y. Methane yields during anaerobic co-digestion of animal manure with other feedstocks: A meta-analysis. **Science of The Total Environment**, 728, 138224, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138224.

MARAFON, A. C.; AMARAL, A. F. C.; MACHADO, J. C.; BIERHALS, A. N.; PAIVA, H. L.; GUIMARAES, V. S. Secagem solar da biomassa do capim-elefante para uso em combustão direta. In: FELSEMBURGH, C.A. (Org.). Cap. 15, A produção do conhecimento na engenharia florestal. Ponta Grossa: **Atena**, 156-166 2020. doi: 10.22533/at.ed.00620261015

MARAFON, A. C.; AMARAL, A. F. C.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, J. C.; BIERHALS, A. N.; GUIMARÃES, V. S. Chemical composition and calorific value of elephant grass varieties and other feedstocks intended for direct combustion. **Grassland Science**, 67, 241-249, 2021. doi: 10.1111/grs.12311.

MARAFON, A. C.; MACHADO, J. C.; AMARAL, A. F. C.; GUIMARÃES, V. S.; SANTOS, J. P. Frequência de cortes em genótipos de capim-elefante na produção de biomassa para fins energéticos. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 146, 2019. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1119471/1/BP146Marafonv2.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

MARAFON, A. C.; SANTIAGO, A. D.; AMARAL, A. F. C.; BIERHALS, A. N.; PAIVA, H. L.; GUIMARÃES, V. S. Poder Calorífico do Capim-Elefante para a Geração de Energia Térmica. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 115, 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/152897/1/BP-115.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

MARAFON, A.C.; MACHADO, J.C. Secagem solar e extração do caldo do capim-elefante para uso bioenergético da biomassa. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, Circular Técnica 93, 2021. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1138217/1/CIRC-93-21-Embrapa-Tabuleiros-Costeiros.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MARTINS, L. F., PRADO, D. M. B.; GOMES, G. R.; TEIXEIRA, A. M.; OLIVEIRA, L. N.; GONÇALVES, L. C.; OLIVEIRA, F. S. Valor nutricional do capim-elefante verde colhido em diferentes idades de rebrota. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 72, 5, 1881-1890, 2020. doi: 10.1590/1678-4162-11329.

MARTINS, L. O. S.; CARNEIRO, R. A. F.; SILVA, M. S.; TORRES, E. A. Potential of electric energy generation from vegetable biomass in different regions of Brazil: mapping and analysis. **Revista Tecnologia e Sociedade**, 15, 37, 332-359, 2019. doi: 10.3895/rts.v15n37.9636.

MARX, S., LAUBSCHER, A. N. E., BUNT, J. R., VENTER, R. J., UWAOMA, R. C., STRYDOM, C. A. Evaluation of sugar cane bagasse hydrothermal liquefaction products for co-gasification with coal as green coal pellet production. **Bioresource Tech-**

nology Reports, 22, 101503, 2023. doi: 10.1016/j.biteb.2023.101503

MENDIETA, O.; CASTRO, L.; ESCALANTE, H.; GARFÍ, M. Low-cost anaerobic digester to promote the circular bioeconomy in the non-centrifugal cane sugar sector: A life cycle assessment. *Bioresource Technology*, 326, 124783, 2021. doi: 10.1016/j.biortech.2021.124783.

MENG, L.; JIN, K.; YI, R.; CHEN, M.; PENG, J.; PAN, Y. Enhancement of bioenergy recovery from agricultural wastes through recycling of cellulosic alcoholic fermentation vinasse for anaerobic co-digestion. *Bioresource Technology*, 311, 123511, 2020. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123511

MEYER, A. K. P.; EHIMEN, E. A.; HOLM-NIELSEN, J. B. Future European biogas: Animal manure, straw and grass potentials for a sustainable European biogas production. *Biomass and Bioenergy*, 111, 154-164, 2018. doi: 10.1016/j.biombioe.2017.05.013

MÍGUEZ, J. L.; PORTEIRO, J.; BEHRENDT, F.; BLANCO, D.; PATIÑO, D. DIEGUEZ-ALONSO, A. Review of the use of additives to mitigate operational problems associated with the combustion of biomass with high content in ash-forming species. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 141, 110502, 2021. doi: 10.1016/j.rser.2020.110502.

MOHANTY, A.; MANKOTI, M.; ROUT, P. R.; MEENA, S. S.; DEWAN, S.; KALIA, B.; VARJANI, S.; WONG, J. W. C.; BANU, J. R. Sustainable utilization of food waste for bioenergy production: A step towards circular bioeconomy. *International Journal of Food Microbiology*, 365, 16, 109538, 2022. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109538.

MU, L.; ZHANG, L.; ZHU, K.; MA, J.; IFRAN, M., LI, A. Anaerobic co-digestion of sewage sludge, food waste and yard waste: Synergistic enhancement on process stability and biogas production. *Science of The Total Environment*, 704, 135429, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135429.

MUJTABA, M.; FRACETO, L. F.; FAZELI, M.; MUKHERJEE, S.; SAVASSA, S. M.; MEDEIROS, G. A.; PEREIRA, A. E. S.; MANCINI, S. D.; LIPPONEN, J.; VILAPLANA, F. Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: a review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, 402, 136815, 2023. doi: 10.1016/j.jclepro.2023.136815.

NASCIMENTO, S. A.; REZENDE, C. A. Combined approaches to obtain cellulose nanocrystals, nanofibrils and fermentable sugars from elephant grass. *Carbohydrate Polymers*, 180, 38-45, 2018. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.09.099.

NESHAT, S. A.; MOHAMMADI, M.; NAJAFPOUR, G. D.; LAHIJANI, P. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 308-322, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2017.05.137

OJHA, D. K.; VINU, D.; VINU, R. Fast pyrolysis kinetics of lignocellulosic biomass of varying compositions. *Energy Conversion and Management: X*, 10, 100071, 2021.

doi: 10.1016/j.ecmx.2020.100071.

PATIL, S.; KONDE, K.; BEHERA, S. Bio-Circular Economy: an Opportunity for Diversification for Sugar Industries in Compressed Biogas (CBG) and Organic Fertilizer Production. ***Sugar Tech***, 24(4), 1079-1092, 2022. doi: 10.1007/s12355-022-01130-6.

PEREIRA, L. E. T.; PAIVA, A. J.; GEREMIA, E. V.; SILVA, S. C. Contribution of basal and aerial tillers to sward growth in intermittently stocked elephant grass. ***Grassland Science***, 64, 108-117, 2018. doi: 10.1111/grs.12194.

PLATOŠOVÁ, D.; RUSÍN, J.; PLATOŠ, J.; SMUTNÁ, K.; BURYJAN, R. Case Study of Anaerobic Digestion Process Stability Detected by Dissolved Hydrogen Concentration. ***Processes***, 9(1), 106, 2021. doi: 10.3390/pr9010106

ROCHA, A. S., DAHER, R. F., GRAVINA, G. A., PEREIRA, A. V., RODRIGUES, E. V., VIANA, A. P., SILVA, V. Q. R., AMARAL JUNIOR, A. T., CECON NOVO, A. A., OLIVEIRA, M. L. F., OLIVEIRA, E. S. Comparison of stability methods in elephant-grass genotypes for energy purposes. ***African Journal of Agricultural Research***, 10, 47, 4283-4294, 2015. doi: 10.5897/AJAR2015.10218

ROCHA, J. R. A. S. C.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. C.; RESENDE, M. D. V.; PEREIRA, A. V.; CARNEIRO, J. E. S. Elephant grass ecotypes for bioenergy production via direct combustion of biomass. ***Industrial Crops and Products***, 95, 27-32, 2017a. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.10.014.

ROCHA, J. R. A. S. C.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. C.; RESENDE, M. D. V.; LÉDO, F. J. S.; CARNEIRO, J. E. S. Bioenergetic potential and genetic diversity of elephant grass via morpho-agronomic and biomass quality traits. ***Industrial Crops and Products***, 95, 485-492, 2017b. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.10.060.

ROCHA, J. R. A. S. C.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S. Multitrait index based on factor analysis and ideotype-design: proposal and application on elephant grass breeding for bioenergy. ***GCB Bioenergy***, 10, 1, 52-60, 2017c. doi: 10.1111/gcbb.12443.

RUSCH, F.; NETO, R. A.; LÚCIO, D. M.; HILLIG, E. Energy properties of bamboo biomass and mate co-products. ***SN Applied Sciences***, 3, 602, 2021. doi: 10.1007/s42452-021-04584-7.

SCOPEL, E.; SANTOS, L. C.; BOFINGER, M. R.; MARTÍNEZ, J.; REZENDE, C. A. Green extractions to obtain value-added elephant grass co-products in an ethanol biorefinery. ***Journal of Cleaner Production***, 274, 122769, 2020. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.122769.

SCOPEL, E.; SANTOS, L. C.; BOFINGER, M. R.; MARTÍNEZ, J.; REZENDE, C. A. Broadening the product portfolio with cellulose and lignin nanoparticles in an elephant grass biorefinery. ***Biofuels, Bioproducts and Biorefining***, 17, 859–872, 2023. doi: 10.1002/bbb.2476.

SETTE JR, C. R.; HANSTED, A. L. S.; NOVAES, E.; LIMA, P. A. F.; RODRIGUES, A. C.; SANTOS, D. R. S.; YAMAJI, F. M. Energy enhancement of the eucalyptus bark by briquette production. *Industrial Crops and Products*, 122, 209-213, 2018. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.05.057.

SIDDIQUE, M. N. I.; WAHID, Z. A. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. *Journal of Cleaner Production*, 194, 359-371, 2018. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.05.155.

SILLERO, L.; SOLERA, R.; PEREZ, M. Anaerobic co-digestion of sewage sludge, wine vinasse and poultry manure for bio-hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47, 6, 3667-3678, 2022. doi: 10.1016/j.ijhydene.2021.11.032

SILVA, D. A.; YAMAJI, F. M.; BARROS, J. L.; RÓZ, A. L.; NAKASHIMA, G.T. Caracterização de biomassas para a briquetagem. *Floresta*. 45, 4, 713-722, 2015. doi: 10.5380/ufv.v45i4.39700.

SILVA, G. H.; BARROS, N. O.; SANTANA, L. A. R.; CARNEIRO, J. C.; OTENIO, M. H. Shifts of acidogenic bacterial group and biogas production by adding two industrial residues in anaerobic co-digestion with cattle manure. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 1, 1-9, 2021. doi: 10.1080/10934529.2021.2015987.

SILVA, O. E. R.; FARIAS, A. B. V.; PEITER, F. S.; MARAFON, A. C.; VICH, D. V.; AMORIM, E. L. C. Anaerobic co-digestion of sugarcane vinasse and elephant grass juice for biomethan production. *Revista AIDIS*, 15, 3, 1502-1515, 2022. doi: 10.22201/iingen.0718378xe.2022.15.3.80857.

SILVA, V. B.; DAHER, R. F.; SOUZA, Y. P.; MENEZES, B. R. S.; SANTOS, E. A.; FREITAS, R. S.; OLIVEIRA, E. S.; STIDA, W. F.; CASSARO, S. Assessment of energy production in full-sibling families of elephant grass by mixed models. *Renewable Energy*, 146, 2, 744-749, 2020. doi: 10.1016/j.renene.2019.06.152

SINGH, O. K. Exergy analysis of a grid-connected bagasse-based cogeneration plant of sugar factory and exhaust heat utilization for running a cold storage. *Renewable Energy*, 143, 149-163, 2019. doi: 10.1016/j.renene.2019.05.012

SOEDER, D. J. Fossil Fuels and Climate Change. *In: Fracking and the Environment. Springer*, 155-185, 2021. doi: 10.1007/978-3-030-59121-2_9.

SOUSA, L. B.; DAHER, R. F.; MENEZES, B. R. S.; RODRIGUES, E. V.; TARDIN, F. D.; GRAVINA, G. DE A.; PEREIRA, A. V. Qualidade da biomassa em híbridos de capim-elefante para fins energéticos. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 11, 2, 85-91, 2016. doi: 10.4238/gmr1894

SOUZA, F. R.; LÉDO, F. J. S.; MACHADO, J. C.; MACHADO, M. A.; PEREIRA, A. V.; OLIVEIRA, F. R.; AZEVEDO, A. L. S. Estimation of Outcrossing Rate in Napier Grass. *Crop Science*, 59, 1030–1036, 2019. doi: 10.2135/cropsci2018.10.0657.

TUFANER, F.; AVŞAR, Y. Effects of co-substrate on biogas production from cattle manure: a review. *International Journal of Environmental Science and Technol-*

ogy, 13, 2303-2312, 2016. doi: 10.1007/s13762-016-1069-1.

UDDIN, M. M.; WRIGHT, M. M. Anaerobic digestion fundamentals, challenges, and technological advances. *Physical Sciences Reviews*, 8, 2819-2837, 2022. doi: 10.1515/psr-2021-0068.

VASSILEV, S. V.; BAXTER, D.; ANDERSEN, L. K.; VASSILEVA, C. G. An overview of the chemical composition of biomass. *Fuel*, 89(5), 913-933, 2010. doi: 10.1016/j.fuel.2009.10.022.

WANG, F.; OUYANG, D.; ZHOU, Z.; PAGE, S. J.; LIU, D.; ZHAO, X. Lignocellulosic biomass as sustainable feedstock and materials for power generation and energy storage. *Journal of Energy Chemistry*, 57, 247-280, 2021. doi: 10.1016/j.jechem.2020.08.060.

WANG, Y.; SUN, Y.; JIANG, L.; LIU, L.; LI, Y. Characteristics of Corrosion Related to Ash Deposition on Boiler Heating Surface during Cofiring of Coal and Biomass. *Journal of Chemistry*, 9, 2020. doi: 10.1155/2020/1692598.

WEI, L.; ZHAO, W.; FENG, L.; LI, J.; XIA, X.; YU, H.; LIU, Y. Anaerobic Digestion Process and Biogas Production. Chapter 1, Biogas Plants: Waste Management, Energy Production and Carbon Footprint Reduction, *Wiley*, 352 p. ISBN: 978-1-119-86392-2, 2023.

YU, B.; LIU, X.; JI, C.; SUN, H. Greenhouse gas mitigation strategies and decision support for the utilization of agricultural waste systems: A case study of Jiangxi Province, China. *Energy*, 265, 126380, 2023. doi: 10.1016/j.energy.2022.126380.

ZAHAN, Z.; GEORGIU, S.; MUSTER, T. H.; OTHMAN, M. Z. **2018**. Semi-continuous anaerobic co-digestion of chicken litter with agricultural and food wastes: a case study on the effect of carbon/nitrogen ratio, substrates mixing ratio and organic loading. *Bioresource Technology*, 270, 245-254, 2018. doi: 10.1016/j.biortech.2018.09.010.

ZIEMIŃSKI, K. AND WENTEL, M. K. Effect of enzymatic pretreatment on anaerobic co-digestion of sugar beet pulp silage and vinasse. *Bioresource Technology*, 180, 274-280, 2015. doi: 10.1016/j.biortech.2014.12.035

ZUO, Z.; WU, S.; ZHANG, W.; DONG, R. Effects of organic loading rate and effluent recirculation on the performance of two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. *Bioresource Technology*, 146, 556-561, 2013. doi: 10.1016/j.biortech.2013.07.128.

CAPÍTULO 2: PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DO CALDO DE CAPIM-ELEFANTE E ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE BOVINOS: DESEMPENHO EM BATELADA E EM REATOR UASB

Resumo

No estudo investigou-se o potencial de produção de biogás na co-digestão anaeróbia do caldo de capim-elefante (CCe) com águas residuárias de bovinocultura leiteira (ARBL), a fim de caracterizar o caldo remanescente como um co-substrato com vantagens bioenergéticas. Inicialmente foram feitos testes em bateladas, sob diferentes temperaturas, para se avaliar os efeitos das diferentes proporções de misturas entre os substratos (CCe/ARBL). A melhor configuração testada foi eleita para ser adotada em testes em regime semi-contínuo em um reator de manta de lodo de escoamento ascendente (UASB). No reator A (CCe/ARBL de 20/80) sob 39 °C gerou-se um volume de biogás de 414,11 mL, consideravelmente maior que no teste sob 25 °C, em que foram gerados 258,67 mL. No reator A também se observou maior eficiência da remoção de matéria orgânica e de outros parâmetros analisados. Com o bom desempenho nas condições do reator A, optou-se pela operação subsequente do reator UASB com tempos de retenção hidráulica de 10, 6, 2 dias e 24 horas e taxas de carregamento orgânico de 2,06, 3,39, 10,40 e 20,70 kg SV m⁻³ d⁻¹. Sólidos voláteis foram removidos em 29 a 58%, com rendimento de biogás de 0,78 a 2,28 m³ m⁻³ d⁻¹, alcançando teores de CH₄ de 72%. A co-digestão dos substratos de resíduos agropecuários analisados demonstrou ser uma abordagem promissora para a recuperação de bioenergia. Esses resultados fornecem orientações úteis para otimizar os sistemas de co-digestão, melhorar o desempenho dos reatores e o tratamento de resíduos.

Palavras-chaves: Digestão anaeróbia; Valorização energética; Energia remanescente; Reator UASB; Biogás.

Abstract

The study investigated the potential for biogas production in the anaerobic co-digestion of elephant grass broth (CCe) with dairy cattle wastewater (ARBL), in order to characterize the remaining broth as a co-substrate with bioenergetic advantages. Initially, batch tests were carried out at different temperatures to evaluate the effects of different proportions of mixtures between substrates (CCe/ARBL). The best tested configuration was chosen to be adopted in semi-continuous tests in an upflow sludge blanket reactor (UASB). In reactor A (CCe/ARBL of 20/80) at 39 °C, a volume of biogas of 414.11 mL was generated, considerably greater than in the test at 25 °C, in which 258.67 mL were generated. In reactor A, greater efficiency in the removal of organic matter and other analyzed parameters was also observed. With the good performance under reactor A conditions, it was decided to subsequently operate the UASB reactor with hydraulic retention times of 10, 6, 2 days and 24 hours and organic loading rates of 2.06, 3.39, 10.40 and 20.70 kg VS m⁻³ d⁻¹. Volatile solids were removed by 29 to 58%, with biogas yields of 0.78 to 2.28 m³ m⁻³ d⁻¹, reaching CH₄ contents of 72%. The co-digestion of analyzed agricultural waste substrates proved to be a promising approach for bioenergy recovery. These results provide useful guidance for optimizing co-digestion systems, improving reactor performance and waste treatment.

Keywords: Anaerobic digestion; Energy valorization; Remaining energy; UASB reactor; Biogas.

1. INTRODUÇÃO

A partir da investigação do Capítulo 1 e das conclusões sobre o potencial do caldo de capim-elefante como uma nova biomassa para fins energéticos, o presente capítulo apresenta-se um estudo de co-digestão do efluente de bovinocultura leiteira, que consiste no dejetos bovino fresco diluído com a água de lavagem do sistema de confinamento tipo "*free stall*", com o caldo extraído do capim-elefante *Cenchrus purpureus* (Schumacher) Morrone cultivar BRS Capiáçu, sob diferentes condições de temperaturas. O estudo foi realizado em escala laboratorial com ensaios em batelada, avaliando diferentes concentrações de mistura dos substratos em reatores assemelhando o sistema de biodigestão anaeróbia, para posteriormente poder replicar os melhores resultados no reator modelo *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB).

A biodigestão anaeróbia é uma tecnologia promissora, que investiga soluções para atender à crescente demanda de energia, reduzindo os efeitos nocivos ao meio ambiente (ATELGE et al., 2020; ERAKY et al., 2022). Esta tecnologia é frequentemente utilizada com sucesso para uma variedade de tipos de biomassa, como por exemplo, converter e valorizar resíduos orgânicos, águas residuais, e efluentes agropecuários ou industriais com alta carga orgânica e alta concentração de resíduos sólidos (DHANYA et al., 2020; CHAVAN et al., 2022). As condições adequadas de funcionamento do processo anaeróbio promovem benefícios ambientais com o tratamento de efluentes, além da geração de energia e biofertilizantes a partir do biogás. O desempenho do processo depende inteiramente das estratégias operacionais e dos parâmetros do processo. Estratégias operacionais como tipo de reator, inóculo e substrato usado, tempo de retenção hidráulica (TRH), taxa de alimentação e temperatura de operação são fundamentais para o correto funcionamento dos biodigestores. Enquanto isso, parâmetros de processo como pH, alcalinidade e concentrações de ácidos graxos voláteis (AGVs) são parâmetros que devem ser considerados e controlados, para um ótimo processo de fermentação e metabolismo microbiano (SUBBARAO et al., 2023).

A digestão anaeróbia (DA) é um processo sustentável que foi assegurada como uma tecnologia de baixo carbono que complementa os setores de gestão de resíduos e energia renovável. Os principais produtos da DA são o biogás e o digestato (CZEKALA et al., 2022). Este último pode ser utilizado como substância

fertilizante para o solo (AKBAR et al., 2021; SHARMA e SUTHAR, 2021). A aplicação de DA é predominante no tratamento de substratos isolados, também conhecido como mono-digestão. No entanto, a mono-digestão anaeróbia geralmente apresenta baixa produtividade energética pelo conteúdo insuficiente de matéria orgânica e/ou baixa relação C: N (KARKI et al., 2021). Esses fatores levam à formação de inibidores e compostos tóxicos, como amônia (NH_3) e sulfeto de hidrogênio (H_2S) (MU et al., 2020), resultando em baixo rendimento de biogás ou metano (ZAHAN et al., 2018). Nesse sentido, a co-digestão anaeróbia é uma abordagem promissora para resolver as dificuldades mencionadas relacionadas ao processo DA. Os principais benefícios da co-digestão incluem maior estabilidade do sistema e rendimento de metano por meio dos efeitos sinérgicos da promoção de uma comunidade microbiana mais diversificada (MATA-ALVAREZ et al., 2014), melhor equilíbrio de nutrientes relação (C: N) adequada (XIE et al., 2018; ZHOU et al., 2021) e diluição de compostos tóxicos, incluindo metais pesados (EBNER et al., 2016). Além disso, o digerido da co-digestão aumenta a biodisponibilidade de nutrientes, quando usado por exemplo, como biofertilizantes ou outras aplicações agrícolas (XIE et al., 2018).

Pesquisa realizada por Karki et al. (2021) retrata sobre o estado atual e as perspectivas da co-digestão anaeróbia e aponta que o processo tem grande potencial para melhorar a digestibilidade de diversas matérias-primas para gestão de resíduos e geração de bioenergia e outros produtos de alto valor. No entanto, novas pesquisas devem se concentrar no desenvolvimento de novas abordagens para caracterizar as matérias-primas como substratos e compreender melhor a dinâmica da comunidade microbiana e as vias associadas na degradação do substrato. Na Tabela 1 foram apresentados estudos com o processo de co-digestão anaeróbia.

Tabela 1 – Estudos comparativos sobre co-digestão anaeróbia de dejetos animais e biomassas lignocelulósicas.

Referência	Substratos – Proporção de co-digestão	Escala / Regime	T (°C) / TR	Volume do reator	Produção de CH ₄ .SV
CARVALHO et al. (2016)	Co-digestão entre lodo de esgoto (LE) e hidrolisado de capim-elefante (HCE). Proporções: F1 (75% LE: 25% HCE) e F2 (50% LE: 50% HCE)	Laboratorial / Reator com Agitação Contínua (CSTRs)	37 °C / 15 dias	16 L	0.16 L CH ₄ g.SV (F1); 0.21 L CH ₄ g.SV (F2)
HIMANSHU et al. (2018)	Dejeto líquido de bovinos (DB) e suínos (DS) com silagem de capim (SC). Proporção (Dejeto animal: SC) 1:0, 0.75:0,25, 0,5:0,5, 0,75:0,25 e 0:1	Laboratorial / Batelada	37 °C / 45 dias	160 mL	246 - 427 L CH ₄ kg.SV
ANDRÉ et al. (2019)	Dejeto Bovino (DB) e Grama da beira da estrada (Gbe). Proporções: DB: Gbe - 75:25, 60:40, 50:50	Laboratorial / Batelada	Mesófila / 32 dias	60 L	60(DB):40(Gbe) 232 Nm ³ CH ₄ t.SV
LIANHUA et al. (2020)	Proporções de híbrido <i>Pennisetum</i> para esterco de suíno de 50:50 (GP11) e 75:25 (GP31)	Laboratorial / Reatores de Laboratorial / Tanque com Agitação Contínua (CSTRs) / Semi-contínuo	37 °C / 249 dias (GP31); 292 dias (GP11)	2 L	298,97 mL CH ₄ g.SV (GP11); 312,37 mL CH ₄ g.SV (GP31)
LI et al. (2020)	Dejeto bovino (DB) e ovino (DO) DB/DO: 1:1, 3:1, 1:3	Laboratorial / Reatores de Tanque com Agitação Contínua (CSTRs)	37 °C / 25 dias	2,4 L	175, 200 e 210 mL CH ₄ g.SV
OJEDIRAN et al. (2021)	Capim-elefante e dejeto de suínos, proporção de 1:2	Laboratorial / Batelada	37 °C / 35 dias	300 mL	409.5 - 306.2 m ³ CH ₄ g.SV
SILVA et al. (2022)	Caldo capim-elefante (CCe) e vinhaça (V). Proporções (CCe:V): 25/75, 50/50, 75/25, 100/0, 0/100.	Laboratorial / Batelada	37 °C / 30 - 40 dias	106 mL	7.63 – 370.94 CH ₄ g.SV
MIRABI et al. (2024)	Resíduos lignocelulósicos e lipídicos com Dejeto Bovino. Proporções: 20/80, 50/50, 80/20	Laboratorial / Batelada	35 °C / 120 dias	1 L	0,045- 0,117 m ³ CH ₄ g.SV

TR – Tempo de Reação; SV – Sólidos Voláteis.

Neste cenário, dois fatores merecem maiores investigações: o uso e o tipo de co-substratos e a proporção da mistura para o bom desempenho dos reatores. Os resíduos animais têm potencial para serem rentáveis se geridos de forma adequada, mas também podem representar graves riscos para a saúde humana devido ao manejo inadequado (NWEZE et al., 2023). O emprego do dejetos bovino em sistema de bioenergia é um exemplo sustentável da transição de uma economia linear para uma economia circular (SUBBARAO et al., 2023). Os dejetos de ruminantes, especialmente de bovino são bons substratos com potencial energético na produção de biogás, devido à presença, de microrganismos metanogênicos como inóculo para fase de fermentação (TUFANER e AVŞAR, 2016; SILVA et al., 2021). Tradicionalmente, os dejetos animais são utilizados como substrato principal em processos anaeróbios, entretanto, por apresentarem baixa concentração de carbono (C) e alto teor de nitrogênio (N), esse déficit de C pode ser prejudicial ao processo em relação a razão C: N (JASIŃSKA et al., 2023; MA et al., 2020). Este alto teor de nitrogênio pode levar a um alto nível tóxico de amônia. Assim, torna-se necessário a co-digestão de dejetos animal com materiais ricos em carbono orgânico, como resíduos carbonáceos para compensar a deficiência de carbono do dejetos bovino (MEYER et al., 2018).

A produção de biogás a partir de resíduos sólidos orgânicos, como a biomassa lignocelulósica, por meio da DA, oferece vantagens significativas não só do ponto de vista da produção de energia renovável, mas também do ponto de vista da gestão de resíduos (ABRAHAM et al., 2020). A biomassa lignocelulósica é uma fonte de carboidratos que são encontrados na maioria das paredes das células vegetais e, portanto, faz parte de uma grande variedade de plantas (YOUSUF et al., 2020; KOUPAIE et al., 2019). No Brasil, o capim-elefante está presente em todo território, a espécie apresenta boa adaptação às condições de clima e solo, sendo tradicionalmente explorado para fins de alimentação animal (MARAFON et al., 2019). O capim-elefante é considerado um biorrecurso atrativo para aplicação em diversos campos, como na agrícola, no setor energético e de materiais (NASCIMENTO e REZENDE, 2018). A extração do caldo do capim apresenta como principais vantagens a redução da umidade e aumento do poder calorífico da biomassa, e a possibilidade de uso do caldo para a produção de biogás e biofertilizante (MARAFON et al., 2019). O caldo de capim remanescente é um subproduto da cadeia de bioenergia, proveniente por exemplo, da energia térmica na

queima da biomassa vegetal. A extração do caldo em moendas pode ser muito eficiente e apresentar-se econômica e tecnicamente viável por reduzir consideravelmente o tempo e o gasto energético do processo de secagem do bagaço de capim-elefante (MARAFFON e MACHADO, 2021).

Partindo do pressuposto da avaliação de outras biomassas lignocelulósicas, como fonte alternativa de substrato para ampliar a oferta de matéria-prima e aperfeiçoar a produção de biogás a partir do dejetos bovino, o capim-elefante pode ser visto como opção atrativa, em decorrência da sua composição química e estrutural que apresenta nutrientes e de elementos necessários para a fermentação microbiana para a produção de bioenergia (OJEDIRAN et al., 2021), além de sua alta produtividade de biomassa e adaptação local (MARAFFON, 2022). Portanto, é importante a necessidade de utilização de novas soluções relacionadas ao tratamento adequado do substrato e obtenção de maior eficiência de produção de metano, o que pode ser alcançado pela combinação de substratos com o processo de co-digestão.

O foco deste trabalho é o uso de resíduo do caldo de capim-elefante em co-digestão com substrato animal, resíduo esse já conhecido na literatura em processos anaeróbios, para potencializar a eficiência energética total da biomassa vegetal. Diante do exposto, o estudo da co-digestão anaeróbia dos dois substratos foi conduzido a fim de avaliar a produção de biogás, assim como a análise da eficiência do processo por intervenção de diferentes condições de temperatura, ambiente (25 °C) e mesófila (39 °C), e diferentes concentrações dos substratos para o bom desempenho dos reatores, ponderando a capacidade de suporte das misturas no processo anaeróbio. Por fim, realizar a transposição do melhor resultado entre os experimentos laboratoriais (em batelada) para o reator modelo UASB testando diferentes TRH.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem, preparação dos substratos e do inóculo

As amostras do cultivar de capim-elefante BRS Capiaçú foram coletadas na área experimental na unidade de pesquisa da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As gramíneas foram cortadas a uma altura de 0,25 ~ 0,28 m da superfície do solo com auxílio de tesoura de poda, com idade de 125 dias após o plantio. Após a coleta, a massa fresca das plantas inteiras era aferida para se avaliar a produtividade. Em seguida, os colmos foram prensados em moenda semi-industrial com rolos de aço inoxidável (Cana Shop Elétrica 200). O caldo de capim-elefante (CCe) foi coletado e avaliado seu rendimento volumétrico, tendo também sido aferida a massa do resíduo de biomassa do bagaço prensado, resultando na relação volume/massa do caldo (mL kg^{-1}) (Figura 1). Foram feitas análises físicas e químicas do caldo, e por fim, as amostras foram mantidas congeladas em freezer até o momento da realização dos ensaios laboratoriais, sendo utilizadas como co-substrato no processo de digestão.

Figura 1 – Moenda semi-industrial para moagem dos colmos do capim-elefante.



Fonte: Autor (2022).

As ARBL, também utilizadas como co-substrato nos experimentos, foi amostradas no campo experimental José Henrique Bruschi, da Embrapa Gado de Leite, localizada no município de Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil. As amostras foram coletas e preservadas em local devidamente fechado e

transportados para Unidade de Pesquisa da Embrapa Gado de Leite. Prontamente levados para o laboratório, os resíduos foram homogeneizados manualmente e o substrato foi preparado a partir da diluição de fezes bovinas com água de lavagem dos pisos do “free stall” (Figura 2).

Figura 2 – Coleta dos efluentes de bovinocultura leiteira.



Fonte: Autor (2022).

O inóculo utilizado foi preparado em escala laboratorial, ARBL foi aclimatado por 7 dias, seguido de mais 7 dias de enriquecimento e manutenção do inóculo com alimentação diária com uma mistura de substrato composta por proteínas, carboidratos e lipídios à taxa de carga de $0,3 \text{ g SV L}\cdot\text{d}^{-1}$. Este substrato suplementar foi preparado com 30% de SV a partir da silagem de capim-elefante para servir como fonte de celulose, lignina e clorofila; 30% de SV silagem de milho como fonte de carboidratos; 25% de SV do leite em pó como fonte de lactose, aminoácidos, lipídios e alguns micronutrientes. Por fim, foi adicionado óleo de girassol (teor de 15% de SV) para suprir o enriquecimento com substrato lipídico (STEINMETZ et al., 2016). Foi utilizado uma incubadora para manter o inóculo sob temperatura $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante o período experimental.

2.2. Ensaios em bateladas: delineamento experimental, sistema de aquecimento e agitação.

Para a etapa em escala laboratorial (ensaios em bateladas) as condições experimentais foram divididas em dois testes distintos e subsequentes. Os testes I e II consistiram na utilização de CCe e ARBL em diferentes proporções da mistura. As

proporções para o experimento foram referenciadas por meio de um valor mínimo, intermediário e máximo de CCe adicionado para co-digestão, a fim de compreender qual das proporções melhor interagiriam na produção de metano e resultariam em resultados positivos para o emprego do CCe na escala industrial.

A diferença entre os testes foi a temperatura adotada, o teste I foi realizado sob temperatura de 25 °C, considerada como representativa da temperatura ambiente. No teste II, a temperatura foi mantida em 39 °C, próxima ao extremo superior da faixa mesófila entre 20 e 40 °C). Foram utilizados biodigestores experimentais de bancada, que consistiam em frascos de vidro com 100 mL de volume total, 60 mL de volume reacional (90% de substrato e 10% de inóculo) e 40 mL de *headspace* (volume destinado ao biogás). No estudo utilizaram-se 12 digestores em cada teste distribuídos da seguinte forma: duplicatas da mistura com diferentes proporções (A, B, C, D e E) e um controle contendo apenas inóculo (F). Os valores das proporções de CCe e ARBL em diferentes volumes são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Proporção de caldo de capim-elefante (CCe) e água residuária de bovinocultura leiteira (ARBL) em porcentagem (CCe/ARBL) para os testes I e II

Reator	CCe/ARBL	Vol. útil do reator (mL)	Vol. Reacional (mL)	CCe (mL)	ARBL (mL)	Inóculo (mL)	Réplicas
A	20/80	100	60	10,8	43,2	6	2
B	40/60	100	60	21,6	32,4	6	2
C	80/20	100	60	43,2	10,8	6	2
D	100/0	100	60	54	0	6	2
E	0/100	100	60	0	54	6	2
F	Controle	100	60	0	0	6	2

Antes de todos os frascos serem fechados hermeticamente com tampas de borracha e o lacre metálico, realizou-se a purga do oxigênio do interior dos reatores com gás nitrogênio (N₂) durante 2 minutos, para proporcionar um ambiente anaeróbio (RODRIGUES et al., 2019). Os frascos foram então colocados na incubadora shaker. Na Figura 3 ilustra-se o experimento em batelada. Foi utilizada uma incubadora Bench Shaker da Tecnal modelo BTC-9090 para manter a temperatura de 25 °C (Teste I) e 39 °C (Teste II), com agitação controlada a 100 rpm. De acordo com Wang et al., (2017), a agitação é importante para distribuição

de microrganismos, do substrato e temperatura nos frascos, bem como ajuda na liberação de bolhas de gás aprisionadas em solução no *headspace*. O tempo de incubação para esta análise foi de 30 dias; no entanto, quando a geração diária de metano fosse inferior a 1,5 mL durante três dias consecutivos, os testes eram interrompidos (JINGURA e KAMUSOKO, 2017).

Figura 3 – Montagem dos ensaios em batelada na incubadora shaker.



Fonte: Autor (2022).

2.3. Biodigestores UASB: Sistema de aquecimento, agitação e armazenamento do biogás

Para avaliar a reprodutibilidade dos resultados obtidos nos ensaios em bateladas (Testes I e II), foi proposto a execução do melhor resultado da co-digestão entre as misturas (A, B ou C) em um biodigestor operado em modo semi-contínuo para a próxima fase do experimento. Foi construído um biodigestor modelo *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) com material de acrílico, com uma torneira de entrada e uma de saída do efluente, revestido com uma camisa d'água para o auxílio do controle da temperatura, e uma saída de gás na parte superior interligado com uma mangueira ao gasômetro.

