

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL *CAMPUS* CERRO LARGO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E TECNOLOGIAS**  
**SUSTENTÁVEIS**

**GABRIELE KUHN DUPONT**

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS DE**  
**SUÍNOS E BAGAÇO DE MANDIOCA PARA PRODUÇÃO DE METANO**

**CERRO LARGO**

**2021**

**GABRIELE KUHN DUPONT**

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS DE SUÍNOS E BAGAÇO DE MANDIOCA PARA PRODUÇÃO DE METANO**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Processos e Tecnologias.

Orientador: Prof. Dr. Bruno München Wenzel  
Coorientador: Prof. Dr. Daniel Joner Daroit

**CERRO LARGO**

**2021**

## **Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Dupont, Gabriele Kuhn

MODELAGEM MATEMÁTICA DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS DE SUÍNOS E BAGAÇO DE MANDIOCA PARA PRODUÇÃO DE METANO / Gabriele Kuhn Dupont. -- 2021.

108 f.:il.

Orientador: Doutor Bruno München Wenzel

Co-orientador: Doutor Daniel Joner Daroit

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis, Cerro Largo, RS, 2021.

1. Co-digestão anaeróbia. 2. Modelagem matemática. 3. Biogás. 4. Desejos de suínos. 5. Bagaço de mandioca. I. Wenzel, Bruno München, orient. II. Daroit, Daniel Joner, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

**GABRIELE KUHN DUPONT**

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS DE SUÍNOS E BAGAÇO DE MANDIOCA PARA PRODUÇÃO DE METANO**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Área de Concentração: Engenharia das reações químicas e bioquímicas.


Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Processos e Tecnologias

Orientador: Bruno München Wenzel

Co-orientador: Prof. Dr. Daniel Joner Daroit

Esta Dissertação foi defendida e aprovada pela banca em: 26/02/2021

BANCA EXAMINADORA



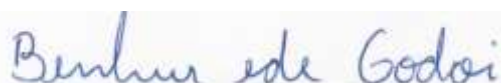
---

Prof. Dr. Bruno München Wenzel



---

Prof. Dr. Fabiano Bisinella Scheufele



---

Prof. Dr. Benhur de Godoi

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Doutor Bruno München Wenzel, pela grande oportunidade de trabalhar ao seu lado. Agradeço imensamente por toda confiança, paciência, dedicação e apoio em todas as etapas deste trabalho.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Daniel Joner Daroit, por toda sua disponibilidade, comprometimento e paciência em auxiliar com todo o desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa (DS-CAPES) concedida durante o segundo ano do Mestrado.

À coordenação, funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis (PPGATS) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), por toda estrutura e qualificação que me proporcionaram.

Às colegas de laboratório, Morgana, Isabela, Carolina e Naiara, por todo o apoio, ajuda e amizade.

À técnica de laboratório, Fabiana, pelo auxílio e disponibilidade durante as atividades experimentais.

À minha mãe, Dulce Kuhn, pelo apoio, torcida e incentivo.

Ao meu namorado, Márcio José Dewes Kolling, por toda ajuda, companheirismo e encorajamento nesta caminhada.

## RESUMO

A digestão anaeróbia (DA) é considerada uma abordagem promissora para tratamento de resíduos, uma vez que alia a destinação mais adequada de biomassas de grande geração com a produção de energia renovável, a partir do biogás. Nesse contexto, em busca de um processo eficiente de conversão de energia, e que reaproveita diferentes substratos simultaneamente, se destaca a co-digestão anaeróbia (Co-DA), como uma biotecnologia viável para melhorar o desempenho da produção de metano. Diante disso, para o desenvolvimento deste trabalho pautou-se a produção de metano a partir da Co-DA de dejetos de suínos (DS) com diferentes concentrações de bagaço de mandioca (BM). Para isso, primeiramente foi realizado um ensaio preliminar de Co-DA, em que foi possível avaliar que diante da alta matéria orgânica rapidamente degradável do BM, ocorreu um acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV), logo no início do processo de digestão anaeróbia. Essa situação foi visualizada pela redução do pH final dos reatores contendo o cosubstrato, o que inibiu a produção de metano. Desta forma, implementaram-se para os próximos dois conjuntos experimentais, expostos pelo artigo principal deste trabalho, a Co-DA de DS com adições crescentes de BM e ajuste do pH inicial com uma solução tamponante de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . No conjunto experimental 1, as caracterizações ao final da DA apontaram elevadas remoções de Sólidos totais (ST), Sólidos voláteis (SV), Demanda química de Oxigênio (DQO) e Demanda química de Oxigênio Solúvel (DQOS) em todos os grupos experimentais. Além disso, resultados relevantes de produção de metano também foram observados, com destaque para o grupo R4 (16,87 g/L de ST), contendo a maior concentração de BM, com volume acumulado de  $41129 \pm 1783,6$  mL  $\text{CH}_4/\text{L}_{\text{reator}}$ . Ainda, este grupo apresentou a maior remoção de ST, SV e DQO, de 62,5%, 58,6% e 77,3%, respectivamente, e uma produção de metano que superou em 46,8% o grupo Controle (contendo apenas DS). Já no conjunto experimental 2, a produção de metano foi severamente inibida nos reatores com adição de 21,39 à 33,79 g/L de ST de bagaço de mandioca, devido à possível acumulação de grandes quantidades de AGV durante a Co-DA. Desta forma, observou-se que a solução tamponante adicionada não foi suficiente para evitar a redução do pH em quantidades elevadas de BM. Finalmente, para descrever a cinética de produção de metano da Co-DA de dejetos de suínos e bagaço de mandioca, em relação à capacidade tamponante do sistema, foi proposto a solução de três modelos matemáticos a partir de duas estruturas desenvolvidas para este trabalho. Os resultados das simulações indicaram que o modelo que representou adequadamente os dados experimentais, com coeficientes de determinação próximos a unidade ( $R^2_{\text{CH}_4, \text{total}} = 0,9811$ ;  $R^2_{\text{COD}} = 0,9636$ ;  $R^2_{\text{pH}} = 0,9912$ ), sucedera-se para a estrutura 1 proposta (modelo de etapa limitante), com taxa de crescimento específico de primeira ordem e com a hipótese da capacidade tamponante ser linearmente dependente do substrato de BM. Diante disso, pode-se averiguar que o modelo de estrutura 1 descreveu de forma potencial e simplificada a capacidade tamponante do sistema, com base na etapa de crescimento celular e na concentração do cosubstrato adicionado no sistema.

Palavras-chave: Co-digestão anaeróbia. Dejetos de suínos. Bagaço de mandioca. Metano. Modelagem matemática.

## ABSTRACT

Anaerobic digestion (AD) is considered a promising approach for waste treatment, since it combines the most suitable destination of large generation biomass with the production of renewable energy from biogas. In this context, in search of an efficient energy conversion process, which reuses different substrates simultaneously, anaerobic co-digestion (AcoD) stands out as a viable biotechnology to improve the performance of methane production. Therefore, the development of this work was guided by the methane production from AcoD of swine manure (SM) with different concentrations of cassava bagasse (CB). For this, a preliminary AcoD test was carried out, in which was possible to evaluate that, given the high rapidly degradable organic matter of the CB, an accumulation of volatile fatty acids (VFA) occurred at the beginning of the AD. This condition was visualized by final pH reduction of the reactors containing the co-substrate, which inhibited the production of methane. Thereby, it was implemented for the next two experimental batch, exposed by the main article of this work, the AcoD of DS with increasing additions of CB and adjustment of the initial pH with a buffering solution of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . At experimental batch 1, the characterizations at the end of AD pointed high removals of Total Solids (TS), Volatile Solids (VS), Chemical Oxygen Demand (COD) and Soluble Chemical Oxygen Demand (CODS) in all experimental groups. Moreover, relevant results of methane production were observed particularly for the group R4 (16.87 g/L TS) containing the highest concentration of CB with accumulated volume of  $41129 \pm 1783,6 \text{ mL CH}_4/\text{L}_{\text{ reactor}}$ . In addition, this group showed the highest removal of TS, VS and COD, of 62.5%, 58.6% and 77.3%, respectively, and a methane production that exceeded the control group by 46.8% (containing SM only). At experimental batch 2, methane production was severely inhibited in the reactors with the addition of 21.39 to 33.79 g/L of TS of cassava bagasse, due to the possible accumulation of large amounts of VFA during AcoD. Thus, it was observed that the buffering solution added was not sufficient to avoid pH reducing in very high amounts of CB. Finally, to describe the kinetics of methane production of AcoD of swine manure and cassava bagasse, in relation to the buffering capacity of the system, the solution of three mathematical models from two structures developed for this work was proposed. The simulation results indicated that the model that adequately represented the experimental data, with determination coefficients close to the unit ( $R^2_{\text{CH}_4, \text{total}} = 0.9811$ ;  $R^2_{\text{COD}} = 0.9636$ ;  $R^2_{\text{pH}} = 0.9912$ ), succeeded for proposed structure 1 (limiting step model), with a specific first order growth rate and with the hypothesis of buffering capacity is linearly dependent on the BM substrate. Therefore, it can be verified that the model of structure 1 described in a potential and simplified way the buffering capacity of the system, based on the cell growth step and the concentration of the added cosubstrate in the system.

Keywords: Anaerobic co-digestion; Swine manure; Cassava bagasse; Methane; Mathematical modelling.

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Estudos de co-digestão anaeróbia empregando dejetos de suínos em conjunto com outros cosubstratos.....	31
Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos dos substratos empregados no processo de Co-DA. ....	41
Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos no início (t <sub>0</sub> ) e no final (t <sub>f</sub> ; 91 dias) de Co-DA utilizando dejetos de suínos (DS) diluído (1:2) como inóculo/ substrato principal e bagaço de mandioca (BM) como cosubstrato. ....	43
Table 4 – Specific growth rate models tested in this work.....	58
Table 5 – Physicochemical parameters of inoculums/main substrates and co-substrate employed in anaerobic co-digestion experiments.....	63
Table 6 - Physicochemical parameters at the beginning (t <sub>0</sub> ) and at the end (t <sub>f</sub> ) of anaerobic co-digestion experiments.....	66
Table 7 - Parameters of structure type, specific growth rate, and buffering capacity hypothesis for models' adjustments. ....	72
Table 8 – Parameters of the best model: Structure 1, with first order specific growth rate, and linear buffering capacity hypothesis. ....	74



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Substratos empregados na co-digestão anaeróbia. (a) Bagaço de mandioca in natura; (b) Esterqueira aonde foram coletados os dejetos de suínos.	38
Figura 2 – Configuração experimental utilizada para produção de biogás. (a) Disposição dos reatores anaeróbios no interior da estufa; (b) Visão geral do sistema de lavagem de biogás e medição do metano produzido.	39
Figura 3 – Produção cumulativa de metano durante a co-digestão anaeróbia de dejetos de suínos e bagaço de mandioca.	44
Figure 4 – Schematic representation of models used to describe anaerobic digestion process: (a) classical ADM1 model; (b) Structure 1 (two-substrate with metabolism as the limiting step); (c) Structure 2 (hydrolysis of two substrates and metabolism step).	53
Figure 5 – Kinetic of cumulative methane (CH <sub>4</sub> ) production: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.	76
Figure 6 – pH behavior: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.	79
Figure 7 – Cell Biomass behavior: modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.	82
Figure 8 – Substrate S1 + S2 behavior: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.	83
Figure 9 – Substrate S1 and S2 behavior individually: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.	85

## LISTA DE ABREVIATURAS

DA – Digestão anaeróbia  
DS – Dejetos de suínos  
C/N – Relação carbono/ nitrogênio  
Co-DA – Co-digestão anaeróbia  
Mono-DA – Mono-digestão anaeróbia  
AGV - Ácidos graxos voláteis  
BM – Bagaço de mandioca  
ST – Sólidos totais  
SV – Sólidos voláteis  
DQO – Demanda química de oxigênio  
DQOS – Demanda química de oxigênio solúvel  
NTK – Nitrogênio total de Kjeldahl  
NAT – Nitrogênio amoniacal total  
C0 – Grupo Controle  
R15, R30, R45, R60 – Grupos experimentais

AD – Anaerobic Digestion  
SM – Swine Manure  
C/N – Carbon/nitrogen ratio  
AcoD – Anaerobic co-digestion  
CB – Cassava bagasse  
ORL – Organic loading rate  
VFA – Volatile fatty acids  
TS – Total solids  
VS – Volatile solids  
COD – Chemical oxygen demand  
CODS – Chemical oxygen demand soluble  
TKN – Total Kjeldahl nitrogen  
TAN – Total ammonia nitrogen  
AW – Apple waste