A altura do biodigestor era de 56 cm, o diâmetro de 15 cm, com um volume total de 9,9 L e capacidade nominal de 7,8 L (Figura 4). O sistema de aquecimento foi mantido com auxílio do termostato com aquecedor X-618 fixado a 37 °C, e uma bomba submersa para circulação de água, ambos equipamentos fixados dentro da camisa d'água ao entorno do biodigestor. A temperatura foi monitorada por termômetros digitais. O biodigestor foi alimentado com auxílio de uma bomba peristáltica sanitária modelo AWM-5000-A, dosador automático com controle de vazão controlada. A alimentação do biodigestor foi realizada pela torneira localizada na parte inferior configurando o escoamento como ascendente, que permite que o lodo permaneça em suspensão com a mobilidade limitada em um espaço na vertical do reator.

Figura 4 – Biodigestor modelo UASB de acrílico construído para experimento.



Fonte: Autor (2022).

O biogás produzido no biodigestor era direcionado por meio de uma mangueira de gás, localizada na parte superior, para o gasômetro de dimensões 40 cm de altura, 10 cm diâmetro, e volume total de 3,1 L. A quantificação do volume era feita mediante o método de deslocamento do volume de água.

2.4. Quantificação da produção e composição do biogás

A medição de biogás nos ensaios em batelada nos testes I e II, foi realizada com auxílio de um vaso comunicante (Figura 5). O tempo de reação dos reatores variou de acordo com a produção de biogás observada e a concentração de metano no intervalo de 30 dias. Coletava-se uma amostra 0,5–1,5 mL do gás, que em seguida era injetado ao cromatógrafo gasoso. A cromatografia foi realizada uma vez ao dia durante os primeiros 3 dias. Após esse período, foram analisadas a taxa de produção de biogás e a estabilização dos reatores e, devido à menor taxa de produção do período inicial (24 h), o intervalo de análise foi espaçado por no máximo 2–3 dias.

Figura 5 – Incubadora com agitação e sistema de vaso comunicante utilizado para amostragem de biogás.



Fonte: Autor (2022).

No experimento com reator UASB, o volume de biogás produzido foi determinado por meio do deslocamento vertical do gasômetro (Figura 6). Para medir o volume de biogás, anotava-se o valor em cm do deslocamento vertical do gasômetro com auxílio de uma régua autocolante no reservatório. O valor do deslocamento foi multiplicado pela área da seção transversal interna do gasômetro. Coletavam-se amostras 1,5–3 mL com um auxílio de uma seringa Agilent 5190-1545, para quantificação do gás no cromatógrafo. Após coletar amostra de biogás, o volume excedente era queimado. Foi utilizado o sistema de cromatógrafo a gás Agilent 7820 A e o programa de interface EzChrom Elite para a determinação da

produção de metano e composição do biogás, equipado com detector de condutividade térmica (TCD) e detector de ionização de chama (FID).

Figura 6 – Gasômetro acoplado ao biodigestor UASB utilizado para o armazenando do biogás.



Fonte: Autor (2022).

A produção de biogás deve ser sempre expressa de forma normalizada às condições padrões de temperatura e pressão. A temperatura e a pressão padrão para normalização dos volumes de biogás e metano foram geralmente fixadas em 0 °C (273K) e 1 atm (1,013 hPa). Este padrão é conhecido como “*temperatura e pressão normais*”, usados como referência para medir e comparar volumes de gases. Equação 1 é usada para normalização, segundo Kunz et al. (2019):

$$V_N = \frac{V * (p - p_w) * T_0}{p_0 * T}$$

Onde:

V_N = Volume de biogás normalizado às condições normais de temperatura e pressão (mL, L ou m³);

V = Volume de biogás produzido (mL, L ou m³);

p = Pressão do biogás no momento da leitura (hPa);

p_w = Pressão de vapor da água em função da temperatura ambiente(hPa);

T_0 = Temperatura nas condições normalizadas, 273 K;

p_0 = Pressão nas condições normalizados, 1.013 hPa;

T = Temperatura do biogás (K).

2.5. Potencial Bioquímico de Biogás (PBB) e o Potencial Bioquímico do Metano (PBM)

Potencial bioquímico de biogás (PBB) e o potencial bioquímico do metano (PBM) de um substrato específico definem a quantidade máxima de biogás e metano que podem ser produzidas pela digestão anaeróbia (STEINMETZ et al., 2016). Os valores de PBB e PPM são determinados pelo volume acumulado de biogás e metano presente na amostra dividido pela quantidade de material orgânico adicionado inicialmente no reator, expresso por sólidos voláteis. Portanto, o valor pode ser expresso da seguinte maneira, mL Biogás g⁻¹ SV e mL CH₄ g⁻¹ SV.

As análises são tipicamente medidas em testes anaeróbios em batelada, e o princípio fundamental dos testes consiste em: amostras com substratos em co-digestão investigada é digerida com um inóculo ativo com ótimo funcionamento em frascos incubados a uma temperatura apropriada. Além disso, amostras em branco contendo apenas inóculo, também são incubadas. No entanto, nos reatores haverá resíduos orgânicos referentes ao inóculo adicionado, que contribuirá com certa quantidade de biogás no processo anaeróbio, portanto, é importante subtrair do volume total acumulado para obter a real produção apenas do substrato (BIOPROCESS CONTROL, 2016). Desse modo, o PBB e o PBM podem ser expressos de acordo com a Equação 2.

$$PBB \text{ ou } PBM = \frac{V_s - V_b \times \frac{mSV_{is}}{mSV_{ib}}}{mSV_s}$$

Onde:

V_s = Volume acumulado (biogás ou metano) do substrato com inóculo (amostra);

V_b = Volume acumulado (biogás ou metano) do branco (somente inóculo);

mSV_{is} = massa de sólidos voláteis correspondentes ao inóculo na amostra;

mSV_{ib} = massa de sólidos voláteis correspondentes ao inóculo no branco;

mSV_s = massa de sólidos voláteis correspondentes ao substrato na amostra.

Valores encontrados de PBM positivo indicaram efeito sinérgico (ES), ou seja, o rendimento acumulativo de metano da co-digestão de CCE e ARBL foi satisfatória, já os valores negativos indicaram efeito antagônico (EA), ou seja, a mistura produz menos metano do que o esperado (ADELARD et al., 2015; CÁRDENAS-CLAVES et al., 2016; SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019).

2.6. Modelo de regressão

A análise de regressão foi utilizada para permitir prever os valores de uma variável a partir dos valores de outra variável. A consistência dos resultados dos modelos com os dados experimentais foi medida em termos de coeficiente de determinação (R^2), demonstrando a proporção da variabilidade da variável dependente explicada pelas variáveis independentes, indicando o tamanho de efeito da predição, considerando-se diferentes proporções de caldo de capim no substrato.

Foram construídos modelos de regressão exponencial para estimar a produção de biogás a partir da co-digestão de caldo do capim-elefante (CCe) e águas residuárias de bovinocultura leiteira (ARBL) em temperatura ambiente (25 °C) e mesófila (39 °C), e diferentes proporções. Com os resultados dos ensaios em batelada, foi estabelecido um conjunto de dados, incluindo uma variável de resposta (produção de biogás) e duas variáveis-chave de características ou preditores (proporções dos substratos e temperatura).

2.7. Análise estatística

As condições experimentais avaliadas foram o volume acumulado de biogás e metano, feitas em duplicata para cada reator em cada teste. Os resultados dos valores amostrais são expressos como valores médios \pm desvio padrão. As diferenças de médias foram avaliadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida de comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) com o software PAST 4.03.

2.8. Análises laboratoriais

As análises físicas e químicas para caracterização dos substratos CCe, ARBL e inóculo, e das amostras iniciais e finais dos ensaios em bateladas e do ensaio no reator UASB foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Rúmen e no Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Na Tabela 3 apresentam-se os parâmetros analisados durante todo o experimento.

Tabela 3 – Parâmetros analisados, métodos adotados e referência das análises realizadas durante o experimento.

Análise	Equipamento ou método	Referência
pH	Leitura direta, utilizando um potenciômetro digital Edge Hanna, HI2002-02	APHA (2023)
Teor total de sólidos solúveis (°Brix)	O valor de °Brix foi quantificado utilizando um Refratômetro digital modelo MA871	KAWAHIGASHI et al. (2013)
Sólidos Totais (ST); Sólidos Voláteis (SV); Sólidos Fixos (SF)	Métodos gravimétricos utilizando estufas para a secagem da amostra a 105 °C e determinação dos ST e o forno mufla, para incineração à 550 °C e a determinação dos SF. Os SV são obtidos pela diferença entre os ST - SF	APHA (2023)
Acidez e Alcalinidade	Titulação ácido-base, com auxílio do Agitador Magnético Digital com Aquecimento e Sensor Externo (SL-92/H)	APHA (2023)
Nitrogênio Total	Metodologia Kjeldahl	GALVANI e GAERTNER (2006)
Proteína Bruta	Metodologia Kjeldahl	GALVANI e GAERTNER (2006)
Carbono	Determinação gravimétrica de carbono em função da matéria orgânica	CARMO e SILVA (2012)
Energia Bruta	Bomba Calorimétrica (Calorímetro Adiabático de Parr).	NBR 11956 (ABNT 1990)
Ácidos Graxos Voláteis (AGV)	Waters e2695 HPLC com Detector PAD 2998	Adaptado de YIN et al. (2021); BULKOWSKA et al. (2022); RUBIO et al. (2022)
Cromatografia Gasosa	Cromatógrafo Gasoso Agilent 7820A - concentrações de CH ₄ e CO ₂ no biogás	COLLINS et al. (1997)
Medição de Biogás	Vasos Comunicantes - Ensaio em Batelada; Gasômetro - UASB	-

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Ensaios em batelada: Caracterização dos substratos

Na Tabela 4 apresentam-se os resultados das análises realizadas para os substratos (ARBL e CCe) e do inóculo, para os dois testes.

Tabela 4 – Características físico-químicas dos substratos utilizados no experimento, Teste I e Teste II.

Parâmetros	Substratos					
	Teste I			Teste II		
	ARBL	CCe	Inóculo	ARBL	CCe	Inóculo
pH	7,63 (0.07)	5,65 (0.01)	7,16 (0.01)	7,61 (0.02)	5,51 (0)	7,24 (0.01)
°Brix	2.45 (0.05)	4.30 (0.3)	2.20 (0.2)	2.60 (0.1)	4.25 (0.05)	2.30 (0.1)
Acidez (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	320 (0.2)	860 (0.3)	440 (0.2)	360 (0.1)	1020 (0.1)	460 (0.1)
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	8280 (1.4)	2300 (0.9)	5120 (0.2)	6320 (1.4)	3220 (0.5)	5580 (1.1)
AV/AT	0,04	0,37	0,09	0,06	0,32	0,08
ST (mg L ⁻¹)	71876 (0.05)	43514 (0.07)	22620 (0.04)	71789 (0.19)	44227 (0.02)	23468 (0.22)
SF (mg L ⁻¹)	14738 (0.01)	16518 (0.2)	5153 (0)	14740 (0.03)	16717 (0.01)	5702 (0.03)
SV (mg L ⁻¹)	57138 (0.06)	26996 (0.27)	17466 (0.04)	57049 (0.16)	27509 (0.30)	17766 (0.24)
PB (mg L ⁻¹)	6600 (0.03)	2800 (0)	3650 (0.01)	7500 (0.05)	3200 (0.02)	3550 (0.01)
Nitrogênio (mg L ⁻¹)	1056 (0)	448 (0)	584 (0)	1200 (0.01)	512 (0)	568 (0)
Carbono (mg L ⁻¹)	20955 (0.03)	6999 (0.12)	2587 (0.02)	20914 (0.07)	7237 (0.01)	2726 (0.11)
C: N	19,8	15,6	4,4	17,4	14,1	4,8
AGV (mg L ⁻¹)	1768 (97)	2225 (94)	758 (9)	1574 (97)	2413 (94)	740 (9)
Acetato (mg L ⁻¹)	1139 (26.5)	80 (4)	239 (5)	1086 (26.5)	88 (4)	249 (5)
Propionato (mg L ⁻¹)	167 (0.5)	388 (27)	321 (10)	168 (0.5)	334 (27)	301 (10)
Butirato (mg L ⁻¹)	462 (71)	1757 (117)	198 (4)	320 (71)	1991 (117)	190 (4)

°Brix - Sólidos Solúveis Totais; AV/AT - Relação Ácidos Voláteis/ Alcalinidade Total; ST - Sólidos totais (%); SF - Sólidos fixos (%); SV - Sólidos voláteis (%); PB - Proteína Bruta; AGVs - Ácidos Graxos Voláteis. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Os valores aqui encontrados nesse estudo sobre as características físico-químicas da ARBL não diferenciaram de outros trabalhos que utilizaram o efluente de bovinocultura leiteira por meio de processos anaeróbios para produção de biogás (HAGOS et al., 2017; MENDONÇA et al., 2017; ALKHRISAT, 2024).

O CCe apresentou pH de 5,65 e Brix 4,30, tais resultados foram semelhantes aos obtidos por Marafon e Machado (2021) que estudaram sobre a secagem solar e extração do caldo do capim-elefante para uso bioenergético da biomassa, e por Cunha et al. (2022) que avaliaram a variação do teor de açúcar no germoplasma de capim-elefante. Marafon et al., (2019), destacam a possibilidade de uso do caldo do capim-elefante para a produção de biogás e biofertilizante. Silva et al. (2022), utilizaram o caldo de capim-elefante como substrato no processo de co-digestão anaeróbia, juntamente com vinhaça em reatores em batelada, analisando a produção de biogás.

3.2. Desempenho das condições experimentais: Teste I e Teste II

3.2.1 pH, Alcalinidade, Acidez e Ácidos Graxos Voláteis (AGVs)

Os valores médios iniciais e finais obtidos nos reatores (I e II) estudados, quanto aos parâmetros pH, acidez e alcalinidade encontram-se na Tabelas 5 e 6, observadas em cada uma das condições experimentais.

Tabela 5 – pH, Alcalinidade e Acidez no Teste I a 25 °C.

Reatores	pH		AV		AT		AV/AT	
	In	Fin	In	Fin	In	Fin	In	Fin
A	7,14 (0.05)	7,07 (0.03)	400 (0)	580 (0.22)	6560 (0.6)	10100 (1.85)	0,06	0,06
B	6,80 (0.01)	6,25 (0.01)	600 (0.2)	3060 (0.29)	4840 (0.6)	5480 (3.85)	0,12	0,56
C	6,58 (0.01)	4,21 (0.02)	520 (0.2)	5900 (1.61)	4020 (0.1)	ND	0,13	ND
D	6,32 (0)	4,13 (0.05)	860 (0.1)	6840 (4.58)	2660 (0.7)	ND	0,32	ND
E	7,68 (0.02)	7,03 (0.01)	440 (0)	410 (0.09)	9060 (2.7)	10630 (4.01)	0,05	0,04
F	7,64 (0.03)	7,03 (0.03)	420 (0.1)	430 (0.09)	5480 (1.8)	5050 (1.04)	0,08	0,09

In – Inicial; Fin – Final; AV – Ácidos Voláteis (mg CaCO₃ L⁻¹); AT – Alcalinidade Total (mg CaCO₃ L⁻¹); AV/AT – Relação Ácidos Voláteis/ Alcalinidade Total. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Tabela 6 – pH, Alcalinidade e Acidez no Teste II a 39 °C.

Reatores	pH		AV		AT		AV/AT	
	In	Fin	In	Fin	In	Fin	In	Fin
A	7,31 (0.02)	7,20 (0.05)	410 (0.05)	380 (0.22)	6480 (0.4)	6770 (2.57)	0,06	0,06
B	6,87 (0.07)	5,21 (0.03)	590 (0.15)	2090 (0.36)	4880 (0.4)	5350 (0.99)	0,12	0,40
C	6,58 (0.01)	4,30 (0.02)	580 (0.1)	5140 (3.8)	4040 (0)	ND	0,14	ND
D	6,38 (0.22)	4,23 (0.04)	850 (0.15)	4050 (0.68)	2690 (0.55)	ND	0,32	ND
E	7,63 (0.04)	7,21 (0.1)	460 (0.1)	120 (0.32)	9200 (2)	9400 (0.6)	0,05	0,02
F	7,58 (0.04)	7,27 (0.16)	400 (0)	200 (0.14)	5460 (1.7)	8680 (3.6)	0,07	0,02

In – Inicial; Fin – Final; AV – Ácidos Voláteis ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$); AT – Alcalinidade Total ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$); AV/AT – Relação Ácidos Voláteis/ Alcalinidade Total. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

O valor do pH é um dos principais fatores operacionais, e que mais afeta o processo biodigestão anaeróbia, a maioria dos microrganismos se desenvolve melhor em pH neutro. A faixa favorável de pH para obter a produção máxima de biogás no processo de biodigestão anaeróbia está entre 6,80 e 7,40 (APPELS et al., 2008), indicando haver condições pertinentes à degradação da matéria orgânica e o crescimento microbiano (KOTHARI et al., 2014). Reatores operados em pH menor que 6,50 ou acima de 8,00 podem comprometer a produção de metano (CHERNICHARO, 2007). A maioria dos valores iniciais de pH das amostras nos reatores (I e II) ficaram próximos da neutralidade, exceto os reatores C e D, que tiveram valores entre 6,32 a 6,58, pois, eram os que tinham maior concentração de CCe (Tabelas 5 e 6 – coluna 2).

O processo anaeróbio acarretou a manutenção ou um ligeiro decréscimo do pH nos reatores A, E e F, em ambos os testes, permanecendo na faixa ótima para o crescimento de bactérias metanogênicas produtoras de metano. Entretanto, nos reatores B, C e D com as maiores concentrações de CCe, houve um decréscimo significativo, chegando a valores de 5,21 a 6,25, 4,21 a 4,30, e 4,13 a 4,23, respectivamente (Tabelas 5 e 6 – coluna 3). Nesse sentido, as bactérias acidogênicas apresentam ótima faixa de pH de 5,50 a 6,50, e continuam suas funções até pH 4,50. Portanto, a queda do pH pode ser atribuída ao acúmulo de

ácidos voláteis, ocorrendo a acidificação dos reatores. De acordo com a literatura, a etapa final no processo de degradação anaeróbia da matéria orgânica denominada metanogênese, é permanentemente inibida em valores de pH inferiores a 5,50 (LACKNER et al., 2020). Pesquisas anteriores sobre co-digestão, relatam que um pH baixo de 6,60 induziu a inibição do crescimento das arqueas metanogênicas (SILVA et al., 2021).

Pode-se observar também que os reatores B, C e D apresentaram maiores valores finais de acidez (Tabelas 5 e 6 – coluna 5), isso está relacionado diretamente com os menores valores de pH ao final da operação. Esse fato pode estar relacionado à ação do C_{CE} na acidificação dos reatores. Entretanto, a alcalinidade tem a função de neutralizar os ácidos voláteis, e está relacionada à capacidade de tamponamento dos sistemas de biodigestão anaeróbia, considerada um bom indicador do equilíbrio ao processo (CHEN et al., 2023). Na Tabelas 5 e 6 – coluna 7 não foram detectados valores nos reatores C e D, pois a alcalinidade total em sistemas anaeróbios é determinada pela titulação da amostra até pH 4,30, e os valores estavam abaixo do determinado, impossibilitando de realizar análise dessas amostras. Haryanto et al. (2018), observaram acidificação dos reatores em co-digestão com capim-elefante e efluentes da produção animal em diferentes diluições, sem a presença de alcalinizantes, obtendo um pH final de 4,50 no período de batelada. Esses resultados indicam que a taxa de diluição influencia a acidez e a alcalinidade do substrato. O aumento da alcalinidade nas amostras finais (Tabelas 5 e 6 – coluna 7) pode estar relacionado ao alto teor de proteína presentes nas misturas iniciais (procedente do DB), uma vez que a decomposição dessas proteínas eleva a alcalinidade ao final do processo de digestão (RANJBAR et al., 2022).

Portanto, a acidez e alcalinidade são parâmetros importantes para a biodigestão anaeróbia. A relação AV/AT é útil para identificar a possível inibição que o excesso de acidificação desencadeia no processo de DA. A relação AV/AT é comumente utilizada como índice de estabilidade do processo em biodigestores, uma razão < 0,3 é considerada adequada para um processo estável de DA, valores superiores indicam acúmulo de ácido e ocorrência de distúrbios no processo de estabilidade da digestão, entretanto, valores inferiores garantem a manutenção do sistema tampão (PLATOŠOVÁ et al., 2021).

A relação AV/AT final dos testes das configurações avaliadas (A, E e F) foi inferior a 0,3, indicando estabilidade do processo durante o experimento. Já nos outros reatores, os valores finais de AV/AT foram superiores ou não detectado. Liu et al. (2014), afirmam que quando a proporção AV/AT é inferior a 0,3 a 0,4 o processo é considerado estável e sem o risco de acidificação. Seus resultados estão conforme os encontrados neste trabalho, os autores encontram em seu estudo sobre co-digestão valores muito inferiores, a maior relação encontrada foi de 0,04 durante o período experimental, o que ilustrou a alta estabilidade do sistema anaeróbio.

Além disso, os produtos intermediários, como ácidos graxos voláteis (AGV), são importantes de serem monitorados, pois são afetados pelo pH inicial. Os AGV estão envolvidos na via metabólica na produção de biogás e podem causar estresse microbiano em altas concentrações. Os ácidos acético, propiônico e butírico são os principais encontrados durante a biodegradação de ácidos graxos de cadeia longa. Os AGV devem estar em equilíbrio com a alcalinidade do sistema. A inibição do processo anaeróbio por AGV está associada ao pH, pois baixos valores de pH estão geralmente relacionados a altas concentrações de AGV, e, conseqüentemente, a falência do processo. O valor de pH é um dos mais importantes na produção de AGV (WAINAINA et al., 2019). De fato, alguns parâmetros operacionais desempenham um papel substancial na manipulação das vias microbianas e incluem o tipo de substrato, o pH e a temperatura aplicada (GHIMIRE et al., 2015). A temperatura é crucial durante a fermentação acidogênica, devido ao seu envolvimento direto tanto no crescimento microbiano quanto no metabolismo. Wainaina et al. (2019) relataram como a escolha da temperatura ótima de operação está relacionada ao pH em relação aos rendimentos dos AGV.

As Tabelas 7 e 8 apresentam os valores de AGV. O aumento da produção de AGVs nos reatores B, C e D em ambos os testes, pode ser decorrente a um desequilíbrio metabólico entre produtores e consumidores de ácido, afetando os microrganismos acetogênicos e metanogênicos (MATHAI et al., 2020). Além, do fator da queda acentuada do pH. Em níveis de pH abaixo da constante de dissociação (pK_a) dos AGVs, a maioria dos ácidos está na forma indissociada e pode prejudicar os microrganismos (WAINAINA et al., 2019). O microambiente ácido pode ser o resultado de um aumento na concentração dos AGVs nos reatores, o que pode reduzir a capacidade de tamponamento. O excesso de AGVs advém a perturbar o equilíbrio do processo de digestão, inibindo assim os metanogênicos

(KUMAR et al., 2016). Geralmente, o efeito inibitório das concentrações de AGV inicia-se em 2000 mg L⁻¹ para ácidos acéticos ou 8000 mg L⁻¹ para AGV totais (KARTHIKEYAN e VISVANATHAN, 2013).

Tabela 7 – Análise de ácidos graxos voláteis (AGVs), no Teste I a 25 °C.

Reatores	In (mg L ⁻¹)				Fin (mg L ⁻¹)			
	Acet.	Prop.	But.	AGVs	Acet.	Prop.	But.	AGVs
A	945 (20.5)	192 (3)	446 (0.5)	1582 (23)	89 (17)	1317 (32)	112 (7)	1518 (22)
B	624 (1)	266 (1.5)	540 (5)	1430 (2.5)	2422 (4)	2022 (26)	921 (35.5)	5365 (65.5)
C	223 (2.5)	360 (5)	898 (23)	1481 (15.5)	1103 (79.5)	131 (6)	1172 (50.5)	2405 (23)
D	63 (7.5)	1107 (5.5)	953 (0.5)	2122 (13.5)	1221 (132.5)	266 (27.5)	1958 (72)	3444 (232)
E	999 (1.5)	189 (3.5)	522 (10)	1709 (15)	21 (1)	1006 (41.5)	364 (36)	1391 (6.5)
F	92 (0.5)	279 (0.5)	109 (2.5)	479 (1.5)	11 (1.5)	10 (3)	11 (0)	32 (4.5)

In – Inicial; Fin – Final; Acet. – Acetato; Prop. – Propionato; But. – Butirato. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Tabela 8 – Análise de ácidos graxos voláteis (AGVs), no Teste II a 39 °C.

Reatores	In (mg L ⁻¹)				Fin (mg L ⁻¹)			
	Acet.	Prop.	But.	AGVs	Acet.	Prop.	But.	AGVs
A	933 (32.5)	204 (8.5)	443 (3)	1579 (21)	110 (2.0)	659 (28)	377 (18)	1146 (48)
B	574 (51.5)	26 (6.5)	540 (5)	1374 (53)	1933 (21)	588 (30.5)	2096 (2)	4567 (49.5)
C	200 (25)	382 (16.5)	814 (61.5)	1395 (70)	2170 (109)	208 (22.5)	1917 (148)	4295 (38.5)
D	48 (22.5)	1132 (30.5)	1034 (81.5)	2213 (89.5)	2026 (63.5)	633 (20.5)	2813 (43)	5471 (0)
E	935 (62)	203 (17.5)	471 (41.5)	1608 (86)	29 (0)	41 (7)	28 (23)	98 (30)
F	77 (14.5)	296 (17.5)	118 (6.5)	490 (9.5)	18 (1.5)	2 (0)	0 (0)	20 (1.5)

In – Inicial; Fin – Final; Acet. – Acetato; Prop. – Propionato; But. – Butirato. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

O ácido butírico foi encontrado em maior quantidade ao final do teste II nos reatores B, C e D, seguindo pelo ácido acético e ácido propiônico (Tabela 8). As bactérias acetogênicas podem produzir hidrogênio e acetato a partir de ácidos orgânicos e carboidratos, no entanto, quando ocorre o acúmulo de ácido acético uma grande quantidade de hidrogênio é produzida, ocorrendo a diminuição do pH no reator (HARIRCHI et al., 2022). Nos digestores anaeróbios, o propionato pode ser fermentado por *Syntrophobacter wolinii* em acetato, que são bastonetes gram-negativos, móveis e estritamente anaeróbios e podem sobreviver em digestores na ausência de gás oxigênio. No entanto, se o propionato não for fermentado por esses tipos de bactérias, ele se acumulará nas células. O acúmulo de propionato é um indicador de estresse nos sistemas anaeróbios. Assim como o propionato, o acúmulo de butirato indica uma situação estressante nos digestores anaeróbios.

As bactérias fermentativas ou acidogênicas são menos sensíveis e podem se adaptar a maiores variações de pH entre 4,00 e 8,50. Baixos valores de pH são produzidos os ácidos acéticos e butíricos, enquanto em pH próximo a 8,00 os principais produtos são os ácidos acético e propiônico (KUNZ et al., 2019). Comparando os resultados entre os testes, observamos que nos reatores A, E e F (Teste II), o valor total de AGV e o teor de acetato diminuíram à medida que as bactérias acidogênicas e acetogênicas deram lugar a bactérias metanogênicas, que por sua vez, utilizaram cada vez mais o acetato disponível para produzir metano. Conseqüentemente, houve o consumo positivo do acetato nos reatores citados. O acetato é o precursor mais importante da produção de metano durante a degradação da biomassa ou através do tratamento de resíduos em ambientes anaeróbios, por fim, os microrganismos metanogênicos acetoclásticos contribuem para a produção de metano (WEI et al., 2020).

Outro fator que resultou na diferença de redução dos AGV entre os testes foi provavelmente a diferença de temperatura. Os microrganismos metanogênicos operam de forma ótima numa faixa de temperatura mesófila de 35 a 40 °C, obtendo eficiência na produção de CH₄ (MUTUNGWAZI et al., 2023). Nesse sentido, na faixa mesófila, há uma ação ativa de enzimas microbianas.

Conforme Yasin et al. (2013), a variação de pH e AGV pode afetar a atividade dos microrganismos metanogênicos no sistema anaeróbio. Os valores dos AGVs na saída dos reatores A, E e F no teste II mantiveram-se entre 20 a 1.146 mg L⁻¹, faixa considera adequada por Holliger et al. (2016) ao avaliar a estabilidade de

um processo anaeróbio. Sicchieri et al. (2022) realizaram ensaios de digestão anaeróbia e seus resultados apresentaram pH entre 7,00 e 8,50, alcalinidade total acima de 3000 mg L⁻¹ e AGV abaixo de 1.000 mg L⁻¹, valores próximos encontrados neste estudo, nos reatores A, E e F no teste II. De acordo com Cirne et al. (2007), a concentração de AGV deve atingir o nível de 2.000 mg L⁻¹, para ocorrer inibição nos reatores. Em nosso estudo, as faixas de concentrações de AGV nos reatores B, C e D (Teste I e II) foram acima, portanto, um efeito inibitório significativo foi observado. Por fim, a concentração de ácido acético no início do experimento diminuiu nas amostras finais dos reatores A, E e F (Teste I e II) ou seja, os AGVs não se acumularam no sistema, tendo sido consumidos e transformados principalmente em CH₄ e CO₂.

3.2.2 Sólidos Totais (ST), Fixos (SF) e Voláteis (SV); Sólidos Solúveis (°Brix) e Energia Bruta

Nas Tabelas 9 e 10 apresentam-se os valores para análise de sólidos totais (ST), sólidos voláteis totais (SV) e sólidos fixos totais (SF) encontrados no início e final dos testes, observadas em cada uma das condições experimentais. A concentração ótima de sólidos na digestão anaeróbia em testes de batelada não deve exceder 10%, pois é importante assegurar a transferência de massa adequada durante o processo (KUNZ et al., 2019). Os valores de ST iniciais nos reatores estiveram em 2,25 a 6,55% (Teste I) e 2,24 a 6,66% (Teste I) (Tabelas 9 e 10 – coluna 2). Conforme a norma VDI 4630 (2016) que estabelece orientações para realização de testes de fermentação de materiais orgânicos, os testes em batelada trazem informações fundamentais sobre a possibilidade de produção de biogás e a degradação biológica de um determinado material ou mistura de matérias.

O processo de degradação da matéria orgânica nos reatores foi analisado através da taxa de remoção de ST após a digestão anaeróbia. No teste I à 25 °C (temperatura ambiente), foram encontrados valores de remoção de 7,3, 11,3, 11,2, 9,9, 11,8 e 10,8%, nos respectivos reatores, A, B, C, D, E e F (Tabela 9 – coluna 4). Já no teste II à 39 °C (dentro da faixa mesófila) foram encontrados valores de remoção de 33,2, 16,8, 6,5, 7,4, 47,9 e 30,1%, nos respectivos reatores, A, B, C, D, E e F (Tabela 10 – coluna 4). O teste II apresentou maiores valores de remoção de ST, no qual, o reator A com 20% de C_{Ce} obteve um valor satisfatório, assim como

os reatores E e F. Por outro lado, quando os reatores foram operados à temperatura ambiente, menores percentuais de ST foram encontrados. Esse fato ocorre porque torna-se mais difícil a degradação da matéria orgânica presente, o que pode ocasionar uma ineficiência no processo, e acúmulo de material junto no fundo dos reatores.

Tabela 9 – Análise de Série de Sólidos e taxa de remoção, no Teste I a 25 °C.

Reatores	ST (mg L ⁻¹)			SF (mg L ⁻¹)			SV (mg L ⁻¹)		
	In	Fin	R (%)	In	Fin	R (%)	In	Fin	R (%)
A	57504 (0.14)	52669 (0)	7,3	12820 (0)	12412 (0.01)	3,2	44684 (0.14)	40258 (0.02)	10,0
B	53061 (0.03)	47050 (0.21)	11,3	13043 (0.01)	12452 (0.01)	4,5	40019 (0.02)	34597 (0.2)	13,5
C	43777 (0.02)	38891 (0.02)	11,2	14937 (0.06)	13902 (0)	6,9	28839 (0.04)	24989 (0.02)	13,3
D	40320 (0.03)	36163 (0.02)	9,9	14765 (0.06)	14095 (0.01)	4,5	25555 (0.02)	22069 (0.03)	13,6
E	65521 (0.06)	57808 (0.06)	11,8	13495 (0.08)	12153 (0.02)	10,0	52026 (0.14)	45655 (0.04)	12,3
F	22520 (0.03)	20095 (0.03)	10,8	5540 (0.01)	5154 (0.03)	7,0	16980 (0.04)	14940 (0)	12,0

In – Inicial; Fin – Final; R % – Remoção; ST – Sólidos Totais; SF – Sólidos Fixos; SV – Sólidos Voláteis. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Tabela 10 – Análise de Série de Sólidos e taxa de remoção, no Teste II a 39 °C.

Reatores	ST (mg L ⁻¹)			SF (mg L ⁻¹)			SV (mg L ⁻¹)		
	In	Fin	R (%)	In	Fin	R (%)	In	Fin	R (%)
A	57474 (0.02)	38410 (0.04)	33,2	14082 (0.05)	9782 (0)	30,5	43392 (0.03)	28628 (0.04)	34,0
B	52146 (0.15)	43351 (0.13)	16,8	11780 (0.05)	10024 (0.07)	14,9	40366 (0.1)	33327 (0.06)	17,4
C	44484 (0.26)	41578 (0.09)	6,5	15428 (0.06)	13483 (0.03)	12,6	29055 (0.2)	28095 (0.12)	3,3
D	40431 (0.23)	37447 (0.05)	7,4	14746 (0.32)	13676 (0.01)	7,2	25685 (0.09)	23770 (0.06)	7,5
E	66604 (0.18)	34696 (0.02)	47,9	14558 (0.22)	7336 (0.01)	49,6	52046 (0.04)	27360 (0.01)	47,4
F	22496 (0.06)	15730 (0.03)	30,1	5724 (0.09)	3387 (0.05)	40,8	16772 (0.15)	12344 (0.02)	26,4

In – Inicial; Fin – Final; R % – Remoção; ST – Sólidos Totais; SF – Sólidos Fixos; SV – Sólidos Voláteis. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Desse modo, a temperatura na digestão anaeróbia interfere no crescimento microbiano e, portanto, afeta a estabilidade do processo e a taxa de degradação (NWOKOLO e ENEBE, 2024). Tufaner e Avşar (2016) avaliou os efeitos do co-substrato na produção de biogás a partir de esterco bovino assim como Karki et al. (2021) analisou o estado atual e perspectivas da co-digestão anaeróbia, e concluíram que a maioria dos estudos anaeróbios foram realizados em condições mesófilas mantidas entre 35 e 37 °C.

Temperaturas muito elevadas, os sólidos voláteis podem ser esgotados, afetando a produção de biogás (MEEGODA et al., 2018). A temperatura termofílica de 45 a 57 °C é sensível ao processo e pode levar ao aumento da inibição da amônia e a alta temperatura pode afetar negativamente os microrganismos (MAHMUDUL et al., 2021). Assim, as condições mesófilas do processo anaeróbio são mais amplamente utilizadas em comparação com a temperatura ambiente devido maior eficiência no processo de degradação da matéria orgânica e produção de metano, e em comparação com a condição termofílica devido à maior estabilidade do sistema e ao baixo custo do gerenciamento da operação.

Para cada tratamento, o teor de SV mg L^{-1} foi medido no início e no final do experimento, a fim de estimar a remoção % SV (Tabelas 9 e 10 – coluna 10). A remoção de matéria orgânica nos reatores de SV variou de 10,0 até 13,6% para os diferentes tratamentos no Teste I. Entretanto, no Teste II a eficiência da remoção do % SV foi superior, os reatores A, B, E e F obteve valores de 34,0, 17,4, 47,4 e 26,4%, respectivamente. A menor remoção do % SV no Teste II foi observada no tratamento C (3,3%) e D (7,5%), o que pode ser explicado pela maior quantidade de CCe na co-digestão dos reatores, o que ocasionou a acidificação dos mesmos e, conseqüentemente, menor produção de metano.

O teor de sólidos voláteis é a unidade base comumente usada para relatar o rendimento de metano, portanto, é comum ver o rendimento de metano expresso em L kg^{-1} SV. Nesse sentido, Sun et al. (2019) e Wang et al. (2019), indicaram que a produção de metano está diretamente ligada à remoção de matéria orgânica. Um indicador de redução de matéria orgânica é tipicamente a eficiência de remoção da série de sólidos. Os principais objetivos da co-digestão anaeróbia são a produção de biogás e a redução de matéria orgânica. Portanto, a proporção de mistura de 20% CCe e 80% e ARBL para co-digestão anaeróbia na temperatura mesófila pode ser adequada para produção de biogás e remoção de matéria orgânica.

O CCE no estado líquido utilizado nas misturas da co-digestão, contém em sua composição os sólidos solúveis totais, que correspondem aos açúcares presente no caldo, como a sacarose, a glicose e a frutose, e os não açúcares (orgânicos e inorgânicos), tais carboidratos solúveis são altamente biodegradáveis na digestão anaeróbia (LOPES e BARLAZ, 2016). Já a celulose, a hemicelulose e a lignina são consideradas componentes não solúveis, pois apresentam estrutura refratária robusta para biodegradação (LI et al., 2018). A medida dos sólidos solúveis é denominada °Brix. Os resultados de teor total de sólidos solúveis (°Brix) das amostras influenciadas pelos diferentes reatores estão na Tabela 11.

Tabela 11 – Análise do teor total de sólidos solúveis (°Brix), nos Testes I e II.

Reatores	°Brix			
	Teste I		Teste II	
	In	Fin	In	Fin
A	2,70 (0)	2,50 (0.07)	2,70 (0)	0,33 (0.08)
B	3,20 (0)	2,73 (0.08)	3,20 (0)	0,58 (0.08)
C	4,25 (0.05)	3,23 (0.08)	4,25 (0.05)	3,70 (0.41)
D	4,90 (0)	3,10 (0.07)	4,95 (0.05)	4,08 (0.04)
E	1,55 (0.05)	1,53 (0.04)	1,60 (0)	0,05 (0.05)
F	2,20 (0.1)	1,23 (0.04)	2,25 (0.05)	0

In – Inicial; Fin – Final. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Os valores iniciais de °Brix encontrados nas misturas dos reatores foram muito próximos nos dois testes. O que diferenciou entre os testes nas amostras finais foi o consumo dos carboidratos solúveis no processo de co-digestão. Conforme a Tabela 11 os resultados demonstram maior consumo de °Brix no Teste II. Nota-se, que em ambos os testes os reatores C e D apresentavam as maiores quantidades de sólidos solúveis nas amostras finais, provavelmente devido à mudança nas rotas metabólicas, que pode ser explicado em razão da fermentação ácida e ao acúmulo de ácido acético e butírico. Nesses reatores é possível perceber

o aumento da produção de AGVs (Tabelas 7 e 8) pela tendência da redução do pH, bloqueando a metanogênese e ocorrendo o “azedamento” do meio.

Embora os resíduos ricos em carboidratos tenham potencial para serem utilizados na produção de biogás, eles podem produzir mais ácido durante a digestão e reduzir a faixa de pH, impedindo a produção de hidrogênio, e como resultado afetando as bactérias na fase acidogênese que utilizam o substrato para produção de metano (KIM e LEE 2010). Segundo Jain et al. (2015), verificou-se que apesar dos materiais ricos em carboidratos serem importantes fontes de matéria orgânica na digestão anaeróbia, os mesmos compostos possuem rápida conversão em ácidos voláteis, o que propicia a queda do pH no sistema, prejudicando a produção de biogás.

No entanto, no reator A e B do Teste II, a taxa de °Brix foi reduzida, assim como, nos reatores E e F. No reator A além da redução efetiva sólidos solúveis, foi possível verificar que o pH se manteve constante, houve a redução total de AGV e a taxa de remoção de ST foi positiva, dando indícios da produção melhorada de biogás em co-digestão anaeróbia. Em oposição, o reator B do Teste II ocorreu a redução do pH, o aumento do AGV e a taxa de remoção de ST foi de apenas 17,4%.

O conhecimento sobre os diferentes teores de sólidos e as características da composição química das amostras é fundamental para avaliar o potencial de biogás nos reatores, pois a energia contida nas misturas é diretamente proporcional ao seu poder calorífico, daí a importância do conhecimento dessa propriedade para sua avaliação como insumo energético. A potencialidade das amostras como combustível ou fins energéticos depende basicamente dos conhecimentos oferecidos pela análise proximal (umidade, cinzas, matéria volátil e teor de carboidratos). O teor de cinzas representa a matéria inorgânica nos substratos, que é deixada após a digestão anaeróbia. Os reatores A, E e F no Teste II apresentaram maiores taxas de remoção dos SF% (Tabela 10 – coluna 7). Menor teor de cinzas no substrato final é mais adequado para a produção de biogás (STEFFEN et al., 2016). Quantidades elevadas de cinzas reduz o valor calorífico (RUSCH et al., 2021).

A análise de energia bruta (EB), ou calor de combustão, pode ser considerada um parâmetro adequado para avaliar o potencial energético das misturas na co-digestão anaeróbia. Análise é definida como a energia química total presente na amostra, obtida pela combustão completa deste em bomba calorimétrica. Dessa maneira, avaliou-se a energia consumida nos reatores (Teste I

e II), onde o benefício energético presente na amostra inicial e consumida durante a co-digestão, e transformada na forma de biogás em cada ensaio experimental. Na Tabela 12 demonstram os valores EB inicial e final contida em cada reator, nas duas condições de temperatura. Os balanços de energia nas diferentes condições foram analisados para avaliar a eficiência de conversão de energia do processo como um todo

Tabela 12 – Análise de Energia Bruta nos Testes I e II.

Reatores	Energia Bruta (cal g ⁻¹)					
	Teste I			Teste II		
	In	Fin	EC (%)	In	Fin	EC (%)
A	1136 (3.46)	1020 (22.01)	10,2	1136 (3.46)	671 (6.03)	40,9
B	722 (1)	678 (2.5)	6,1	722 (1)	621 (0.19)	13,9
C	707 (1)	693 (1.05)	2,0	707 (1)	578 (0.11)	18,2
D	677 (3)	647 (7.5)	4,4	677 (3)	625 (0.02)	7,7
E	1212 (3.46)	1069 (10)	11,8	1212 (1)	642 (1)	47,0
F	769 (3.46)	651 (11.15)	15,3	769 (1)	632 (0.92)	17,8

In – Inicial; Fin – Final; Ec (%) – Energia Consumida. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Conforme a Tabela 12, o percentual de energia consumida foi maior no Teste II, nota-se, que no reator A e E apresentaram maior eficiência do processo de conversão energética. Os valores próximos entre os reatores citados, reforça o potencial da proporção dos substratos (CCe e ARBL) em co-digestão observado no reator A. A co-digestão anaeróbia se destaca pela eficiência na conversão de matéria orgânica em energia na forma de biogás rico em metano (MASUD et al., 2023; PARANJPE et al., 2023). Ignatowicz et al. (2022), afirmam que transformar resíduos em energia através da produção de biogás não é apenas uma opção viável com enorme potencial para reduzir ou mesmo eliminar a dependência de

combustíveis fósseis, mas também uma forma sustentável e eficiente de produzir energia descentralizada com uma menor pegada de carbono.

3.2.3 Proteína Bruta (PB), Nitrogênio (N), Carbono (C) e Relação C: N

A composição dos substratos influencia o rendimento de biogás, a quantidade de metano e a taxa de degradação da biomassa. Os nutrientes mais importantes nos substratos são carboidratos, proteínas e lipídios, que durante o processo anaeróbio sofrem degradação e conversão em metabólitos simples, gerando gases incluindo CH_4 e CO_2 (LIANG et al., 2021). A etapa responsável por essas reações é a hidrólise, onde as macromoléculas na forma de carboidratos, lipídios e proteínas são quebradas em monossacarídeos, ácidos graxos de cadeia longa e aminoácidos, respectivamente, que podem passar facilmente pela membrana celular (WAINAINA et al., 2019).

Águas residuárias da bovinocultura são exemplos de resíduos orgânicos com alto teor de proteína, conseqüentemente são ricos em energia e produzem uma quantidade relativamente alta de metano no biogás (HAGOS et al., 2017). As amostras iniciais dos reatores A e E apresentam maiores concentrações de proteína bruta, isso devido à maior quantidade de dejetos bovinos presente na mistura. O teor da proteína foi menor nos demais reatores conforme o aumento da diluição das misturas com CCE, conforme as Tabelas 13 e 14 – coluna 2. Estudos confirmam que o alto teor de proteína eventualmente acarreta falha na digestão anaeróbia devido à formação de ácidos graxos de cadeia longa e também ao elevado valor de nitrogênio presente no substrato, o que pode levar a um alto nível tóxico de amônia (ZAHAN et al., 2018).

A maioria dos estudos de co-digestão tem se concentrado em dejetos bovinos, suínos e de aves como principais fontes de substrato animal. Tais resíduos apresentam altas concentrações de nitrogênio (N), portanto, pesquisadores estão empenhados em selecionar outros substratos com altos teores de carbono (C), buscando o equilíbrio da relação carbono-nitrogênio (C: N) na mistura de co-substratos. Isso explica o motivo do processo de mono-digestão ter uma baixa relação C: N, e ser prejudicial aos microrganismos e limitar o processo de DA (KARKI et al., 2021). Zahan et al. (2018), afirmam que, devido à menor relação C: N (7.2–7.7), a mono-digestão de resíduos animais geralmente leva à toxicidade de

amônia e subsequente instabilidade do processo. Já pesquisas a partir de biomassa lignocelulósica direcionadas a produção de biogás, aponta a necessidade de pré-tratamento da biomassa para melhorar sua biodegradabilidade (ABRAHAM et al., 2020).

Tabela 13 – Análise do balanço de compostos nitrogenados e orgânico, no Teste I.

Reatores	PB (mg L ⁻¹)		N (mg L ⁻¹)		C (mg L ⁻¹)		C: N	
	In	Fin	In	Fin	In	Fin	In	Fin
A	7400 (0.04)	7200 (0.06)	1184 (0.01)	1152 (0.01)	15189 (0.07)	13139 (0.01)	12,8	11,4
B	4950 (0.01)	4550 (0.04)	792 (0.2)	728 (0.01)	13029 (0.01)	10519 (0.09)	16,5	14,4
C	4000 (0.01)	4600 (0)	640 (0.1)	736 (0.0)	7853 (0.02)	6070 (0.01)	12,3	8,2
D	3600 (0.01)	3950 (0.01)	576 (0.1)	632 (0.0)	6332 (0.01)	4718 (0.01)	11,0	7,5
E	7250 (0.01)	8050 (0.03)	1160 (0,2)	1288 (0,2)	18588 (0.07)	15638 (0.02)	16,0	12,1
F	5250 (0.06)	3900 (0.1)	840 (0.01)	624 (0.1)	2362 (0.02)	1417 (0.1)	2,8	2,3

In – Inicial; Fin – Final; PB – Proteína Bruta; N – Nitrogênio; C – Carbono. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Tabela 14 – Análise do balanço de compostos nitrogenados e orgânico, no Teste II.

Reatores	PB (mg L ⁻¹)		N (mg L ⁻¹)		C (mg L ⁻¹)		C: N	
	In	Fin	In	Fin	In	Fin	In	Fin
A	7500 (0.03)	7950 (0.05)	1200 (0.1)	1272 (0.01)	15241 (0.14)	9286 (0.01)	12,7	7,3
B	5100 (0.01)	6250 (0.02)	816 (0.01)	1000 (1)	13189 (0.05)	9930 (0.03)	16,2	9,9
C	4000 (0.01)	4800 (0)	640 (0.01)	768 (1)	7953 (0.09)	7508 (0.06)	12,4	9,8
D	3600 (0.01)	3800 (0)	576 (0.01)	608 (0.2)	6392 (0.04)	5506 (0.03)	11,1	9,1
E	7250 (0.01)	8550 (0.03)	1160 (0.01)	1368 (1)	18597 (0.02)	7168 (0)	16,0	5,2
F	5400 (0.04)	6300 (0.0)	840 (0.01)	1008 (1)	2265 (0.07)	215 (0.01)	2,6	0,2

In – Inicial; Fin – Final; PB – Proteína Bruta; N – Nitrogênio; C – Carbono. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Como solução dos problemas citados, a co-digestão viabiliza o desempenho da digestão, equilibrando a relação C: N e aumentando a população microbiana (XIE et al., 2018; ZHOU et al., 2021). Os valores iniciais de N e C são indicados nas Tabelas 13 e 14, representando aos níveis de nutrientes das misturas para co-digestão anaeróbia. Em termos de bactérias na digestão anaeróbia, o carbono e o nitrogênio representam fontes de energia e nutrientes necessários para o crescimento, respectivamente (SALANGSANG et al., 2022).

Conforme Kunz et al. (2019), para um ótimo processo de fermentação a relação C: N nas etapas da hidrólise e acidogênese é entre 10–45, e para as metanogêneses de 20–30. A faixa ótima de C: N convencionalmente recomendada para a produção eficiente de biometano registrada na literatura é de 20–30 (WANG et al., 2012; SHAHBAZ et al., 2020). Os valores iniciais da relação C: N foram próximos nos dois testes, conforme seus respectivos reatores. A maioria dos reatores apresentaram relação C: N acima de 10, exceto o reator F. Alta relação C: N é indicativo de deficiência no N disponível para atividade microbiana, enquanto baixa relação C: N sugere fonte de energia insuficiente para o ambiente microbiano (OJEDIRAN et al., 2021).

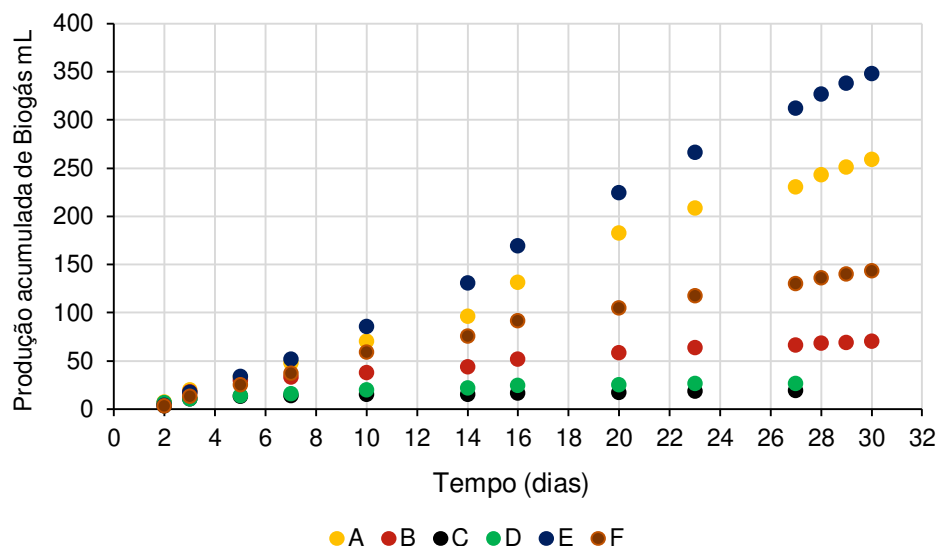
Percebe-se uma redução na relação C: N final no teste II, justificado pela temperatura adequada para atividade microbiana anaeróbia, e atribuída à alta degradabilidade do teor de sólidos orgânicos na mistura, conforme visto na Tabela 10 – coluna 10. A co-digestão de dejetos animais com substratos ricos em carboidratos tem o potencial de aumentar a degradabilidade do substrato e promover a eliminação de SV (HAMZAH et al., 2024). Desse modo, a eficiência da remoção de SV, serve como indicativo da conversão substancial de resíduos orgânicos em metano. Também podemos concluir que a redução está relacionada ao modo de alimentação dos reatores, nossos testes em batelada não houve alimentação diária de carga orgânica.

3.2.4. Efeito da Co-digestão na Produção de Biogás e Metano

A produção acumulada de biogás a partir de misturas de CCE com ARBL durante os ensaios de batelada, para cada teste, é mostrada nas Figuras 7 e 8. Nos reatores com maior proporção de ARBL, a produção de biogás foi maior. Tendências opostas foram apresentadas ao aumentar a proporção de CCE na razão de mistura.

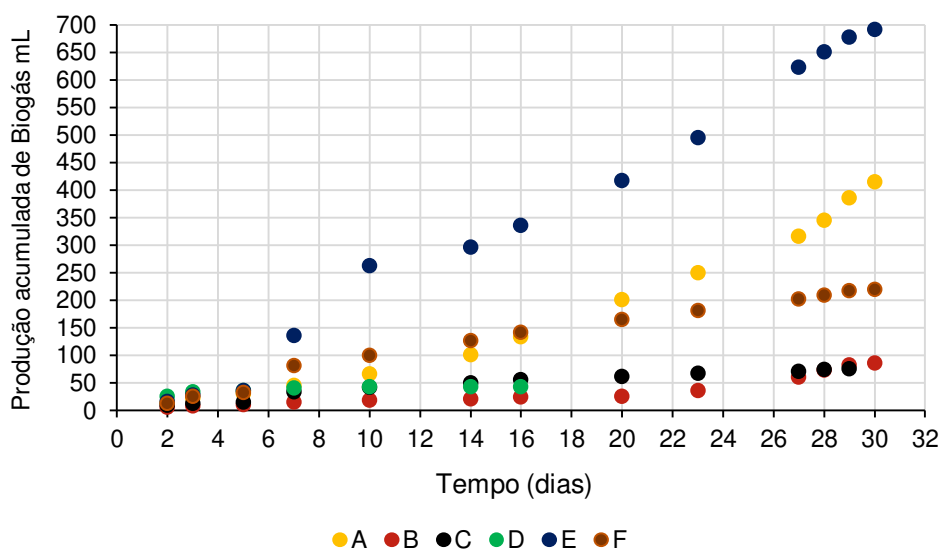
No Teste I os reatores C e D, após 27 dia a produção de biogás foi zero. No Teste II, o reator D encerrou após 16 dias, e o reator C após 28 dias, pois não estavam mais produzindo biogás.

Figura 7 – Produção do volume acumulado de biogás no ensaio em batelada, Teste I à 25 °C.



Proporções de substratos nos reatores: (A) – 20 CCe/80 ARBL; (B) – 40 CCe/60 ARBL; (C) – 80 CCe/20 ARBL; (D) – 100 CCe/0 ARBL; (E) – 0 CCe/100 ARBL; (F) – Inóculo. CCe – caldo do capim-elefante; ARBL – águas residuárias de bovinocultura leiteira.

Figura 8 – Produção do volume acumulado de biogás no ensaio em batelada, Teste II à 39 °C.



Proporções de substratos nos reatores: (A) – 20 CCe/80 ARBL; (B) – 40 CCe/60 ARBL; (C) – 80 CCe/20 ARBL; (D) – 100 CCe/0 ARBL; (E) – 0 CCe/100 ARBL; (F) – Inóculo. CCe – caldo do capim-elefante; ARBL – águas residuárias de bovinocultura leiteira.

Pode-se observar que o aumento do teor de CCE na mistura resultou em produção mais lenta de biogás no processo de co-digestão. As proporções (CCE/ARBL) de 40/60 (B) e 80/20 (C) foram ineficientes no processo de co-digestão, a concentração de CCE na mistura inviabilizou a produção de biogás. Esse fato pode ser comprovado ao compararmos com os resultados encontrados no reator D sem a presença de ARBL. Nesse respectivo reator, contendo apenas CCE e inóculo, em ambos os testes foi mínimo a produção de biogás, sendo encerrado antes do período experimental de 30 dias.

Embora o CCE remanescente seja considerado um subproduto da cadeia de bioenergia e um substrato líquido rico em carbono e minerais, o baixo pH e o elevado teor de acidez na composição do CCE diminuem a velocidade do processo de digestão devido ao aumento de AGVs, o que o torna resistentes ao processo biológico (HUANG et al. 2019). Portanto, a falha na mono-digestão de CCE (reator D) e da co-digestão (reator B e C) na produção de biogás nos dois testes, deve-se ao acúmulo de AGV resultante da quebra do açúcar em ácido orgânico (MUENMEE et al., 2021), ou seja, houve uma rápida conversão da matéria orgânica, diminuindo o valor de pH no sistema, contribuindo para acidificação e causando falha do digestor (ANUKAM et al., 2019). Altos níveis de açúcares simples podem resultar em rápido acúmulo de AGV no reator, baixo pH e supressão da metanogênese.

A parte desafiadora do processo de co-digestão é a proporção dos diferentes substratos. Para o funcionamento equilibrado de reatores anaeróbios, recomenda-se misturar a matéria-prima contendo altas quantidades de carboidratos simples com resíduos orgânicos degradáveis. A mono-digestão de ARBL (reator E) já é bem conhecida na literatura (MENDONÇA et al., 2017; MUTUNGWAZI et al., 2023; ALKHRISSAT, 2024), os valores encontrados de biogás ficaram de acordo com o que já foi publicado, como no Teste II operado na temperatura mesófila. Em ambos os testes, o reator A, com proporção (CCE/ARBL) de 20/80, apresentou os melhores resultados na produção diária e acumulada de biogás. Referente às amostras em co-digestão, notamos que o aumento do teor de ARBL proporcionou uma produção de biogás mais rápida devido aos componentes orgânicos altamente degradáveis, quando adicionado uma menor quantidade de CCE. Neste caso, a biodegradabilidade e biodisponibilidade na proporção de 20/80 (CCE/ARBL) favoreceram o retarda a hidrólise nos substratos, que por fim permitiram a otimização da produção de biogás (HAGOS et al., 2017).

Tendências semelhantes foram demonstradas por Ojediran et al. (2021), o estudo mostrou que o capim-elefante é um candidato adequado para a geração de biogás em co-digestão com dejetos suínos. Entretanto, os autores utilizaram a matéria-prima do capim triturado, assumindo que a composição química e estrutural da gramínea apresenta nutrientes e composição elementar necessários para a fermentação microbiana para a produção de bioenergia. O volume máximo encontrado nas diferentes proporções de capim e dejetos pelos autores foi de 553,24 mL g⁻¹ SV (50:50) e 574,28 mL g⁻¹ SV (75:25).

O volume acumulado de biogás e metano; o teor de CH₄; os valores de PBB e PBM são apresentados na Tabela 15. Os valores acumulados de biogás (mL) e CH₄ (mL) no reator F em cada teste, foram utilizados para o cálculo do PBB e PBM dos outros reatores em co-digestão e mono-digestão. por ser considerado o branco, com somente inóculo nos reatores.

Observa-se que o maior volume de biogás acumulado para o processo de co-digestão no Teste I é de 258,67 mL e no Teste II é de 414,11 mL, ambos no reator A. Enquanto o menor é no reator C, resultando 19,36 mL no Teste I e 75,80 mL no Teste II. O volume acumulado de CH₄ nos reatores em co-digestão B e C nos dois testes foi muito baixo, chegando próximo de 0. Já o reator A em temperatura mesófila alcançou valor considerável. A mono-digestão representada no reator E nos testes produziu alto biogás devido à abundância de microrganismos que facilitaram a produção de biogás (ALKHRISSAT, 2024). No entanto, embora a produção de biogás para mono-digestão seja a mais alta, o teor máximo de CH₄ (%) encontrado durante os 30 dias experimentais foi menor (61,00% - Teste I; 65,72% - Teste II), ao compararmos com os valores encontrados no reator A, operado em co-digestão (66,35% - Teste I; 69,15% - Teste II), como mostra a Tabela 15 – coluna 4. Isso confirma o potencial do estudo proposto em co-digestão entre CCE e ARBL, onde o aumento da produção de metano pode ser maximizado em diferentes fluxos hidráulicos e modelos de digestores anaeróbios.

O maior rendimento de metano da co-digestão obtido neste estudo foi superior ao relatado por Lianhua et al. (2020), que encontraram por meio da co-digestão anaeróbia de híbrido *Pennisetum* e dejetos de suínos teores de CH₄ de 59,87% e 60,29%. Entretanto, Ojediran et al. (2021) relataram que o teor médio de CH₄ variou de 63 a 69%, valores próximos ao encontrado em nosso estudo.

Tabela 15 – Produção de biogás e metano nos reatores. Efeito sinérgico da co-digestão anaeróbia.

Reatores	Vol. ac. Biogás (mL)	Vol. ac. CH ₄ (mL)	Teor máx. de CH ₄ (%)	PBB mL Biogás g ⁻¹ SV	PBM mL CH ₄ g ⁻¹ SV	Efeito
Teste I						
A	258,67 ^b (12.12)	127,11 ^b (9.07)	66,35	94,85	46,14	S
B	70,52 ^c (3.42)	6,58 ^c (0.56)	27,30	23,23	-0,63	A
C	19,36 ^d (1.99)	0,05 ^c (0.01)	0,91	3,10	-4,95	A
D	26,88 ^d (1.84)	0,02 ^c (0.01)	0,70	8,78	-5,65	A
E	347,65 ^a (16.33)	186,58 ^a (10.71)	61,00	110,39	59,10	S
Teste II						
A	414,35 ^b (19.08)	213,38 ^b (13.0)	69,15	156,79	80,64	S
B	86,00 ^c (6.15)	8,32 ^c (1.30)	33,70	27,61	-1,39	A
C	75,80 ^c (4.43)	1,33 ^c (0.09)	4,56	32,80	-6,34	A
D	43,42 ^d (8.18)	0,01 ^c (0.01)	0,07	20,30	-8,00	A
E	691,94 ^a (36.06)	389,40 ^a (22.62)	65,72	221,70	125,03	S

Vol. ac. – Volume acumulado; PBB – Potencial bioquímico de biogás; PBM – Potencial bioquímico do metano; S – Efeito Sinérgico; A – Efeito Antagônico. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão. Valores médios seguidos pelas mesmas letras em cada coluna e nos diferentes testes não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey com significância a 5% de probabilidade de erro.

A análise estatística indicou que, a um nível de 95% de confiança, a proporção entre substratos foi um fator com efeito estatisticamente significativo sobre o rendimento de biogás e metano. Uma das formas de avaliar a ação da co-digestão na produção de metano é através do estudo do efeito sinérgico dos substratos. O efeito sinérgico pode surgir da contribuição adicional de alcalinidade ao meio, do equilíbrio de nutrientes, no qual, resíduos com alto teor de proteína têm menos probabilidade de apresentar diminuição do pH nos testes PBM (FILER et al., 2019). O PBM calculado representa a quantidade máxima teórica de metano que pode ser produzida a partir da matéria orgânica, ou da mistura em co-digestão. Conforme a Tabela 15 o efeito sinérgico positivo, resultando em maior produção de

metano foi observado no reator A, na proporção de 20/80 (CCe/ARBL), assim como no reator E (mono-digestão). Portanto, conclui-se que o reator A (Teste II), comparando apenas o processo de co-digestão, é a melhor condição do teste PBM, pois foi a mistura que apresentou maior valor numérico de produção de CH₄.

Segundo SOLÉ-BUNDÓ et al. (2019), valores positivos indicam sinergismo, nesse caso a co-digestão gera mais metano do que o esperado, enquanto valores negativos indicam antagonismo, assim a co-digestão gera menos metano do que o esperado. Os efeitos antagônicos podem ocorrer devido a um desequilíbrio na relação C: N, excesso ou deficiência nas proporções de oligoelementos, toxicidade por amônia e alta concentração de AGV (HIMANSHU et al., 2018). Estudos anteriores indicam que a co-digestão de resíduos de animais, lignocelulósicos ou demais materiais orgânicos podem melhorar a produção de biogás e metano por meio da aplicação de experimentos com PBM (EBNER et al., 2016; HAGOS et al., 2017; ALKHRISSAT, 2024).

Os testes de PBM são promissores para caracterizar parâmetros e avaliar a melhoria na produção final de metano/biogás, uma vez que a composição de diferentes substratos orgânicos tem grande impacto na digestão anaeróbia. Os resultados de PBM podem fornecer dados para o estudo em modelos cinéticos com intuito de projetar reatores e prever rendimento de biogás e metano, reduzir os riscos de falha relacionados ao processo de co-digestão.

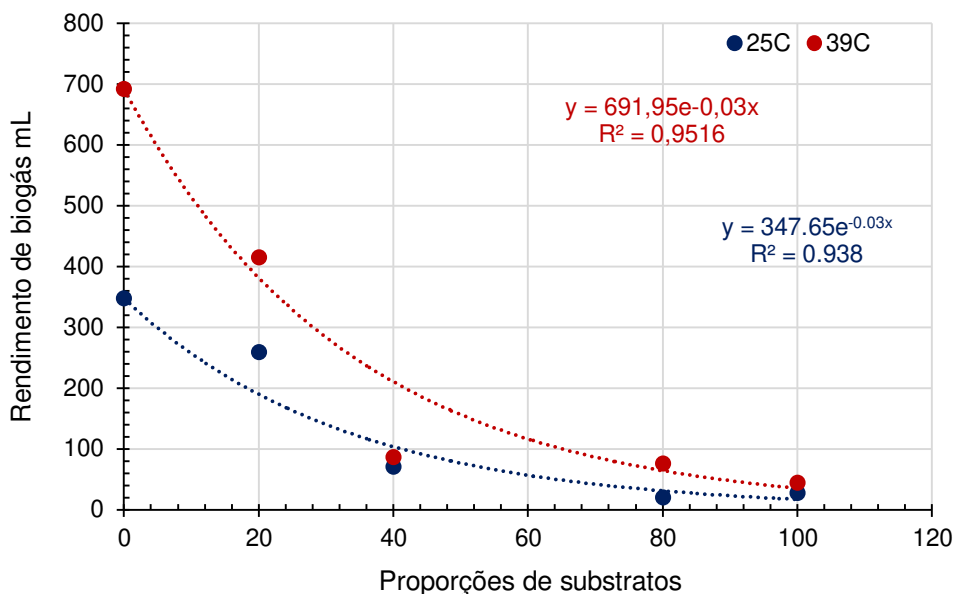
3.2.5. Modelos de regressão exponencial e interação de variáveis

Para aumentar a eficiência do desempenho da DA, é necessária uma previsão do rendimento de biogás em diferentes condições de trabalho, para obter respostas estipuladas da quantidade ideal dos substratos na mistura para co-digestão. Por exemplo, no presente estudo é interessante a resposta sobre a capacidade de suporte da quantidade em volume a ser utilizado no CCe durante a operação dos biodigestores para evitar falhas durante o processo.

Um conjunto de dados foi coletado dos estudos dos ensaios em bateladas da co-digestão anaeróbia em cinco tratamentos (E - 0 CCe/100 ARBL; A - 20 CCe/80 ARBL; B - 40 CCe/60 ARBL; C - 80 CCe/20 ARBL; D - 100 CCe/0 ARBL), avaliados a 25 e 39 °C. Um modelo de regressão exponencial simples foi estabelecido com base no conjunto de dados (Figura 9). A aplicação de modelos de

regressão e interações das variáveis com os dados selecionados resultou em duas equações, com valor de R^2 ajustado igual 0,9516 e 0,9380.

Figura 9 – Regressão exponencial da produção máxima de biogás em cada reator com suas devidas proporções CCe/ARBL em diferentes temperaturas.



Conforme a Figura 9, percebe-se que a temperatura apresentou alto impacto na produção de biogás durante a co-digestão, sugerindo ser um fator importante para prever o rendimento do reator. Elevados rendimentos de biogás foram registrados nos reatores A e E nos ensaios a 39 °C, em comparação com a temperatura ambiente. No entanto, com o aumento da concentração de CCe resultou em falha do sistema em ambas as temperaturas. Isso sugere a importância das interações entre a temperatura e as proporções dos substratos ao prever-se o rendimento de biogás. Utilizando as Eq. 1 e 2 é possível calcular os valores preditos pelo modelo para pontos que não estejam no planejamento experimental e compará-los com os dados observados empiricamente.

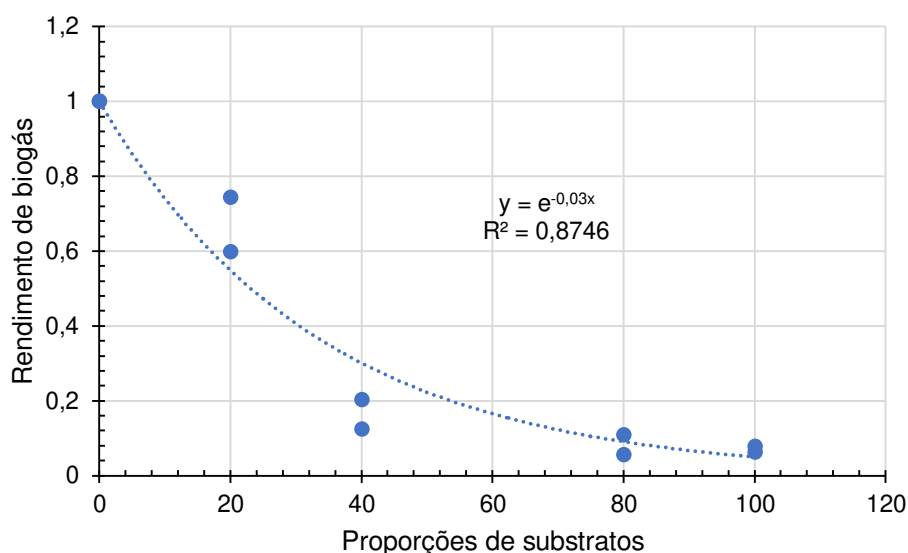
$$\text{Eq. (1)} \quad Y(i) = 691,95e^{-0,3x}$$

$$\text{Eq. (2)} \quad Y(i) = 347,65e^{-0,3x}$$

O uso de regressão com linha de tendência é uma alternativa atraente para predição de biogás devido à sua simplicidade e efetividade (MAO et al., 2017;

DUONG e LIM 2023). Vários modelos de regressão foram estabelecidos com base em fatores comuns, incluindo o tipo de substratos, taxa de carregamento da matéria-prima, pH inicial, temperatura etc.

Figura 10 – Modelo representando a influência das proporções CCo/ARBL na produção de biogás.



Outros estudos também utilizaram modelos de regressão, para estimar a produção de biogás: Lhanafi et al. (2018) estudaram o processo de co-digestão anaeróbia de resíduos lácteos utilizando reatores em batelada em condições mesófilas com temperaturas de 38 °C para investigar a relação entre três fatores (pH, taxa de carga e inóculo) e o rendimento de biogás usando um planejamento experimental. Mao et al. (2017) estudaram o desempenho do processo e otimização da produção de metano na co-digestão anaeróbia de dejetos de suínos e palha de milho, os autores desenvolveram um modelo para prever a produção de biogás com duas variáveis, pH inicial e relação dejetos de suínos/palha de milho. O experimento também foi realizado em batelada em frascos de vidro de 1 L em condições mesófilas, três proporções entre os substratos e diferentes valores iniciais de pH.

O estudo de regressão resultou em uma equação geral do coeficiente de decaimento (Figura 10), demonstram que o fator da proporção dos substratos foi que mais influenciou na produção de biogás, o modelo pode ser usado para prever os rendimentos de biogás em outras proporções. Entretanto, os modelos de regressão

foram baseados em resultados de estudos em batelada, que representaram o potencial de biogás dos substratos, em vez da produção real de gás no período de longo prazo.