ORL – Organic loading rate

VFA – Volatile fatty acids

C0, C1 – Control groups

R15, R30, R45, R60, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 e R9 – Experimental groups

ODE - Ordinary differential equations

## NOMENCLATURA

<b>Símbolo</b>	<b>Definição</b>	<b>Unidade</b>
$S_1$	Substrato 1 (dejetos de suínos)	[-]
$S_2$	Substrato 2 (bagaço de mandioca)	[-]
$X$	Taxa de crescimento dos microrganismos	[-]
$H^+$	Íons hidrogênio	[-]
$PS_1$	Substrato particulado S1	[-]
$PS_2$	Substrato particulado S2	[-]
$S$	Substrato único solúvel	[-]
$H_r^+$	Liberação de íons hidrogênio	[-]
$B$	Composto genérico tamponante	[-]
$C_{B0}$	Capacidade tamponante	$[mol H^+ / L]$
$Y_{i/k}$	Coeficiente de produtividade que representa o consumo ou formação da espécie "i" em relação à espécie "k"	$[g "i" / g "k"]$
$C_X$	Concentração de biomassa celular	$[g X / L]$
$\mu_i$	Taxa de crescimento específico da espécie "i"	$[day^{-1}]$
$r_{i,j}$	Taxa de transformação da espécie "i" na reação "j"	$[g "i" / (L \cdot day)]$
$C_{H^+}$	Concentração de íons hidrogênio	$[mol H^+ / L]$
$C_{H_r^+}$	Concentração de íons hidrogênio liberados	$[mol H_r^+ / L]$
$k_d$	Parâmetro do coeficiente de decaimento da célula	[-]
$SS$	Substratos solúveis	[-]
$k_1$	Constante de primeira ordem	[-]
$\mu_m$	Taxa de crescimento específico máximo	$[day^{-1}]$
$K_S$	Parâmetro de saturação da equação de Monod	[-]
$K_C$	Coefficiente de Contois	[-]
$R^2_{CH_4, total}$	Coeficiente de determinação para todos os dados de produção de metano	[-]

$R^2_{CH_4,j}$	Coeficiente de determinação para os dados de produção de metano das corridas experimentais	[-]
$R^2_{COD}$	Coeficiente de determinação dos dados de concentração final de demanda química de oxigênio	[-]
$R^2_{pH}$	Coeficiente de/ determinação dos dados de pH final das corridas experimentais	[-]
$y _{exp,k}^{j}$	Valores medidos de uma variável genérica “y”	[-]
$y _{mod,k}^{j}$	Valores preditos de uma variável genérica “y”	[-]
$V_{CH_4}$	Produção cumulativa de metano	$[mL CH_4/L_{reator}]$
$C_{COD}$	Concentração de demanda química de oxigênio	$[mol COD/L]$
$ne$	Número de pontos experimentais	[-]
$nr$	Número de corridas experimentais	[-]
$nd$	Número total de pontos experimentais ajustados do modelo	[-]
$np$	Número de parâmetros do modelo	[-]
$a$	Coeficiente linear de expressão empírica para a capacidade de tamponamento do sistema	[-]
$b$	Coeficiente angular	[-]

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
1.1 OBJETIVOS .....	18
<b>1.1.1 Objetivo geral</b> .....	18
<b>1.1.2 Objetivos específicos</b> .....	18
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	20
2.1 RESÍDUOS AGROPECUÁRIOS .....	20
2.2 GERAÇÃO DE ENERGIA RENOVÁVEL .....	23
2.3 BIOTECNOLOGIA DE DESTINAÇÃO DE RESÍDUOS: DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	24
<b>2.3.1 Influência do parâmetro operacional pH</b> .....	27
2.4 CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	29
2.5 MODELAGEM MATEMÁTICA .....	32
<b>3 RESULTADOS - PARTE I: PRODUÇÃO DE METANO A PARTIR DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS DE SUÍNOS E BAGAÇO DE MANDIOCA: TESTES PRELIMINARES</b> .....	35
3.1 RESUMO .....	35
3.2 INTRODUÇÃO .....	35
3.3 METODOLOGIA .....	38
<b>3.3.1 Inóculo e cosubstrato</b> .....	38
<b>3.3.2 Co-digestão anaeróbia e produção de metano</b> .....	38
<b>3.3.3 Parâmetros físico-químicos</b> .....	40
<b>3.3.4 Análise estatística</b> .....	41
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
<b>3.4.1 Caracterização do inóculo e cosubstrato</b> .....	41

3.4.2 Caracterização físico-química e produção de metano nos experimentos de Co-DA .....	42
3.5 CONCLUSÕES .....	47
<b>4 RESULTADOS PARTE II: MATHEMATICAL MODELLING OF ANAEROBIC CO-DIGESTION OF SWINE MANURE AND CASSAVA BAGASSE FOR METHANE PRODUCTION .....</b>	<b>48</b>
4.1 ABSTRACT .....	48
4.2 INTRODUCTION.....	48
4.3 KINETIC MODELLING.....	51
<b>4.3.1 Model Structure 1 .....</b>	<b>53</b>
<b>4.3.2 Model Structure 2.....</b>	<b>56</b>
<b>4.3.3 Specific growth rates.....</b>	<b>57</b>
4.4 MATERIALS AND METHODS .....	58
<b>4.4.1 Inoculum/main substrates and co-substrate.....</b>	<b>58</b>
<b>4.4.2 Experimental setup.....</b>	<b>59</b>
<b>4.4.3 Biodigesters, methane production, and physicochemical characterization .....</b>	<b>59</b>
<b>4.4.4 Kinetic modeling: solution, adjustment, and selection .....</b>	<b>60</b>
4.5 RESULTS AND DISCUSSIONS .....	62
<b>4.5.1 Characterization of inoculums, co-substrate and AcoD experiments .....</b>	<b>62</b>
<b>4.5.2 Influence of pH on methane production .....</b>	<b>67</b>
<b>4.5.3 Kinetic modeling and methane production .....</b>	<b>71</b>
4.6 CONCLUSIONS.....	86
<b>5 CONSIDERAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>87</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>89</b>
<b>APÊNDICES/ APPENDIX .....</b>	<b>106</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da demanda por produtos de origem animal tem intensificado a prática da pecuária e com isso, o aumento de produção de resíduos como os dejetos de animais. Estes, detêm teores importantes de nitrogênio, fósforo, matéria orgânica e microrganismos fecais, nutrientes que se inadequadamente descartados, podem interferir diretamente na qualidade do ar, do clima, do solo, biodiversidade e qualidade da água (TULLO et al., 2019). Nesse sentido, há uma grande necessidade de redirecionar resíduos pecuários para atenuar a poluição ambiental e ao mesmo passo aproveitá-los enquanto recursos sustentáveis (QIAN et al., 2019). Para isso tem-se buscado a implementação de tecnologias sustentáveis como a digestão anaeróbia (DA), a qual transforma diferentes resíduos em energia, como alternativa para reaproveitar essas fontes de biomassa além de reduzir os seus impactos ambientais (GUTIÉRREZ et al., 2020).

Apesar da digestão anaeróbia corroborar como um tratamento eficaz para diversos dejetos de animais, como os dejetos de suínos (DS), o seu emprego individual aponta algumas desvantagens, como principalmente a baixa relação de nutrientes como carbono e nitrogênio (C/N) (NESHAT et al., 2017). Por este motivo, o beneficiamento simultâneo de dois ou mais resíduos orgânicos por meio da digestão em condições anóxicas, como na co-digestão anaeróbia (Co-DA) refere-se a uma estratégia promissora para otimizar a eficiência da mono-digestão anaeróbia (Mono-DA), que emprega apenas um substrato. No entanto, ainda existem muitos desafios e lacunas com relação a estabilidade e o rendimento do processo de Co-DA, em vista dos diferentes cosubstratos que podem ser empregados e das condições de operação dos biodigestores (AWOSUSI et al., 2020).

Diante desse contexto, tem-se aliado a recuperação de energia de resíduos pecuários com resíduos industriais lignocelulósicos, por tratarem-se de subprodutos de baixo custo e que promovem uma alternativa de descarte sustentável e mais adequado, além de energia limpa, com a produção de metano (LÜ et al., 2019). Resíduos industriais com alto teor de amido são, geralmente, facilmente digeridos pelo ciclo metabólico de vários microrganismos anaeróbios, especialmente em processos de biodigestão anaeróbia (CHAVADEJ et al., 2019). Dessa maneira, esse tipo de biomassa apresenta forte potencial para geração de ácidos voláteis e



seguidamente produção de biogás com alto teor de metano. Posto isso, o estabelecimento de concentração de carregamento orgânico nos biorreatores durante a digestão anaeróbia é importante para uma boa atividade dos microrganismos e estabilidade do sistema (NESHAT et al., 2017).

No processo de digestão anaeróbia, uma ampla gama de compostos pode inibir o processo e causar transtorno ou falha, interrompendo a produção de metano (CHEN et al., 2014). Um dos principais inibidores é o acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV), que podem diminuir o pH do reator (ZHAO et al., 2020). A geração em excesso de AGV geralmente é o resultado de um desequilíbrio entre as etapas de rápida hidrólise e lenta metanogênese, reduzindo desta forma, o desempenho dos microrganismos metanogênicos (STALEY et al., 2011) e na falha completa do processo de digestão anaeróbia (SUN et al., 2020). Diante disso, o pH refere-se a um parâmetro importante para o processo adequado de DA, e seu ajuste é recomendado para aumentar o rendimento de metano (YANG et al., 2015).

Resíduos agroindustriais como o bagaço de mandioca (BM) são resíduos de grande geração e podem ser empregados como substratos alternativos para bioprocessos, pois o processamento de cerca de 250 a 300 toneladas de tubérculos frescos resulta em cerca de 280 toneladas de bagaço úmido. Este é feito de material fibroso da raiz e contém amido que não foi extraído fisicamente durante seu processamento (NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, 2009). Nesse cenário, a digestão anaeróbia de BM juntamente com DS, representa uma tecnologia promissora para a destinação mais adequada desses resíduos. Em contrapartida, o bagaço de mandioca digerido tem forte tendência em acidificar o meio, causando desequilíbrio do sistema. Por isso, torna-se necessário aumentar os níveis de alcalinidade dentro do reator (BONCZ et al., 2012). A adição de alcalinidade, com bicarbonato de sódio, aos biodigestores anaeróbios é uma prática preventiva utilizada em estudo anterior (CREMONEZ et al., 2020). Agentes tamponantes como o hidróxido de cálcio, óxido de cálcio ou carbonato de sódio podem ser adicionados para ajustar o pH dos sistemas anaeróbios, que são compostos que reagem com o dióxido de carbono para formar bicarbonato (CHERNICHARO, 2007). Em outro estudo, os autores verificaram que ao adicionar uma solução tamponante de carbonato de sódio (1 mol/ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) para controlar a alcalinidade, após uma

inibição do sistema devido a redução do pH, a produção de metano começou a aumentar gradualmente (CHENG et al., 2020).

A Co-DA com outros resíduos e a incorporação de métodos para neutralizar componentes tóxicos antes do processo anaeróbio, podem adaptar microrganismos a substâncias inibidoras e, conseqüentemente, melhorar a eficiência do tratamento de resíduos (CHEN et al., 2008). Portanto, o desenvolvimento deste trabalho teve como objetivo principal a utilização de resíduos regionais para a produção de metano, por meio da biotecnologia da co-digestão anaeróbia. Para este estudo, foram empregados dejetos de suínos, provenientes de criação suína, como inóculo/substrato principal, e bagaço de mandioca, como cosubstrato, com e sem adição de solução tamponante, como uma abordagem promissora para determinar seu potencial de produção sustentável de energia. Além disso, foram implementadas modelagens matemáticas, a partir da solução de duas estruturas propostas, para avaliar o modelo matemático que melhor descreve a cinética de produção de metano da co-digestão de dejetos de suínos e bagaço de mandioca.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Sondar a maximização de produção de metano a partir do reaproveitamento de dejetos de suínos e bagaço de mandioca pelo processo de co-digestão anaeróbia.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Produzir metano a partir da co-digestão anaeróbia, empregando dejetos de suínos, provenientes de fazenda de criação suína, como inóculo/substrato principal e bagaço de mandioca como cosubstrato;
- Realizar a caracterização dos substratos e do conteúdo dos reatores no início e no final de cada conjunto experimental;
- Analisar a produção de metano em função da concentração inicial do cosubstrato;
- Avaliar a influência do pH no processo;
- Averiguar o modelo matemático que melhor descreve a co-digestão anaeróbia de dejetos de suínos e bagaço de mandioca, a partir da solução proposta pelas duas estruturas bioreacionais desenvolvidas.

## 1.2. ESTRUTURA DO TRABALHO

A fim de situar melhor o leitor, o trabalho foi estruturado da seguinte forma:

- (i) Capítulo 2: apresenta uma revisão bibliográfica para contextualizar a pesquisa desenvolvida;
- (ii) Capítulo 3: apresenta a primeira parte dos resultados da pesquisa, referente ao artigo contendo os testes preliminares que apresentam a metodologia e os resultados da primeira batelada de experimentos de co-digestão anaeróbia utilizando dejetos de suínos (como inóculo/substrato principal) e diferentes contribuições de bagaço de mandioca (cosubstrato), em relação aos sólidos totais adicionados. Este primeiro conjunto de experimentos funcionou como base para encaminhar e ajustar os experimentos detalhados no Capítulo 4. Desta forma, a partir deste experimento inicial foi avaliada principalmente a necessidade de ajuste de pH inicial do sistema;

(iii) Capítulo 4: é apresentada a segunda parte dos resultados, que consiste no artigo a ser submetido para publicação, intitulado “Mathematical modelling of anaerobic co-digestion of swine manure and cassava bagasse for methane production”. Para esse artigo foram desenvolvidos dois conjuntos de experimentos, utilizando dejetos de suínos e concentrações crescentes de bagaço de mandioca em relação aos sólidos totais, além do uso de uma solução tamponante para controlar o pH do sistema. Neste estudo são apresentadas as metodologias empregadas para os dois conjuntos experimentais desenvolvidos, bem como a descrição e otimização dos modelos matemáticos utilizados para descrever a cinética de produção de metano em função da capacidade tamponante do sistema, a partir da solução de duas estruturas de modelos propostas. Diante disso, são apontados os resultados dos testes cinéticos, apresentando o modelo e a estrutura que melhor se ajustou aos dados experimentais e teóricos dos ensaios de co-digestão anaeróbia e das caracterizações do conteúdo dos biodigestores no início e no final de cada conjunto experimental;

(iii) Capítulo 5: apresenta as considerações finais e sugestões para trabalhos futuros.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 RESÍDUOS AGROPECUÁRIOS

O aumento da população nos últimos anos e o desenvolvimento econômico aliado às mudanças pelas preferências alimentares tem promovido maior consumo de produtos pecuários. Desta forma, têm-se a previsão de dobrar a produção de carne de origem animal até o ano de 2050 (FAO, 2019). Além disso, o Brasil tem mostrado forte expansão no setor pecuário, sendo um dos principais propulsores, o aumento na demanda de importação de carne. Diante disso e apesar do cenário inconstante do ano de 2020, o setor agropecuário encontra-se resistente e deve apresentar ainda um crescimento moderado para os próximos períodos, mesmo que inferior ao ano de 2019 (FAO, 2020). Ainda, de acordo com Cheng et al. (2020), a carne suína tem sido uma das mais consumidas em todo o mundo. Dado que, também, se reflete no Brasil, para o qual, no segundo trimestre de 2020 foram abatidos mais de 12 milhões de cabeças de suínos, com um aumento em relação ao mesmo período do ano anterior de quase 6% (IBGE, 2020).

À vista da crescente demanda da produção de alimentos de origem animal, como a carne, a geração de resíduos e a poluição ambiental, também, tem sido impulsionadas (HU et al., 2017). Dentre os resíduos, encontram-se os dejetos de animais como os dejetos de suínos, os quais são produzidos em grande escala e podem poluir de forma direta ou indiretamente o meio ambiente (XIAO et al., 2019). Em média cada suíno produz 3,13 kg de dejetos por dia. Assim, se descartado no solo de forma incorreta, pode contaminar os lençóis freáticos e o ar (OLIVEIRA, 1993), por meio da liberação de gases de efeito estufa na atmosfera (MINATO et al., 2013).

Por outro lado, como consequência da importância econômica da prática da suinocultura no Brasil, tem-se investido em tecnologias de produção limpa para promover atividades agroindustriais sustentáveis. Isso pode ser observado, visto que a biomassa de dejetos de suínos tem alta concentração de nutrientes, além de patógenos, que podem resultar em problemas à saúde pública e ao meio ambiente. Por conseguinte, buscam-se alternativas mais adequadas para a sua reciclagem e direcionamento final (FONGARO et al., 2014). Nesse cenário, se os dejetos de suínos

forem tratados e utilizados de forma correta podem ser benéficos para a segurança ambiental e humana (XIAO et al., 2019).

Tendo em vista as altas concentrações de matéria orgânica biodegradáveis dos efluentes líquidos, estes são comumente tratados por meio de lagoas aeróbicas. Esse sistema é largamente empregado nas agroindústrias para tratamentos de efluentes, principalmente em regiões favoráveis, de climas tropicais (BAKER et al., 2020; LIMA et al., 2020). Sob outra perspectiva, com esse sistema de lagoas, compostos orgânicos importantes com grande potencial de produção de bioenergia são desperdiçados (WANG et al., 2020). No Brasil, outra aplicação potencial para os dejetos de suínos é o direcionamento para lagoas cobertas (biodigestores), para produção de biogás, seguido pela aplicação no solo como biofertilizante menos concentrado (KUNZ, 2009).

Concomitantemente, o crescimento e desenvolvimento da população no Brasil, tem contribuído para a geração de resíduos de biomassa, os quais se encontram com as mesmas problemáticas de poluição dos resíduos pecuários. Dado que sua disposição inadequada não só resulta em poluição ambiental, mas também, desperdiça recursos valiosos de seus nutrientes (WANG et al., 2016). Biomassa lignocelulósica refere-se a toda matéria produzida biologicamente, que pode pertencer a quatro grupos: produtos florestais, agrícolas, agroindustriais e domésticos (PRADHAN; 2018; RASAPOOR et al., 2020).

A produção global de biomassa lignocelulósica seca é de aproximadamente 120 bilhões de toneladas por ano (ABRAHAM et al., 2020; GUO, 2015). Diante dessa demanda, os métodos comumente empregados para a destinação de resíduos de biomassa são aterro, compostagem ou incineração. Sistemas que geram, comumente, altos custos de operação além de impactos ambientais negativos, como liberação de gases poluentes (GRESES et al., 2020).

Os resíduos lignocelulósicos encontram-se prontamente disponíveis, uma vez que sua estrutura consiste principalmente de celulose (15–99%), hemicelulose (0–85%) e lignina (0–40%) (CHANDRA, 2012). Assim, os resíduos lignocelulósicos consistem em um material com alto potencial de produção de bioenergia, visto que durante o processo a celulose e a hemicelulose podem ser facilmente degradáveis em açúcares mais simples, por comunidades microbianas, para posterior

processamento e aplicação enquanto energia renovável (ZOU et al., 2020). Desta maneira, a reciclagem e o reaproveitamento de biomassas lignocelulósicas são consideradas um passo importante na proteção ambiental, na estrutura energética e no desenvolvimento agrícola (WANG et al., 2016).

Entre as biomassas que se enquadram como provenientes de processos agroindustriais encontram-se os resíduos de processamento da mandioca. Esta, refere-se a um importante alimento básico para milhões de pessoas, sendo também, empregada como ração animal e matéria-prima industrial, para produção de farinha e obtenção de amido. A mandioca se destaca, por tratar-se de uma fonte de amido de baixo custo e de fácil extração, por apresentar baixos níveis de carboidratos solúveis, o que auxilia no processo de remoção (PARMAR et al., 2017). No entanto, durante seu processamento, altas quantidades de resíduos são geradas, os quais são frequentemente descartados, sem destino correto, causando sérios problemas ambientais (YUN et al., 2019).

O processamento industrial dos tubérculos de mandioca é feito principalmente para isolar a farinha e o amido, o que gera resíduos líquidos e sólidos. Dentre os resíduos sólidos, encontram-se a casca marrom, a casca interna, as raízes que não são utilizáveis, o bagaço e o resíduo de farinha, dentre os quais, o bagaço destaca-se em quantidade. Isso se justifica, pelos dados de que a partir do processamento de cerca de 250 a 300 toneladas de tubérculos frescos, ocorre a geração de 280 toneladas de bagaço de mandioca úmido (NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, 2009). Tratando-se de sua estrutura, o bagaço de mandioca é composto de material radicular fibroso e de relevantes quantidades de amido que fisicamente não podem ser extraídas (NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, 2009).

O acúmulo de resíduos orgânicos tem avançado a níveis elevados em âmbito mundial. Posto isso, o seu gerenciamento de forma inadequada, aliado ao uso desenfreado de recursos naturais limitados, torna fundamental a adoção de tecnologias sustentáveis para manter um equilíbrio geral no ecossistema (KHALID et al., 2011). Além disso, a demanda de energia tem aumentado significativamente nos últimos períodos, o que remete a transições e possibilidades nos mercados globais de energia (WEIDE et al., 2020).

## 2.2 GERAÇÃO DE ENERGIA RENOVÁVEL

Em resposta às circunstâncias excepcionais decorrentes destes últimos períodos, as energias renováveis foram a única fonte à nível mundial que apresentou crescimento, impulsionada pela maior capacidade e prioridade de produção de bioenergia (IEA, 2020). Dado que, em 2019 já se previa que o calor gerado a partir de energia renovável deveria expandir em torno de um quinto até o ano de 2024. Por outro lado, o consumo de calor gerado a partir de fontes renováveis deve apresentar um crescimento moderado de 10 para 12% no mesmo período. Dado que remete ao fato de que o potencial de uso de bioenergia continua sendo subexplorado e deve ser mais fortemente aproveitado, principalmente no Brasil (IEA, 2019).

Para incentivar a produção de energias renováveis, no Brasil, foi instituída a Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio) pela Lei nº 13.576/2017, com a finalidade de promover descarbonização gradual da matriz energética no país, por meio da redução de emissões de gases de efeito estufa, na produção, comercialização e uso de combustíveis renováveis. Este programa tem sido desenvolvido com base no acordo de Paris em 2015, que estabeleceu metas para mitigar a liberação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) na atmosfera, proveniente do uso de combustíveis fósseis, limitando os efeitos do aquecimento global. Dado que o Brasil se comprometeu a reduzir suas emissões de gases de efeito estufa para 37% até 2025 e para 43% até 2030 (GRASSI; PEREIRA, 2019).

Em continuidade, tendo em vista essa maior consciência e comprometimento em relação a necessidade de proteção ambiental, tem-se dado importância no uso de recursos renováveis a fim de reduzir a dependência de energia fóssil (CHEN et al., 2017). Assim, os biocombustíveis de segunda geração têm expandido potencialmente a partir de fontes de biomassa não alimentar, como resíduos de biomassa lignocelulósica. Tais resíduos são provenientes principalmente de atividades agroindustriais, incluindo resíduos de culturas e plantas, além de frutas e vegetais, gramas, florestas e resíduos pecuários (PAUDEL et al., 2017). Dos muitos biocombustíveis que podem ser gerados a partir dessas matérias-primas destaca-se o biogás, o qual é proveniente do processo de digestão anaeróbia (DA). O biogás tem sido reconhecido como a fonte renovável de energia mais econômica e ambientalmente adequada (CHANDRA et al., 2012).



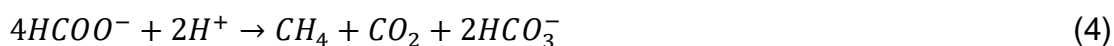
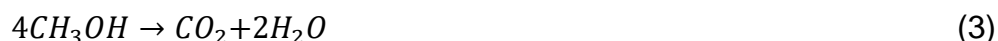
Desta forma, o emprego de fontes alternativas de energia a partir de resíduos agropecuários, como dejetos de animais e materiais lignocelulósicos, possuem alto potencial energético. Posto que, tratam-se de fontes valiosas de nutrientes, de alta disponibilidade e que, também, necessitam de um direcionamento final (ISIKGOR; BECER, 2015). Nesse contexto, em relação as tecnologias de transformação de resíduos agropecuários, destacam-se os sistemas de digestão anaeróbia (DA), que produzem metano com possibilidade de aplicação enquanto bioenergia (GUTIÉRREZ et al., 2020). A DA vem se destacando mundialmente, sendo considerada uma biotecnologia ideal em muitos aspectos por causa de seus benefícios econômicos e ambientais (CHANDRA et al., 2012).