3.3. Ensaio no Biodigestor UASB

Conforme foi observado no tópico 3.1 sobre o desempenho das condições experimentais do ensaio em batelada (Teste I e II) a concentração de mistura dos substratos no reator A teste II, apresentou melhores resultados tanto nas análises físico-química quanto na produtividade de biogás e metano. Neste contexto, a proporção de 20/80 (CCe/ARBL) foi utilizada no preparo das misturas para alimentação do biodigestor modelo UASB.

O biodigestor foi operado em seis fases, como demonstrado na Tabela 16. As duas primeiras dizem respeito à partida do sistema e as outras quatro à operação em fluxo semi-contínuo para testar diferentes TRHs. O arranque (*start-up*), ou seja, a partida do reator anaeróbio foi realizada primeiro enchendo-o com ARBL. Após 7 dias, uma análise cromatográfica revelou uma pequena concentração de CH₄ (fase I) e, no mesmo dia, um novo processo de inicialização foi feito, adicionando 1,56 L de inóculo, cerca de 20% da capacidade do reator (7,8 L). Após 7 dias de nova inoculação (fase II), foi obtida uma concentração de metano acima de 60% e, posteriormente, o reator UASB passou a ser alimentado no modo semi-contínuo.

Tabela 16 – Operação do reator anaeróbio UASB.

Fase - Operação	TRH Dias	Volume diário (L)	SV kg m ⁻³	COV kg SV m ⁻³ d ⁻¹	pH
I - Arranque	-	-	-	-	7,62
II - Arranque	-	-	-	-	7,20
III – Semi-contínuo	10	0,78	20,67	2,06	7,10
IV – Semi-contínuo	6	1,3	20,38	3,39	7,12
V – Semi-contínuo	2	3,9	20,80	10,40	7,12
VI – Semi-contínuo	1	7,8	20,70	20,70	7,10

TRH – Tempo de retenção hidráulica; SV – Sólidos Voláteis; COV – Carga orgânica volumétrica.

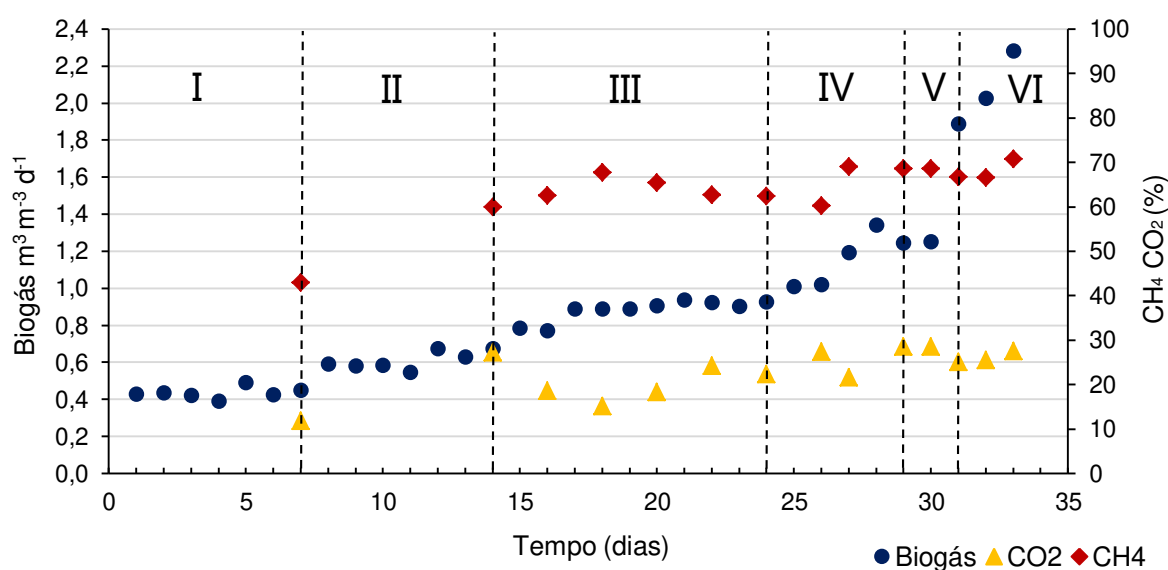
A produção da média de biogás e concentrações de metano conforme cada fase experimental estão representados na Tabela 17. A produção de biogás aumentou gradualmente com o aumento dos níveis de COV (Carga orgânica volumétrica), com volumes diários superiores a $1,0 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ obtidos nas duas últimas fases V e VI (Figura 11). Lianhua et al. (2020), investigaram o desempenho de diferentes proporções de mistura e taxa de carga orgânica de capim-elefante com dejetos suíno em co-digestão, e constataram que conforme a taxa de carga orgânica aumentava no biodigestor o rendimento volumétrico de biogás também foi crescente.

Tabela 17 – Remoção de sólidos, produção de biogás, concentração de CH_4 .

Fase	ST		SV		Média Biogás $\text{m}^3 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	CH_4 (%)
	In mg L^{-1}	R (%)	In mg L^{-1}	R (%)		
III	29844	53	20672	58	0,90	63
	(0.11)		(0.02)		(0.05)	(2.12)
IV	29030	42	20383	46	1,22	68
	(0.16)		(0.06)		(0.12)	(3.46)
V	30167	36	20794	45	1,96	69
	(0.04)		(0.19)		(0.07)	(0.64)
VI	29990	32	20717	29	2,28	72
	(0.02)		(0.13)		(0.03)	(0.40)

In – Inicial; R % – Remoção; ST – Sólidos Totais; SV – Sólidos Voláteis. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Figura 11 – Produção de biogás, concentrações de CH_4 e CO_2 , fases I a VI.



A produção de biogás durante as fases III – VI variou de 0,78 a 2,28 m³ m⁻³ d⁻¹ com concentrações médias de CH₄ de 63% (±2,12) a 72% (±0,40). Para o dióxido de carbono (CO₂), foram registradas concentrações entre 19% (±3,19) e 28% (±2,89) em operação semi-contínua (Figura 11).

Mendonça et al. (2017) operaram um reator anaeróbio UASB em monodigestão com águas residuárias da bovinocultura e alcançaram níveis de produtividade de biogás, de 1,20 e 1,40 m³ m⁻³ d⁻¹ aplicando cargas de 7,9 e 12,0 COV kg SV m⁻³ d⁻¹, com TRHs de 3 e 2 dias, respectivamente. Em comparação, nosso estudo de co-digestão (CCe/ARBL) a produção máxima de biogás foi de 2,28 m³ m⁻³ d⁻¹ obtida na fase VI. Em geral, o presente estudo mostra claramente uma melhora significativa do rendimento de biogás em co-digestão anaeróbia. As melhorias observadas nos rendimentos de biogás/metano têm sido amplamente atribuídas a efeitos aditivos ou sinérgicos de outras matérias-primas em co-digestão anaeróbia. Os SV foram removidos em 58, 46, 45 e 29%, com rendimentos correspondentes de metano de 0,46; 0,51; 0,28 e 0,27 m³ CH₄ kg⁻¹ SV removidos, respectivamente, nas fases III, IV, V e VI.

As taxas de remoção de ST e SV diminuíram com TRHs mais curtos e COV mais alto (Tabela 17). Isso pode ser explicado pelo aumento da biomassa microbiana no reator, que promoveu a saída de material biológico (lodo anaeróbio) junto com o efluente tratado, ocasionando um acúmulo de material, devido ao menor período disponível para degradação do substrato. A remoção do SV atingiu um pico de 58% na fase III e depois diminuiu sucessivamente para um mínimo de 29% na fase VI, para TRHs iniciais de 10 dias e finais de 1 dia (24 horas), respectivamente. O TRH desempenha um papel significativo tanto no tratamento de resíduos e águas residuais como também na produção de subprodutos preciosos pelos microrganismos, pois os mesmos precisa de seu tempo específico para consumir o substrato e sintetizar os nutrientes (NESHAT et al., 2017). Valores próximos a estes foram relatados por pesquisadores como: Mendonça et al. (2017), utilizando efluentes bovinos em reator UASB e Resende et al. (2015), operando um biodigestor escala piloto de 60 L em temperatura mesófila, também alimentado com efluente bovino.

A relação C: N das misturas de entrada foi de 15. Durante a co-digestão anaeróbia a média de C: N foi de: 7,6; 9,5; 9,2 e 11,6 durante o TRH das fases II, IV, V e VII, respectivamente. O valor de pH foi de 6,97; 7,24; 7,04 e 6,52, nas

respectivas fases II, IV, V e VII. O pH foi mudando ao longo do tempo, mas os valores estavam próximos do inicial. Embora tenham ocorrido algumas diminuições no pH, no geral, os valores ainda estavam na faixa ótima para o processo de biogás. A média do valor de alcalinidade das misturas de entrada para o reator foi de 3880 mg L⁻¹, os valores encontrados na saída (efluente) do reator em cada fase foram: 6025, 6840, 6370 e 6300 mg L⁻¹. A alcalinidade é definida como a capacidade de uma solução aquosa neutralizar ácidos, é um parâmetro influente no desempenho da digestão anaeróbia, substratos com alta alcalinidade podem manter um valor de pH ideal para a produção de metano (NESHAT et al., 2017).

Os AGVs são os produtos intermediários gerados pela via de produção de metano. O ácido acético, butírico e o propiônico são os principais produtos da digestão anaeróbia. O acúmulo de AGV diminui o pH e eventualmente ocasiona falha ao sistema (HARIRCHI et al., 2022). Conforme a Tabela 18 a produção de AGV na fase VI aumentou, isso pode ser resultado do TRH curto (NESHAT et al., 2017). Entretanto, percebe-se que nessa fase a produção de biogás e concentração de metano foi maior, devido a elevada carga orgânica na alimentação do reator num intervalo de tempo menor. Na fase III o TRH foi maior, notamos uma redução do ácido acetato e butirato, mais a o teor do ácido propionato ainda foi alta. Com a redução do TRH o valor de propionato aumento nas amostras finais de cada fase, isso porque elevadas concentrações de ácido propiônico são degradadas apenas lentamente. Feng et al. (2017) verificaram um aumento 1000 até 2500 mg L⁻¹ da concentração de ácido propiônico em Reatores de Tanques Agitados Contínuos (CSTRs), operados em co-digestão anaeróbia de dejetos bovinos e capim-braquiária,

Conforme FNR (2010), uma medida de estabilidade do processo anaeróbio consiste em reduzir a carga orgânica volumétrica quando diminui o volume carregado. É uma forma eficaz para aliviar o processo, sendo benéfica para a degradação dos ácidos graxos acumulados, portanto o ácido propiônico será degradado lentamente. Embora o ácido acético seja degradado rapidamente o teor de metano do biogás vai aumentar gradualmente. Os níveis de AGVs são bons indicadores do estado metabólico do processo de digestão anaeróbia e podem ajudar a detectar possíveis distúrbios no sistema (RUBIO et al., 2022).

Tabela 18 – Análise de ácidos graxos voláteis (AGVs), no Teste UASB.

Fases	Acet.	Prop.	But.	AGVs
In (mg L⁻¹)				
Mistura	298 (29.9)	165 (15.8)	476 (42.6)	938 (66.8)
Fin (mg L⁻¹)				
III	219 (34.7)	964 (118.5)	376 (67.7)	1553 (195.3)
IV	311 (189)	1089 (136)	232 (48)	1632 (5)
V	750 (41.4)	972 (30)	189 (61.3)	1913 (69.8)
VI	1110 (175.5)	1398 (268)	291 (10)	2799 (102.5)

In – Inicial, as misturas iniciais eram as mesmas, portanto foi feita uma média representando amostra; Fin – Final; Acet. – Acetato; Prop. – Propionato; But. – Butirato. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

O estudo sobre o balanço energético foi realizado no reator UASB através da análise de energia bruta das amostras de entrada e das amostras de saída em cada TRH. Nas misturas de entrada, a energia bruta foi de 506,24 cal g⁻¹. As amostras de saída no reator nos TRH de 10, 6, 2 dias e 24 h foram de: 260,13; 280,72; 377,58 e 341,33 cal g⁻¹. A energia bruta, ou calor de combustão, contida nas amostras é considerada um fator de sucesso para avaliar o potencial energético das misturas na co-digestão anaeróbia. A energia consumida na fase III com TRH de 10 dias foi maior, aproximadamente 52%. Isso é resultado do maior tempo de reação para a digestão anaeróbia dentro do reator, onde o biogás aumentou gradualmente e ocasionalmente proporcionou um volume de biogás acumulado maior durante essa fase. Já a eficiência de conversão de energia na fase VI, a energia consumida foi de 32,5%, e resultou num maior volume diário e concentração de CH₄ em 24 horas.

4. CONCLUSÕES

O estudo investigou o potencial de produção de biogás através da co-digestão do caldo do capim-elefante com águas residuárias de bovinocultura leiteira, dividido em duas fases: primeira fase com reatores em batelada testando duas temperaturas e diferentes proporções. O reator A com a proporção 20/80 (CCe/ARBL) a 39 °C, apresentou bom resultados nos parâmetros analisados, não afetando o desempenho do sistema de digestão anaeróbia. No reator foram encontrados valores de remoção de 33,2 de ST e 34% de SV. Tais resultados indicam que ocorreu uma remoção expressiva da matéria orgânica presente no reator. O reator obteve volume acumulado de biogás de 414,35 ml com teor máximo de CH₄ próximo de 70%, e PBM de 80,64 mL CH₄ g⁻¹ SV. Foi aplicado um estudo sobre regressão exponencial com os dados experimentais do volume acumulado de biogás dos reatores em diferentes temperaturas. Encontramos duas equações com valor de R² ajustado igual 0,9516 e 0,9380 que colabora em predizer valores que estão fora dos dados experimentais.

Na segunda fase a proporção de 20/80 (CCe/ARBL) foi utilizada no preparo das misturas para alimentação do biodigestor modelo UASB de 7,8 L com diferentes TRHs de 10, 6, 2 dias e 24 horas. A remoção de ST e SV foi maior conforme o tempo retenção se prolongava. Foram registradas taxa de remoção entre 58% e 29% em operação semi-contínua. A co-digestão aumentou a eficiência de produção de biogás, com rendimento de 0,78 a 2,28 m³ m⁻³ d⁻¹ e alcançando teores de CH₄ de 72%. O rendimento de produção de biogás na co-digestão reforça a adoção da tecnologia de digestão anaeróbia para tratamento de dejetos animal com outras matérias-primas, como resíduos lignocelulósicos, demonstrando a viabilidade técnica da biotecnologia nessas condições.

Os resultados e conclusões deste estudo foram positivos para dados experimentais em bateladas e em operação semi-contínua com o biodigestor modelo UASB, respostas que fornecem uma compreensão da dinâmica da degradação dos substratos investigados durante a digestão anaeróbia e dar suporte para futuras pesquisas, por exemplo, analisar o comportamento em sistemas de reatores abastecidos continuamente.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K.; PARK, H.; CHOI, O.; SINDHU, R.; PARAMESWARAN. B.; PANDEY, A.; SANG, B. I. Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 301, 122725, 2020. doi: 10.1016/j.biortech.2019.122725.
- ADELARD, L.; POULSEN, T. G.; RAKOTONIAINA, V. Biogas and methane yield in response to co- and separate digestion of biomass wastes. *Waste Management & Research*, 33 (1), 55 –62, 2015. doi: 10.1177/0734242X14559406
- AKBAR, S.; AHMED, S.; KHAN, S.; BADSHAH, M. Anaerobic Digestate: A Sustainable Source of Bio-fertilizer. In: Jhariya, M.K., Banerjee, A., Meena, R.S., Kumar, S., Raj, A. (eds) *Sustainable Intensification for Agroecosystem Services and Management*. Springer, Singapore, 2021. doi: 10.1007/978-981-16-3207-5_15.
- ALKHRISSAT, T. The impact of organic loading on the anaerobic digestion of cow manure: Methane production and kinetic analysis. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 9, 100589, 2024. doi: 10.1016/j.cscee.2023.100589
- ANDRÉ, L.; ZDANEVITCH, I.; PINEAU, C.; LENCAUCHEZ, J.; DAMIANO, A.; PAUSS, A.; RIBEIRO, T. Dry anaerobic co-digestion of roadside grass and cattle manure at a 60 L batch pilot scale. *Bioresource Technology*, 289, 121737, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121737
- ANUKAM, A.; MOHAMMADI, A.; NAQVI, M.; GRANSTRÖM, K. A Review of the Chemistry of Anaerobic Digestion: Methods of Accelerating and Optimizing Process Efficiency. *Processes*, 7(8), 504, 2019. doi: 10.3390/pr7080504
- APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, USA, 24^a, 2023.
- APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGRÈVE, J.; DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34, 755-781, 2018. doi: 10.1016/j.pecs.2008.06.002
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 11956** – Coque – Determinação do poder calorífico superior – Método de ensaio. ABNT, 1990.
- ATELGE, M. R.; ATABANI, A. E.; BANU, J. R.; KRISA, D.; KAYA, M.; ESKICIOGLU, C.; KUMAR, G.; LEE, C.; YILDIZ, Y. S.; UNALAN, S.; MOHANASUNDARAM, R.; DUMAN, F. A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery. *Fuel*, 270, 117494, 2020. doi: 10.1016/j.fuel.2020.117494.
- BIOPROCESS CONTROL. AMPTS II & AMPTS II Light Automatic Methane Potential Test System. **Operation and Maintenance Manual**, 2016. Disponível em: <<https://d3pcsg2wj9izr.cloudfront.net/files/27562/download/781453/bioprocess-control-manual-ampts-ii-ampts-ii-light.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2024

BULKOWSKA, K.; MIKUCKA, W.; POKÓJ, T. Enhancement of biogas production from cattle manure using glycerine phase as a co-substrate in anaerobic digestion. **Fuel**, 317, 123456, 2022. doi: 10.1016/j.fuel.2022.123456

CÁRDENAS-CLEVES, L. M.; MARMOLEJO-REBELLÓN, L. F.; TORRES-LOZADA, P. Improvement of the biochemical methane potential of food waste by means of anaerobic co-digestion with swine manure. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 35 (4), 1219-1229, 2018. doi: 10.1590/0104-6632.20180354s20170297

CARMO, D. L.; SILVA, C. A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. Processos e Propriedades do Solo. **Revista Brasileira Ciência Solo**, 36 (4), 2012. doi: 10.1590/S0100-06832012000400015

CARVALHO, A. R.; FRAGOSO, R.; GOMINHO, J.; SARAIVA, A.; COSTA, R.; DUARTE, E. Water-energy nexus: Anaerobic co-digestion with elephant grass hydrolyzate. **Journal of Environmental Management**, 181, 48-53, 2016. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.06.012

CHAVAN, S.; YADAV, B.; ATMAKURI, A.; TYAGI, R. D.; WONG, J. W. C.; DROGUI, P. Bioconversion of organic wastes into value-added products: A review. **Bioresource Technology**, 344, 126398, 2022. doi: 10.1016/j.biortech.2021.126398

CHEN, B.; AZMAN, S.; DEWIL, R.; APPELS, L. Alkaline anaerobic digestion of livestock manure: Unveiling mechanisms, applications, and perspective. *Chemical Engineering Journal*, 477, 146852, 2023.

CHERNICHARO, C. A. L. Reatores anaeróbios. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais, 380 p., 2007. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v.5)

CIRNE, D. G.; PALOUMET, X.; BJÖRNSSON, L.; ALVES, M. M.; MATTIASSON, B. Anaerobic digestion of lipid-rich waste—Effects of lipid concentration. **Renewable Energy**, 32, 6, 965-975, 2027. doi: 10.1016/j.renene.2006.04.003

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Introdução a Métodos Cromatográficos. Editora Unicamp. Campinas. 7, 279p, 1997. <https://pt.scribd.com/document/363716263/Introducao-a-Metodos-Cromatograficos-7%C2%AA-edicao-1997-Carol-H-Collins-Gilberto-L-Braga-Pierina-S-Bonato-pdf>.

CUNHA, T. B.; PEREIRA, A. V.; LÉDO, F. J. S.; DAHER, R. F.; MACHADO, J. C. Sugar content variation in elephant grass germplasm. **Ciência Zona Rural**, 52, 1, 2022. doi: 10.1590/0103-8478cr20200739.

CZEKALA, W.; JASIŃSKI, T.; GRZELAK, M.; WITASZEK, K.; DACH, J. Biogas Plant Operation: Digestate as the Valuable Product. **Energies**, 15 (21), 8275, 2022. doi: 10.3390/en15218275.

DHANYA, B. S.; MISHRA, A.; CHANDEL, A. K.; VERMA, M. L. Development of sustainable approaches for converting the organic waste to bioenergy. **Science of The Total Environment**, 723, 138109, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138109

DUONG, C. M.; LIM, T. T. Use of regression models for development of a simple and effective biogas decision-support tool. **Scientific Reports**, 13, 4933, 2023. doi: 10.1038/s41598-023-32121-6

EBNER, J. H.; LABATUT, R. A.; LODGE, J. S.; WILLIAMSON, A. A.; TRABOLD, T. A. Anaerobic co-digestion of commercial food waste and dairy manure: characterizing biochemical parameters and synergistic effects. **Waste Management**, 52, 286-294, 2016. doi: 10.1016/j.wasman.2016.03.046.

ERAKY, M.; ELSAYED, M.; QYYUM, M. A.; AI, P.; TAWFIK, A. A new cutting-edge review on the bioremediation of anaerobic digestate for environmental applications and cleaner bioenergy. **Environmental Research**, 213, 113708, 2022. doi: 10.1016/j.envres.2022.113708.

FENG, L.; WAHID, R.; WARD, A. J.; MOLLER, H. B. Anaerobic co-digestion of cattle manure and meadow grass: Effect of serial configurations of continuous stirred tank reactors (CSTRs). **Biosystems Engineering**, 160, 1-11, 2017. doi: 10.1016/j.biosystemseng.2017.05.002

FILER, J.; DING, H. H.; CHANG, S. Biochemical Methane Potential (BMP) Assay Method for Anaerobic Digestion Research. **Water**, 11(5), 921, 2019. doi: 10.3390/w11050921

FNR. FACHAGENTUR NACHWACHSENDE ROHSTOFFE e. V. Guia Prático do Biogás, Geração e utilização. 5ª edição, totalmente revista e atualizada. Publicado com o apoio do Ministério da Nutrição, Agricultura e Defesa do Consumidor da Alemanha, Gülzow, 2010.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. **Embrapa Pantanal. Circular Técnica**, 63, 2016. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/812198/1/CT63.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2024

GHIMIRE, A.; FRUNZO, L.; PIROZZI, F.; TRABLY, E.; ESCUDIE, R.; LENS, P. N. L.; ESPOSITO, G. A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. **Applied Energy**, 144, 73-95, 2015. doi: 10.1016/j.apenergy.2015.01.045

HAGOS, K.; ZONG, J.; LI D.; LIU, C.; LU, X. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 76, 1485-1496, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2016.11.184

HAMZAH, A. F. A.; HAMZAH, M. H.; MAN, H. C.; JAMALI, N. S.; SIAJAM, S. I.; SHOW, P. L. Biogas Production Through Mono- and Co-digestion of Pineapple

Waste and Cow Dung at Different Substrate Ratios. *BioEnergy Research*, 17, 1179-1190. 2024.

HARIRCHI, S.; WAINAINA, S.; SAR, T.; NOJOURI, S. A.; PARCHAMI, M.; PARCHAMI, M. Microbiological insights into anaerobic digestion for biogas, hydrogen or volatile fatty acids (VFAs): a review. *Bioengineered*, 13, 6521-6557, 2022. doi: 10.1080/21655979.2022.2035986

HARYANTO, A.; HASANUDIN, U.; AFRIAN, C.; ZULKARNAEN, I. Biogas production from anaerobic codigestion of cowdung and elephant grass (*Pennisetum Purpureum*) using batch digester. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 141, 1, 2018. doi: 10.1088/1755-1315/141/1/012011.

HIMANSHU, H.; MURPHY, J. D.; GRANT, J.; KIELY, P. O. Antagonistic effects on biogas and methane output when co-digesting cattle and pig slurries with grass silage in in vitro batch anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy*, 109, 190-198, 2018. doi: 10.1016/j.biombioe.2017.12.027

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; BOUGRIER, C. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science & Technology*, 74 (11), 2515–2522, 2016. doi: 10.2166/wst.2016.336

HUANG, C., L. XIONG, H. J. GUO, H. L. LI, C. WANG, X. F. CHEN, C. ZHAO, AND X. D. CHEN. Anaerobic digestion of elephant grass hydrolysate: Biogas production, substrate metabolism and outlet effluent treatment. *Bioresource Technology*, 283, 191–197, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.03.079.

IGNATOWICZ, K.; FILIPCZAK, G.; DYBEK, B.; WALOWSKI, G. Biogas Production Depending on the Substrate Used: A Review and Evaluation Study-European Examples. *Energies*, 16(2), 798, 2023. doi: 10.3390/en16020798

JAIN, S.; JAIN, S.; WOLF, I. T.; LEE, J.; TONG, Y. W. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 142-154, 2015. doi: 10.1016/j.rser.2015.07.091

JASIŃSKA, A.; GROSSER, A.; MEERS, E. Possibilities and Limitations of Anaerobic Co-Digestion of Animal Manure - A Critical Review. *Energies*, 16(9), 3885, 2023. doi: 10.3390/en16093885.

JINGURA, R. M.; KAMUSOKO, R. Methods for determination of biomethane potential of feedstocks: a review. *Biofuel Research Journal*, 14, 573-586, 2017. doi: 10.18331/BRJ2017.4.2.3

KARKI, R.; CHUENHART, W.; SURENDRA, K. C.; SHRESTHA, S.; RASKIN, L.; SUNG, S.; HASHIMOTO, A.; KHANAL, S. K. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*, 330, 125001, 2021. doi: 10.1016/j.biortech.2021.125001.

KARTHIKEYAN, O. P.; VISVANATHAN, C. Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, 12, 257–284, 2013. doi: 10.1007/s11157-012-9304-9

KAWAHIGASHI, H.; KASUGA, S.; OKUIZUMI, H.; HIRADATE, S.; YONEMARU, J. Evaluation of brix and sugar content in stem juice from sorghum varieties. **Grassland Science**, 59, 1, 11-19, 2013. doi: 10.1111/grs.1200

KIM, M. S.; LEE, D. Y. Fermentative hydrogen production from tofu-processing waste and anaerobic digester sludge using microbial consortium. **Bioresource Technology**, 101, S48-S52, 2010. doi: 10.1016/j.biortech.2009.03.040

KOTHARI, R.; PANDEY, A. K.; KUMAR, S.; TYAGI, V. V.; TYAGI, S. K. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 39, 174-195, 2014. doi: 10.1016/j.rser.2014.07.011

KOUPAIE, E. H.; DAHADHA, S.; LAKEH, A. A. B.; AZIZI, A.; ELBESHISHY, E. Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review. **Journal of Environmental Management**, 233, 774-784, 2019. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.09.106.

KUMAR, G., ZHEN, G., KOBAYASHI, T., SIVAGURUNATHAN, P., KIM, S. H., XU, K. Q. Impact of pH control and heat pre-treatment of seed inoculum in dark H₂ fermentation: A feasibility report using mixed microalgae biomass as feedstock. **International Journal of Hydrogen Energy**, 41, 7, 4382-4392, 2016. doi: 10.1016/j.ijhydene.2015.08.069

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DO AMARAL, A. C. Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato. Concórdia: **Sbera: Embrapa Suínos e Aves**, 209 p, 2019. ISBN 978-65-88155-02-8.

LACKNER, N.; WAGNER, A. O.; MARKT, R.; IIIMER, P. pH and Phosphate Induced Shifts in Carbon Flow and Microbial Community during Thermophilic Anaerobic Digestion. **Microorganisms**, 8 (2), 286, 2020. doi: 10.3390/microorganisms8020286

LHANAFI, S.; ANFAR, Z.; CHEBLI, B.; BENAFQIR, M.; HAOUTI, R. E.; AZOUGARH, Y.; ABBAZ, M.; ALEM, N. E. Factorial experimental design to enhance methane production of dairy wastes co-digestion. **Sustainable Environment Research**, 28, 6, 389-395, 2018. doi: 10.1016/j.serj.2018.05.001

LI, Y.; ACHINAS, S.; ZHAO, J.; GEURKINK, B.; KROONEMAN, J.; EUVERINK, G. J. W. Co-digestion of cow and sheep manure: Performance evaluation and relative microbial activity. **Renewable Energy**, 153, 553-563, 2020. doi: 10.1016/j.renene.2020.02.041

LI, W.; KHALID, H.; ZHU, Z.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C.; THORIN, E. Methane production through anaerobic digestion: Participation and digestion characteristics of cellulose, hemicellulose and lignin. **Applied Energy**, 226, 1219-1228, 2018. doi: 10.1016/j.apenergy.2018.05.055

LIANG, T.; ELMAADAWY, K.; LIU, B.; HU, J.; HOU, H.; YANG, J. Anaerobic fermentation of waste activated sludge for volatile fatty acid production: Recent updates of pretreatment methods and the potential effect of humic and nutrients substances. *Process Safety and Environmental Protection*, 145, 321-339, 2021. doi: 10.1016/j.psep.2020.08.010

LIANHUA, L.; SHUIBIN, H.; YONGMING, S.; XIHUI, K.; JUNFENG, J.; ZHENHONG, Y.; DINGFA, L. Anaerobic co-digestion of Pennisetum hybrid and pig manure: A comparative study of performance and microbial community at different mixture ratio and organic loading rate. *Chemosphere*, 247, 125871, 2020. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.125871

LIU, X.; GAO, X.; WANG, W.; ZHENG, L.; ZHOU, Y.; SUN, Y. Pilot-scale anaerobic co-digestion of municipal biomass waste: Focusing on biogas production and GHG reduction. *Renewable energy*, 44, 463-468, 2014. doi: 10.1016/j.renene.2012.01.092

LOPES, V. M.; BARLAZ, F. B. C. M. A. Chemical composition and methane potential of commercial food wastes. *Waste Management*, 56, 477-490, 2016. doi: 10.1016/j.wasman.2016.07.024

MA, G.; NDEGWA, P.; HARRISON, J. H.; CHEN, Y. Methane yields during anaerobic co-digestion of animal manure with other feedstocks: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 728, 138224, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138224.

MAHMUDUL, H. M.; RASUL, M. G.; AKBAR, D.; NARAYANAN, R.; MOFIJUR, M. A comprehensive review of the recent development and challenges of a solar-assisted biodigester system. *Science of The Total Environment*, 753, 20, 141920, 2021. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141920

MAO, C.; ZHANG, T.; WANG, X.; FENG, Y.; REN, G.; YANG, G. Process performance and methane production optimizing of anaerobic co-digestion of swine manure and corn straw. *Scientific Reports*, 7, 9379, 2017. doi: 10.1038/s41598-017-09977-6

MARAFON, A. C. Biomassa Florestal: produção e produtividade. Cultivo dedicado de capim-elefante para uso energético da biomassa. *Revista Biomassa BR*, 6, 2022. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1154239/1/Cultivo-dedicado-de-capim-elefante.2022.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MARAFON, A. C.; MACHADO, J. C.; AMARAL, A. F. C.; GUIMARÃES, V. S.; SANTOS, J. P. Frequência de cortes em genótipos de capim-elefante na produção de biomassa para fins energéticos. *Embrapa Tabuleiros Costeiros*. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 146, 2019. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1119471/1/BP146Marafonv2.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

MARAFON, A.C.; MACHADO, J.C. Secagem solar e extração do caldo do capim-elefante para uso bioenergético da biomassa. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, Circular Técnica 93, 2021. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1138217/1/CIRC-93-21-Embrapa-Tabuleiros-Costeiros.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MASUD, M. H.; ANANNO, A. A.; HOSSAIN, M.; CHOWDHURY, S. A.; DABNICHKI, P. Anaerobic Co-digestion of Liquid Dairy Manure with Food Waste: A Sustainable Source of Green Energy. In: Jawaid, M., Khan, A. (eds) Manure Technology and Sustainable Development. **Sustainable Materials and Technology**. Springer, Singapore, 2023. doi: 10.1007/978-981-19-4120-7_1

MATA-ALVAREZ, J., DOSTA, J., ROMERO-GÜIZA, M. S., FONOLL, X., PECES, M., ASTALS, S. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 36, 412-427, 2014. doi: 10.1016/j.rser.2014.04.039

MATHAI, P. P.; NICHOLS, M. S.; VENKITESHWARAN, K.; BROWN, C. M.; MORRIS, R. L.; ZITOMER, D. H.; MAKI, J. S. Dynamic shifts within volatile fatty acid-degrading microbial communities indicate process imbalance in anaerobic digesters. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 104, 4563-4575, 2020. doi: 10.1007/s00253-020-10552-9

MEEGODA, J. N.; LI, B.; PATEL, K.; WANG, L. B. A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 15 (10), 2224, 2018. doi: 10.3390/ijerph15102224

MENDONÇA, H. V.; OMETTO, J. P. H. B.; OTENIO, M. H.; DOS REIS, A. J. D.; MARQUES, I. P. R. Bioenergy recovery from cattle wastewater in an UASB-AF hybrid reactor. **Water Science & Technology**, 76, 2268-2279, 2017. doi: 10.2166/wst.2017.325

MEYER, A. K. P.; EHIMEN, E. A.; HOLM-NIELSEN, J. B. Future European biogas: Animal manure, straw and grass potentials for a sustainable European biogas production. **Biomass and Bioenergy**, 111, 154-164, 2018. doi: 10.1016/j.biombioe.2017.05.013

MIRABI, M.; KARRABI, M.; SHAHNAVAZ, B. Anaerobic co-digestion of lignocellulosic/lipidic wastes with cattle manure: Investigating biogas production and methane yield. **Fuel**, 366, 131286, 2024. doi: 10.1016/j.fuel.2024.131286

MORÉ, J. J. The Levenberg-Marquardt algorithm: Implementation and theory. **Anal. Lect. Notes Math.**, 630, 105-116, 1978. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BFb0067700.pdf>>. Acesso em: 27 mai. 2024.

MU, L.; ZHANG, L.; ZHU, K.; MA, J.; IFRAN, M., LI, A. Anaerobic co-digestion of sewage sludge, food waste and yard waste: Synergistic enhancement on process

stability and biogas production. *Science of The Total Environment*, 704, 135429, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135429.