### 2.3 BIOTECNOLOGIA DE DESTINAÇÃO DE RESÍDUOS: DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia tem sido descrita como um processo bioquímico de estabilização de resíduos e sustentável para geração de bioenergia (FARGHALI et al., 2020; SIDDIQUE; WAHID, 2018). A DA refere-se a uma biotecnologia versátil, que além de promover a conversão de matéria orgânica em biogás, permite auxiliar no tratamento e redirecionamento de uma ampla gama de resíduos. Além disso, possibilita a redução da emissão de gases de efeito estufa e controle de odores (NESHAT et al., 2017).

De forma conceitual, a digestão anaeróbia fundamenta-se em um processo biológico de vários estágios, em que ocorre a conversão de substrato orgânico em biogás por microrganismos, na ausência de oxigênio. O processo de DA é ordenado por quatro etapas, iniciando pela hidrólise, seguido da acidogênese, acetogênese e metanogênese, as quais são representadas pelas Equações 1 a 5. Na primeira etapa, ocorre a decomposição das substâncias orgânicas mais complexas, como lipídios, carboidratos, polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos em monômeros que podem ser diretamente utilizados pelas bactérias. Subsequentemente, a acidogênese é a etapa em que as bactérias são responsáveis pela conversão dos monômeros em ácidos graxos voláteis e materiais celulares. Já na terceira etapa, os microrganismos acetogênicos metabolizam os produtos hidrolíticos, em ácido acético. Por fim, os produtos resultantes dos microrganismos acetogênicos, são

transformados pelos microrganismos metanogênicos em metano (KAINTHOLA et al., 2019; LI et al., 2019).



O biogás, como energia renovável, é constituído durante seu processamento, por 50 a 75% de metano (CH<sub>4</sub>) e de 25 e 50% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (KAINTHOLA; KALAMDHAD; GOUD, 2019). Desta forma, o principal componente do biogás é o CH<sub>4</sub>, seguido de CO<sub>2</sub>, podendo conter ainda quantidades residuais de outros gases. Enquanto aplicação, o biogás pode ser empregado para aquecimento, geração de energia, combustível para veículos, podendo ser distribuído por meio de uma rede de gás natural (AZIZ; HANAFIAH, 2020). Durante a conversão de substratos orgânicos em biogás são gerados, também, subprodutos ricos em nutrientes vegetais – digerido. Este subproduto não é concentrado, mas é muito valioso porque contém os nutrientes essenciais (como N, P e K) da planta, de modo que a biomassa residual possa ser utilizada como fertilizante orgânico mais seguro para aplicação na agricultura (RISBERG et al., 2017; SLEPETIENE et al., 2020).

Em relação a produção de metano, seu processo é afetado por vários parâmetros operacionais como temperatura, pH, relação Carbono e Nitrogênio (C/N), alcalinidade, taxa de carga orgânica, tempo de retenção hidráulica e concentração de ácidos graxos voláteis (KAINTHOLA et al., 2019). Com referência ao pH, este deve ser mantido em um intervalo ótimo entre 6,5 e 7,5, para uma condição mais estável (YE et al., 2013). Para a temperatura, estudos de DA, tem operado principalmente em condições mesofílicas, em torno de 37 °C (HUANG et al., 2019; NING et al., 2019). Tratando-se da relação C/N, esta é muito importante para facilitar a conversão dos substratos em metano, a qual deve encontrar-se entre 20 e 30 (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012).

Além dos parâmetros recomendados para um bom desempenho no sistema de DA, deve-se implementar, também, um substrato adequado. Para a determinação do melhor substrato orgânico a ser empregado no processo de DA, deve-se avaliar o potencial de produção de metano e sua biodegradabilidade. Labatut et al. (2011), avaliaram esse potencial, por meio de 175 ensaios individuais de mono e co-digestão anaeróbia, empregando diferentes substratos. Posto isso, averiguaram que os substratos ricos em lipídios e carboidratos são mais facilmente degradáveis e apresentam maior potencial de produção de metano, em oposição ao que ocorre com os que contêm altas frações de lignina. Essa situação, também, foi investigada por Li et al. (2013), os quais, empregando o mesmo método, constataram que as matérias-primas que continham substratos facilmente degradáveis exibiam alto potencial de produção de metano e maior biodegradabilidade. Além disso, a biomassa lignocelulósica com alto teor de composições fibrosas, de lignina  $\pm$  15% de sólidos totais (TS), apresentou baixo rendimento de metano e menor biodegradabilidade. Desta maneira, torna-se importante verificar a composição das biomassas a serem empregadas, uma vez que podem conter teores que alteram-se em média, de 35 a 50% de celulose, 20 a 35% de hemicelulose e 10 a 25% de lignina (ZHOU et al., 2011).

Nesse sentido, o emprego de culturas energéticas, como biomassas lignocelulósicas, também, tem sido reportada. Contudo, referem-se a substratos ricos em carboidratos, mas pobres em nitrogênio, resultando em rendimentos significativamente baixos de metano (YE et al., 2013). Por outro lado, a aplicação de dejetos de animais na biodigestão tem se destacado como uma solução sustentável, principalmente por já conter os microrganismos necessários para a DA. O emprego desses resíduos auxilia na mitigação da poluição ambiental, além da reciclagem de nutrientes e produção de energia (ARTHURSON, 2009; LI et al., 2020). Entre os dejetos de animais, encontram-se os dejetos de suínos os quais possuem alto teor de matéria orgânica, umidade, grande variedade de nutrientes e alta capacidade tamponante, o que o torna um substrato bastante adequado para a digestão anaeróbia (LI et al., 2015; YU et al., 2020).

Sob outra perspectiva, a mono-digestão de dejetos de animais, não é totalmente produtiva, dado que pode ocasionar instabilidade do digestor em função

da toxicidade da amônia a partir da rápida degradação do nitrogênio orgânico (ABOUELENIEN et al., 2014). Desse modo, torna-se vantajoso o emprego de substratos em conjunto para unir e equilibrar os nutrientes de cada substrato e melhorar a relação C/N (YE et al., 2013). Assim, o emprego da co-digestão anaeróbia (Co-DA) com resíduos de animais, como fontes de nitrogênio e biomassas lignocelulósicas ricas em carboidratos, remetem a uma manutenção adequada de nutrientes para uma ótima relação C/N e conseqüentemente a promoção de altos rendimentos de metano (SAWATDEENARUNAT et al., 2015).

### 2.3.1 Influência do parâmetro operacional pH

O pH operacional tem alta influência dentro de um processo de digestão anaeróbia, afetando a taxa de crescimento dos microrganismos e os produtos. Em relação aos microrganismos, tem se observado que a espécie dominante em pH 6, é a população *Clostridium butyricum*, enquanto em pH 8, a espécie que mais prevalece é a *Propionibacterium*. Além disso, tem sido relatado, que a atividade dos metanogênicos é bastante reduzida em condições mais alcalinas ou mais ácidas. Já para a etapa da acidogênese, o pH ótimo encontra-se entre 5,5 e 6,5. Desta maneira, em processos de DA, o ideal é realizar a etapa da hidrólise e acidificação, separada da acetogênese e da metanogênese, de modo a englobar em cada reator, as condições particulares de cada microrganismo (MAO et al., 2015).

Em continuidade, as bactérias metanogênicas, responsáveis pela produção de metano, são as mais sensíveis a variações de pH. Desta forma, é importante manter o pH do sistema em até 8,0, para criar uma boa capacidade no reator. Ainda, se o pH atingir limites inferiores a 6,5, podem ocorrer sérios problemas de estabilidade química no reator. De maneira geral, o pH tem um efeito significativo sobre todos os microrganismos no sistema de DA, sendo mais evidente no início do processo, uma vez que as bactérias produtoras de metano são mais rapidamente afetadas do que outras bactérias (KAMYAB; ZILOUEI, 2021).

Em relação ao aumento do pH em um processo de DA, este pode estar relacionado ao aumento da amônia, produto da degradação de orgânicos nitrogenados durante a digestão anaeróbia (CHEN et al., 2015). A amônia se torna tóxica para os microrganismos quando é visualizado um aumento no pH acima de 7,0 (WARD et al., 2008).

Já a redução no pH durante o processo de digestão anaeróbia ocorre pela alta presença de carboidratos fornecidos pelos substratos, os quais são abundantemente degradados pelos microrganismos de polissacarídeos para monômeros. Seguidamente, o piruvato é oxidado a acetil-CoA para formar ácidos graxos voláteis. Desta maneira, o pH pode ser rapidamente reduzido pela grande demanda de produção desses compostos (MAZARELI et al., 2016). A redução do pH em um sistema de DA está diretamente relacionada com a capacidade de tamponamento do sistema, o qual refere-se a um indicador de desequilíbrio do processo. De maneira geral, a capacidade de tamponamento diminui repentinamente com o acúmulo de ácidos graxos voláteis os quais acarretam na queda do pH. A capacidade de tamponamento está relacionada pela alcalinidade do sistema e pode ser medida, também, pela quantidade de íons bicarbonatos. Quando o sistema tem uma capacidade de tamponamento muito baixo ocorre uma desestabilização a qual pode promover um colapso na produção de metano (KAINTHOLA et al., 2019).

Como medida preventiva para a variação do pH no processo de digestão anaeróbia, pode-se utilizar soluções tamponantes que controlam a alcalinidade do sistema (CREMONEZ et al., 2020). Yang et al. (2015) por meio da digestão anaeróbia de resíduos alimentares, avaliaram a influência do ajuste do pH na geração de biogás. Os resultados apontaram, que o grupo com controle de pH igual a 8, atingiu valor máximo de rendimento cumulativo de biogás de 322,0 mL/ g ST, sendo superior ao encontrado com o grupo sem controle do pH. Desta maneira, validou-se que a realização de ajustes no pH, com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH 2 mol/L), durante a DA pode colaborar para o sistema utilizar melhor os ácidos orgânicos e assim, aumentar a produção de biogás.

Ye et al. (2013) no estudo da Co-DA de palha de arroz, resíduos domésticos e dejetos de suínos, adicionaram as soluções tamponantes  $\text{NaHCO}_3$  e NaOH aos reatores quando ocorreu redução na produção de biogás, até um pH neutro, em torno de 7. Assim, a produção de biogás aumentou gradualmente e permaneceu estável. Diante disso, validaram que pH ótimo para a DA fica dentro da faixa de pH mais neutro, entre 6,8 a 7,5, o que, também, foi afirmado por Panigrahi e Dubey (2019), pois auxilia na redução dos efeitos inibitórios provocados pelo aumento das concentrações de ácido graxos voláteis, que reduzem o pH do sistema. Já Cheng et

al. (2020), empregaram a solução tamponante de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) para controlar a alcalinidade do sistema e verificaram uma produção crescente e positiva de metano.

#### 2.4 CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é uma realidade comercial no direcionamento de vários tipos de resíduos. Contudo, a DA de substratos individuais, pode-se apresentar em desvantagem em função dos nutrientes únicos e limitados de cada substrato. Diante desse contexto, a co-digestão anaeróbia, a qual trata-se do processo de digestão de dois ou mais substratos, é uma opção promissora e viável para unir nutrientes e assim melhorar o desempenho da produção de metano (MATA-ALVAREZ et al., 2014). A Co-DA, é considerada um método pragmático empregado para resolver as dificuldades relacionadas às propriedades dos substratos e para otimização do sistema (SIDDIQUE; WAHID, 2018).

Em relação aos cosubstratos de materiais lignocelulósicos empregados na Co-DA, pode-se salientar que os mesmos proporcionam uma mistura versátil, podendo otimizar o processo para cada fração de material empregado, maximizando a produção de metano e degradação de sólidos voláteis. Em continuidade, as biomassas lignocelulósicas predispõem de uma relação C/N superior a 50, as quais podem ser equilibradas em um sistema anaeróbio fornecendo nutrientes necessários a substratos com maior teor de nitrogênio (ZOU et al., 2018). Desta maneira, sua aplicação em processo de Co-DA encontra-se em constante crescimento, principalmente em decorrência de uma grande disponibilidade de material residual agroindustrial (PERIN et al., 2020).

Entre as biomassas lignocelulósicas regionais provenientes de processos agroindustriais, encontra-se o bagaço de mandioca (BM), o qual trata-se de um subproduto importante produzido durante o processamento de farinha de mandioca (PANICHNUMSIN et al., 2010). Tratando-se da caracterização do bagaço de mandioca, este pode conter umidade que varia de 60 a 70% e teor de amido e cerca de 40 a 70% (base seca). As composições dos resíduos agroindustriais são, por sua vez, influenciadas pela variedade e fatores ambientais. Além disso, esse subproduto da mandioca pode ser empregado para alimentação animal, mas além de carboidratos não possui muitos nutrientes, sendo desta forma, destinado

principalmente para aterros, gerando poluição ambiental. Nesse cenário, a aplicação do BM como substrato alternativo em bioprocessos, auxilia no seu beneficiamento e mitigação de possíveis problemas ambientais (NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, 2009).