MUENMEE, S.; PRASERTBOONYAI, K. Potential Biogas Production Generated by Mono- and Co-digestion of Food Waste and Fruit Waste (Durian Shell, Dragon Fruit and Pineapple Peel) in Different Mixture Ratio under Anaerobic Condition. *Environmental Research, Engineering and Management*, 77, 1, 2021. doi: 10.5755/j01.erem.77.1.25234

MUTUNGWAZI, A.; AWOSUSI, A.; MATAMBO, T. S. Comparative functional microbiome profiling of various animal manures during their anaerobic digestion in biogas production processes. *Biomass and Bioenergy*, 170, 106728, 2023. doi: 10.1016/j.biombioe.2023.106728

NASCIMENTO, S. A.; REZENDE, C. A. Combined approaches to obtain cellulose nanocrystals, nanofibrils and fermentable sugars from elephant grass. *Carbohydrate Polymers*, 180, 38-45, 2018. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.09.099

NESHAT, S. A.; MOHAMMADI, M.; NAJAFPOUR, G. D.; LAHIJANI, P. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 308-322, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2017.05.137

NWEZE, J. A.; GUPTA, S.; AKOR, J.; NWUCHE, C. O.; NWEZW, J. E.; UNAH, V. U. Animal Waste: An Environmentally Sustainable Management Approach. In: Arshad, M. (eds) *Climate Changes Mitigation and Sustainable Bioenergy Harvest Through Animal Waste*. Springer, Cham, 2023. doi: 10.1007/978-3-031-26224-1_1

NWOKOLO, N. L.; ENEBE, M. C. An insight on the contributions of microbial communities and process parameters in enhancing biogas production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14, 1549–1565, 2024. doi: 10.1007/s13399-022-02580-4

OJEDIRAN, O. J.; DAHUNSI, S. O.; ADERIBIGBE, V.; ABOLUSORO, S.; ADESULU-DAHUNSI, A. T.; ODEKANLE, E. L.; ODEJOBI, O. J.; IBIKUNLE, R. A.; OGUNWOLE, J. O. Valorization of Pennisetum purpureum (Elephant grass) and piggery manure for energy generation. *Fuel*, 302, 121209, 2021. doi: 10.1016/j.fuel.2021.121209

PARANJPE, A.; SAXENA, S.; JAIN, P. A Review on Performance Improvement of Anaerobic Digestion Using Co-Digestion of Food Waste and Sewage Sludge. *Journal of Environmental Management*, 338, 117733, 2023. doi: 10.1016/j.jenvman.2023.117733

PLATOŠOVÁ, D.; RUSÍN, J.; PLATOŠ, J.; SMUTNÁ, K.; BURYJAN, R. Case Study of Anaerobic Digestion Process Stability Detected by Dissolved Hydrogen Concentration. *Processes*, 9(1), 106, 2021. doi: 10.3390/pr9010106

RANJBAR, F. M.; KARRABI, M.; SHAHNAVAZ, B. Bioconversion of wheat straw to energy via anaerobic co-digestion with cattle manure in batch-mode bioreactors

(Experimental investigation and kinetic modeling). *Fuel*, 320, 123946, 2022. doi: 10.1016/j.fuel.2022.123946

RODRIGUES, R. P.; RODRIGUES, D. P.; KLEPACZ-SMOLKA, A.; MARTINS, R. C.; QUINA, M. J. Comparative analysis of methods and models for predicting biochemical methane potential of various organic substrates. *Science of The Total Environment*, 649, 1, 1599-1608, 2019. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.270

RUBIO, J. A.; FDEZ-GÜELFO, L. A.; ROMERO-GARCÍA, L. I.; WILKIE, A. C.; GARCÍA-MORALES, J. L. Start-up of the mesophilic anaerobic co-digestion of two-phase olive-mill waste and cattle manure using volatile fatty acids as process control parameter. *Fuel*, 325, 124901, 2022. doi: 10.1016/j.fuel.2022.124901

RUSCH, F.; NETO, R. A.; LÚCIO, D. M.; HILLIG, E. Energy properties of bamboo biomass and mate co-products. *SN Applied Sciences*, 3, 602, 2021. doi: 10.1007/s42452-021-04584-7.

SALANGSANG, M. C. D.; SEKINE, M.; AKIZUKI, S.; SAKAI, H. D.; KUROSAWA, N.; TODA, T. Effect of carbon to nitrogen ratio of food waste and short resting period on microbial accumulation during anaerobic digestion. *Biomass Bioenergy*, 162, 2022. doi: 10.1016/j.biombioe.2022.106481

SHAHBAZ, M.; AMMAR, M.; KORAI, R. M.; AHMAD, N.; ALI, A.; KHALID, M. S.; ZOU, D.; LI, X. Impact of C/N ratios and organic loading rates of paper, cardboard and tissue wastes in batch and CSTR anaerobic digestion with food waste on their biogas production and digester stability. *SN Applied Sciences*, 2, 1436, 2020. doi: 10.1007/s42452-020-03232-w

SHARMA, B.; SUTHAR, S. Enriched biogas and biofertilizer production from Eichhornia weed biomass in cow dung biochar-amended anaerobic digestion system. *Environmental Technology & Innovation*, 21, 101201, 2021. doi: 10.1016/j.eti.2020.101201.

SICCHIERI, I. M.; QUADROS, T. C. F.; BORTOLOTTI, M. A.; FERNANDES, F.; KURODA, E. K. Selection, composition, and validation of standard inoculum for anaerobic digestion assays. *Biomass and Bioenergy*, 164, 106558, 2022. doi: 10.1016/j.biombioe.2022.106558

SILVA, G. H.; BARROS, N. O.; SANTANA, L. A. R.; CARNEIRO, J. C.; OTENIO, M. H. Shifts of acidogenic bacterial group and biogas production by adding two industrial residues in anaerobic co-digestion with cattle manure. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 1, 1-9, 2021. doi: 10.1080/10934529.2021.2015987.

SILVA, O. E. R.; FARIAS, A. B. V.; PEITER, F. S.; MARAFON, A. C.; VICH, D. V.; AMORIM, E. L. C. Anaerobic co-digestion of sugarcane vinasse and elephant grass juice for biomethan production. *Revista AIDIS*, 15, 3, 1502-1515, 2022. doi: 10.22201/iingen.0718378xe.2022.15.3.80857.

SOLÉ-BUNDÓ, M.; PASSOS, F.; ROMERO-GÜIZA, M. S.; FERRER, I.; ASTALS, S. 2019. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review.

Renewable and Sustainable Energy Reviews, 112, 471-482, 2019. doi: 10.1016/j.rser.2019.05.036

STEFFEN, F.; REQUEJO, A.; EWALD, C.; JANZON, R.; SAAKE, B. Anaerobic digestion of fines from recovered paper processing – Influence of fiber source, lignin and ash content on biogas potential. **Bioresource Technology**, 200, 506-513, 2016. doi: 10.1016/j.biortech.2015.10.014

STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; SILVA, M. L. B.; KUNZ, A.; AMARAL, A. C.; TÁPPARO, D. C.; SOARES, H. M. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. **Bioresource Technology**, 219, 21-28, 2016. doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.031

SUBBARAO, P. M. V.; D' SILVA, T. C.; ADLAK, K.; KUMAR, S.; CHANDRA, R.; VIJAY, V. K. Anaerobic digestion as a sustainable technology for efficiently utilizing biomass in the context of carbon neutrality and circular economy. **Environmental Research**, 234, 116286, 2023. doi: 10.1016/j.envres.2023.116286.

SUN, H.; KOVALOVSKI, A.; TSAPEKOS, P.; ALVARADO-MORALES, M.; RUDATIS, A.; WU, S.; DONG, R.; KOUGIAS, P. G.; ANGELIDAKI, I. Co-digestion of *Laminaria digitata* with cattle manure: A unimodel simulation study of both batch and continuous experiments. **Bioresource Technology**, 276, 361-368, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2018.12.110

TUFANER, F.; AVŞAR, Y. Effects of co-substrate on biogas production from cattle manure: a review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 13, 2303–2312, 2016. doi: 10.1007/s13762-016-1069-1.

WAINAINA, S.; LUKITAWESA; AWASTHI, M. K.; TAHERZADEH, M. J. Bioengineering of anaerobic digestion for volatile fatty acids, hydrogen or methane production: A critical review. **Bioengineered**, 10, 437-458, 2019. doi: 10.1080/21655979.2019.1673937

WANG, B.; ANNIKA BJÖRN, A.; STRÖMBERG, S.; NGES, I. A.; NISTOR, M.; LIU, J. Evaluating the influences of mixing strategies on the Biochemical Methane Potential test. **Journal of Environmental Management**, 185, 54-59, 2017. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.10.044

WANG, X.; YANG, G.; FENG, Y.; REN, G.; HAN, X. Optimizing feeding composition and carbon–nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw. **Bioresource Technology**, 120, 78-83, 2012. doi: 10.1016/j.biortech.2012.06.05

WANG, Z.; YUN, S.; XU, H.; WANG, C.; ZHANG, Y.; CHEN, J.; JIA, B. Mesophilic anaerobic co-digestion of acorn slag waste with dairy manure in a batch digester: focusing on mixing ratios and bio-based carbon accelerants. **Bioresource Technology**, 286, 121394, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121394

WEI, Y.; WU, Y.; ZHANG, L.; ZHOU, Z.; ZHOU, H.; YAN, X. Genome recovery and metatranscriptomic confirmation of functional acetate-oxidizing bacteria from

enriched anaerobic biogas digesters. *Environmental Pollution*, 265, 114843, 2020. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114843

XIE, S.; HIGGINS, M. J.; BUSTAMANTE, H.; GALWAY, B.; NGHIEM, L. D. Current status and perspectives on anaerobic co-digestion and associated downstream processes. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 4, pp. 1759-1770, 2018. doi: 10.1039/C8EW00356D

YASIN, N. H. M.; MUMTAZ, T.; HASSAN, M. A.; RAHMAN, N. A. A. Food waste and food processing waste for biohydrogen production: A review. *Journal of Environmental Management*, 130, 375-385, 2013. doi: 10.1016/j.jenvman.2013.09.009

YIN, D.; MAHBOUBI, A.; WAINAINA, S.; QIAO, W.; TAHERZADEH, M. J. The effect of mono- and multiple fermentation parameters on volatile fatty acids (VFAs) production from chicken manure via anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 330, 124992, 2021. doi: 10.1016/j.biortech.2021.124992

YOUSUF, A.; PIROZZI, D.; SANNINO, F. Chapter 1 - Fundamentals of lignocellulosic biomass. *Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels*, 1-15, 2020. doi: 10.1016/B978-0-12-815936-1.00001-0

ZAHAN, Z.; GEORGIU, S.; MUSTER, T. H.; OTHMAN, M. Z. 2018. Semi-continuous anaerobic co-digestion of chicken litter with agricultural and food wastes: a case study on the effect of carbon/nitrogen ratio, substrates mixing ratio and organic loading. *Bioresource Technology*, 270, 245-254, 2018. doi: 10.1016/j.biortech.2018.09.010.

ZHOU, J., ZHANG, Y., KHOSHNEVISAN, B., DUAN, N. Meta-analysis of anaerobic co-digestion of livestock manure in last decade: Identification of synergistic effect and optimization synergy range. *Applied Energy*, 282, 116128, 2021. doi: 10.1016/j.apenergy.2020.116128.

CAPÍTULO 3: CRESCIMENTO DE MICROALGAS *TETRADESMUS OBLIQUUS* EM DIGESTATO DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA DE *ARUNDO DONAX L.* E ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE BOVINOS: ANÁLISE DO DESEMPENHO DE BIOGÁS E PRODUÇÃO DE BIOMASSA ALGAL

Resumo

A digestão anaeróbia seguida de cultivo de microalgas é considerada uma alternativa renovável promissora para a produção de biometano e com menor geração de efluentes, assim menor impacto ambiental. Neste arranjo, além da geração de energia as microalgas atuam potencializando o polimento dos efluentes gerados na digestão anaeróbia (digestatos). Neste estudo, a microalga *Tetradismus obliquus* foi cultivada em fotobiorreatores com o digestato final da co-digestão da biomassa vegetal de *Arundo Donax L.* e das águas residuárias da bovinocultura. A rota biotecnológica empregada foi eficiente e a produção de biogás variou de 50,20 a 94,69 mL gSV⁻¹. O modelo cinético de primeira ordem com dependência variável do (FOMT) proporcionou melhor ajuste para os dados de produção de biogás. No pós-tratamento com as microalgas, os valores de remoção variaram de 81,5 a 93,8% para DQO, 92,0 a 95,3% para N-NH₄⁺ e 41,7 a 83,3% para PO₄⁻³ após 26 dias. A composição macromolecular da biomassa algal alcançou os valores de teor de lipídios de 33,4 a 42,7%. Com o exposto, o processo proposto mediado por microalgas pode ser considerado promissor para biorremediação e valorização de efluentes produzidos pela agropecuária, por meio do aproveitamento da biomassa de microalgas para a produção de bioprodutos.

Palavras-chaves: *Tetradismus obliquus*; Remoção de nutrientes; Biogás; Biorremediação; Biodiesel.

Abstract

Anaerobic digestion followed by microalgae cultivation is considered a promising renewable alternative for biogas production with reduced effluent generation, thus minimizing environmental impact. In this arrangement, in addition to energy generation, microalgae enhance the polishing of the effluents produced from anaerobic digestion (digestates). In this study, the microalga *Tetradesmus obliquus* was cultivated in photobioreactors using the final digestate from the co-digestion of plant biomass from *Arundo donax* L. and wastewater from cattle farming. The applied biotechnological route was efficient, with biogas production varying from 50.20 to 94.69 mL gSV⁻¹. The kinetic model first order with modified time dependency (FOMT) provided the best fit for the biogas production data. In the post-treatment with microalgae, removal values ranged from 81.5 to 93.8% for COD, 92.0 to 95.3% for N-NH₄⁺, and 41.7 to 83.3% for PO₄⁻³ after 26 days. The macro-molecular composition of the algal biomass achieved lipid content values of 33.4 to 42.7%. Based on the findings, the proposed process mediated by microalgae can be considered promising for bioremediation and valorization of effluents produced by agriculture, through the utilization of microalgae biomass for the production of bioproducts.

Keywords: *Tetradesmus obliquus*; Nutrient removal; Biogas; Bioremediation; Biodiesel.

1. INTRODUÇÃO

Soluções tecnológicas para fontes de energia renováveis são uma realidade mundial diante do esgotamento dos combustíveis fósseis, e devido aos impactos ambientais negativos por eles causados. A digestão anaeróbia (DA) é considerada uma tecnologia eficiente, pois combina o tratamento de resíduos com a recuperação da matéria orgânica em produtos com relevante valor acrescentado (ZHANG et al., 2023). Espera-se que a energia da biomassa tenha uma parcela significativa da energia renovável no futuro próximo. As tecnologias e processos que envolvem a utilização da biomassa para a produção de bioenergia revelam-se como alternativas de recuperação energética, tornando-se uma opção eficiente, integradora e com elevado potencial de concretização (MOUSTAKAS et al., 2020; SALLEM 2022).

A DA apresenta-se como uma excelente alternativa para o tratamento e aproveitamento dos nutrientes presentes nos dejetos animais, reduzindo o potencial poluidor e os riscos à saúde, além de promover a geração de bioenergia (MENDONÇA et al., 2017^a; MENDONÇA et al., 2017^b). A pecuária produz uma quantidade relevante de resíduos bovinos, e o gerenciamento desses resíduos torna-se um grande desafio para as fazendas de gado em sistemas de confinamento, a fim de minimizar o seu impacto negativo no ambiente (CHOWDHURY et al., 2020). Dentre as tecnologias alternativas de geração de energia, a DA é uma forma eficiente de transformar resíduos em recursos. Trata-se de um processo biológico de conversão de resíduos em biogás (MENDONÇA et al., 2017^b; ARDEBILI 2020).

Da mesma forma, a biomassa de gramíneas energéticas perenes representa uma matéria-prima alternativa para a geração de energia sustentável, por meio de processos biológicos, como a DA (BEDOÍĆ et al., 2019). O destaque do uso de gramíneas na produção de bioenergia é derivado do seu alto potencial de rendimento. Estratégias para melhorar a DA de gramíneas energéticas são importantes para aumentar a produção de metano (SONG et al., 2023).

Justifica-se assim a avaliação da biomassa vegetal *Arundo donax* L. (família Poaceae, ordem Cyperales e classe Liliopsida), também conhecida como junco gigante. Esta espécie é uma gramínea ereta, herbácea, perene, agressiva e invasora com capacidade de reprodução rápida, seja por sementes ou propagação vegetativa (ABREU et al., 2022). Esta gramínea apresenta produtividades médias de

matéria seca de 15 a 40 t ha⁻¹ ano⁻¹ (ANTAL, 2018; OGINNI e SINGH, 2019) e pode ser utilizada para a geração de energia (VASMARA et al., 2023). Torna-se então relevante avançar nos estudos da utilização desta gramínea para produção de biogás (VASMARA et al., 2021).

Aumentar a eficiência da DA é extremamente importante quando se considera este processo como uma alternativa para a produção de energia e bioprodutos. Os benefícios da melhoria da produção de bioenergia associados à eficiência da produção de biogás a partir de digestores que utilizam co-substratos têm atraído pesquisadores para investigar a co-digestão anaeróbia de dejetos bovinos com outras biomassas diferentes para a melhoria da produção de biogás (SILVA et al., 2021; GONZÁLEZ et al., 2022; FRANKOWSKI e CZEKALA 2023).

A transformação de resíduos em energia e outros subprodutos têm sido considerada uma prioridade social e científica devido aos impactos ambientais gerados, com a consequente acumulação de resíduos. Nesse sentido, as microalgas podem oferecer soluções para o tratamento de águas residuárias por meio da biorremediação, tornando-se uma fonte de nutrientes de baixo custo (MENDONÇA et al., 2018). Além disso, as microalgas podem servir de matéria-prima para biocombustíveis e outros produtos de base biológica sustentáveis pertencentes a lipídios, proteínas e hidratos de carbono, principais componentes macromoleculares das células destes organismos (BARKIA et al., 2019; REIS 2021; ROY et al., 2021; MENDONÇA et al., 2022; MARANGON et al., 2022).

Os efluentes agrícolas e agroindustriais são ricos em matéria orgânica, com elevados níveis de amônia que podem inibir o crescimento de microalgas (AYRE et al. 2017; NAGARAJAN et al. 2019). Neste cenário, uma etapa de pré-tratamento fomenta a aplicação de novos métodos, para reduzir as taxas de toxicidade do efluente e garantir um meio de cultivo apropriado para o crescimento de microalgas.

Nos últimos anos, estudos têm sido realizados em fotobiorreatores com microalgas para pós-tratamento de efluentes, analisando a eficiência de remoção de poluentes orgânicos e nutrientes de águas residuárias de origem animal, além da possibilidade de produção de diversos produtos a partir de biomassa (FERNÁNDEZ et al., 2021; AHN et al., 2022; FERREIRA et al., 2022; MAGALHÃES et al., 2022; SIDDIKI et al., 2022).

Neste trabalho, estudou-se o processo de co-digestão, realizando a DA simultânea de dois substratos, a biomassa vegetal *Arundo donax* L. e a água

residuária produzida por gado leiteiro. Além disso, no trabalho investigou-se a utilização do cultivo da microalga *Tetrademus obliquus* em fotobiorreatores. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência do processo e a produção de biogás por meio da co-digestão anaeróbia; e avaliar a biorremediação mediada por microalgas e o potencial da biomassa algal para a produção de bioprodutos, caracterizando em termos de lipídios, carboidratos e proteínas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Substratos e inóculo

Amostras de águas residuárias de bovinocultura leiteira (ARBL) foram coletadas em uma fazenda produtora de leite, Fonte Leite - Exploração Agrícola e Pecuária, S.A., Azambuja, Portugal. O material recolhido foi conservado em tambores devidamente fechados e transportado para o Laboratório Nacional de Energia e Geologia (LNEG), em Lisboa, Portugal. O substrato de ARBL homogeneizado foi filtrado em tela de malha de 2 mm, resultando no teor de sólidos totais da amostra em $\pm 2\%$, e em seguida armazenado a 4 °C para posterior utilização na mistura dos substratos da co-digestão. Na Tabela 1 apresenta-se a caracterização da ARBL. O próprio ARBL foi utilizado como inóculo para a partida do reator. O inóculo foi preparado em escala laboratorial, a água residuária foi aclimatada por 7 dias, seguido de mais 7 dias de enriquecimento e manutenção do inóculo alimentado diariamente com uma mistura de substrato composta por proteínas, carboidratos e lipídios a uma taxa de carregamento volumétrico de 0,3 g SV L d⁻¹. Este substrato suplementar foi preparado com 30% de SV da gramínea triturada de *Arundo donax* L. para servir como fonte de celulose e lignina; 30% de SV proveniente de silagem de milho como fonte de carboidratos; 25% de SV proveniente de leite em pó como fonte de lactose, proteínas/aminoácidos, lipídios e alguns micronutrientes. Por último, foi adicionado óleo de girassol (15% de teor de SV) para fornecer o enriquecimento com substrato lipídico (STEINMETZ et al., 2016).

A biomassa do *Arundo donax* L é comumente encontrada em Portugal, com características positivas para o estudo, com rápido crescimento e elevada produção de biomassa vegetal disponível e colhida no campus do LNEG. As espécies de

gramíneas foram cortadas a uma altura de 0,25–0,28 m da superfície do solo com tesoura de poda. Posteriormente, com a mesma ferramenta de corte, a grama foi cortada em pedaços de ± 1 cm de espessura.

Tabela 1 – Características do substrato: ARBL.

Parâmetros	Valores
pH	7,68 (0.02)
Alcalinidade (mg L ⁻¹)	9760 (0.1)
DQO _t (mg L ⁻¹)	11464 (88)
DQO _s (mg L ⁻¹)	4860 (152)
DQO _s (%)	42,4
NTK (mg L ⁻¹)	1360 (67.3)
N-NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	850 (2.63)
N _{Org} (mg L ⁻¹)	510
PO ₄ ⁻³ (mg L ⁻¹)	38 (1)
N-NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	0
ST (mg L ⁻¹)	18104 (0.02)
SFT (mg L ⁻¹)	6341 (0.02)
SVT (mg L ⁻¹)	11763 (0.04)
SST (mg L ⁻¹)	12375 (0.02)
SSV (mg L ⁻¹)	3500 (0.02)
SSF (mg L ⁻¹)	8875 (0.04)

Os valores entre parênteses indicam desvio padrão. DQO_t – Demanda Química de Oxigênio Total; DQO_s – Demanda Química de Oxigênio Solúvel; NTK – Nitrogênio Total Kjeldahl; N-NH₄⁺ – Nitrogênio Amoniacal; N_{Org} – Nitrogênio Orgânico; PO₄⁻³ – Fosfato; N-NO₃⁻ – Nitrogênio Nitrato; ST – Sólidos Totais; SVT - Sólidos Voláteis Totais; SFT – Sólidos Fixos Totais; SST – Sólidos Suspensos Totais; SSV – Sólidos Suspensos Voláteis; SSF – Sólidos Suspensos Fixos.

2.2. Métodos analíticos

Métodos analíticos foram realizados ao longo do experimento, tais como demanda química de oxigênio total e solúvel (DQO_t e DQO_s), sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV), sólidos fixos (SF), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), sólidos suspensos fixos (SSF), nitrogênio amoniacal (N-NH₄⁺), nitrogênio total Kjeldahl (NTK), nitrogênio nitrato (N-NO₃⁻), fosfato (PO₄⁻³), alcalinidade e pH de acordo com métodos padrão (APHA 2023). O teor de nitrogênio orgânico (N_{Org}) foi obtido subtraindo-se o nitrogênio amoniacal do NTK. Todas as análises foram feitas em duplicata.

2.3. Co-digestão anaeróbia de ARBL com a gramínea de *Arundo donax L*

Para a execução da Fase I em ensaios em batelada foram criadas quatro condições experimentais relacionadas ao percentual de biomassa vegetal de *Arundo donax L.* conforme Tabela 2. O conhecimento sobre a proporção da mistura adequada de ARBL com a biomassa vegetal é importante, dito isso, através do conhecimento prévio dos resultados no Cap. 2, optamos por utilizar nesse estudo concentrações de 5, 10 e 20% de biomassa vegetal nas misturas e assim analisar a capacidade de suporte nos reatores. Com auxílio de um liquidificador (Waring Laboratory 7010S 1L 2 Speed w/Timer, EUA), as amostras foram misturadas por 120 segundos. As concentrações foram escolhidas para que não ocasionasse um desequilíbrio funcional nos reatores, pois a recalcitrância da biomassa lignocelulósica ainda é um grande desafio para a produção de biogás (VASMARA et al., 2023).

Os reatores foram montados em duplicadas, em frascos Schott de vidro, com volume total de 500 mL, sendo 400 mL de volume de reação (mistura) e 100 mL de *headspace* (volume de gás). Os reatores foram acondicionados em um banho termostático com circulação de água com temperatura controlada de 37 °C. Após o fechamento dos frascos, realizou-se a purga do oxigênio do interior dos reatores com gás nitrogênio (N₂) durante 2 minutos, para proporcionar um ambiente anaeróbio. Os reatores foram conectados ao sistema de buretas graduadas para armazenar o biogás produzido. O volume de biogás produzido foi monitorado diariamente em garrafa Mariotte preenchida com solução de NaCl por meio da movimentação da coluna líquida. O tempo de reação foi de 21 dias de experimento.

Tabela 2 – Proporção da biomassa de *Arundo donax L.* (g) e ARBL (ml) para cada lote experimental.

Reatores	Vol. ARBL (ml)	Gramínea (g)	Vol. Final (mL)*	Inóculo (mL) **	Vol. Total (mL) ***
CT	1000	0	1000	200	1200
R5	1000	50	940	188	1128
R10	1000	100	904	181	1085
R20	1000	200	890	178	1068

Cada reator foi denominado conforme a (%) de biomassa vegetal utilizado, relacionado a coluna Gramínea (g). *Após o processo de trituração e peneiração da mistura; **Adicionado 20% sobre o valor final; ***Volume utilizado para montagem experimental, duplicata de cada reator (400mL).

2.4. Microalgas

A seleção de espécies de microalgas neste estudo foi obtida na Coleção de Culturas do Laboratório Nacional de Energia e Geologia (LNEG), Lisboa, Portugal. As células foram pré-cultivadas em meio de Chu em frascos Erlenmeyer de 500 mL em condição estacionária a 22 °C (± 3 °C), iluminadas a 5 klx por cinco lâmpadas fluorescentes brancas Philips 18 W e agitadas a 100 rpm numa incubadora com agitação em ambiente controlado (New Brunswick Scientific, Edison, EUA). Inicialmente foram realizados testes com diferentes diluições (10, 20, 30, 50 e 100%) de águas residuárias de bovinos com as espécies de microalgas selecionadas, *Tetradismus obliquus*, *Chlorella vulgaris*, e *Desmodesmus subspicatus* para verificar a eficiência do crescimento da biomassa algal. Após os testes, foram selecionadas microalgas da espécie *Tetradismus obliquus* ACOI 204/07, (ACOI Culture Collection, Coimbra University, Portugal), as culturas foram inoculadas no digestato final do tratamento anaeróbio na proporção de 1:1 em água. A concentração de biomassa de microalgas utilizada para inocular os fotobiorreatores foi de 20% da amostra total nos reatores

2.5. Tratamento do digestato com cultivo de microalgas em fotobiorreatores

Para a execução da Fase II nos testes em fotobiorreatores, o digestato anaeróbio da Fase I foi utilizado como meio de cultura. Após a co-digestão anaeróbia, o digestato foi submetido à sedimentação complementar em cone Imhoff por 2 horas e, em seguida, foi armazenado em câmara fria a 4 °C (± 1 °C) até o momento da montagem dos fotobiorreatores. Os reatores foram montados em frascos Schott de vidro (500 mL), com 150 mL de digestato + 150 mL de água (1:1) + 20% (60 mL) de inóculo da espécie *Tetradismus obliquus* já adaptada no ARBL. As culturas foram mantidas à temperatura ambiente (21 °C) com um fluxo de ar de 0,6 vvm sob luz fluorescente contínua. A iluminação foi fornecida por meio de uma placa luminosa composta por tiras de LED brancas (marca: IP4, modelo: 3528 IP20

3M). O fotoperíodo do fotobiorreator foi ajustado para 24 horas de luz e 0 horas de escuridão.

O experimento em batelada teve duração de 26 dias. Amostras de todos os reatores foram coletadas a cada dois ou três dias para testes experimentais e monitoramento do crescimento de microalgas. O pH foi medido com um potenciômetro (InoLab WTW, Germany). Durante este período, o crescimento foi avaliado medindo a absorbância a 540 nm (densidade óptica, DO) usando o espectrofotômetro U-2000 (Hitachi, Japão) e calculando o peso seco da biomassa, filtrando as amostras em um filtro de membrana Milipore (0,45 µm) e secando a 105 °C. As curvas de crescimento foram obtidas plotando-se o peso seco da biomassa contra o tempo (d). Foi realizada uma correlação linear entre peso seco (g L⁻¹) e DO_{540nm}, obtendo-se as seguintes equações:

$$\text{CT} = Y = 0,7176 x (\text{OD}_{540\text{nm}}) + 1,3693; R^2 = 0,8334 \text{ Eq. (1)}$$

$$\text{FR5} = Y = 0,8096 x (\text{OD}_{540\text{nm}}) + 1,4618; R^2 = 0,9388 \text{ Eq. (2)}$$

$$\text{FR10} = Y = 0,7798 x (\text{OD}_{540\text{nm}}) + 1,4184; R^2 = 0,9069 \text{ Eq. (3)}$$

$$\text{FR20} = Y = 0,5814 x (\text{OD}_{540\text{nm}}) + 1,5651; R^2 = 0,9069 \text{ Eq. (4)}$$

Onde: CT, controle com ARBL; R5, R10 e R20, codigestão com concentrações de biomassa vegetal de 5%, 10% e 20% nas misturas.

2.6. Processamento da biomassa e análise bioquímica

Ao final do experimento, a suspensão líquida foi centrifugada (centrífuga ThermoFisher Scientific 3SR+ Multifuge, EUA) por 10 min a 13.000 rpm. A biomassa algal liofilizada (liofilizador Thermo Fisher Scientific Heto Power Dry LL 3000, EUA) para análises bioquímicas de proteínas, carboidratos e lipídios em triplicata. Os sobrenadantes das amostras finais dos fotobiorreatores foram analisados de acordo com os métodos analíticos descritos anteriormente. O teor de proteína foi estimado pelo método Lowry em amostras previamente tratadas com 0,1 mol L⁻¹ NaOH (LOWRY et al., 1951). O teor de lipídico foi obtido gravimetricamente após extração Soxhlet com n-hexano por 6 horas. Após cada extração, o solvente foi evaporado em um evaporador rotativo (Buchi Waterbath B-480, Alemanha) com banho controlado termostaticamente a 50 °C. As concentrações de carboidratos foram medidas pelo método Fenol-Sulfúrico, a uma densidade óptica de 490 nm

(espectrofotômetro Hitachi U-2000, Japão). Os teores de umidade e de cinzas foram determinados gravimetricamente por secagem em estufa a 105 °C até massa constante e por incineração a 550 °C em forno mufla, respectivamente.

2.7. Modelo cinética

Modelos cinéticos podem fornecer uma descrição das características do processo de digestão anaeróbia e ajudar a determinar os parâmetros-chave para projetar reatores bioquímicos e prever seu rendimento e desempenho de biogás. A cinética de produção de metano ou biogás pode ser usada para avaliar os padrões de biodegradabilidade da matéria orgânica durante a digestão anaeróbia (PEČAR et al., 2020). Modelos não lineares foram ajustados aos dados de produção de biogás. Para isso, utilizou-se o algoritmo de Levenberg-Maquart disponível no software OriginPro (MORÉ 1978), sendo as regressões avaliadas por sua significância ($\alpha = 0,05$). A produção de biogás de um processo de digestão anaeróbia pode ser estimada por vários modelos não lineares. Neste estudo, essa estimativa foi realizada com seis modelos cinéticos, descritos na Tabela 3. A consistência dos resultados dos modelos cinéticos com os dados experimentais foi medida em termos de coeficiente de determinação (R^2) e através do ajuste do erro quadrático médio da raiz (*Root Mean Square Error* - rRMSE). Um rRMSE mais baixo indica que o modelo cinético fornece uma melhor descrição do processo de digestão (BEDOÍĆ et al., 2020).

Tabela 3 – Modelos cinéticos aplicados em co-digestão anaeróbia.

Modelo		Equação
1ª ordem	Eq. (5)	$Y(i) = Y_m (1 - \exp^{-kt})$
Modelo Logístico	Eq. (6)	$Y(i) = \frac{Y_m}{1 + \exp\left[\frac{4 \times \mu m}{Y_m} \times (\lambda - t) + 2\right]}$
Modelo de Cone	Eq. (7)	$Y(i) = \frac{Y_m}{1 + (k t)^{-n}}$
Gompertz Modificado	Eq. (8)	$Y(i) = Y_m \times \exp\left\{-\exp\left[\frac{\mu m (\lambda - t)}{Y_m}\right] + 1\right\}$
FOMT	Eq. (9)	$Y(i) = Y_m (1 - \exp^{-kt^Y})$
FOIT	Eq. (10)	$Y(i) = Y_m \exp\left(\frac{-k}{t}\right)$

Onde: First order with modified time dependency (FOMT); First order variant-inverse time (FOIT). $Y_{(t)}$ = produção acumulativa de gás no tempo t ; Y_m = produção final de gás em t específico; μ_m = taxa máxima de produção de gás; λ = fase lag, tempo de atraso em dias; t = tempo de digestão (d); n = fator de forma; k , γ = são constantes ajustadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção apresentam-se os resultados obtidos durante o período experimental das duas fases. Assim, na Fase I são apresentados os resultados das análises físicas e químicas, a eficiência do tratamento de co-digestão em diferentes condições experimentais e a quantificação do volume de biogás produzido. Na Fase II são apresentados os resultados da eficiência do tratamento com microalgas e análise da biomassa algal.

3.1. Fase I: Co-digestão

3.1.1 pH, Alcalinidade e remoção de sólidos

Os reatores foram operados em modo batelada sob condições de temperatura mesófila (36 °C) com tempo de reação de 21 dias de experimento (Figura 1).

Figura 1 – Montagem experimental dos reatores anaeróbios em co-digestão.



Fonte: Autor (2023).

Na Tabela 4 apresentam-se os resultados das análises de entrada e saída de pH e alcalinidade para os reatores. O valor do pH é um dos principais fatores operacionais que afetam expressivamente o processo de biodigestão anaeróbia. Os valores de pH inicial e final foram semelhantes em todos os experimentos em batelada. Os valores de pH de entrada nos reatores de co-digestão ficaram entre 7,60 e 7,88. O processo anaeróbio promoveu aumento do pH no reator CT. Porém, o pH diminuiu nos reatores com presença de biomassa vegetal, atingindo valores de 7,58 a 7,69 no digestato de saída. Os valores de pH estavam na faixa de DA estável, pH 6,50 a 8,20 (COOK et al., 2017). Os valores de pH inicial e final dos reatores encontrados neste estudo permaneceram ideais em condições anaeróbias, indicando condições adequadas para degradação de material orgânico e crescimento microbiano. Cada grupo de microrganismos tem um faixa de pH ideal diferente. As arqueias metanogênicas são extremamente sensíveis ao pH, com um valor ótimo entre 6,70 e 7,50 (KUNZ et al., 2019). Os valores de pH inferiores a 6,60 inibem o crescimento de microrganismos metanogênicos (ZUO et al., 2013). O pH tem influência efetiva no desempenho dos digestores e conseqüentemente na produção de biogás (ISSAH et al., 2020).

A alcalinidade registrada nos reatores aumentou durante o processo anaeróbio, variando de 3750 a 7350 mg L⁻¹ na entrada e de 7500 a 9000 mg L⁻¹ na saída. Os valores na saída indicaram a capacidade de tamponamento do sistema, ou seja, a capacidade de evitar mudanças bruscas de pH, mantendo o processo anaeróbio em boas condições operacionais. De acordo com Mendonça et al. (2017^b), a produção de metano aumenta a alcalinidade, sob operação apropriada, além de neutralizar os ácidos graxos durante o processo de digestão.

Tabela 4 – pH e alcalinidade.

Reatores	pH		Alcalinidade (mg L ⁻¹)	
	Ent	Fin	Ent	Fin
CT	7,60 (0.01)	7,69 (0.25)	7350 (0.1)	9000 (0.1)
R5	7,88 (0.01)	7,64 (0.01)	6350 (1.5)	7500 (0.05)
R10	7,76 (0.01)	7,61 (0.15)	5300 (1.0)	8000 (0.1)
R20	7,65 (0.01)	7,58 (0.25)	3750 (0.1)	8000 (0.1)

Ent. – Misturas de entrada em cada reator; Fin. – Digestato final do processo de co-digestão. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

A co-digestão anaeróbia realizada no experimento foi caracterizada como um processo úmido. Os sistemas DA úmidos são geralmente alimentados com substratos com um teor de ST abaixo de 10% (WANG et al., 2020). A caracterização exata do teor ST e SV dos substratos é crucial nas investigações de DA devido ao seu impacto na produção de metano e na estabilidade do processo. Na Tabela 5 apresentam-se os resultados das análises da série de sólidos.

Após o processo anaeróbio, verificou-se uma degradação dos compostos orgânicos em termos de remoção de compostos orgânicos, as taxas de ST e SV diminuíram com o tempo de reação. Os valores de ST nas amostras iniciais foram de 1,85, 2,15, 2,42 e 2,85% para os tratamentos CT, R5, R10 e R20, respectivamente, enquanto os valores de saída foram de 1,42, 1,65, 1,65 e 1,93%. Observa-se redução na eficiência de remoção de ST de 23,0; 22,8; 31,5 e 32,4%, respectivamente, no CT, R5, R10 e R20. A redução de sólidos após o tratamento DA é ambientalmente sustentável, não só reduz a carga de eliminação, mas reduz a pegada de carbono quando os sólidos convertidos em metano são utilizados como recurso energético, por exemplo, biogás (SHRESTHA et al., 2020).