Em referência aos substratos de dejetos de suínos, apesar de suas enumeradas vantagens, sua aplicação individual para produção de biogás não é completamente explorada. Para satisfazer as necessidades de digestão anaeróbia e para compensar a deficiência de carbono nos dejetos, deve haver outro substrato rico em carbono a ser co-digerido para melhorar suas características de digestão anaeróbia - resíduos de biomassa lignocelulósica parecem promissores para esse propósito (NESHAT et al., 2017).

A co-digestão de resíduos lignocelulósicos, como os de mandioca com dejetos de suínos já foi relatada em condições particulares de operação, como uma maneira eficaz de melhorar o equilíbrio de nutrientes e assim, aumentar o rendimento específico de metano. Um estudo de Co-DA com borra de mandioca e DS, mas operando em sistema bifásico, indicou viabilidade para produção de metano (REN et al., 2014). Outro estudo de Co-DA de polpa de mandioca e DS foi relatado com sucesso, indicando que não houve inibição de cianeto no sistema (GLANPRACHA; ANNACHHATRE, 2016). Ainda, um trabalho em que operou similarmente, adicionando os substratos de polpa de mandioca e dejetos de suínos, de forma semi-contínua no reator de tanque agitado (CSTR), demonstrou um aumento na produção de metano (PANICHNUMSIN et al., 2010). Esses trabalhos e outros estudos, que desenvolveram a Co-DA de dejetos de suínos em conjunto com diferentes cosubstratos, encontram-se expressos pela Tabela 1, a qual apresenta uma comparação entre os resultados de produção de metano da Co-DA e da Mono-DA de DS.

No estudo de Li et al. (2018b), conforme apresentado pela Tabela 1, a produção de metano de dejetos de suínos com polpa de maçã (POM) apresentou um rendimento de 102,1 mL CH<sub>4</sub>/g SV, sendo superior ao rendimento relatado para a Mono-DA de DS, com 87,0 mL CH<sub>4</sub>/g SV. Foi relatado no trabalho de Co-DA de Shen et al. (2019), com dejetos de suínos em conjunto com outra biomassa, de casca de durião (CD), que a produção de metano de DS com CD,

melhorou significativamente em comparação com a mono-digestão de dejetos de suínos. Esse cenário, também, foi apresentado por Wei et al. (2014), na Co-DA de dejetos de suínos simultaneamente com palha de cevada (PC). Diante disso, foi possível avaliar que a Co-DA se sobressaiu à mono-digestão de DS em aproximadamente 41,2%. Dado que, a digestão anaeróbia de DS e PC apresentou rendimento de produção de metano de 152,3 mL CH<sub>4</sub>/g SV, e a Mono-DA de DS de cerca de 89,6 L mL CH<sub>4</sub>/g SV.

Tabela 1 – Estudos de co-digestão anaeróbia empregando dejetos de suínos em conjunto com outros cosubstratos.

Cosubstrato	Modo de operação reator/ Temperatura/ volume	Produção de metano (mL CH <sub>4</sub> /g SV) – Composição		Ref.
		Mono-DA	Co-DA	
Resíduos de beterraba sacarina (RBS)	Batelada/ 35 ± 0,5 °C/ 2L	447,1	560,1 (DS:RBS de 50:50)	Aboudi et al. (2016)
Polpa de mandioca (PMA)	Semi-contínuo/ 37° C/ 7 L	-	380,0 (DS:PMA de 77:23)	Glanpracha; annachhatre (2016)
Resíduos de alimentos (RA)	Batelada/ 37°C/ 1 L	161,0	263,0 (DS:RA de 50:50)	Jiang et al. (2018)
Polpa de maçã (POM)	Batelada/ 37 °C/ 0,25 L	87,0	102,1 (DS: POM de 4:1)	Li et al. (2018b)
Polpa de mandioca (PMA)	Semi-contínuo/ 37 °C/ 3 L	217,0	306,0 (DS:PMA de 40:60)	Panichnumsin et al. (2010)
Casca de durião (CD)	Batelada/ 37 °C/ 0,5 L	206,9	224,8 (DS:CD de 1:1)	Shen et al. (2019)
Caule de milho (CM)	Batelada / 35 ± 1 °C / 4 L	239,0	256,6 (DS:CM de 3:7)	WANG et al. (2017)
Palha de cevada (PC)	Batelada/ 35 °C/ 0,52 L	89,6	152,3 (DS:PC de 1:1)	Wei et al. (2014)



Ainda, no estudo de Wang et al. (2017), com caule de milho (CM), foi observada uma produção de metano de 256,6 e 239,0 mL CH<sub>4</sub>/g SV, na digestão anaeróbia de DS e CM, e apenas DS, respectivamente. Em outras condições de operação, Aboudi et al. (2016), avaliaram a co-digestão de DS, mas desta vez em conjunto com resíduos de beterraba sacarina (RBS). Posto isso, verificaram que foi possível uma Co-DA na proporção de 50:50 de DS:RBS com uma produção de 560,1 mL CH<sub>4</sub>/g SV, o que remeteu a um aproveitamento de 25,5% em relação ao processo empregando apenas DS (447,1 mL CH<sub>4</sub>/g SV).

De maneira geral, a associação de cosubstratos na digestão anaeróbia de dejetos de suínos tem contribuído positivamente para a produção de metano em comparação com os resultados apresentados para a Mono-DA. Ainda, de forma específica, o aproveitamento simultâneo de DS com bagaço de mandioca enquanto cosubstrato, na co-digestão anaeróbia pode contribuir como um processo promissor para geração de energia, em função das propriedades do DS e do BM, além de auxiliar em sua destinação final.

## 2.5 MODELAGEM MATEMÁTICA

A aplicação de modelos matemáticos tem se tornado uma atividade complementar usual em ensaios e projetos de digestores anaeróbios, para controle, previsão e monitoramento do processo (HAGOS et al., 2017). As equações matemáticas têm uma elevada capacidade de reproduzir um comportamento empírico e simular os processos físicos, químicos e biológicos por meio de um resultado gráfico ou numérico de forma clara e quantificável (ASTALS et al., 2011; GALÍ et al., 2009). Além disso, um modelo adequado com capacidade de previsão é considerado aquele que tem a possibilidade de cobrir uma ampla gama de valores de entrada e simular uma variação nos parâmetros operacionais críticos (CHANDRA et al., 2019). Desta forma, deve ser exposto que a modelagem em sistemas de Co-DA é necessária para prever, de forma confiável, o efeito da mistura de dois ou mais substratos em um biodigestor e degradar os impactos negativos da mistura com base em decisões aleatórias ou heurísticas (MATA-ALVAREZ et al., 2011, 2014). A heterogeneidade das condições físico-químicas e reações que se desenvolvem em reatores de co-digestão anaeróbia, torna complexo, para a pesquisa compreender os intrincados detalhes do modelo. Posto isso, deve-se testar e implementar o

modelo que melhor descreve os seus dados (KAINTHOLA et al., 2019).

Entre os modelos matemáticos normalmente empregados para Co-DA encontram-se os modelos cinéticos básicos, que apresentam como vantagens a facilidade de implementação e identificação da taxa de hidrólise. Os modelos de cinética de DA são baseados no crescimento microbiano e nas taxas de consumo de substrato que dependem de uma concentração de substrato limitante de crescimento. Desse modo, expressões para inibição e decaimento celular, também, podem ser incluídas nessas equações matemáticas (XIE et al., 2016).

A digestão anaeróbia tem sido frequentemente descrita com o modelo básico de primeira ordem (PEČAR et al., 2020). O modelo de primeira ordem é estabelecido com a suposição de que a hidrólise é o passo limitante da taxa de reação na DA e tem sido amplamente aplicado para avaliar a produção cumulativa de metano de diversos substratos (DENNEHY et al., 2016). O desempenho da digestão anaeróbia de palha de milho foi bem ajustada pela equação de primeira ordem (XU et al., 2019). Em outro estudo, a modelagem cinética foi aplicada com os modelos de primeira ordem modificada e ao modelo Monod para determinar a taxa de hidrólise e metanogênese para a co-digestão (LEE et al., 2017). Já no estudo de (NEUMANN et al., 2015) foram determinados os parâmetros cinéticos para o modelo de primeira ordem avaliando diferentes proporções dos cosubstratos.

De maneira geral, a modelagem matemática tem sido empregada para prever e compreender como o processo funciona em diferentes condições operacionais. Na digestão anaeróbia, a análise cinética quantifica o impacto da mudança de variáveis como pH, sólidos totais e adição de cosubstrato no rendimento de produção de biogás (DEEPANRAJ et al., 2015). Para avaliar o efeito do parâmetro operacional pH na digestão anaeróbia de efluente sólido, Manjusha e Beevi (2016) realizaram uma modelagem matemática empregando o modelo nº 1 (ADM1) no software Matlab. Com a mesma intuição de avaliar a influência do pH na capacidade tamponante do sistema em relação aos substratos empregados, propõe-se para este trabalho de forma inovadora, a modelagem cinética por meio de duas estruturas, que foram desenvolvidas de forma mais simplificada com base no modelo proeminente ADM1. As estruturas de modelos 1 e 2, foram propostas para solucionar três modelos matemáticos de taxa de crescimento específico, levando em

consideração a hipótese da capacidade tamponante sendo linear ou independente da concentração do cosubstrato.

### **3 RESULTADOS - PARTE I: PRODUÇÃO DE METANO A PARTIR DA CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE DEJETOS DE SUÍNOS E BAGAÇO DE MANDIOCA: TESTES PRELIMINARES**

#### **3.1 RESUMO**

Dejetos de suínos (DS) e bagaço de mandioca (BM) são resíduos importantes da agroindústria regional, de alta demanda e impacto ambiental, mas que podem ser beneficiados na co-digestão anaeróbia (Co-DA), para produção de bioenergia além de auxiliar no seu direcionamento final. Métodos aplicáveis de Co-DA de DS com BM, tem sido pouco relatados. Diante disso, este estudo preliminar teve como objetivo avaliar a co-digestão anaeróbia de DS e BM como substratos para produção de metano. Foram realizados experimentos em batelada a 37 °C, variando-se a concentração, em relação a adição de sólidos totais (ST), do cosubstrato BM (15, 30, 45 e 60 g/L). Os resultados apontaram que a adição de bagaço de mandioca proporcionou um ambiente muito ácido, o que provocou certa inibição na produção de metano. Isso foi observado, uma vez que apenas o reator contendo 15 g/L de ST (R15) conseguiu se sobressair em relação ao Controle (grupo contendo apenas DS) ao final dos experimentos. No entanto, a produção cumulativa de metano não diferiu do controle ( $p < 0,05$ ) com resultado de  $19275 \pm 3187,7$  mL CH<sub>4</sub>/L reator (reator R15), para  $16072 \pm 201,78$  mL CH<sub>4</sub>/L reator (reator Controle). Desta forma, pode-se averiguar que foi possível produzir metano a partir da Co-DA de DS com BM, mas que possivelmente em função da alta demanda de carga orgânica disponível do cosubstrato, ocorreu um desequilíbrio no processo, pela rápida produção de ácidos graxos voláteis, os quais reduziram o pH logo no início do processo e impediram melhores desempenhos de produção de metano. Tendo em vista os resultados desse trabalho, foi proposto a adição de uma solução tamponante para controlar o pH do sistema de Co-DA dos próximos estudos.

Palavras-chave: Co-digestão anaeróbia. Dejetos de suínos. Bagaço de mandioca. Metano.

#### **3.2 INTRODUÇÃO**

A produção de biocombustíveis foi introduzida a partir do aproveitamento de produtos e resíduos industriais e agrícolas, para gerar energia. Assim, em virtude da sustentabilidade e flexibilidade de matéria-prima, alta biodegradabilidade, diminuição de emissões de gases de efeito estufa, menor toxicidade e questões socioeconômicas relacionadas, o uso dos biocombustíveis se sobressaem em relação aos combustíveis fósseis (MOMAYEZ et al., 2019).

Em relação às tecnologias de produção de energia renovável, a digestão anaeróbia (DA) destaca-se por tratar-se de um processo promissor de tratamento e de destinação de resíduos de biomassa, por meio da degradação e estabilização da matéria orgânica complexa por um consórcio de microrganismos (RAPOSO et al., 2012).

A DA, fundamenta-se em um processo biológico de vários estágios, em que ocorre a conversão de substrato orgânico em biogás [mistura gasosa composta principalmente por metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ )] por microrganismos, na ausência de oxigênio. O processo de DA é ordenado por quatro etapas, iniciando pela hidrólise, seguida da acidogênese, acetogênese e metanogênese. Na primeira etapa, ocorre a decomposição das substâncias orgânicas mais complexas, como lipídios, carboidratos, polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos em monômeros que podem ser diretamente utilizados pelas bactérias. Seguidamente, a acidogênese é a etapa em que as bactérias são responsáveis pela conversão dos monômeros em ácidos graxos voláteis e materiais celulares. Já na terceira etapa, os acetogênicos metabolizam os produtos hidrolíticos, em ácido acético. Por fim, os produtos resultantes dos acetogênicos, são transformados pelos metanogênicos em metano (KAINTHOLA et al., 2019; LI et al., 2019).

Enquanto aplicação, o biogás pode ser utilizado para obtenção de vetores energéticos, por meio da queima do metano, podendo ser empregado na geração de calor, energia elétrica e energia para transporte. Além do ganho econômico relacionado a aplicação energética, ao final do processo de DA, o efluente resultante pode ser destinado como biofertilizante mais seguro para a agricultura (AZIZ; HANAFIAH, 2020).

A produção de metano a partir de uma alta variedade de resíduos por meio do processo de DA vem se destacando mundialmente, sendo considerada uma

tecnologia ideal em muitos aspectos por causa de seus benefícios econômicos e ambientais (CHANDRA et al., 2012). No entanto, em razão de características específicas e particulares dos diferentes tipos de resíduos empregados como substratos, muitas vezes, torna-se ineficiente o processo de conversão de bioenergia pela falta de nutrientes (MA et al., 2018). Nesse contexto, o processo de co-digestão anaeróbia (Co-DA), que emprega dois ou mais substratos simultaneamente, promove uma oportunidade para superar a baixa biodegradabilidade e aumentar a taxa de carga orgânica, fornecendo alcalinidade, macro e micronutrientes aos microrganismos do processo (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019).

Altas demandas de resíduos agroindustriais como os de mandioca, são muitas vezes, produzidos e negligenciados, causando contaminação das águas, do solo e poluição odorífera. As fábricas de fécula de mandioca, geralmente produzem amido destinado a alimentação humana e para outros ramos industriais, como os de papel e têxteis. Tendo em vista, que para cada 100 kg de amido produzido, são gerados 11,1 kg de resíduo de mandioca (CHAVADEJ et al., 2019), necessita-se de um processo que destine de maneira adequada e sustentável esses compostos remanescentes. Diante disso, tem sido relatado a aplicação de resíduos agroindustriais em processos de digestão anaeróbia, para produção de bioenergia, como o biogás. No entanto, o uso direto de biomassas como o resíduo de bagaço de mandioca (BM) em um biodigestor, inviabiliza o processo por tratar-se de um substrato de baixa digestibilidade. Em contrapartida, o BM pode contribuir de forma mais eficaz quando empregado como cosubstrato, em um processo de Co-DA, em conjunto com outra fonte de biomassa, rica em nutrientes necessários para um importante crescimento microbiano (CHAVADEJ et al., 2019).

Com papel de substrato e inóculo, os dejetos de suínos (DS) são comumente empregados na Co-DA. Isso tem sido visualizado, uma vez que por serem ricos em nitrogênio, os DS podem contribuir de forma positiva, com um alto nível de nitrogênio amoniacal em um digestor anaeróbio. Todavia, concentrações muito altas desse composto podem elevar o pH acima de 8,0 e assim inibir o processo. Por outro lado, se empregado na DA, em conjunto com outra biomassa, o DS fornece uma alta capacidade de tamponamento, o que auxilia no

equilíbrio do pH e assim, proporciona um ambiente estável para melhorar o desempenho da produção de metano (TIAN et al., 2015).

Diante disso, este trabalho teve como finalidade principal avaliar a produção de metano, por meio do processo de Co-DA, empregando dejetos de suínos como inóculo/substrato principal e bagaço de mandioca, enquanto cosubstrato.

### 3.3 METODOLOGIA

#### 3.3.1 Inóculo e cosubstrato

Como inóculo, foram coletados dejetos frescos de suíno (DS) em uma fazenda de suinocultura (área rural do município de Cerro Largo, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil), os quais foram diretamente utilizados para os experimentos anaeróbicos. Já como cosubstrato, foi utilizado bagaço de mandioca (BM), o qual foi fornecido por uma agroindústria de polvilho azedo (área rural do município de Salvador das Missões, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil). O BM foi armazenado a 4°C e como preparo para os procedimentos experimentais, foi seco a 105 °C e moído. Já os DS foram homogeneizados manualmente e diluídos em água destilada (1:2). Os substratos de bagaço de mandioca e dejetos de suínos, empregados neste trabalho, podem ser visualizados na Figura 1 (a) e (b), respectivamente.



Figura 1 – Substratos empregados na co-digestão anaeróbia. (a) Bagaço de mandioca *in natura*; (b) Esterqueira onde foram coletados os dejetos de suínos.

#### 3.3.2 Co-digestão anaeróbia e produção de metano

A Co-DA foi conduzida em erlenmeyers de 500 mL, denominados como biodigestores, com volume fixo de solução referente ao inóculo, de 200 mL de DS já diluído em água destilada (1:2). Os reatores foram separados em cinco grupos experimentais, iniciando pelo grupo denominado como C0 (Controle; apenas DS diluído). Os demais grupos foram nomeados como R15, R30, R45 e R60, nos quais haviam contribuições de 15, 30, 45 e 60 g/L de sólidos totais de BM, respectivamente. Cada grupo experimental foi conduzido em triplicata.

O aparato experimental foi montado conforme apresentado na Figura 2 (a) e (b). No interior da estufa bacteriológica (AL 101/150, AmericanLab, Brasil), a qual permaneceu em temperatura controlada de  $37 \pm 0,1$  °C, como pode ser visualizado pela Figura 2 (a), os biodigestores foram selados com rolhas de borracha, para proporcionar um ambiente anaeróbio. Ainda, foram inseridas, por meio das rolhas, agulhas hipodérmicas para permitir a saída do gás, e válvulas, que foram conectadas a cada agulha para controlar a pressão dentro dos digestores.

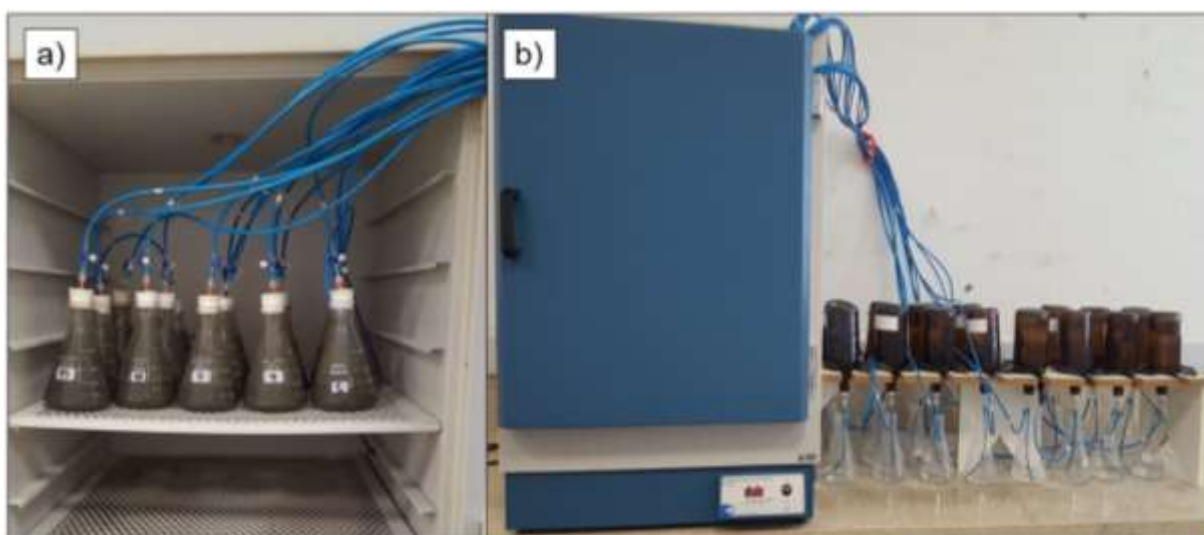


Figura 2 – Configuração experimental utilizada para produção de biogás. (a) Disposição dos reatores anaeróbios no interior da estufa; (b) Visão geral do sistema de lavagem de biogás e medição do metano produzido.

Em relação à saída do gás, as agulhas foram conduzidas para frascos de vidro invertidos, os quais foram acondicionados fora da estufa, conforme ilustra a Figura 2 (b), contendo uma solução alcalina (NaOH 2M) para absorver o CO<sub>2</sub> produzido. Desta maneira, o gás referente ao CH<sub>4</sub>, proporciona o deslocamento



dessa solução alcalina para os vasos coletores, sendo possível determinar o volume de CH<sub>4</sub>, de forma direta. Essa determinação foi realizada a partir da mensuração da massa de NaOH deslocada, em condições ambientes, de aproximadamente 25 ± 1 °C, em pressão similar à atmosférica. Técnicas semelhantes de deslocamento de água para medição de produção de CH<sub>4</sub>, por meio da absorção de CO<sub>2</sub> em soluções alcalinas, também, foram abordadas em outros trabalhos (BEDOIC et al., 2019; LEE et al., 2017; SCHOMMER et al., 2020; WICKHAM et al., 2016).

A Equação (1) indica como foi calculado o volume de produção de metano ( $V_{CH_4}$ ), dado em (mL CH<sub>4</sub>).

$$V_{CH_4}(mL) = \frac{m_{total} - m_{vazio}}{\rho_{NaOH}} \quad (1)$$

Onde:  $m_{total}$  é a massa do frasco cheio;  $m_{vazio}$  é a massa do frasco vazio; e  $\rho_{NaOH}$  é a massa específica da solução de NaOH 2 M. Os resultados de volume de produção de metano foram apresentados em mL CH<sub>4</sub>/L de volume reacional (0,2 L).

A massa dos frascos contendo a solução de NaOH foi aferida periodicamente durante os primeiros dias e após com espaçamento entre as medições, conforme verificação da produção de metano. A cada medição os reatores eram agitados manualmente, para a homogeneização de seu conteúdo. A Co-DA foi acompanhada durante um período de aproximadamente 91 dias, momento em que foi possível verificar a estabilização do processo.

### 3.3.3 Parâmetros físico-químicos

O inóculo (DS) e o cosubstrato (BM), foram avaliados anteriormente à Co-DA, quanto a Sólidos totais (ST), Sólidos voláteis (SV), Demanda química de oxigênio (DQO), Demanda química de oxigênio solúvel (DQOS), Nitrogênio total (NTK), pelo método de Kjeldahl e Nitrogênio amoniacal total (NAT), de acordo com os métodos padrão (APHA, 2005), além da verificação do pH por meio de pHmetro digital. Ainda, no final dos experimentos de Co-DA o conteúdo dos digestores, também, foi avaliado, quanto à ST, SV, DQO, DQOS, NTK, NAT e pH.

### 3.3.4 Análise estatística

Para todas as análises, os grupos experimentais e os brancos foram realizados em triplicata. Ainda, a análise de variância (ANOVA, one-way) seguida do Teste de Tukey Post-Hoc, foram empregados utilizando o Software R, para determinar as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

## 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.4.1 Caracterização do inóculo e cosubstrato

As características do inóculo/substrato (dejetos de suínos) e do cosubstrato (bagaço de mandioca) empregados neste ensaio preliminar, são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos dos substratos empregados no processo de Co-DA.

Substratos	ST	SV	DQO	DQOS	NTK	NAT	pH
DS	39,73	28,79	38,22 (g	5,00 (g	2,12	0,89	7,21 ±
	(g/L)	(g/L)	O <sub>2</sub> /L)	O <sub>2</sub> /L)	(g/L)	(g/L)	0,08
BM	16,75 ±	98,21 ±	1,32 ±	0,06 ±	1,56 ±	0,17 ±	-
	0,06	0,11	0,07 (g	0,00 (g	0,04	0,07	
	(g/g)*	(g/g)	O <sub>2</sub> /g)	O <sub>2</sub> /g)	(mg/g)	(mg/g)	

DS: dejetos de suínos diluído (1:2); BM: bagaço de mandioca, em base seca; ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; DQO: demanda química de oxigênio; DQOS: demanda química de oxigênio solúvel; NTK: nitrogênio total de Kjeldahl; NAT: nitrogênio amoniacal total. Dados da tabela são expressos como média ± desvio padrão.