Os resultados obtidos mostram que as misturas de entrada em cada reator apresentam elevadas concentrações de SV (60–71% com base em ST). Valores próximos aos substratos utilizados foram relatados por vários pesquisadores, como Lahbab et al. (2021), utilizando a co-digestão de cascas vegetais com dejetos de bovino para produção de biogás e Almomani (2020), que avaliou o efeito da co-digestão de resíduos agrícolas. A DA nos reatores foi realizada inicialmente com diferentes taxas de carregamento orgânico, determinadas com base nas razões de SV e no volume do reator (400 mL), resultando em 28,1, 35,6, 40,2 e 51,0 mgSV L⁻¹ nos respectivos tratamentos CT, R5, R10 e R20. Após um tempo de reação de 21 dias, os valores de carregamento orgânico do digestato finais foram de 16,9, 23,3, 21,9 e 25,5 mgSV L⁻¹. Analisando os valores de entrada e saída dos reatores, a taxa de remoção de SV chegou a 50%. Da mesma forma, as misturas com maior proporção de biomassa vegetal apresentaram valores mais elevados tanto na porcentagem de eficiência de remoção de SV quanto na redução da fração potencialmente degradável do ST.

Tabela 5 – Série de sólidos.

Reatores	ST (mg L ⁻¹)			SF (mg L ⁻¹)		SV (mg L ⁻¹)		
	Ent	Fin	R (%)	Ent	Fin	Ent	Fin	R (%)
CT	18545 (0.09)	14277 (0.01)	23.0	7316 (0.1)	7501 (0.02)	11230 (0.10)	6776 (0.3)	39.6
R5	21502 (0.05)	16594 (0.02)	22.8	7257 (0.3)	7252 (0.3)	14245 (0.06)	9343 (0.3)	34.4
R10	24219 (0.08)	16592 (0.2)	31.5	8118 (0.01)	7828 (0.1)	16101 (0.07)	8764 (0.3)	45.5
R20	28551 (0.03)	19310 (0.02)	32.4	8126 (0.01)	9084 (0.02)	20424 (0.02)	10225 (0.3)	50.0

Ent. – Misturas de entrada em cada reator; Fin. – Digestato final do processo de co-digestão; R (%) – Remoção. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

3.1.2 Remoção de DQO total e solúvel

De acordo com a Tabela 6, a eficiência de remoção de matéria orgânica alcançou valores de 37 a 40% (DQO_t) e 74 a 77% (DQO_s), neste estudo. O tratamento anaeróbico em reatores *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) é comumente usados para tratar grandes volumes de águas residuais em um curto período. Mendonça et al. (2017^b), em seu estudo com águas residuárias de bovinos em um reator híbrido UASB, encontraram as maiores taxas de remoção orgânica em tempos de retenção de 5 e 6 dias, onde foram alcançadas eficiências médias de 76 e 81% DQO_t, respectivamente. Pesquisas anteriores de sistemas de DA com dejetos bovino permitiram taxas de remoção de DQO inferiores ou próximas de 80% (HAN et al., 2019; WANG et al., 2022; ZHANG et al., 2018).

O efluente pós-digestão é caracterizado por ainda ter níveis consideráveis de matéria orgânica, e o valor correspondente de DQO varia dentro de uma ampla faixa de 9,2 a 78 g L⁻¹ (AKHIAR et al., 2017). No presente estudo, os resultados dos valores de DQO do digestato pós-digestão ficaram na faixa de 7,7 a 13,2 g L⁻¹, apresentando potencial poluidor. Portanto, após análise da carga orgânica torna-se interessante a possibilidade de pós-tratamento do digestato final. Este tratamento resulta em melhor biodegradabilidade para a fração líquida dos digestatos provenientes de instalações de co-digestão, tanto para a fração líquida bruta (DQO_t) quanto para a fração solúvel (DQO_s) após a remoção das partículas em suspensas.

Tabela 6 – Remoção total e solúvel de DQO.

Reatores	DQO _t (mg L ⁻¹)			DQO _s (mg L ⁻¹)		
	Ent	Fin	R (%)	Ent	Fin	R (%)
CT	12731 ₍₆₉₄₎	7727 ₍₄₆₃₎	39	5324 ₍₂₃₁₎	1363 _(227.3)	74
R5	15972 ₍₆₉₄₎	9545 ₍₄₆₃₎	40	3703 ₍₂₃₁₎	909 _(227.3)	75
R10	16667 ₍₄₆₃₎	10000 _(227.3)	40	4860 ₍₂₃₁₎	1136 _(227.3)	76
R20	20833 ₍₄₆₃₎	13182 _(227.3)	37	6944 ₍₂₃₁₎	1590 _(227.3)	77

Ent. – Misturas de entrada em cada reator; Fin. – Digestato final do processo de co-digestão; R (%) – Remoção. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

3.1.3 Compostos de nitrogênio e de fosfato

A concentração de NTK aumentou após DA para todos os casos (Tabela 7). O nitrogênio amoniacal também aumentou comprovando a mineralização dos resíduos. O aumento ao longo do processo é o esperado (BAYRAKDAR et al., 2017; SIMIONI et al., 2020; ZHANG et al., 2021), devido à natureza do resíduo, que é uma fonte rica em nitrogênio por ser de origem animal. Ressalta-se que a co-digestão anaeróbia é uma alternativa viável para resolver os problemas relacionados à mono-digestão, como a rápida acidificação e a baixa relação C: N que causa inibição dos processos (GONZÁLEZ et al., 2022).

A relação C: N é utilizada para medir o equilíbrio de carbono e nitrogênio no substrato e a adequação para digestão anaeróbia (WANG et al., 2014; MORKEN et al., 2018). Os valores de compostos nitrogenados na saída não impediram o desenvolvimento e a estabilidade do sistema. Este fato pode ser explicado pela adição de co-substratos ricos em carbono, como a biomassa vegetal, que ajuda a manter o bom funcionamento dos reatores e melhora o rendimento de metano.

Além disso, como esperado, a concentração de nitrogênio amoniacal aumentou após a DA, enquanto o nível de nitrogênio orgânico diminuiu. O N-NH₄⁺ de entrada variou entre 896 e 966 mg L⁻¹ nas misturas e entre 1050 e 1204 mg L⁻¹ no digestato (Tabela 7). As concentrações de nitrogênio amoniacal de entrada e saída, no entanto, estavam na faixa para DA estável, inferior a 5000 mg L⁻¹ (COOK et al., 2017) e também estavam abaixo dos valores de inibição (1500 a 7000 mg L⁻¹) (YENIGÜN e DEMIREL 2013; RAJAGOPAL et al., 2013). A conversão de N_{Org} em N-NH₄⁺ ocorreu por amonificação durante a DA (Tabela 7).

Tabela 7 – Compostos de nitrogênio e fosfato.

Reatores	NTK (mg L ⁻¹)		N-NH ₄ ⁺		N _{Org}		N-NO ₃ ⁻		PO ₄ ³⁻	
	Ent	Fin	Ent	Fin	Ent	Fin	Ent	Fin	Ent	Fin
CT	1481 (30.8)	1640 (0)	924 (0)	1134 (14)	557	506	405 (5.35)	362 (19.33)	34 (4.5)	39 (0.75)
R5	1526 (2.8)	1568 (0)	966 (14)	1050 (14)	560	518	424 (5.45)	386 (5.20)	22 (0)	43 (1.0)
R10	1587 (2.8)	1657 (0)	938 (14)	1162 (14)	649	495	610 (6.94)	375 (12.64)	23 (0.25)	44 (1.0)
R20	1630 (2.8)	1836 (0)	896 (14)	1204 (14)	734	632	800 (1.19)	360 (0.5)	24 (0.25)	46 (2.0)

Ent. – Misturas de entrada em cada reator; Fin. – Digestato final do processo de co-digestão. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

A variação do aumento na concentração de N-NH₄⁺ foi mais acentuada no reator com 20% de biomassa vegetal. O excesso de nitrogênio nas matérias-primas, como dejetos bovinos, pode resultar em efeitos tóxicos nas bactérias devido à formação de amônia (NIELSEN e ANGELIDAKI, 2008). Se a relação C: N não estiver em equilíbrio, a produção de metano será baixa devido à limitação de carbono ou nitrogênio e ao aumento da concentração de amônia; ambos inibem microrganismos produtores de metano (ANGELIDAKI et al., 2005; MATHERI et al., 2017). Nesse sentido, o efeito de compostos tóxicos ou inibitórios pode ser minimizado com o uso de diferentes substratos co-digeridos, melhorando a estabilidade e o desempenho do processo. Assim, nota-se que o reator com 5% de biomassa vegetal não teve aumento considerado de N-NH₄⁺, o que sugere que a produção de metano pode ser benéfica nesse contexto. Esses resultados demonstram a importância de uma proporção apropriada entre os substratos para garantir a eficácia do processo.

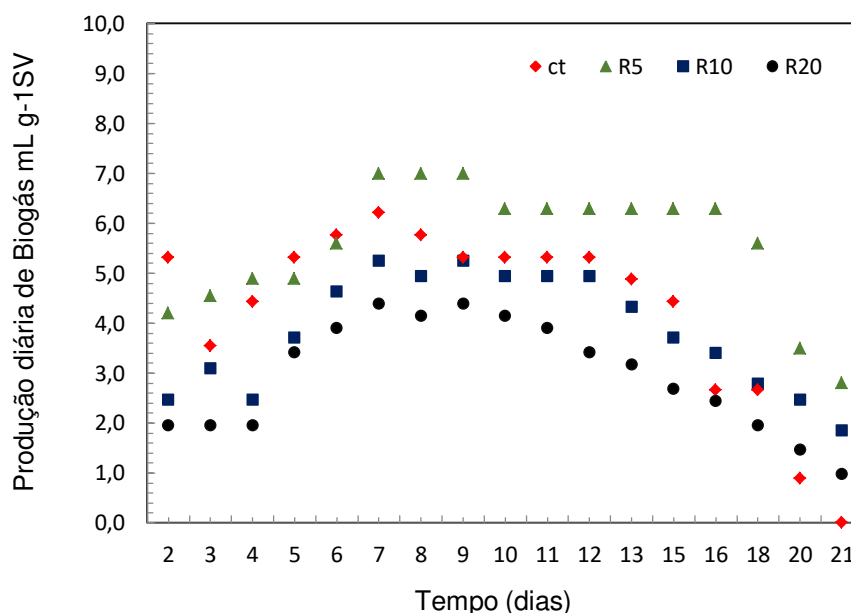
As concentrações de PO₄³⁻ nas amostras de entrada variaram de 22 a 34 mg L⁻¹ (Tabela 7), valores que não comprometeram o desenvolvimento e a estabilidade do processo nos reatores. As concentrações na saída foram superiores às da entrada em todos os reatores, indicando um acúmulo dessa molécula no lodo biológico gerado. Macronutrientes como carbono, nitrogênio e fósforo são essenciais

para a produção eficaz de biogás, devido à demanda microbiana por esses elementos (DEMIREL e SCHERER, 2011; GONZÁLEZ-SUÁREZ et al., 2018).

3.1.4 Produção de biogás

A produção volumétrica de biogás diário foi expressa de forma normalizada às condições padrões de temperatura e pressão, e em seguida transformada no potencial bioquímico de biogás (PBB), expresso em mL gSV⁻¹ (Figura 2). O tempo de incubação dos reatores foi de 21 dias, em condições de temperatura mesofílica. PBB foi de 73,13, 94,69, 65,23 e 50,20 mL gSV⁻¹, nos respectivos tratamentos CT, R5, R10 e R20. O gráfico mostra a produção de biogás em cada reator, relacionando o volume da produção diária de biogás (eixo y) com o tempo de digestão (eixo x). O comportamento dos resultados apresentam fases semelhantes à cinética de crescimento microbiano: 1) fase lag (produção lenta de biogás), 2) fases exponenciais (produção rápida de biogás) e 3) fase estacionária, taxa de produção de biogás eventualmente diminui para zero (WARE e POWER 2017).

Figura 2 – Produção diária de Biogás mL g⁻¹ SV.



Reatores – CT, controle; 5,10 e 20% de biomassa vegetal.

Durante os primeiros 6 dias de incubação, a produção de gás foi progressiva em todos os reatores. Este tempo provavelmente está relacionado à adaptação dos microrganismos anaeróbios ao substrato, fase de latência. Em seguida, na fase

exponencial, os microrganismos iniciam sua divisão celular, onde o crescimento é constante e uma taxa máxima específica de crescimento dos microrganismos é atingida. Esta fase é de grande interesse, uma vez que a degradação da matéria orgânica em tratamentos biológicos está relacionada com o número de microrganismos presentes no ambiente. Na última fase estacionária, ocorre a esgotamento dos nutrientes e a duplicação dos microrganismos também é interrompida (ZWIETERING et al., 1990).

Os maiores valores de produção de biogás observados iniciaram-se no 7º dia em todos os ensaios. O ensaio com 5% de biomassa vegetal manteve-se estável na produção de biogás durante o período experimental, apenas reduzindo sua produção aproximadamente pela metade no 18º dia. Nos ensaios com 10 e 20% de biomassa vegetal, a partir do 13º dia, a produção diminuiu até o final do monitoramento. O ensaio CT, que consistiu no controle experimental, após sua maior produção nos dias seguintes, a taxa de produção de gás diminuiu e chegou a zero, fase estacionária.

Analisando os reatores em co-digestão com a gramínea *Arundo donax* L. podemos observar que a capacidade de suporte proposta no estudo de até 20% de biomassa vegetal não inviabilizou o sistema como um todo. No entanto, no tratamento 5%, a produção de biogás foi maior após uma fase lag e tendeu a estabilizar-se no experimental mais longo. Isso indica que uma proporção adequada de co-substratos suplementa o carbono orgânico e demais nutrientes para os microrganismos. Em situações com uma proporção elevada, o co-substrato pode introduzir inibidores do crescimento microbiano. A presença de lignina em um substrato com alta concentração pode causar baixa produção de metano, devido à sua biodegradabilidade em condições anaeróbias e à sua toxicidade durante o processo (KOYAMA et al., 2017). O mecanismo de inibição da lignina interfere na taxa inicial de produção de biogás, principalmente na fase da hidrólise, pois aumenta a dificuldade de hidrólise enzimática da celulose, resultando na despolimerização da lignina (KAMPERIDOU e TERZOPOULOU 2021).

Mirabi et al. (2024), investigaram a produção de biogás e metano na co-digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos com dejetos bovinos, em modo batelada, em condições mesófilas. Os principais fatores que contribuíram para a ineficácia do processo foram o acúmulo de ácidos voláteis, o pH abaixo de 5 até a conclusão do processo e o desequilíbrio da amônia, desfavorecendo as reações

metanogênicas e a produção de biogás. Foram relatados efeitos sinérgicos da co-digestão na produção de biogás e metano em diferentes proporções de co-substrato, enquanto o excesso de um co-substrato pode resultar na falha de sinergias e até mesmo em efeitos opostos. Misturas que altera abruptamente o pH e produz compostos inibitórios, como amônia e outros sais inorgânicos, foram identificadas como fatores de baixo desempenho (RAJAGOPAL et al., 2013; MASIH-DAS e TAO 2018; BELLA e RAO 2023). A quantidade de mistura de substratos influencia a produção de biogás e metano. A proporção ideal de co-substratos é frequentemente determinada por experimentos laboratoriais com combinações discretas ou por modelagem, que avaliam os parâmetros inibitórios presentes no co-substrato (COOK et al., 2017; CONG et al., 2018; MASIH-DAS e TAO, 2018; ULUKARDESLER, 2023).

Muitos fatores, como tipos dos substratos, condições experimentais, parâmetros operacionais e estrutura do reator, podem influenciar a acurácia e confiabilidade do modelo (ZHEN et al., 2015). Vários modelos são benéficos para garantir a autenticidade dos dados de ajuste. No desempenho da predição aplicando modelos cinéticos, é importante que o rRMSE seja menor que 10%, pois descreve o erro real entre os valores experimentais e preditos, e que o R^2 seja maior que 0,9, pois indica a precisão do algoritmo em descreve a variação nos dados (STRÖMBERG et al., 2015). Para o estudo do efeito das misturas em co-digestão na produção de biogás, em um primeiro momento avaliaram-se seis modelos cinéticos que foram ajustados aos dados do tratamento CT (Tabela 8). Na avaliação dos modelos, foram obtidos os valores de $R^2 > 0,96$ e rRMSE máximo de 11,2% para CT. A proximidade dos valores de R^2 com o valor 1 fornece mais evidências de uma correlação significativa entre o modelo cinético e a produção de biogás observada.

Tabela 8 – Resultados dos seis modelos cinéticos ajustados aos dados do tratamento CT.

Model	R^2 (%)	rRMSE (%)
First-order	96,6	11,2
Logistic Model	99,7	3,4
Cone	99,7	3,7
Modified Gompertz	99,9	2,2
FOMT	99,9	2,1
FOIT	99,2	5,6

R^2 – Coeficiente de determinação; rRMSE – Erro quadrático médio da raiz.

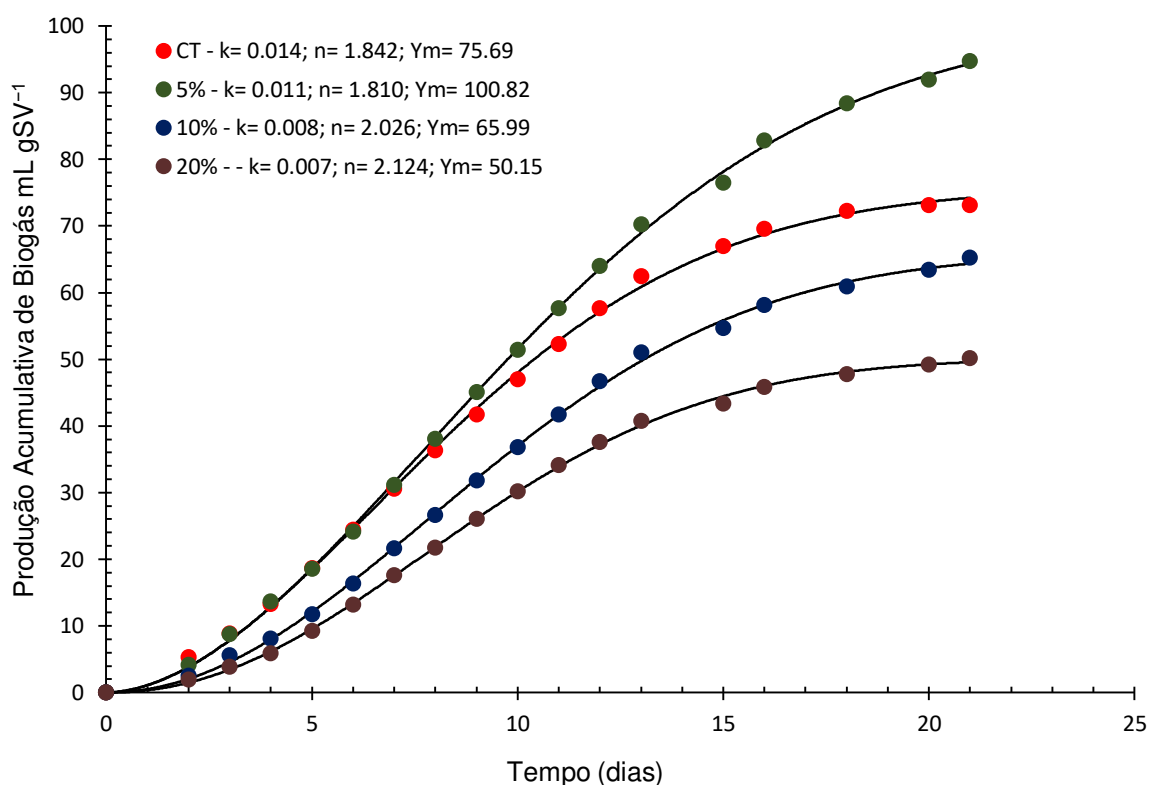
Quatro dos seis modelos apresentaram excelente desempenho, com RRMSE inferior a 5%. A equação de Gompertz Modificada é frequentemente utilizada para descrever a degradação de substratos orgânicos simples, é o modelo mais comumente usado para a determinação da cinética de produção de metano (TJØRVE e TJØRVE, 2017). Embora o modelo de Gompertz modificado tenha apresentado um rRMSE de 2,2%, ele subestimou a produção máxima de metano, que, para a condição do reator CT, foi experimentalmente determinada em 73,13 mL gSV⁻¹. Outros estudos também relataram valores subestimados ao utilizar a equação de Gompertz modificada (WARE e POWER, 2017; WOJNAROWSKA et al., 2022). Vale ressaltar que, embora esses modelos clássicos tenham sido utilizados para prever a produção de biogás e metano em inúmeros ensaios em laboratório e em escala plena (STRÖMBERG et al., 2015; HOWELL et al., 2019; PEČAR et al., 2020), a adequação e precisão dos modelos sempre variam consideravelmente dependendo das condições experimentais, parâmetros operacionais, bem como origem do inóculo e tipo de substratos empregado.

Assim, para fins de comparação da cinética quando das diferentes misturas, optou-se pelo uso do modelo de primeira ordem modificada com dependência variável de tempo (FOMT), também conhecido como modelo sigmoidal. Este modelo forneceu valores de rRMSE relativamente baixos e R² alto. O modelo apresentou R² igual a 0,9994, 0,9991, 0,9993 e 0,9988, e valores de rRMSE de 1,6, 1,9, 1,7 e 2,1%, dos respectivos tratamentos R5, R10, R20 e CT. Percebe-se que os valores de R² encontrados foram próximos a 1, e os valores de rRMSE menores que 2,5%.

O modelo FOMT também foi usado por Howell et al. (2019) para predição do potencial de biogás anaeróbio em resíduos sólidos urbanos tratados biologicamente, e encontram valores relativamente baixos de rRMSE (2,74 a 2,92%) e R² alto (0,9958). Strömberg et al. (2015) também utilizaram o modelo FOMT, dentre outros, para prever o PBB e o tempo de degradação requerido de vários tipos de substratos, no qual a produção final de gás pudesse ser prevista em um estágio anterior. O estudo foi proposto para solucionar uma das possíveis desvantagens dos testes PBB, que é sua longa duração. Soares et al. (2022) também utilizaram o modelo do tipo “*tempo-dependente*”, para estudar a cinética da remoção de matéria orgânica em sistemas de alagados construídos. Os autores encontraram em seus resultados um estilo de gráfico que reflete a situação “*tailing-off*” (curva côncava).

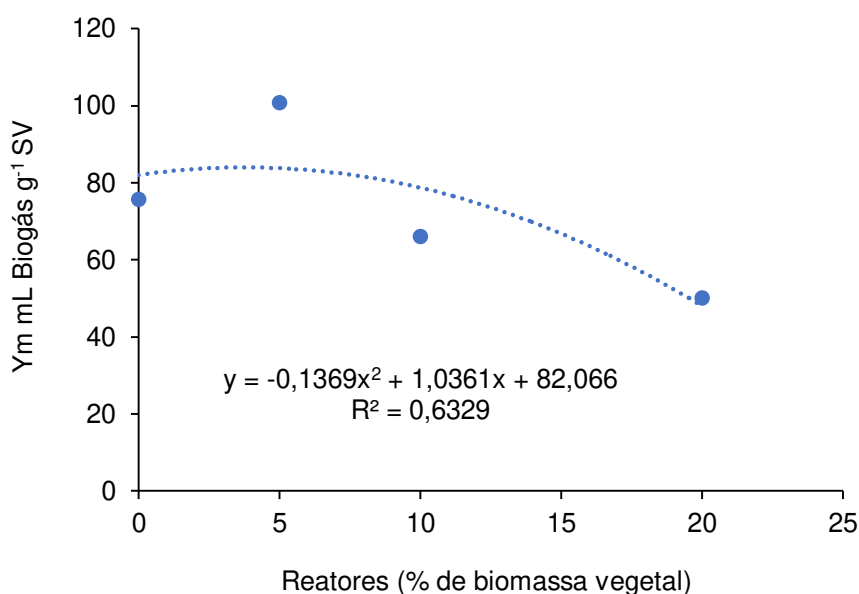
O modelo cinético de FOMT foi utilizado para simular a produção de biogás durante a co-digestão anaeróbia da biomassa de *Arundo donax* L. com ARBL em diferentes proporções. Na Figura 3 apresenta-se a produção cumulativa de biogás ao longo do tempo de digestão experimental, comparando os dados experimentais com as previsões do modelo cinético FOMT. Na figura também os valores dos parâmetros k (coeficiente da reação, unidade d^{-1}), n (coeficiente de forma, adimensional) e Y_m (produção máxima de produção de biogás, unidade $mL\ gSV^{-1}$).

Figura 3 – Produção cumulativa de biogás dos tratamentos em cada reator para ajuste do modelo FOMT.



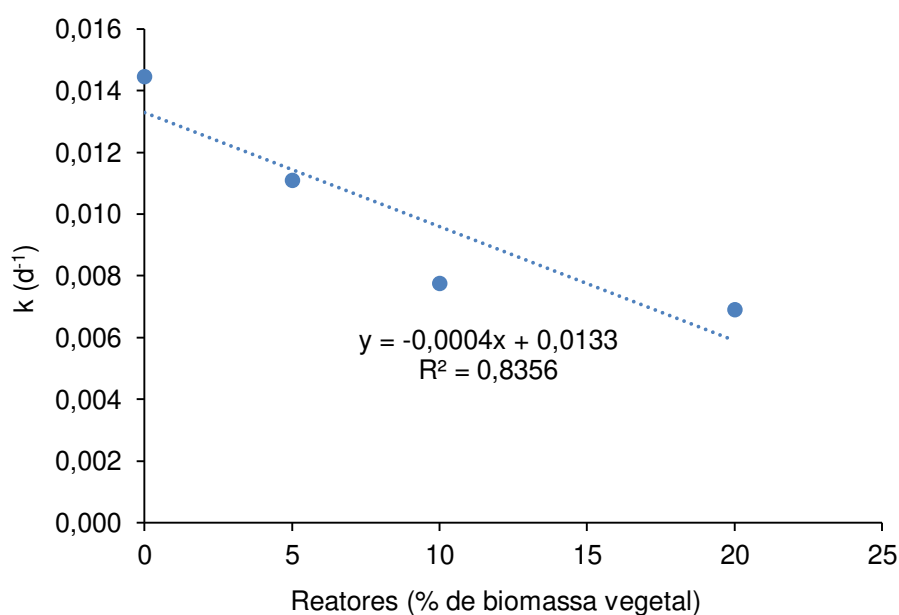
Os valores de Y_m preditos pelo modelo estão próximo dos valores experimentais. Na Figura 4 mostra-se a variação dos Y_m preditos com a concentração de adição de biomassa vegetal. Um modelo foi ajustado para descrever o comportamento, sendo obtida a seguinte equação: $y = -0.1369x^2 + 1.0361x + 82.066$.

Figura 4 – Modelo representando a variação do coeficiente máximo de rendimento de biogás Y_m , com os reatores.



Na Figura 5 visualizam-se os coeficientes de reação k (d^{-1}) em relação a cada reator com as proporções. Foi ajustado um modelo linear com valor de $R^2 = 0.8356$. Observa-se que, à medida que a concentração de biomassa vegetal no reator aumenta, o coeficiente de reação diminui. Isso ocorre porque o aumento da carga orgânica dificulta a degradação.

Figura 5 – Variação dos coeficientes de reação.



3.1.5 Digestato

O aumento no número de usinas de biogás significa um aumento simultâneo na quantidade do subproduto final, o digestato (DALE et al., 2020). A utilização do digestato anaeróbio como fonte de nutrientes foi avaliado (AKHIAR et al., 2017; ARIAS et al., 2017; SOBOLEWSKA et al., 2023). Após processamento adequado, o digestato pode ser utilizado na agricultura e na indústria. A fração sólida e líquida do digestato pode ser compostado ou aplicada diretamente como fertilizante orgânico (WEIMERS et al., 2022).

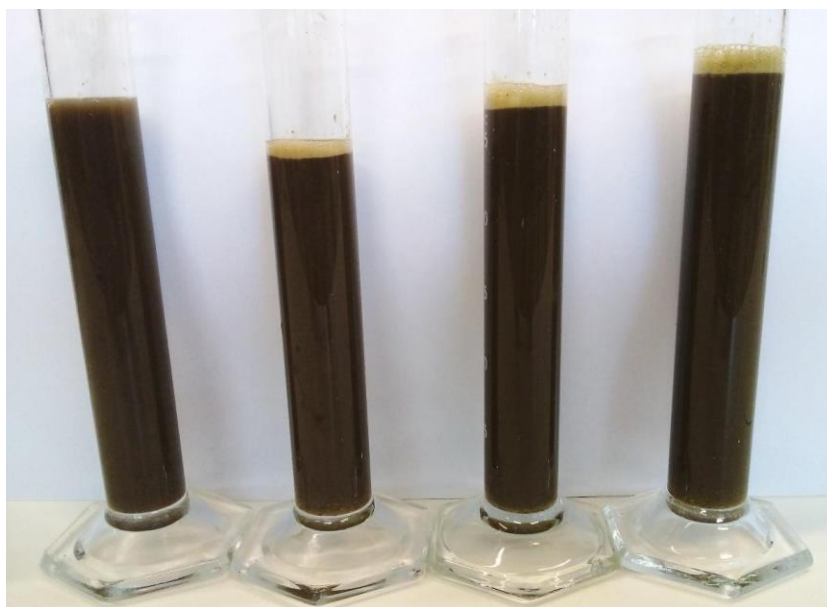
O digestato anaeróbio final, quando não tratado, pode causar sérios impactos ambientais devido às suas altas concentrações de nutrientes, substâncias orgânicas e outros elementos tóxicos. Desta forma, o tratamento secundário dos digestatos é recomendado para reduzir significativamente os problemas ambientais, como a poluição do solo e das águas subterrâneas que afeta a vida aquática, a lixiviação, a eutrofização e o aumento das emissões de gases com efeito de estufa. Novas rotas têm sido propostas para a valorização do digestato, como a produção de biocombustíveis e outros bioprodutos de valor agregado, contribuindo para ganhos positivos para o conceito de economia circular (ARIAS et al., 2017; CALIJURI et al., 2022; MENDONÇA et al., 2022; SOBOLEWSKA et al., 2023).

Tendo em vista o acima exposto, as investigações sobre frações líquidas de digestatos têm aumentado recentemente, um dos métodos promissores é o cultivo de microalgas neste efluente, que são capazes de reduzir o nível de substâncias orgânicas e inorgânicas no líquido digerido (AYRE et al., 2021; VADIVELLOO et al., 2021; FERREIRA et al., 2023; SOBOLEWSKA et al., 2023). As microalgas podem viver e crescer em condições ambientais adversas, incluindo o digestato líquido. As microalgas utilizam nitratos, amônia e fosfatos ainda presentes no resíduo, reduzindo significativamente suas concentrações de poluentes orgânicos e nutrientes no ambiente em que se desenvolvem. Além disso, apresentam diversas vantagens como a conversão de carbono orgânico em componentes celulares, e a obtenção de uma biomassa com altas concentrações de lipídios e carboidratos (KHOO et al., 2023). A biomassa de algas produzida é valiosa como matéria-prima para produtos de base biológica, como bioplásticos, biotintas, suplementos animais, biofertilizantes e biocombustíveis ou bioenergia (BARKIA et al., 2019; MENDONÇA et al., 2021).

Diante deste cenário, os digestatos produzidos pela co-digestão anaeróbia na primeira fase do experimento foram utilizados como meio de cultivo para a microalga *Tetradismus obliquus* em fotobiorreatores. Os resultados das concentrações de N-NH_4^+ , N-NO_3^- e PO_4^{3-} no digestato são eficientes para o crescimento de algas descritos anteriormente. Pretende-se que os valores de DQO e de sólidos sejam significativamente reduzidos, bem como as concentrações de poluentes orgânicos e nutrientes no digestato líquido. A Figura 6 relata os efluentes finais nos reatores anaeróbios utilizados na Fase II. A alta turbidez do digestato pode ser o principal obstáculo se a fração líquida do digestato for utilizada para o cultivo de microalgas devido à necessidade de penetração da luz para o crescimento das algas (MARCILHAC et al., 2014; TAWFIK et al., 2022; SOBOLEWSKA et al., 2023).

Este fato pode inibir o crescimento de microalgas em meio completo. Como solução para avançar no estudo do processo mediado pelas microalgas, diluímos o digestato em água. Assim, consegue-se um crescimento mais rápido, devido à maior clarificação do meio de cultura, facilitando a penetração da luz.

Figura 6 – Digestatos produzidos por co-digestão anaeróbia, respectivos tratamentos R5, R10, R20 e CT. O conteúdo restante de sólidos na fração líquida contribuiu para a cor escura e alta turbidez.



Fonte: Autor (2023).

3.2. Fase II: Fotobiorreatores

O cultivo de microalgas em fotobiorreatores (FR) é uma opção adequada para pós-tratamento de efluentes para remoção de nutrientes, auxiliando na biorremediação de efluentes, com possibilidade de aplicação em larga escala em um futuro próximo (SOUZA et al., 2022; ALAVIANGHAVANINI et al., 2024), destacando a relevância do projeto para o desenvolvimento da inovação tecnológica.

Os digestatos produzidos pela co-digestão anaeróbia apresentam uma cor castanha muito escura que pode dificultar a penetração da luz e, por conseguinte, a fotossíntese das microalgas na fase autotrófica. Foi então necessária uma diluição de 1:1 para diminuir significativamente a turbidez e a cor para níveis adequados para o crescimento de microalgas. Optou-se por não utilizar agente coagulante para remoção de cor e turbidez. As culturas de microalgas foram cultivadas em fotobiorreatores conforme Figura 7.

Figura 7 – As culturas de microalgas cultivadas em fotobiorreatores. A iluminação foi fornecida por meio de uma placa de luz composta por faixas de LED brancas.



Fonte: Autor (2023).

De acordo com os resultados obtidos no item 3.1, foi organizada uma Tabela 9 com a composição inicial dos digestatos anaeróbios (bruto) e diluídos (1:1), de cada tratamento. Nesta Tabela, são também indicados os valores limites de emissão nas descargas de águas residuais impostos pela legislação portuguesa (DECREE-LAW n.º 236/98, 1998). A composição completa da fração líquida do digestato é necessária para compreender a eficiência do pós-tratamento e sua valorização.

Tabela 9 – Compostos de nitrogênio e fosfato.