\* Em base úmida.

Como pode-se observar na Tabela 2, o DS já diluído em água destilada (1:2), apresentou valores médios de ST e SV, de 39,73 g/L e 28,79 g/L, respectivamente. Em relação aos parâmetros de DQO, NTK e NAT, foram mensurados valores de 38,22 g O<sub>2</sub>/L, 2,12 g/L e 0,89 g/L, respectivamente. Já para o pH foi encontrado valor de 7,21 ± 0,08. Resultados semelhantes foram relatos em outro estudo, utilizando o mesmo local de coleta do DS (SCHOMMER et al., 2020). Ainda, as concentrações de ST, SV e de DQO similares para esse substrato (34,6, 24,5 g/L e 33,7 g O<sub>2</sub>/L, respectivamente), também, foram retratadas em outra literatura (ASTALS et al.,

2015). Já a semelhança no resultado de NTK (2,32 g/L), foi possível encontrar nos estudos de (JIN et al., 2018).

Tratando-se dos parâmetros do BM, pode-se avaliar que o cosubstrato apresentou valores de  $16,75 \pm 0,06$  g/g e  $98,21 \pm 0,11$  g/g, para ST e SV, respectivamente. Para DQO e DQOS foram encontrados dados de  $1,32 \pm 0,07$  e  $0,06$  g O<sub>2</sub>/g, respectivamente. Já para valores de NTK e NAT, obteve-se  $1,56 \pm 0,04$  e  $0,17 \pm 0,07$  mg/g, respectivamente. Foram apresentados valores comparáveis de ST de  $19,39 \pm 0,03$  g/L de resíduo de mandioca (QIAN et al., 2019); NTK de 3 mg/g de polpa de mandioca (GLANPRACHA; ANNACHHATRE, 2016); e COD e CODS de  $1,78 \pm 0,02$  e  $0,93 \pm 0,01$  g O<sub>2</sub>/g, respectivamente, da vinhaça de mandioca (WANG et al., 2011). Também, foram encontrados valores semelhantes de COD e CODS de  $1,04 \pm 0,03$  e  $0,22 \pm 0,01$  g O<sub>2</sub>/g, respectivamente, de cascas de mandioca silvestre *Manihot glaziovii* (MOSHI et al., 2015). Este mesmo trabalho relata que o bagaço de mandioca pode conter cerca de 75% de umidade. Neste estudo foi encontrado 83,25% de umidade. Diante dos resultados expostos, pode-se apontar que qualquer diferença na composição dos resíduos agroindustriais é influenciada pela variedade e fatores ambientais (NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, 2009).

### **3.4.2 Caracterização físico-química e produção de metano nos experimentos de Co-DA**

A Tabela 3, apresenta os resultados das caracterizações de cada grupo experimental no início e no final dos experimentos de Co-DA. Os grupos experimentais C0 e R15 se sobressaíram em relação a remoção dos parâmetros físico-químicos analisados. Em referência ao ST, pode-se observar que os reatores C0 e R15, apresentaram 56,0 e 59,6,2% de redução, respectivamente. Valores importantes, também, foram observados para SV, nos quais ocorreram remoções de 62,8 e 65,7%, para C0 e R15, respectivamente; quanto a DQO e DQOS, foram observados importantes reduções nos valores finais em todos os grupos experimentais, com máximo de cerca de 70% de redução para o grupo R15; e para NTK e NAT, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores iniciais e finais dos grupos experimentais apresentados. Ainda, os reatores R30, R45 e R60

Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos no início (t0) e no final (tf; 91 dias) de Co-DA utilizando dejetos de suínos (DS) diluído (1:2) como inóculo/ substrato principal e bagaço de mandioca (BM) como cosubstrato.

Reator	ST (g/L)		SV (g/L)		DQO (g O <sub>2</sub> /L)		DQOS (g O <sub>2</sub> /L)		NTK (mg/L)		NAT (mg/L)		pH	
	t0	Tf	t0	tf	t0	Tf	t0	tf	t0	tf	t0	tf	t0	tf
C0	39,73	17,48 ± 0,79	28,79	10,72 ± 3,42	38,22	12,42 ± 4,03	5,00	1,86 ± 0,71	2,11	1,94 ± 0,04	0,88	0,85 ± 0,04	7,21 ± 0,08	8,25 ± 0,05
R15	54,73	22,13 ± 1,67	43,52	14,91 ± 1,05	58,02	17,62 ± 6,56	5,88	1,84 ± 0,92	2,13	1,94 ± 0,04	0,88	0,82 ± 0,11	7,11 ± 0,06	7,59 ± 0,29
R30	69,73	43,24 ± 2,79	58,25	32,27 ± 0,66	77,83	39,30 ± 4,43	6,76	5,78 ± 1,04	2,16	2,10 ± 0,07	0,89	0,86 ± 0,01	7,09 ± 0,08	4,82 ± 0,06
R45	84,73	46,25 ± 4,54	72,98	34,56 ± 1,40	97,63	52,22 ± 2,95	7,63	6,56 ± 1,14	2,18	2,17 ± 0,03	0,89	0,87 ± 0,03	6,85 ± 0,16	4,39 ± 0,05
R60	99,73	48,82 ± 5,56	87,71	37,62 ± 3,99	117,4	56,50 ± 3,29	8,51	5,70 ± 0,10	2,20	2,18 ± 0,08	0,89	0,87 ± 0,05	7,01 ± 0,00	4,11 ± 0,11

C0: controle de dejetos de suínos diluído (1:2); R15, R30, R45 e R60: adição de diferentes concentrações de bagaço de mandioca com dejetos de suínos; ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; DQO: demanda química de oxigênio; DQOS: demanda química de oxigênio solúvel; NTK: nitrogênio total de Kjeldahl; NAT: nitrogênio amoniacal total. Dados da tabela são expressos como média ± desvio padrão.

apresentaram resultados finais dos parâmetros de ST, DQO, DQOS e pH semelhantes ( $p < 0,05$ ).

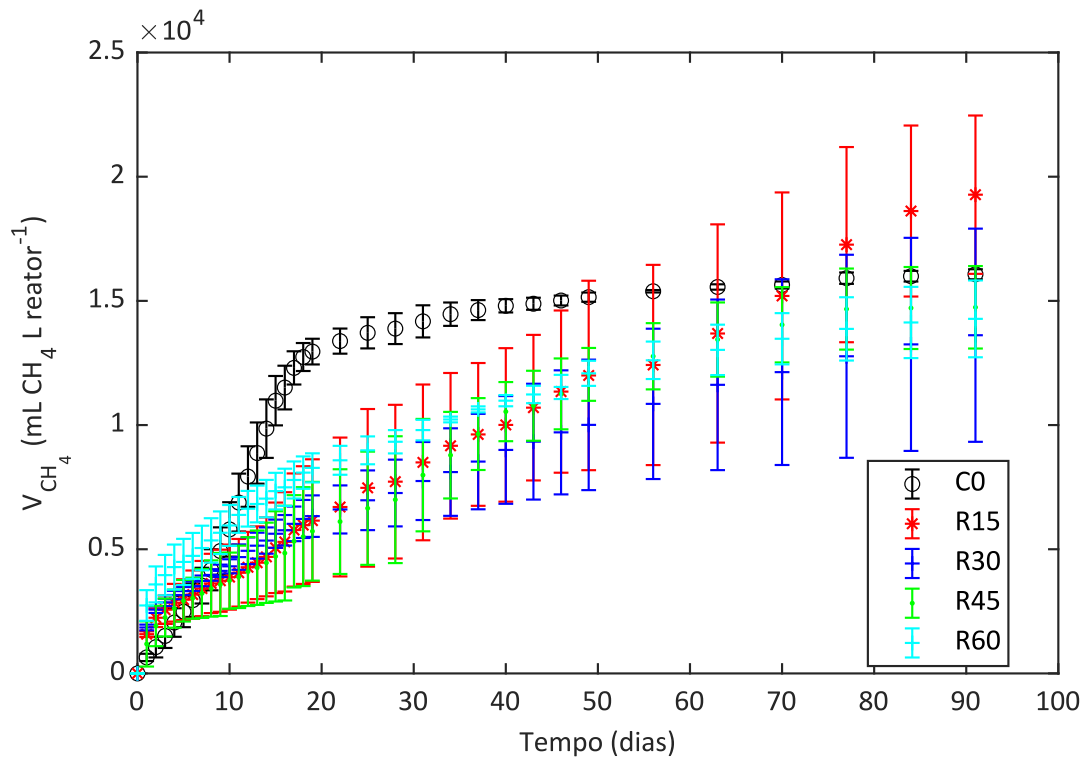


Figura 3 – Produção cumulativa de metano durante a co-digestão anaeróbia de dejetos de suínos e bagaço de mandioca.

Desta forma pode-se averiguar que, C0 e R15 se destacaram dos demais reatores, por apresentarem valores mais significativos de remoção dos parâmetros físico-químicos avaliados, e que ainda, R15 demonstrou maior redução, o que indica maior consumo dos nutrientes e uma elevada produção de metano. Em contrapartida, o reator R15 que contém a menor concentração de BM, de 15 g/L de sólidos totais, apresentou desempenho similar em relação ao grupo Controle (contendo somente DS). Assim, pode-se analisar em conjunto com a Figura 3, que ilustra a cinética de produção de metano ao longo dos dias, que apenas no final da DA o R15 se sobressaiu um pouco do C0, com produção cumulativa de metano de  $19275 \pm 3187,7$  mL CH<sub>4</sub>/L reator e  $16072 \pm 201,78$  mL CH<sub>4</sub>/L reator, respectivamente. Visto que, após um salto observado de produção de metano nos reatores R15, R30, R45 e R60, entre os primeiros dias, no restante do período a produção foi baixa e bem similar entre esses reatores. Desta forma, foram obtidos valores de produção

cumulativa de metano para os reatores R30, R45 e R60 de  $13617 \pm 3291,8$  mL  $\text{CH}_4/\text{L}_{\text{reator}}$ ,  $14741 \pm 1660,2$  mL  $\text{CH}_4/\text{L}_{\text{reator}}$  e  $14276 \pm 1546,8$  mL  $\text{CH}_4/\text{L}_{\text{reator}}$ , respectivamente.

De maneira geral, pode-se averiguar que o C0 apresentou melhor desempenho de produção de metano ao longo do tempo, principalmente no início da Co-DA, em relação aos demais reatores que continham o cosubstratos. Entretanto, no final dos experimentos, os resultados de produção cumulativa de metano para todos os grupos experimentais, não apresentaram diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ). Isso pode ser visualizado pelas grandes barras de erro, de desvio padrão, indicada pela instabilidade do processo que refletiu na alta variabilidade dos resultados. Lavergne et al. (2020), empregaram Co-DA de DS e lodo de esgoto e também, não verificaram diferenças significativas entre a mono-digestão e a co-digestão, uma vez que ambos apresentaram resultados de produção de metano semelhantes.

Foram encontrados resultados diferentes do esperado, que seria uma maior contribuição do BM na produção de metano, já que esse substrato se apresentou como um resíduo com alto potencial, devido ao seu importante nível de carga orgânica, conforme indicação dos resultados da Tabela 2. Todavia, justificativas podem ser expressas em função da variação dos valores de pH observados no conteúdo dos reatores ao final dos procedimentos experimentais de DA (Tabela 3), além dos resultados apontados de produção cumulativa de metano. Em relação aos valores de pH, pode-se observar que no início dos experimentos, os dados flutuaram entre 6,85 e 7,21, conforme é indicado para a DA – entre 6,8 e 8,0. Quando o pH se mantém dentro desse intervalo o sistema é considerado estável, visto que essa faixa de pH é indicada para a atuação das bactérias metanogênicas, reduzindo assim, efeitos inibitórios no processo (LI et al., 2015). O pH é geralmente utilizado como indicador do equilíbrio da DA. Ao final dos experimentos de Co-DA, foi observado que o valor do pH dos grupos Controle e R15 tiveram uma pequena elevação, de 7,21 e 7,11 para 8,25 e 7,59, respectivamente. Situação que está em conformidade com outro estudo de DA, em que os valores de pH também aumentaram para um valor mais alcalino, de 7,11 para 7,96 ao longo do processo de digestão anaeróbia

(WU et al., 2020). Isso ocorre devido ao aumento da amônia, produto da degradação de orgânicos nitrogenados durante a digestão anaeróbia (CHEN et al., 2015).