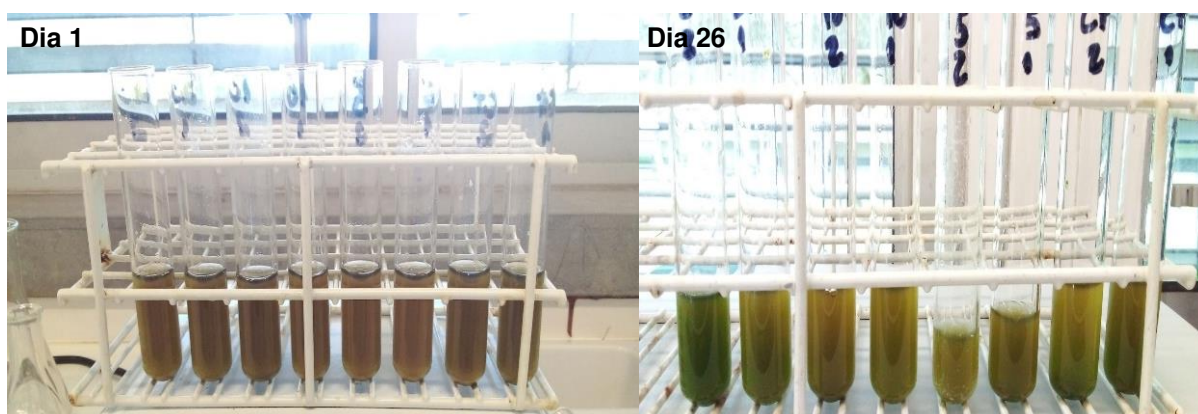
Reatores	pH	DQO (mg L ⁻¹)	NTK	N-NH ₄ ⁺	PO ₄ ⁻³
Digestato bruto					
CT	7,69 (0.25)	7727 (463)	1640 (0.1)	1134 (14)	39 (0.75)
R5	7,64 (0.01)	9545 (463)	1568 (0.2)	1050 (14)	43 (1.0)
R10	7,61 (0.15)	10000 (227.3)	1657 (0.2)	1162 (14)	44 (1.0)
R20	7,58 (0.25)	13182 (227.3)	1836 (0.1)	1204 (14)	46 (2.0)
Digestato diluído (1:1)					
CT		3860 (0.1)	816 (0.1)	565 (8.5)	19 (0.4)
R5		4770 (0.1)	783 (1.0)	522 (7.5)	21 (0.5)
R10		4992 (0.1)	822 (1.5)	577 (3.0)	22 (0.5)
R20		6588 (0.1)	915 (3.5)	600 (1.5)	23 (1.3)
Legislação Portuguesa	6-9	150	15	10	10

Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

3.2.1 Biomassa seca e produtividade volumétrica

A diluição 1:1 dos digestatos produzidos pela co-digestão anaeróbia proporcionou conteúdo adequado de nutrientes para o crescimento das microalgas e para passagem de luz. A Figura 8 demonstra amostras coletadas dos fotobiorreatores dos dias 1 e 26 para leitura no espectrofotômetro. É possível notar a diferença na tonalidade das cores, respectivamente amostras em duplicata, no FR5.1, FR5.2; FR10,1, FR10,2; FR20,1, FR20,2; CT.1, CT.2, indicativo de crescimento de biomassa de algas.

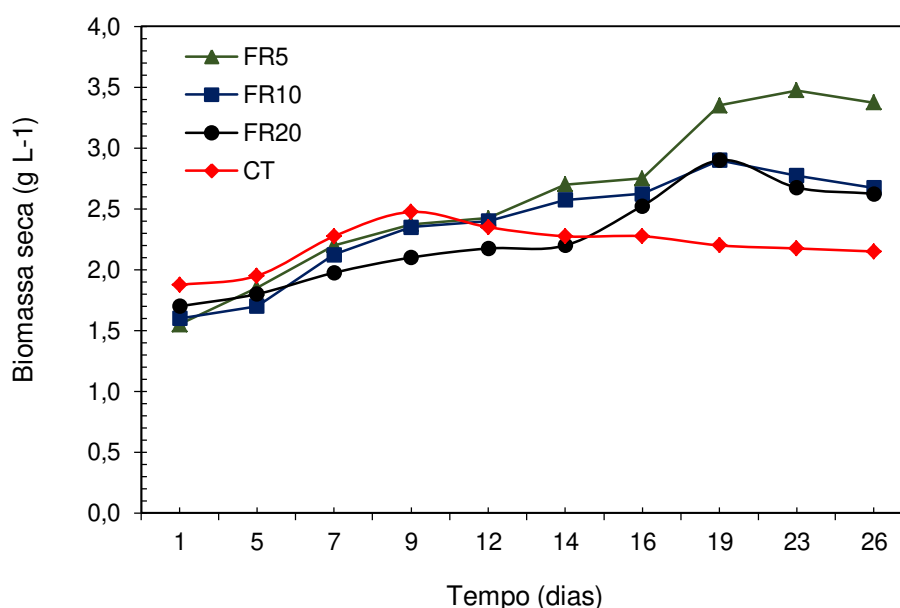
Figura 8 – Amostras dos dias 1 e 26 de culturas de microalgas. Tratamentos R5, R10, R20 e CT em duplicata.



Fonte: Autor (2023).

A Figura 9 demonstra a curva de crescimento que representa a produção de biomassa seca ao longo do período de cultivo. A concentração máxima para biomassa seca foi de $3,48 \text{ g L}^{-1}$ para FR5, após vinte três dias de cultivo, seguindo pelos FR10 e 20 com $2,90 \text{ g L}^{-1}$ após dezenove dias. No tratamento controle (CT), a concentração máxima foi alcançada após nove dias de cultivo ($2,48 \text{ g L}^{-1}$). Portanto, a produção volumétrica média de biomassa foi de $0,133$; $0,111$; $0,111$ e $0,095 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente para os reatores FR5, FR10, FR20 e CT.

Figura 9 – Curva de crescimento em biomassa seca (g L^{-1}) de *Tetradismus obliquus* cultivada no digestato



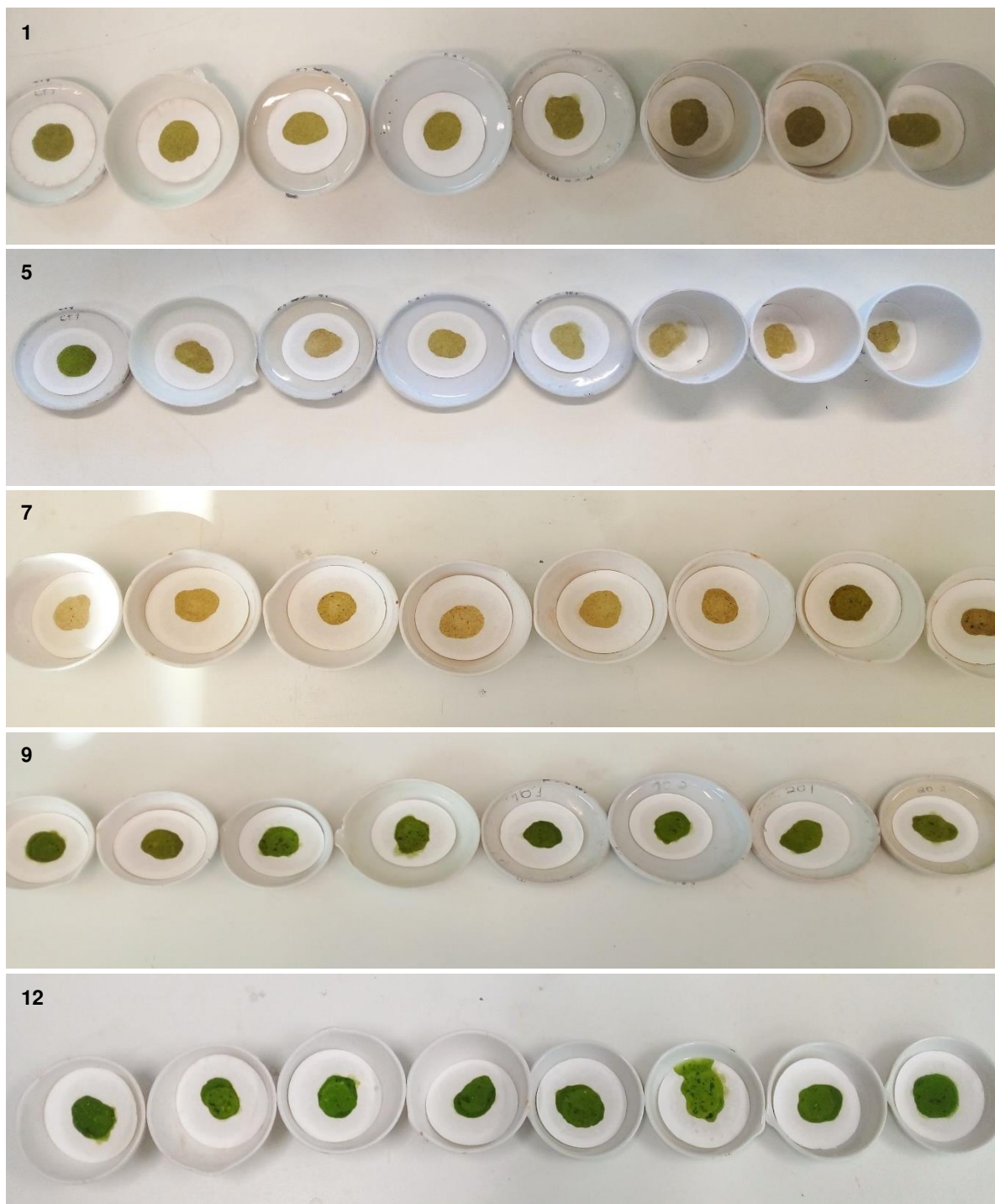
Onde: CT, controle; FR5, FR10 e FR20, codigestão com concentrações de biomassa vegetal de 5%, 10% e 20% nas misturas.

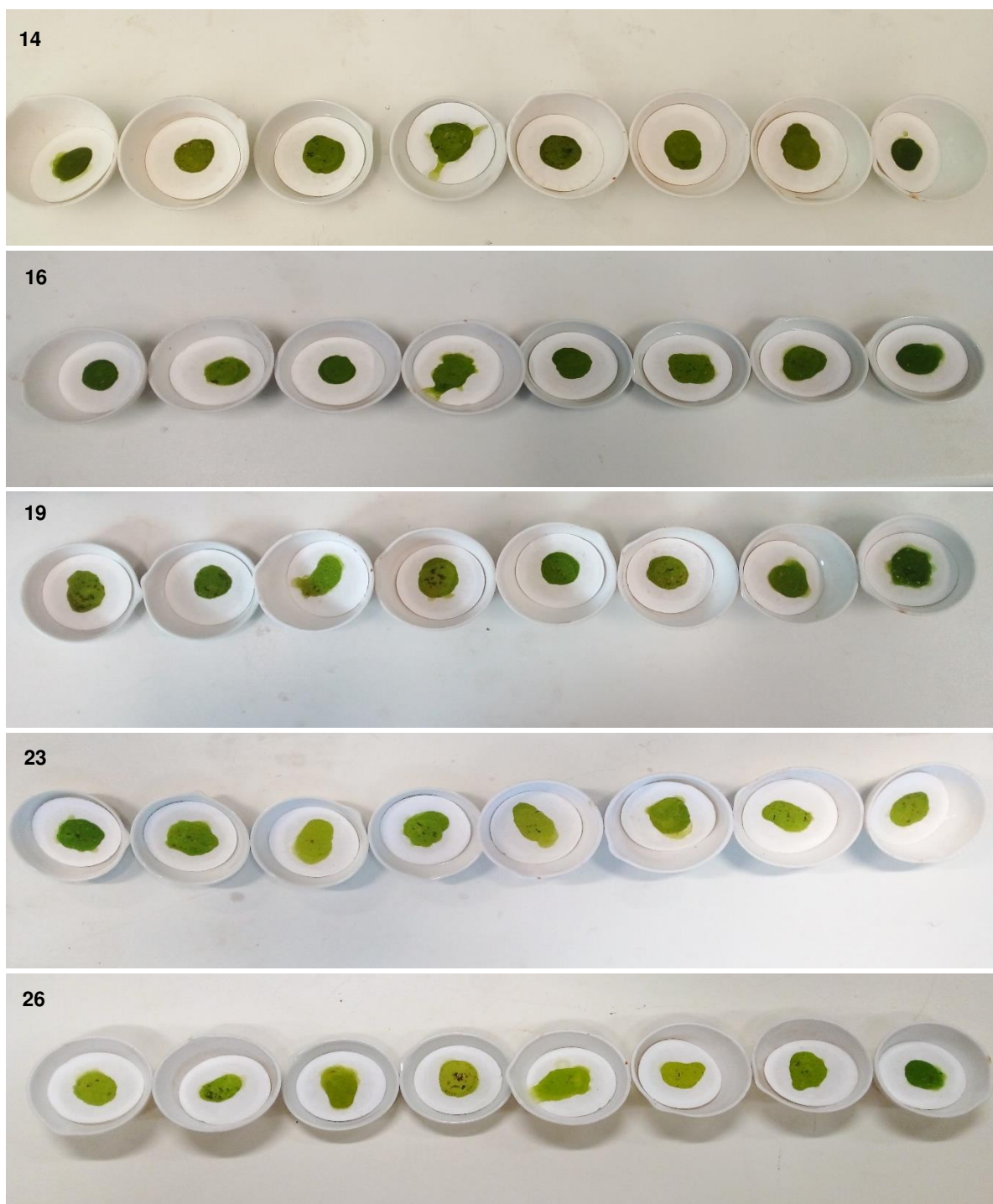
Resultados semelhantes, foram observados por Zhu et al. (2017) com concentração de biomassa seca de $2,88 \text{ g L}^{-1}$ cultivando *Chlorella sp.* em composto de resíduos pecuários diluído e filtrado para produção de lipídios. Souza et al. (2022), cultivaram microalgas *Arthrospira platensis* em águas residuárias de bovinos previamente tratadas por reator UASB e o valor máximo registrada no estudo foi de $7,14 \text{ g L}^{-1}$, em fotobiorreatores com temperatura ambiente média de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, enquanto no fotobiorreator aquecido a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ obteve $6,6 \text{ g L}^{-1}$. Em termos gerais, a produtividade máxima dos tratamentos registrados no presente estudo foi obtida à temperatura ambiente, o que é positivo, pois não são necessários sistemas de aquecimento, reduzindo os custos de produção.

Valores de biomassa seca próximos aos registrados no presente estudo foram também relatados por Mendonça et al. (2018), que cultivaram microalgas *Tetradesmus obliquus* em águas residuárias de bovinos digeridas anaerobicamente em um reator híbrido e alcançaram biomassa seca máxima de $3,7 \text{ g L}^{-1}$. Os autores afirmam que concentrações mais altas de biomassa podem ser obtidas em modos de operação em batelada em comparação com modos contínuos. Estudos recentes, como os de Mendonça et al. (2022), Ferreira et al. (2021, 2023), e Molinuevo-Salces et al. (2016), também investigaram biomassa seca utilizando águas residuais tratadas de fazendas de gado e outros resíduos animais como meio de cultura para *Tetradesmus obliquus* em fotobiorreatores.

Os resultados de alguns estudos citados mostram que maiores concentrações de biomassa podem ser obtidas a partir de efluentes não diluídos. Isto é adequado porque não há necessidade de adicionar água limpa no processo de cultivo. No entanto, não foi relatado nenhum processo de co-digestão como pré-tratamento. Fatores como espécies de microalgas, diluição, águas residuais e pré-tratamento podem afetar negativa ou positivamente o resultado na produtividade volumétrica da biomassa (TANG et al., 2012). A concentração de biomassa observada no presente estudo foi relevante em relação ao meio de cultura utilizado e ao processo de pré-tratamento anaeróbio utilizado. Além disso, o fato da diluição deve ser resolvido para aumentar a produção de biomassa algal. O registro fotográfico foi realizado para monitorar a cor verde intensa nos filtros de fibra de vidro (Figura 10).

Figura 10 – Evolução do crescimento da biomassa algal durante o período experimental, observando-se o aumento da tonalidade da cor verde. O tempo (dias) está indicado nas imagens.





Fonte: Autor (2023).

3.2.2 Biorremediação: remoção de matéria orgânica e nutrientes

É fundamental avaliar a possibilidade de lançamento dos efluentes em corpos hídricos, após separação e colheita das microalgas, sem quaisquer consequências prejudiciais ao meio ambiente. O sobrenadante foi coletado e caracterizado para avaliar o desempenho de biorremediação das microalgas (Figura

11-B). A biorremediação de águas residuais do presente sistema proposto foi avaliada medindo o teor de nutrientes (N e P) e a carga orgânica (DQO) remanescente no digestato final dos testes de crescimento com microalgas. A Tabela 10 apresenta a eficiência de remoção de nutrientes (%).

Tabela 10 – Valores de DQO, N-NH₄⁺ e PO₄⁻³: entrada e saída dos fotobiorreatores.

Reatores	DQO (mg L ⁻¹)			N-NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)			PO ₄ ⁻³ (mg L ⁻¹)		
	Ent	Fin	R (%)	Ent	Fin	R (%)	Ent	Fin	R (%)
CT	3860 ₍₀₎	645 ₍₀₎	83,3	565 _(8.5)	28 ₍₀₎	95,0	19 _(0.4)	4,6 _(0.37)	75,8
R5	4770 ₍₀₎	887 _(80.6)	81,4	522 _(7.5)	42 ₍₁₄₎	92,0	21 _(0.5)	3,5 ₍₀₎	83,3
R10	4992 ₍₀₎	564 _(80.6)	88,7	577 _(3.0)	42 ₍₁₄₎	92,7	22 ₍₀₎	4,3 _(0.25)	80,5
R20	6588 ₍₀₎	403 _(80.6)	93,8	600 _(1.5)	28 ₍₀₎	95,3	23 _(1.3)	13,4 _(2.87)	41,7

Ent. – Misturas de entrada em cada reator; Fin. – Digestato final do processo de co-digestão; R (%) – Remoção. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

As taxas de remoção de DQO nos tratamentos CT, FR5, FR10 e FR20 foram, respectivamente, 83,3%, 81,5%, 88,7% e 93,8%. No cenário atual de biorremediação de efluentes agroindustriais com cultivo de microalgas em fotobiorreatores, maiores valores de remoção de DQO foram alcançados em nosso estudo e Hena et al. (2015), semelhantes foram alcançados por Mendonça et al. (2018), Chandra et al. (2021) e Mendonça et al. (2022), e inferiores por Mousavi et al. (2018) e Koutra et al. (2018), em relação à presente pesquisa. Estes dados para comparação são apresentados na Tabela 11 – coluna 4. A utilização de águas residuais contribui para o crescimento das microalgas, que utilizam os nutrientes disponíveis para seu desenvolvimento, resultando simultaneamente na redução da carga de DQO das águas residuais.

As taxas de remoção N-NH₄⁺ foram próximas de 100%, indicando a alta eficiência do consumo em todos os fotobiorreatores. Interessantemente, a linhagem de *Tetrademus obliquus* selecionada suportou concentrações de N-NH₄⁺ entre 522 e 600 mg L⁻¹ (Tabela 10) no cultivo em batelada, com diluição de 1:1, demonstrando crescimento bem-sucedido e remoção eficaz dos nutrientes. Mendonça et al. (2018), cultivaram *Tetrademus obliquus*, em batelada e operação contínua, em águas residuárias de bovinos digeridos anaerobicamente. Pelos resultados apresentados, os autores verificaram que no 12º dia as taxas de remoção de N-NH₄⁺ foram de 98 a

99%; e após 14 dias, a remoção atingiu 100%. Além disso, em quase todos os estudos apresentados na Tabela 11 – coluna 5, foi observada uma remoção quase completa de N-NH_4^+

Ferreira et al. (2021), avaliaram o potencial bioestimulante e biopesticida de microalgas cultivadas em águas residuais de suínos usando diferentes diluições (1:20, 1:10, 1:5, 1:2, 1:1). O tratamento com a microalga *Tetradismus obliquus* em águas residuais diluídas (1:20) demonstrou eficiência na remoção de nutrientes, alcançando remoções de DQO de 73%, N-NH_4^+ de 87,5% e PO_4^{3-} de 98%. Os autores também relataram dificuldade no crescimento dos consórcios de algas ao utilizar o efluente sem diluição. Foi então necessária uma diluição de 1:20 para diminuir a concentração de amônia e a cor até níveis adequados ao crescimento das microalgas. No que diz respeito ao PO_4^{3-} , foram encontradas taxas de remoção de 83,3 e 75,8% na co-digestão e controle, respectivamente.

Chandra et al. (2021), estudaram o digestato proveniente do tratamento de efluentes de laticínios diluídos (70%), assim como, Koutra et al. (2018) que avaliaram o digestato de resíduos agroindustriais diluídos em água a 10% (v/v), ambos os autores, obtiveram taxas de remoção de fosfato em fotobiorreatores (batelada) no cultivo de microalgas de até 84 e 88,4%, próximas às dos compostos fosfóricos investigados neste estudo. Utilizando águas residuais agroindustriais da mesma origem deste estudo, Hena et al. (2015), Ferreira et al. (2021), Mendonça et al. (2022) e Ferreira et al. (2023), atingiram taxas de remoção de fosfato > 90%, os resultados são apresentados na Tabela 11 – coluna 6.

Os resultados indicam que *Tetradismus obliquus* utiliza eficientemente os nutrientes do digestato da co-digestão anaeróbia, mantendo seu crescimento. A remoção de compostos de nitrogênio e fosfato pelas microalgas não só trata as águas residuais, mas também desencadeia a acumulação de produtos de valor acrescentado. Estudos mostram que o estresse combinado de nitrogênio e fósforo pode aumentar a produtividade de biomassa e lipídios (CHOI 2016; CHEN et al., 2017; SHI et al., 2017).

Tabela 11 – Biorremediação de efluentes agroindustriais em fotobiorreatores

Substratos	Microalgas	Modo de operação	DQO (%)	N-NH ₄ ⁺ (%)	PO ₄ ⁻³ (%)	Referência
ARBL aeróbicas tratadas	Mix ^a	Batelada	98,8	100	98,8	Hena et al. (2015)
ARBL digerido anaerobicamente por reator híbrido e sedimentado	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Batelada	65-70	98-99	69-77,5	Mendonca et al. (2018)
ARBL diluído com água destilada	<i>Coelastrum</i> sp.	Contínuo.	57-61	94-96	65-70	Mousavi et al. (2018)
Digestato de resíduos agroindustriais diluído em água a 10% (v/v)	<i>Parachlorella kessleri</i> <i>Acutodesmus obliquus</i> <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Tetraselmis tetraathele</i>	Batelada	42 39,1-59,4	>80 >98	100 59-88,4	Koutra et al. (2018)
ARBL diluídas (70%)	Mix ^b	Batelada	61	NR	84	Chandra et al. (2021)
Água residuária de suinocultura diluídas (1:20)	<i>Synechocystis</i> sp. <i>Tetrademus obliquus</i> <i>Chlorella protothecoides</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	NR	61,6 73,1 68,4 79,2	92,4 87,5 92,0 79,4	90,1 98,1 98,5 98,6	Ferreira et al. (2021)
Águas residuária de suinocultura pré-tratadas com foto-Fenton	<i>Tetrademus obliquus</i>	Batelada	48,6	37,3	100	Ferreira et al. (2023)
ARBL foi pré-tratado em lodo ativado	<i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Batelada Contínuo. Batelada Contínuo.	74 78 50 60	100 94 100 92	100 74 100 61	Mendonca et al. (2022)
Digestato diluído (1:1) proveniente da codigestão anaeróbia da biomassa vegetal <i>Arundo donax</i> L. e ARBL	<i>Tetrademus obliquus</i>	Batelada - FR5 FR10 FR20 CT	81,4 88,7 93,8 83,3	92,0 92,7 95,3 95,0	83,3 80,5 41,7 75,8	Presente estudo

ARBL – Águas Residuárias de Bovinocultura Leiteira.

NR – Não informado.

Mix^a – *Chlorella saccharophila*, *Chlamydomonas pseudococcum*, *Scenedesmus* sp. e *Neochloris oleoabundans*.

Mix^b – *Chlorella minutissima*, *Nostoc muscorum*, *Spirulina* sp.

O pH e a temperatura são os parâmetros que mais influenciam as taxas de remoção de amônia (KIM et al., 2021). O cultivo das microalgas foi mantido à temperatura ambiente e o pH permaneceu estável durante todo o período experimental. Os valores médios de pH nos tratamentos CT, FR5, FR10 e FR20 foram respectivamente 10,00; 10,09; 10,05 e 10,09 (Tabela 12). O aumento do pH é comum em sistemas que empregam microalgas devido à absorção de CO₂ durante a fotossíntese, o que reduz a acidez da água. Este aumento do pH auxilia na precipitação de poluentes como o fósforo (DENG e DHAR 2023). O pH pode atingir valores superiores a 9, proporcionando condições favoráveis para a volatilização do nitrogênio amoniacal (CHAI et al., 2021). Os elevados valores de pH alcançados na massa líquida tendem a deslocar o equilíbrio da amônia ionizada para sua forma gasosa não ionizada (CAMARGO VALERO e MARA 2010). Assim, com valores elevados de pH na faixa de 10, o sistema eliminou efetivamente o nitrogênio amoniacal, alcançando uma taxa de remoção efetiva quase completa em aproximadamente 100%.

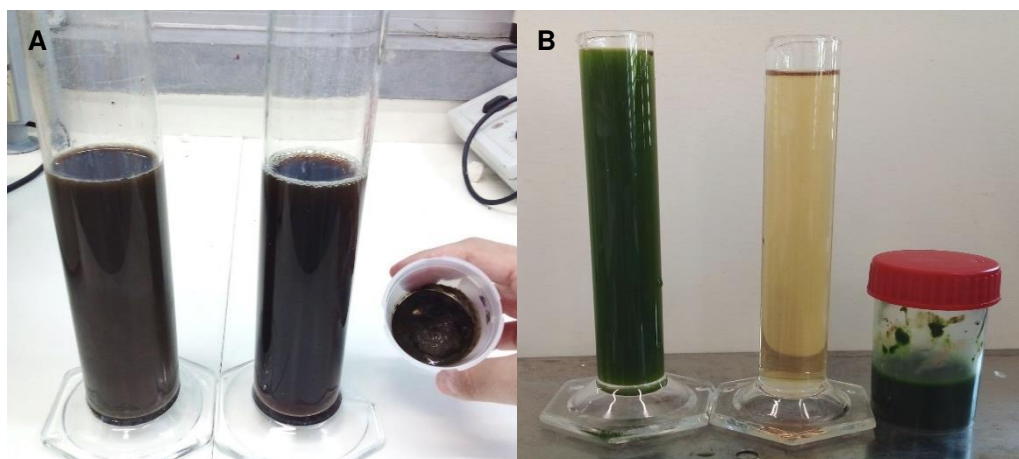
Tabela 12 – pH das culturas de microalgas durante o período experimental em fotobiorreatores.

Tempo (dias)	pH			
	Reatores			
	FR5	FR10	FR20	CT
1	9,63	9,60	9,53	9,60
5	9,67	9,68	9,72	9,86
7	9,80	9,81	9,81	9,92
9	10,14	10,00	9,97	10,14
12	10,24	10,10	10,09	10,20
14	10,30	10,21	10,20	10,31
16	10,25	10,19	10,32	10,15
19	10,15	10,19	10,27	10,03
23	10,04	10,12	10,10	9,97
26	9,94	9,95	10,09	9,87
Média	10,09	10,05	10,09	10,00

3.2.3 Composição macromolecular

Inicialmente, as amostras liofilizadas dos digestatos foram caracterizadas para avaliar a disponibilidade e adequação de nutrientes orgânicos, com o objetivo de utilizar esses digestatos como meio de cultivo em fotobiorreatores (Figura 11-A). A composição química dos digestatos anaeróbios pré-tratados quantificados em teores de proteínas, carboidratos, lipídios e cinzas em massa seca total foram: 55,2, 21,1, 4,0 e 17,5%, respectivamente, para CT; 47,9, 23,3, 2,9 e 14,1%, respectivamente, para FR5; 46,6, 24,4, 3,1 e 14,2%, respectivamente, para FR10; 45,7, 26,8, 4,7 e 14,7%, respectivamente, para FR20. Observa-se que o tratamento R20 apresenta o maior teor de carboidratos, o que pode ser atribuído à maior contribuição de biomassa vegetal. Em contraste, o tratamento CT apresenta o maior teor de proteínas, devido à operação dos reatores em mono-digestão com dejetos bovinos.

Figura 11 – As amostras foram centrifugadas e depois liofilizadas. (A) Biomassa do digestato, amostra tratada por co-digestão. (B) Biomassa de microalgas, amostra tratada por fotobiorreatores; O sobrenadante foi caracterizado para avaliar o desempenho de biorremediação das microalgas.



Fonte: Autor (2023).

Nas biomassas colhidas por centrifugação dos digestatos anaeróbios, o teor de proteína foi maior, como esperado, devido à alta disponibilidade de N, principalmente na forma de amônia. Os valores por nós encontrados, após o processo de co-digestão, indicam aumento de compostos nitrogenados (NTK e $N-NH_4^+$). Além da energia, o processo de co-digestão possui um resíduo, o digestato,

que contém nutrientes valiosos e pode, portanto, ser utilizado como biofertilizante (KITESSA et al. 2022, ABBAS et al., 2023; SANTOS et al., 2024). Outra estratégia consiste em utilizar águas residuais da pecuária, que são ricas em proteínas devido ao maior teor de nitrogênio, pelas microalgas para posterior síntese de proteínas. Portanto, o teor de proteína da biomassa é altamente dependente do nitrogênio no meio de cultura (MENDONÇA et al., 2018). Nesse sentido, indica que as microalgas estão crescendo em condições adequadas.

A composição macromolecular da biomassa de microalgas, tratada por fotobiorreatores (Figura 11–B), está disponível na Tabela 13. O teor de carboidratos (29.7 a 34.7%) e lipídios (33.4 a 42.7%) foram superiores ao de proteínas (7.0 a 11.6%). A síntese de carboidratos aumentou devido à diminuição de nitrogênio ao final do processo, levando as células a sintetizar energia que é acumulada sob a forma de lipídios intracelulares. Esta resposta está de acordo com a eficiência de remoção encontrada nos efluentes finais após o tratamento com microalgas, com remoção quase completa do nitrogênio amoniacal, conforme descrito anteriormente.

Em fotobiorreatores operados em modo batelada e contínuo em águas residuárias de bovinos, Mendonça et al. (2022) alcançaram maiores concentrações de proteína em modo contínuo. Nessa condição, o nitrogênio é constantemente reintroduzido nos fotobiorreatores e não foi constatada deficiência desse nutriente nos últimos dias de cultivo. Assim, os autores concluíram que o fornecimento constante de nitrogênio ao cultivo de microalgas aumenta a produção de proteínas, reduzindo a síntese de carboidratos e o acúmulo de lipídios. Os autores encontram percentual de lipídios na biomassa produzida em batelada de 18 e 21%, valores superiores ao ser comparado com o modo contínuo (10 e 13%). Os valores de lipídios foram maiores em nosso estudo em modo batelada. O crescimento algal do digestato da co-digestão ocasionou um rendimento maior do teor de lipídio ao ser comparado com o digestato oriundo da mono-digestão.

Pelos resultados obtidos, verificou-se que os maiores teores de lipídios foram encontrados na biomassa de microalgas, chegando perto de 42,7% para os digestatos da co-digestão, enquanto o percentual de lipídios no reator CT foi de 33,4% (Tabela 13). Possivelmente, as microalgas sofreram stress por falta de nitrogênio e diluição, desencadeando o acúmulo de lipídios. A diluição pode ter influenciado, uma vez que a baixa concentração de biomassa facilita a captação de luz pelas células de microalgas, desencadeando o armazenamento de lipídios e a

remoção de nutrientes do meio (MANDOTRA et al., 2016; ZHU et al., 2017). Os valores obtidos são adequados para a recuperação de biocombustíveis a partir de biomassa de microalgas cultivadas em águas residuárias (DOS SANTOS et al., 2021; CALIJURI et al., 2022). Esses resultados evidenciam a importância do processo de co-digestão proposto, tanto para aumentar a produção de biogás quanto para produzir biodiesel a partir da biomassa de microalgas (CHHANDAMA et al., 2021).

Tabela 13 – Composição macromolecular e produtividade.

Reatores	Carboidratos (%)		Lipídios (%)		Proteínas (%)		Cinzas (%)
	BA (%)	Prod. g L ⁻¹	BA (%)	Prod. g L ⁻¹	BA (%)	Prod. g L ⁻¹	
CT	29,7 (1.31)	0,73	33,4 (1.3)	0,82	11,6 (0.43)	0,28	9,4 (0.27)
FR5	34,7 (0.54)	1,20	42,7 (2.4)	1,48	7,9 (0.62)	0,27	8,0 (0.19)
FR10	33,6 (1.44)	0,97	40,3 (1.6)	1,16	7,1 (0.13)	0,20	8,1 (0.14)
FR20	32,6 (1.88)	0,94	36,5 (0.4)	1,05	7,0 (0.18)	0,20	8,9 (0.38)

BA – Biomassa de algal, amostra tratada por fotobiorreatores; Prod. – Produtividade. Os valores entre parênteses indicam desvio padrão.

Koyande et al. (2019) em sua revisão, enfatizaram a importância das microalgas na indústria, os autores relatam que entre 2 e 40% da composição da biomassa são concentrações lipídicas, e que esse valor dependerá da espécie de microalga. A composição e o conteúdo de lipídios nas microalgas dependem da espécie (MORALES et al., 2021). Outros autores investigaram se a biomassa tinha potencial para a produção de biocombustíveis e encontraram um teor lipídico semelhante em microalgas em águas residuais de laticínios. Sohail et al. (2023) avaliaram o desempenho de efluentes com alto teor de nutrientes utilizando *Tetradismus obliquus*, observando um teor lipídico de 28,4% no digestato anaeróbio. O rápido crescimento da espécie *Tetradismus obliquus* é compreendido pelo seu potencial no tratamento de águas residuais (OLIVEIRA et al., 2021). Gupta et al. (2016) relataram que o conteúdo lipídico de *Tetradismus obliquus* aumentou de 15,8% para 28,3% após exposição a condições de privação de nutrientes, destacando seu potencial para tratamento abrangente de águas residuais e produção de biomassa para biocombustíveis.

As águas residuais da pecuária após tratamento secundário podem ser utilizadas para produzir biodiesel de microalgas (AHN et al., 2022). Trivedi et al. (2022), relataram um aumento na produção de lipídios em *Tetrademus obliquus* por meio da privação de nitrogênio para avaliação para produção de biodiesel. Os autores encontraram um teor lipídico de 45%, indicando a espécie ideal para a produção de biocombustíveis. Nosso estudo demonstra os benefícios da co-digestão anaeróbia, evidenciando o potencial energético do biogás e o tratamento de águas residuais. Além disso, os resultados são consistentes com esses achados e destacam a capacidade da espécie de crescer no digestato da co-digestão anaeróbia e de produzir bioprodutos, como o biodiesel.

Além disso, a baixa contribuição de proteína na biomassa de microalgas (de 7,0 a 7,9%) prevê uma matéria-prima adequada para a produção de bio-óleo através de liquefação hidrotérmica. Espera-se que a biomassa com baixo teor de proteínas produza bio-óleo com baixos níveis de nitrogênio, o que, por sua vez, pode resultar em um biocombustível *drop-in* com menores emissões de NOx. Isso implica menos operações unitárias de modernização, o que é benéfico.

4. CONCLUSÃO

A DA de resíduos orgânicos tem se apresentado como uma tecnologia amplamente utilizada e eficiente no tratamento de resíduos pertinentes à necessidade de serem tratados antes de serem descartados no meio ambiente. Nesse sentido, com o elevado teor de matéria orgânica dos resíduos, tecnologias de tratamento anaeróbio têm sido desenvolvidas e ganhando destaque. A co-digestão anaeróbica é uma estratégia promissora para uma gestão eficaz de resíduos e recuperação de recursos, possui efeitos sinérgicos para aumentar o rendimento de biogás do substrato e alcançar eficiência na redução de resíduos. A remoção de séries sólidas, conteúdo de DQO e o rendimento de biogás foram melhorados quando se utilizou uma mistura de ARBL e biomassa vegetal *Arundo donax* L., em oposição ao CT. O tratamento com 5% de biomassa vegetal apresentou um valor produção acumulada de biogás de 94,69 mL g⁻¹ SV, enquanto o tratamento CT alimentado em mono-digestão de com ARBL resultou em 73,13 mL g⁻¹ SV.

O digestato final do processo de co-digestão apresentou altos valores de compostos nitrogenados e de fosfato para descarte, entretanto, apresentou potencial

para utilização como meio de cultura para as microalgas em estudo. Assim a abordagem proposta na fase II é adequada para tratar digestatos através do cultivo de biomassa de microalgas que consomem os nutrientes ali presentes favorecendo a biorremediação com valores de remoção de até 94% de DQO, 83% de PO_4^{-3} e quase 100% para N-NH_4^+ . Foram encontrados 42,7% de lipídios e 34,7% de carboidratos na biomassa algal, teores relevantes para produção de bioprodutos.

Nesta perspectiva, o nosso estudo oferece alguns *insights* sobre como as microalgas podem conectar o tratamento anaeróbio de efluentes agrícolas, sobretudo quando estão dentro do contexto de co-digestão. Nosso trabalho mostrou que microalgas como *Tetrademus obliquus* têm a capacidade de tratar os digestatos anaeróbios através da coleta de nutrientes e, simultaneamente, promover a produção de biomassa de algas para biodiesel, ou bio-óleo, dependendo da via de conversão adotada.

No entanto, deve ser considerado o fato de o digestato ter sido previamente diluído em água para ajustar a sua composição ao crescimento de microalgas. Devido à aplicação em larga escala, a diluição é um desafio a ser superado, devido ao aumento da pegada hídrica do processo. Acreditamos que um sistema lento de filtração de areia após a co-digestão será útil para remover sólidos suspensos e reduzir a turbidez do efluente. Incluindo um pré-tratamento com uma duração de decantação mais longa, diferente do que foi realizado no estudo (2 horas), contribuirá do ponto de vista econômico e ambiental. Contudo, a estratégia realizada foi adequada ao objetivo do presente trabalho, que foi utilizar microalgas com pós-tratamento de digestatos derivados do processo de co-digestão anaeróbia. Resultando em melhoria do biogás, eficiência no tratamento de efluentes e biomassa de microalgas para produção de biocombustíveis e outros bioprodutos.

Para trabalhos futuros, recomenda-se avaliar a bioeconomia circular do cultivo de microalgas em co-digestão anaeróbia com a reciclagem de resíduos animais e vegetais para utilização de bioenergia, a fim de desenvolver um modelo escalável e sustentável. Para além dos biocombustíveis, recomenda-se explorar a produção de bioestimulantes para reaproveitamento e intensificação agrícola.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Y.; YUN, S.; MEHMOOD, A.; SHAH, F. A.; WANG, K.; ELDIN, E. T.; AL-QAHTANI, W. H.; ALI, S.; BOCCHETTA, P. Co-digestion of cow manure and food waste for biogas enhancement and nutrients revival in bio-circular economy. *Chemosphere*, 311, 2, 137018, 2023. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.137018
- ABREU, M.; SILVA, L.; RIBEIRO, B.; FERREIRA, A.; ALVES, L.; PAIXÃO, S. M.; GOUVEIA, L.; MOURA, P.; CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; FERNANDO, A. L.; REIS, A.; GÍRIO, F. Low Indirect Land Use Change (ILUC) Energy Crops to Bioenergy and Biofuels-A Review. *Energies*, 15, 4348, 2022. doi: 10.3390/en15124348
- AHN, Y.; PARK, S.; JI, M. K.; HA, G. S.; JEON, B. H.; CHOI, J. Biodiesel production potential of microalgae, cultivated in acid mine drainage and livestock wastewater. *Journal of Environmental Management*, 314, 115031, 2022. doi: 10.1016/j.jenvman.2022.115031
- AKHIAR, A.; BATTIMELLI, A.; TORRIJOS, M.; CARRERE, H. Comprehensive characterization of the liquid fraction of digestates from full-scale anaerobic co-digestion. *Waste Management*, 59, 118-128, 2017. doi: 10.1016/j.wasman.2016.11.005
- ALAVIANGHAVANINI, A.; SHAYESTEH, H.; BAHRI, P. A.; VADIVELLOO, A.; MOHEIMANI, N. R. Microalgae cultivation for treating agricultural effluent and producing value-added products. *Science of The Total Environment*, 912, 169369, 2024. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.169369
- ALMOMANI, F. Prediction of biogas production from chemically treated co-digested agricultural waste using artificial neural network. *Fuel*, 280, 118573, 2020. doi: 10.1016/j.fuel.2020.118573
- ANGELIDAKI, I.; BOE, K.; ELLEGAARD, L. Effect of operating conditions and reactor configuration on efficiency of full-scale biogas plants. *Water Science Technology*, 52, 189-194, 2005. doi: 10.2166/wst.2005.0516
- ANTAL, G. Giant reed (*Arundo donax* L.) from ornamental plant to dedicated bioenergy species: Review of economic prospects of biomass production and utilization. *International Journal of Horticultural Science*, 24, 39-46, 2018. doi: 10.31421/IJHS/24/1-2./1545
- APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, USA, 24^a, 2023.
- ARDEBILI, S. M. S. Green electricity generation potential from biogas produced by anaerobic digestion of farm animal waste and agriculture residues in Iran. *Renewable Energy*, 154, 29-37, 2020. doi: 10.1016/j.renene.2020.02.102
- ARIAS, D. M.; UGGETTI, E.; GARCÍA-GALÁN, M. J.; GARCÍA, J. Cultivation and selection of cyanobacteria in a closed photobioreactor used for secondary effluent and digestate treatment. *Science of The Total Environment*, 587-588, 157-167,

2017. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.02.097

AYRE, J. M.; MICKAN, B. S.; JENKINS, S. N.; MOHEIMANI, N. R. Batch cultivation of microalgae in anaerobic digestate exhibits functional changes in bacterial communities impacting nitrogen removal and wastewater treatment. *Algal Research*, 57, 102338, 2021. doi: 10.1016/j.algal.2021.102338

AYRE, J. M.; BOROWITZKA, N. R. M. A. Growth of microalgae on undiluted anaerobic digestate of piggery effluent with high ammonium concentrations. *Algal Research*, 24, 218-226, 2017. doi: 10.1016/j.algal.2017.03.023

BARKIA, I.; SAARI, N.; MANNING, S. R. Microalgae for High-Value Products Towards Human Health and Nutrition. *Marine Drugs*, 17(5), 304, 2019. doi:10.3390/md17050304

BAYRAKDAR, A.; MOLAEY, R.; SÜRMELE, R. Ö.; SAHINKAYA, E.; ÇALLI, B. Biogas production from chicken manure: Co-digestion with spent poppy straw. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 205-210, 2017. doi: 10.1016/j.ibiod.2016.10.058

BEDOÍĆ, R.; ČUČEK, L.; ĆOSIĆ, B.; KRAJNC, D.; SMOLJANIĆ, G.; KRAVANJA, Z.; LJUBAS, D.; PUKŠEC, T.; DUIĆ, N. Green biomass to biogas – A study on anaerobic digestion of residue grass. *Journal of Cleaner Production*, 213, 700-709, 2019. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.12.224.

BEDOÍĆ, R.; ŠPEHAR, A.; PULJKO, J.; ČUČEK, L.; ĆOSIĆ, B.; PUKŠEC, T.; DUIĆ, N. Opportunities and challenges: Experimental and kinetic analysis of anaerobic co-digestion of food waste and rendering industry streams for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 130, 109951, 2020. doi: 10.1016/j.rser.2020.109951

BELLA, K.; RAO, P. V. Anaerobic digestion of dairy wastewater: effect of different parameters and co-digestion options-a review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13, 2527-2552, 2023. doi: 10.1007/s13399-020-01247-2

CALIJURI, M. L.; SILVA, T. A.; S, I. B.; PEREIRA, A. S. A. P.; MARANGON, B. B.; ASSIS, L. R.; LORENTZ, J. F. Bioproducts from microalgae biomass: Technology, sustainability, challenges and opportunities. *Chemosphere*, 305, 135508, 2022. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135508

CAMARGO VALERO, M. A.; MARA, D. D. Ammonia volatilisation in waste stabilisation ponds: a cascade of misinterpretations? *Water Science Technology*, 61, 3, 2010. doi: 10.2166/wst.2010.856

CHAI, W. S.; CHEW, C. H.; MUNAWAROH, H. S. H.; ASHOKKUMAR, V.; CHENG, C. K.; PARK, Y. K.; SHOW, P. L. Microalgae and ammonia: A review on inter-relationship. *Fuel*, 303, 121303, 2021. doi: 10.1016/j.fuel.2021.121303

CHANDRA, R.; PRADHAN, S.; PATEL, A.; GHOSH, U. K. An approach for dairy wastewater remediation using mixture of microalgae and biodiesel production for

sustainable transportation. *Journal of Environmental Management*, 297, 113210, 2021. doi: 10.1016/j.jenvman.2021.113210

CHEN, B.; WAN, C.; MEHMOOD, A. M.; CHANG, J. S.; BAI, F.; ZHAO, X. Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products-A review. *Bioresource Technology*, 244, 1198-1206, 2017. doi: 10.1016/j.biortech.2017.05.170

CHHANDAMA, M. V. L.; SATYAN, K. B.; CHANGMAI, B.; VANLALVENI, C.; ROKHUM, S. L. Microalgae as a feedstock for the production of biodiesel: A review. *Bioresource Technology Reports*, 15, 100771, 2021. doi: 10.1016/j.biteb.2021.100771

CHOI, H. J. Dairy wastewater treatment using microalgae for potential biodiesel application. *Environmental Engineering Research*, 21, 393-400, 2016. doi: 10.4491/eer.2015.151

CHOWDHURY, T.; CHOWDHURY, H.; HOSSAIN, N.; AHMED, A.; HOSSEN, M. S.; CHOWDHURY, P.; THIRUGNANASAMBANDAM, M.; SAIDUR, R. Latest advancements on livestock waste management and biogas production: Bangladesh's perspective. *Journal of Cleaner Production*, 272, 122818, 2020. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.122818

CONG, W. F.; MOSET, V.; FENG, L.; MØLLER, H. B.; ERIKSEN, J. Anaerobic co-digestion of grass and forbs – Influence of cattle manure or grass based inoculum. *Biomass and Bioenergy*, 119, 90-96, 2018. doi: 10.1016/j.biombioe.2018.09.009

COOK, S. M.; SKERLOS, S. J.; RASKIN, L.; LOVE, N. G. A stability assessment tool for anaerobic codigestion. *Water Research*, 112, 19-28, 2017. doi: 10.1016/j.watres.2017.01.027

DALE, B. E.; BOZZETTO, S.; COUTURIER, C.; FABBRI, C.; HILBERT, J. A.; ONG, R.; RICHARD, T.; ROSSI, L.; THELEN, K. D.; WOODS, J. The potential for expanding sustainable biogas production and some possible impacts in specific countries. *Biofuels Bioproducts Biorefining*. 14, 6, 1335-1347, 2020. doi: 10.1002/bbb.2134

DECREE-LAW No 236/98. Decree-Law 236/98 of the Portuguese Ministry of the Environment of 1 August establishing water quality standards. *Diário da República I Série-A* 3676–3722, 1998.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass and Bioenergy*, 35, 3, 992-998, 2011. doi: 10.1016/j.biombioe.2010.12.02

DENG, L.; DHAR, B. R. Phosphorus recovery from wastewater via calcium phosphate precipitation: A critical review of methods, progress, and insights. *Chemosphere*, 330, 138685, 2023. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.138685

DOS SANTOS, M. G. B.; DUARTE, R. L.; MACIEL, A. M.; ABREU, M.; REIS, A.; MENDONÇA, H. V. Microalgae Biomass Production for Biofuels in Brazilian Scenar-

io: A Critical Review. *BioEnergy Research*, 14, 23-42, 2021. doi: 10.1007/s12155-020-10180-1

FERNÁNDEZ, F. G. A.; REIS, A.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M.; VERDELHO, V.; LLAMAS, B. The role of microalgae in the bioeconomy. *New Biotechnology*, 61, 99-107, 2021. doi: 10.1016/j.nbt.2020.11.011

FERREIRA, A.; FIGUEIREDO, D.; CARDEIRAS, R.; NABAIS, R.; FERREIRA, F.; RIBEIRO, B.; CORDOVID, C. M. S.; ACIÉN, F. G.; GOUVEIA, L. Exploring Different Pretreatment Methodologies for Allowing Microalgae Growth in Undiluted Piggery Wastewater. *Agronomy*, 12 (3), 580, 2022. doi: 10.3390/agronomy12030580

FERREIRA, A.; FIGUEIREDO, D.; FERREIRA, F.; MARUJO, A.; BASTOS, C. R. V.; MARTIN-ATANES, G.; RIBEIRA, B.; ŠTĚRBOVÁ, K.; MARQUES-DOS-SANTOS, C.; ACIÉN, G.; GOUVEIA, L. From piggery wastewater to wheat using microalgae towards zero waste. *Algal Research*, 72, 103153, 2023. doi: 10.1016/j.algal.2023.103153

FERREIRA, A.; MELKONYAN, L.; CARAPINHA, S.; RIBEIRO, B.; FIGUEIREDO, D.; AVETISOVA, G.; GOUVEIA, L. Biostimulant and biopesticide potential of microalgae growing in piggery wastewater. *Environmental Advances*, 4, 100062, 2021. doi: 10.1016/j.envadv.2021.100062

FRANKOWSKI, J.; CZEKALA, W. Agricultural Plant Residues as Potential Co-Substrates for Biogas Production. *Energies*, 16(11), 4396, 2023. doi: 10.3390/en16114396.

GONZÁLEZ, R.; PEÑA, D. C.; GÓMEZ, X. Anaerobic Co-Digestion of Wastes: Reviewing Current Status and Approaches for Enhancing Biogas Production. *Applied Sciences*, 12 (17), 8884, 2022. doi: 10.3390/app12178884

GONZÁLEZ-SUÁREZ, A., PEREDA-REYES, I., OLIVA-MERENCIO, D., SUÁREZ-QUIÑONES, T., JOSÉ DA SILVA, A., ZAIAT, M. Bioavailability and dosing strategies of mineral in anaerobic mono-digestion of maize straw. *Engineering in Life Sciences*, 18, 562-569, 2018. doi: 10.1002/elsc.201700018

GUPTA, S. K.; ANSARI, F. A.; SHRIWASTAV, A.; SAHOO, N. K.; RAWAT, I.; BUX, F. 2016. Dual role of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus obliquus* for comprehensive wastewater treatment and biomass production for bio-fuels. *Journal of Cleaner Production*, 115, 1, 255-264. doi: 10.1016/j.jclepro.2015.12.040

HAN, F.; YUN, S.; ZHANG, C.; XU, H.; WANG, Z. Steel slag as accelerant in anaerobic digestion for nonhazardous treatment and digestate fertilizer utilization. *Bioresource Technology*, 282, 331-338, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.03.029

HENA, S.; FATIMAH, S.; TABASSUM, S. Cultivation of algae consortium in a dairy farm wastewater for biodiesel production. *Water Resources and Industry*, 10, 1-14, 2015. doi: 10.1016/j.wri.2015.02.002

HOWELL, G.; BENNETT, C.; MATERIĆ, D. A comparison of methods for early predic-

tion of anaerobic biogas potential on biologically treated municipal solid waste. *Journal of Environmental Management*, 232, 887–8, 2019. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.11.137

ISSAH, A. A.; KABERA, T.; KEMAUSUOR, F. Biogas optimisation processes and effluent quality: A review. *Biomass and Bioenergy*, 133, 105449, 2020. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105449

KAMPERIDOU, V.; TERZOPOULOU, P. Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Waste Materials. *Sustainability*, 13(22), 12810, 2021. doi: 10.3390/su132212810

KHOO, K. S.; AHMAD, I.; CHEW, K. W.; IWAMOTO, K.; BHATNAGAR, A.; SHOW, P. L. Enhanced microalgal lipid production for biofuel using different strategies including genetic modification of microalgae: A review. *Progress in Energy and Combustion Science*, 96, 101071, 2023. doi: 10.1016/j.pecs.2023.101071

KIM, E. J.; KIM, H.; LEE, E. Influence of Ammonia Stripping Parameters on the Efficiency and Mass Transfer Rate of Ammonia Removal. *Applied Sciences*, 11, 441, 2021. doi: 10.3390/app11010441

KITESSA, W. M.; FUFA, F.; ABERA, D. Biogas Production and Biofertilizer Estimation from Anaerobic Co-Digestion of Blends of Wastewater and Microalgae. *International Journal of Chemical Engineering*, 3560068, 10, 2022. doi: 10.1155/2022/3560068

KOUTRA, E.; GRAMMATIKOPOULOS, G.; KORNAROS, M. Selection of microalgae intended for valorization of digestate from agro-waste mixtures. *Waste Management*, 73, 123-129, 2018. doi: 10.1016/j.wasman.2017.12.030

KOYAMA, M.; YAMAMOTO, S.; ISHIKAWA, K.; BAN, S.; TODA, T. Inhibition of anaerobic digestion by dissolved lignin derived from alkaline pre-treatment of an aquatic macrophyte. *Chemical Engineering Journal*, 311, 55-62, 2017. doi: 10.1016/j.cej.2016.11.076

KOYANDE, A. K.; CHEW, K. W.; RAMBABU, K.; TAO, Y.; CHU, D. T.; SHOW, P. L. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness*, 8, 1, 16-24, 2019. doi: 10.1016/j.fshw.2019.03.001

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DO AMARAL, A. C. Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato. Concórdia: *Sbera: Embrapa Suínos e Aves*, 209 p, 2019. ISBN 978-65-88155-02-8.

LAHBAB, A.; DJAAFRI, M.; KALLOUM, S.; BENATIALLAH, A.; ATELGE, M. R.; AT-ABANI, A. E. Co-digestion of vegetable peel with cow dung without external inoculum for biogas production: Experimental and a new modelling test in a batch mode. *Fuel*, 306, 121627, 2021. doi: 10.1016/j.fuel.2021.121627

LOWRY, O.; ROSEBROUGH, N.; FARR, A. L.; RANDALL, R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 165-275, 1951. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6

MAGALHÃES, I. B.; FERREIRA, J.; CASTRO, J. S.; ASSIS, L. R.; CALIJURI, M. L. Agro-industrial wastewater-grown microalgae: A techno-environmental assessment of open and closed systems. **Science of The Total Environment**, 834, 155282, 2022. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.155282

MANDOTRA, S. K.; KUMA, P.; SUSEELA, M. R.; NAYALA, S.; RANTEKE, P. W. Evaluation of fatty acid profile and biodiesel properties of microalga *Scenedesmus abundans* under the influence of phosphorus, pH and light intensities. **Bioresource Technology**, 201, 222-229, 2016. doi: 10.1016/j.biortech.2015.11.042

MARANGON, B. B.; CASTRO, J. S.; ASSEMANY, P. P.; COUTO, E. A.; CALIJURI, M. L. Environmental performance of microalgae hydrothermal liquefaction: Life cycle assessment and improvement insights for a sustainable renewable diesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 155, 111910, 2022. doi: 10.1016/j.rser.2021.111910

MARCILHAC, C.; SIALVE, B.; POURCHER, A. M.; ZIEBAL, C.; BERNET, N. B. F. Digestate color and light intensity affect nutrient removal and competition phenomena in a microalgal-bacterial ecosystem. **Water Research**, 64, 278-287, 2014. doi: 10.1016/j.watres.2014.07.012

MASIH-DAS, J.; TAO, W. Anaerobic co-digestion of foodwaste with liquid dairy manure or manure digestate: Co-substrate limitation and inhibition. **Journal of Environmental Management**, 223, 917-924, 2018. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.07.016

MATHERI, A. N.; NDIWENI, S. N.; BELAID, M.; MEZENDA, E.; HUBERT, R. Optimising biogas production from anaerobic co-digestion of chicken manure and organic fraction of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 80, 756-764, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2017.05.068

MCMANUS, C. M.; LOUVANDINI, H.; CAMPOS, V. A. L. Non linear growth curves for weight and height in four genetic groups of horses. **Ciência Animal Brasileira**, 11, 1, 80-89, 2010. doi: 10.5216/cab.v11i1.5400

MENDONÇA, H. V.; ASSEMANY, P.; ABREU, M.; COUTO, E.; MACIEL, A. M.; DUARTE, R. L.; SANTOS, M. G. B.; REIS, A. Microalgae in a global world: New solutions for old problems? **Renewable Energy**, 165, Part 1, 842-862, 2021. doi: 10.1016/j.renene.2020.11.014

MENDONÇA, H. V.; OMETTO, J. P. H. B.; OTENIO, M. H. Production of Energy and Biofertilizer from Cattle Wastewater in Farms with Intensive Cattle Breeding. **Water, Air, & Soil Pollution**, 228, 72, 2017a. doi: 10.1007/s11270-017-3264-1

MENDONÇA, H.V.; OMETTO, J.P.H.B.; OTENIO, M.H.; DOS REIS, A.J.D.; MARQUES, I.P.R. Bioenergy recovery from cattle wastewater in an UASB-AF hybrid reactor. **Water Science & Technology**, 76, 2268–2279, 2017b. doi: 10.2166/wst.2017.325

MENDONÇA, H. V.; OMETTO, J. P. H. B.; OTENIO, M. H.; MARQUES, I. P. R.; DOS REIS, A. J. D. Microalgae-mediated bioremediation and valorization of cattle

wastewater previously digested in a hybrid anaerobic reactor using a photobioreactor: Comparison between batch and continuous operation. **Science of The Total Environment**, 633,1-11, 2018. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.157

MENDONÇA, H. V.; OTENIO, M. H.; MARCHÃO, L.; LOMEU, A.; SOUZA, D. S.; REIS, A. Biofuel recovery from microalgae biomass grown in dairy wastewater treated with activated sludge: The next step in sustainable production. **Science of The Total Environment**, 824, 153838, 2022. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153838

MIRABI, M.; KARRABI, M.; SHAHNAVAZ, B. Anaerobic co-digestion of lignocellulosic/lipidic wastes with cattle manure: Investigating biogas production and methane yield. **Fuel**, 366, 131286, 2024. doi: 10.1016/j.fuel.2024.131286

MOLINUEVO-SALCES, B.; MAHDY, A.; BALLESTEROS, M.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. From piggery wastewater nutrients to biogas: Microalgae biomass revalorization through anaerobic digestion. **Renewable Energy**, 96, Part B, 1103-1110, 2016. doi: 10.1016/j.renene.2016.01.090

MORALES, M.; AFLALO, C.; BERNARD, O. Microalgal lipids: A review of lipids potential and quantification for 95 phytoplankton species. **Biomass and Bioenergy**, 150, 106108, 2021. doi: 10.1016/j.biombioe.2021.106108

MORÉ, J. J. The Levenberg-Marquardt algorithm: Implementation and theory. **Anal. Lect. Notes Math.**, 630, 105–116, 1978. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BFb0067700.pdf>>. Acesso em: 27 mai. 2024.

MORKEN, J.; GJETMUNDSEN, M.; FJØRTOFT, K. Determination of kinetic constants from the co-digestion of dairy cow slurry and municipal food waste at increasing organic loading rates. **Renewable Energy**, 117, 46-51, 2018. doi: 10.1016/j.renene.2017.09.081

MOUSAVI, S.; NAJAFPOUR, G. D.; MOHAMMADI, M.; SEIFI, M. H. Cultivation of newly isolated microalgae *Coelastrum* sp. in wastewater for simultaneous CO₂ fixation, lipid production and wastewater treatment. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 41, 519-530, 2018. doi: 10.1007/s00449-017-1887-7

MOUSTAKAS, K.; LOIZIDOU, M.; REHAN, M.; NIZAMI, A. S. A review of recent developments in renewable and sustainable energy systems: Key challenges and future perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 119, 109418, 2020. doi: 10.1016/j.rser.2019.109418

NAGARAJAN, D.; KUSMAYADI, A.; YEN, H. W.; DONG, C. D.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. Current advances in biological swine wastewater treatment using microalgae-based processes. **Bioresour. Technol.**, 289, 121718, 2019. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121718

NIELSEN, H. B.; ANGELIDAKI, I. Strategies for optimizing recovery of the biogas process following ammonia inhibition. **Bioresour. Technol.**, 99, 7995-8001, 2008. doi: 10.1016/j.biortech.2008.03.049

OGINNI, O.; SINGH, K. Pyrolysis characteristics of Arundo donax harvested from a reclaimed mine land. *Industrial Crops and Products*, 133, 44-53, 2019. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.03.014

OLIVEIRA, C. Y. B.; OLIVEIRA, C. D. L.; PRASAD, R.; ONG, H. C.; ARAUJO, E. S.; SHABNAM, N.; GÁLVEZ, A. O. A multidisciplinary review of Tetradesmus obliquus: a microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. *Reviews in Aquaculture*, 13, 3, 1594-1618, 2021. doi: 10.1111/raq.12536

PEČAR, D.; POHLEVEN, F.; GORŠEK, A. Kinetics of methane production during anaerobic fermentation of chicken manure with sawdust and fungi pre-treated wheat straw. *Waste Management*, 102, 170-178, 2020. doi: 10.1016/j.wasman.2019.10.046

RAJAGOPAL, R.; MASSÉ, D. I.; SINGH, G. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, 143, 632-641, 2013. doi: 10.1016/j.biortech.2013.06.030

REIS, A. O papel das microalgas na transição energética. *Renováveis Magazine*, 44, 42-43, 2021. Disponível em: <<https://www.renovaveismagazine.pt/o-papel-das-microalgas-na-transicao-energetica/>> Acesso em: 15 de fevereiro de 2024.

ROY, U. K.; RADU, T.; WAGNER, J. L. Carbon-negative biomethane fuel production: Integrating anaerobic digestion with algae-assisted biogas purification and hydrothermal carbonisation of digestate. *Biomass Bioenergy*, 148, 106029, 2021. doi: 10.1016/j.biombioe.2021.106029

SALLEM, M. Possibility of utilizing agriculture biomass as a renewable and sustainable future energy source. *Heliyon*, 8, 2, 2022. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e08905

SANTOS, E. F.; JUNIOR, J. C. Z.; SERRA, J. C. V.; ARCHANGELO, E. R.; SOUSA, I. J. A. Chapter 12 - Anaerobic codigestion of manipueira with bovine manure for biogas and biofertilizer production. *Agroenergy, Renewable and Sustainable Energy*, Woodhead Series in Bioenergy, 201-211, 2024. doi: 10.1016/B978-0-443-21430-1.00006-5

SHI, K.; GAO, Z.; SHI, T. Q.; SONG, P.; REN, L. J.; HUANG, H.; JI, X. J. Reactive Oxygen Species-Mediated Cellular Stress Response and Lipid Accumulation in Oleaginous Microorganisms: The State of the Art and Future Perspectives. *Frontiers Microbiology*, 8, 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.00793

SHRESTHA, B.; HERNANDEZ, R.; FORTELA, D. L. B.; SHARP, W.; CHISTOSERDOV, A.; GANG, D.; REVELLAME, E.; HOLMES, W.; ZAPPI, M. A Review of Pre-treatment Methods to Enhance Solids Reduction during Anaerobic Digestion of Municipal Wastewater Sludges and the Resulting Digester Performance: Implications to Future Urban Biorefineries. *Applied Sciences*, 10(24), 9141, 2020. doi: 10.3390/app10249141

SIDDIKI, S. Y. A.; MOFIJUR, M.; KUMAR, P. S.; AHMED, S. F.; INAYAT, A.; KUSUMO, F.; BADRUDDIN, I A.; KHAN, T. M. Y.; NGHIEM, L. D.; ONG, H. C.; MAHLIA, T. M.I. Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept. **Fuel**, 307, 121782, 2022. doi: 10.1016/j.fuel.2021.121782

SILVA, G. H.; BARROS, N. O.; SANTANA, L. A. R.; CARNEIRO, J. C.; OTENIO, M. H. Shifts of acidogenic bacterial group and biogas production by adding two industrial residues in anaerobic co-digestion with cattle manure. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, 1, 1-9, 2021. doi: 10.1080/10934529.2021.2015987.

SIMIONI, T.; AGUSTINI, C. B.; DETTMER, A.; GUTTERRES, M. Nutrient balance for anaerobic co-digestion of tannery wastes: Energy efficiency, waste treatment and cost-saving. **Bioresource Technology**, 308, 123255, 2020. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123255

SOARES, B. S.; BORGES, A. C.; MATOS, A. T.; BARBOSA, R. B. G.; SILVA, F. F. Exploring the Removal of Organic Matter in Constructed Wetlands Using First Order Kinetic Models. **Water**, 14(3), 472, 2022. doi: 10.3390/w14030472

SOBOLEWSKA, E.; BOROWSKI, S.; NOWICKA-KRAWCZYK, P. Effect of solar and artificial lighting on microalgae cultivation and treatment of liquid digestate. **Journal of Environmental Management**, 344, 118445, 2023. doi: 10.1016/j.jenvman.2023.118445

SOHAIL, N. F.; ZESHAN; IFTIKHAR, R.; SALEEM, S. Microalgal treatment of high-nutrient wastewater using twin layer cultivation system. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 11, 2, 109248, 2023. doi: 10.1016/j.jece.2022.109248

SONG, Y.; PEI, L.; CHEN, G.; MU, L.; YAN, B.; LI, H.; ZHOU, T. Recent advancements in strategies to improve anaerobic digestion of perennial energy grasses for enhanced methane production. **Science of the Total Environment**, 861, 160552, 2023. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.160552

SOUZA, D. S.; VALADÃO, R. C.; SOUZA, E. R. P.; BARBORA, M. I. M. J.; MENDONÇA, H. V. Enhanced *Arthrospira platensis* biomass production combined with anaerobic cattle wastewater bioremediation. **Bioenergy Research**, 15, 412-425, 2022. doi: 10.1007/s12155-021-10258-4

STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; SILVA, M. L. B.; KUNZ, A.; AMARAL, A. C.; TÁPPARO, D. C.; SOARES, H. M. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. **Bioresource Technology**, 219, 21-28, 2016. doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.031

STRÖMBERG, S.; NISTOR, M.; LIU, J. Early prediction of Biochemical Methane Potential through statistical and kinetic modelling of initial gas production. **Bioresource Technology**, 176, 233-241, 2015. doi: 10.1016/j.biortech.2014.11.033

TANG, H.; CHEN, M.; SIMON NG, K. Y.; SALLE, S. O. Continuous microalgae cultivation in a photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, 109, 10, 2468-

2474, 2012. doi: 10.1002/bit.24516

TAWFIK, A.; HASANAN, K.; ABDULLAH, M.; BADR, O. A.; AWAD, H. M.; ELSA-MADONY, M.; EL-DISSOUKY, A.; QYYUM, M. A.; NIZAMI, A.-S. Graphene enhanced detoxification of wastewater rich 4-nitrophenol in multistage anaerobic reactor followed by baffled high-rate algal pond. *Journal of Hazardous Materials*, 424, Part A, 127395, 2022. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127395

TRIVEDI, J.; AGRAWAL, D.; ATRAY, N.; RAY, A. Enhanced lipid production in *Scenedesmus obliquus* via nitrogen starvation in a two-stage cultivation process and evaluation for biodiesel production. *Fuel*, 316, 123418. doi: 10.1016/j.fuel

TJØRVE, K. M. C.; TJØRVE, E. The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model approach: An addition to the Unified-Richards Family. *PLoS ONE*, 12(6), 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0178691

ULUKARDESLER, A. H. Anaerobic co-digestion of grass and cow manure: kinetic and GHG calculations. *Scientific Reports*, 13, 6320, 2023. doi: 10.1038/s41598-023-33169-0

VADIVELLOO, A.; FOSTER, L.; KWAMBAI, C.; BAHRI, P. A.; MOHEIMANI, N. R. Microalgae cultivation for the treatment of anaerobically digested municipal centrate (ADMC) and anaerobically digested abattoir effluent (ADAE). *Science of The Total Environment*, 775, 145853, 2021. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145853

VASMARA, C.; CIANCHETTA, S.; MARCHETTI, R.; CEOTTO, E.; GALLETT, S. Potassium Hydroxyde Pre-Treatment Enhances Methane Yield from Giant Reed (*Arundo donax* L.). *Energies*, 14(3), 630, 2021. doi: 10.3390/en14030630

VASMARA, C.; GALLETT, S.; CIANCHETTA, S.; CEOTTO, E. Advancements in Giant Reed (*Arundo donax* L.) Biomass Pre-Treatments for Biogas Production: A Review. *Energies*, 16(2), 949, 2023. doi: 10.3390/en16020949

WANG, K.; YUN, S.; KE, T.; AN, J.; ABBAS, Y.; LIU, X.; ZOU, M.; LIU, L.; LIU, J. Use of bag-filter gas dust in anaerobic digestion of cattle manure for boosting the methane yield and digestate utilization. *Bioresource Technology*, 348, 126729, 2022. doi: 10.1016/j.biortech.2022.126729

WANG, X.; LU, X.; LI, F.; YANG G. Effects of Temperature and Carbon-Nitrogen (C/N) Ratio on the Performance of Anaerobic Co-Digestion of Dairy Manure, Chicken Manure and Rice Straw: Focusing on Ammonia Inhibition. *PLoS One*, 9, 1-7, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0097265

WANG, Z.; JIANG, Y.; WANG, S.; ZHANG, Y.; HU, Y.; HU, Z.; WU, G.; ZHAN, X. Impact of total solids content on anaerobic co-digestion of pig manure and food waste: Insights into shifting of the methanogenic pathway. *Waste Management*, 114, 96-106, 2020. doi: 10.1016/j.wasman.2020.06.048

WARE, A.; POWER, N. Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions. *Renewable Energy*, 104,

50-59, 2017. doi: 10.1016/j.renene.2016.11.045

WEIMERS, K.; BERGSTRAND, K.-J.; HULTBERG, M.; ASP, H. Liquid Anaerobic Digestate as Sole Nutrient Source in Soilless Horticulture-Or Spiked With Mineral Nutrients for Improved Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, 13, 2022. doi: 10.3389/fpls.2022.770179

WOJNAROWSKA, A.; PAŁKA, S.; OTWINOWSKA-MINDUR, A.; PTAK, E. Comparison of two nonlinear functions describing the growth of Popielno White and New Zealand White rabbits. *Animal Science and Genetics*, 18(4), 1-13, 2022. doi: 10.5604/01.3001.0016.1097.

YENIGÜN, O.; DEMIREL, B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Process Biochemistry*, 48, 5-6, 901-911, 2013. doi: 10.1016/j.procbio.2013.04.012

ZHEN, G.; LU, X.; KOBAYASHI, T.; LI, Y. Y.; XU, K.; ZHAO, Y. Mesophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge and *Egeria densa*: Performance assessment and kinetic analysis. *Applied Energy*, 148, 78-86, 2015. doi: 10.1016/j.apenergy.2015.03.038

ZHANG, C.; YUN, S.; LI, X.; WANG, Z.; XU, H.; DU, T. Low-cost composited accelerants for anaerobic digestion of dairy manure: focusing on methane yield, digestate utilization and energy evaluation. *Bioresour Technol*, 263, 517-524, 2018. doi: 10.1016/j.biortech.2018.05.042

ZHANG, X.; LOPES, I. M.; NI, J. Q.; YUAN, Y.; HUANG, C. H.; SMITH, D. R.; CHAUBEY, I.; WU, S. Long-term performance of three mesophilic anaerobic digesters to convert animal and agro-industrial wastes into organic fertilizer. *Journal of Cleaner Production*, 307, 127271, 2021. doi: 10.1016/j.jclepro.2021.127271

ZHANG, Y.; WANG, X.; ZHU, W.; ZHAO, Y.; WANG, N.; GAO, M.; WANG, Q. Anaerobic fermentation of organic solid waste: Recent updates in substrates, products, and the process with multiple products co-production. *Environmental Research*, 233, 116444, 2023. doi: 10.1016/j.envres.2023.116444

ZHU, L. D.; LI, Z. H.; GUO, D. B.; HUANG, F.; NUGROHO, Y.; XIA, K. Cultivation of *Chlorella* sp. with livestock waste compost for lipid production. *Bioresour Technol*, 223, 296-300, 2017. doi: 10.1016/j.biortech.2016.09.094

ZUO, Z.; WU, S.; ZHANG, W.; DONG, R. Effects of organic loading rate and effluent recirculation on the performance of two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. *Bioresour Technol*, 146, 556-561, 2013. doi: 10.1016/j.biortech.2013.07.128.

ZWIETERING, M. H.; JONGENBURGER, I.; ROMBOUTS, F. M.; RIET, K. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1875-81, 1990. doi: 10.1128/aem.56.6.1875-1881.1990.