Em contrapartida, para os reatores R30, R45 e R60, ao final dos experimentos encontraram-se valores reduzidos de pH, entre 4,11 e 4,82, o que vai de encontro com a redução de produção de metano ilustrada na Figura 3, logo nos primeiros dias deste experimento preliminar. Isso ocorreu, em função de que, embora tenha sido alcançado uma melhora na relação C/N empregando DS com BM, possivelmente a alcalinidade do sistema, que é a capacidade de tamponamento médio proporcionada pelos substratos, não foi suficiente para evitar a sua desestabilização, acarretando, desta forma, na redução do pH, o qual é originado pelo acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) (ASTALS et al., 2011).

De forma conceitual, os AGV na digestão anaeróbia são produtos da etapa da hidrólise e substratos da fase da metanogênese. Assim, concentrações estáveis de AGV, indicam um equilíbrio correto entre hidrólise/acidogênese e metanogênese. Mas, para encontrar esse cenário estável em uma DA, a concentração de AGV deve estar em níveis mais baixos, uma vez que são consumidos aos poucos ao longo do tempo pelos metanogênicos. Dificuldades são encontradas, quando ocorre uma produção alta de AGV, devido à alta disponibilidade de carga orgânica na primeira etapa (de hidrólise) disseminando assim em excesso de AGV e inibição da produção de metano (LI et al., 2015).

Esse contexto pode ser utilizado para justificar a desaceleração da produção de metano pelos reatores contendo BM logo no início do experimento. Provavelmente esse resíduo contendo concentrações importantes de carga orgânica diretamente consumível, ocasionou uma demanda alta de ácidos graxos voláteis, que reduziram o pH e desestabilizaram as próximas etapas do processo de DA. Semelhante resultado foi relatado por Cheng et al. (2020), ao realizarem Co-DA de resíduos alimentares e lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos. Os autores observaram, que os resíduos alimentares por apresentarem uma grande quantidade de matéria orgânica, contribuíram para o acúmulo excessivo de ácidos graxos orgânicos, levando a acidificação do processo de DA, com queda no pH até valores de 5,66 e 5,22. Comportamento semelhante, foi identificado em outro estudo de Co-DA, no qual os valores de pH diminuíram para 5,2 com o aumento da concentração

de resíduos vegetais na mistura devido à alta geração de AGV (MAZARELI et al., 2016). Isso ocorre, possivelmente em função de que os resíduos de indústrias alimentícias, como o bagaço de mandioca, geralmente possuem baixo pH e contêm grande quantidade de matéria orgânica, sólidos dissolvidos e suspensos (EL-KAMAH et al., 2010; MATEUS et al., 2020).

Cheng et al. (2020), diante da acidez promovida pelo excesso de AGV no seu estudo, utilizaram um agente tamponante de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), para elevar o pH até um nível mais neutro. Desta forma, conseguiram aliviar a inibição ácida para as bactérias no sistema e alcançaram progressivos e satisfatórios resultados de produção de metano. Tomando como base esse contexto, foram propostos nos próximos estudos, um maior controle do equilíbrio do processo, por meio do uso de uma solução tamponante para controlar o pH inicial da Co-DA. Uma vez que, em outros trabalhos, como de Panichnumsin et al. (2010) e Glanpracha e Annachhatre (2016), foram relatados resultados mais positivos de produção de metano de resíduos de mandioca em conjunto com dejetos de suínos, apesar da diferenciação entre os sistemas e da ambientação e heterogeneidade dos substratos empregados na co-digestão anaeróbia.

### 3.5 CONCLUSÕES

A tecnologia de produção de bioenergia como a DA, tem sido amplamente empregada, em virtude de que possibilita o tratamento de diferentes resíduos, os quais podem ser diversificadamente explorados, dependendo da necessidade de destinação e da quantidade produzida na região em estudo. Diante disso e dos resultados apresentados, utilizando-se a co-digestão de BM e DS, pode-se avaliar que ainda são necessários estudos futuros para melhorar o desempenho da produção de metano, a partir da busca por um maior equilíbrio no processo. Isto pode ser alcançado, por meio da adição de uma solução tamponante, a qual possibilita o controle do pH na Co-DA. Desta forma, mais estudos e aplicações de substratos como dejetos de suínos e bagaço de mandioca na digestão anaeróbia são incentivados, uma vez que se refere a um processo promissor, que auxilia na destinação de resíduos locais de grande geração, promovendo ainda energia renovável.



## 4 RESULTADOS PARTE II: MATHEMATICAL MODELLING OF ANAEROBIC CO-DIGESTION OF SWINE MANURE AND CASSAVA BAGASSE FOR METHANE PRODUCTION

### 4.1 ABSTRACT

Anaerobic co-digestion (AcoD) has been considered as a promising disposal biotechnology for livestock and agro-industrial wastes treatment, which can decrease the quantity of refuses and also produce renewable energy as methane. This study investigated the mesophilic AcoD in batch of swine manure (SM) with different increase additions of cassava bagasse (CB) in relation to total solids (TS) content, with adjustment of initial pH. Besides that, kinetic modelling was performed to evaluate the buffering capacity of the system, as an innovative way to interpret the inhibition of the AcoD of SM and CB. Results revealed that the highest methane yield was obtained in AcoD with contribution of 16.87 g/L of CB, at experimental group R4 with  $41129 \pm 1783.6$  mL CH<sub>4</sub>/L <sub>reactor</sub>. This experimental group showed the highest TS, VS and COD removal at 62.5%, 58.6% and 77.3%, respectively and decreased thereafter at the other groups tested. Furthermore, methane producing was inhibited severely with more than 16.87 g/L of CB addition, whose cumulative methane production dramatically decreased due to possibly the large amounts of fatty acids accumulation occurred during the AcoD, leading to rapidly acidification of the system. This way, was observed that the buffering solution added was not enough to prevent the pH reduction. Finally, model adjusted of first order specific growth rate with structure 1, and linear buffering capacity behavior from substrate cassava bagasse, well described the anaerobic co-digestion of SM and CB, with great determination coefficients.

Keywords: Anaerobic Co-digestion; Methane; Cassava Bagasse; Swine Manure; Kinetic Modelling.

### 4.2 INTRODUCTION

The increase consumption for origin animal meat, has intensified the livestock practice and, with this, the increase in the production of residues such as animal waste. These contain important levels of nitrogen, phosphorus, organic matter and fecal microorganisms, nutrients that, if inappropriately disposed, can directly interfere the air quality, climate, soil, biodiversity and water quality (TULLO et al., 2019). In this sense, there is a great need to redirect livestock waste to mitigate environmental pollution and at the same time use it as sustainable resources (QIAN et al., 2019).

For this has sought the implementation of sustainable technologies such as anaerobic digestion (AD), which transforms different waste into energy, as an alternative to reuse these sources of biomass and reduce their environmental impacts (GUTIÉRREZ et al., 2020).

Although anaerobic digestion corroborates as an effective treatment for many animal waste such as swine manure (SM), your individual employment indicates some disadvantages, mainly the low nutrient relationship as carbon/nitrogen (C/N) (NESHAT et al., 2017). For this reason, the simultaneous processing of two or more organic residues through digestion in anoxic conditions, as in anaerobic co-digestion (AcoD), refers to a promising strategy to optimize the efficiency of anaerobic mono-digestion, which uses only one substrate. However, there are still many challenges and gaps regarding the stability and performance of the AcoD process, in view of the different parameters and the operating conditions of the biodigesters (AWOSUSI et al., 2020). In this context, energy recovery from livestock waste has been combined with lignocellulosic industrial waste, as they are low-cost by-products and promote more suitable and sustainable disposal alternative, in addition to clean energy, with the production of methane (LÜ et al., 2019). Industrial wastes with a high starch content are generally easily digested by the metabolic cycle of various anaerobic microorganisms, especially in anaerobic biodigestion processes (CHAVADEJ et al., 2019).

In anaerobic digestion process, a wide range of compounds can inhibit the process and cause upset or failure, interrupting the methane production (CHEN et al., 2014). One of the mainly inhibitors is the accumulation of volatile fatty acids (VFA), that can decrease reactor pH (ZHAO et al., 2020), which is generally the result of an imbalance between the rapid hydrolysis and the slow methanogenesis stages, reducing methanogenic microorganisms performance (STALEY et al., 2011) and in complete failure of the anaerobic digestion process (SUN et al., 2020). Then, a pH is an important parameter for the appropriate process of AD, and your adjustment is recommended to increase methane yield (YANG et al., 2015).

Anaerobic treatments are particularly effective for biodegradable solids, since in addition to performing settlement of the particles also assist in the reduction of organic matter (RAJBHANDARI; ANNACHHATRE, 2004). A study of anaerobic co-

digestion using cassava dregs with swine manure, but operating in two-phase system, indicated viability for methane production (REN et al., 2014). Research study of anaerobic co-digestion of cassava pulp cyanide-containing and swine manure was successfully reported (GLANPRACHA; ANNACHHATRE, 2016). Another study, which used the same substrates, showed an increase in methane production, caused by addition of cassava pulp (PANICHNUMSIN et al., 2010).

Agro-industrial residues such as cassava bagasse are alternative substrates for bioprocesses and of great generation, since the processing of about 250 to 300 tons of fresh tubers results in about 280 tons of moist cassava bagasse. This is made up fibrous root material and contains starch that has not been physically extracted by process (NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, 2009). In this context, the anaerobic digestion of cassava bagasse together with swine manure, presents a promising technology for the most appropriate destination of these residues, besides to offering an alternative source of bioenergy production. Nevertheless, digested cassava bagasse has strong tendency to acidify the medium, causing system imbalance. Therefore, it becomes necessary to increase the alkalinity levels within the reactor (BONCZ et al., 2012). The addition of alkalinity, with sodium bicarbonate, to the biodigesters is a preventive practice used in previous study (CREMONEZ et al., 2020). Buffering agents such as calcium hydroxide, calcium oxide or sodium carbonate can be added to adjust the pH of anaerobic systems, which are compounds that react with carbon dioxide to form bicarbonate (CHERNICHARO, 2007). At a study, authors verify that upon adding a buffer ( $1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{CO}_3$  solution) to control the alkalinity, after an inhibit by the system because of low pH, the production of methane began to rise gradually (CHENG et al., 2020).

Additionally, the application of mathematics models has been become an usual complementary activity in anaerobic digester design, control, prediction and monitoring of the process (HAGOS et al., 2017). Mathematical equations have an elevated capacity to reproduce an empirical behavior and simulate the physical, chemical and biological processes through graphic or a numeric result in a clear and quantifiable manner (ASTALS et al., 2011; GALÍ et al., 2009). Moreover, it should be exposed that AcoD modeling is required to predict, in a reliable way, the effect of mixing two or more substrates in a biodigester and degrade negative impacts from

mixing based on random or heuristic decisions (MATA-ALVAREZ et al., 2011, 2014). The heterogeneity of physicochemical conditions and reactions that are developed in anaerobic co-digestions reactors, it becomes complex for the research to understand the intricate details of the model (KAINTHOLA et al., 2019). Among normally employed mathematical models for AcoD are basic kinetic models, which have the advantages to be easy to implement and identify the hydrolysis rate. AD kinetics models are grounded on the microbial growth and substrate consumption rates which depend on a growth-limiting substrate concentration. Thereby, expressions for inhibition and cell death can also be included on this mathematical equations (XIE et al., 2016).

In this context, AcoD with other waste and incorporation of methods to counteract toxic components before anaerobic process, can adapt microorganisms to inhibitory substances and consequently improve the residue treatment efficiency (CHEN et al., 2008). Therefore, this work had as main purpose, the use of regional residues for methane production, through the biotechnology of anaerobic co-digestion. For this study, swine manure was used, as inoculum/substrate, and cassava bagasse, as co-substrate, as a promising approach to determine your potential for sustainable energy production. Furthermore, kinetic modeling was performed with different mathematical models.

#### 4.3 KINETIC MODELLING

For the anaerobic digestion process, several models and strategies can be employed for describe the behavior of the system, that is of fundamental importance to design wastewater treatment and biogas production. As reported in literature (DONOSO-BRAVO et al., 2011; GAVALA et al., 2019; HUSAIN, 1998; KYTHREOTOU et al. 2014; TOMEI et al., 2009; XIE et al., 2016), a general classification of the phenomenological models can be made as: (i) limiting step models; (ii) intermediate complexity models; (iii) detailed kinetics models.

The class of limiting step models describe the anaerobic digestion based in the rate of the slower step that controls the global transformation. However, the limiting step depends on the substrate and operational conditions. The main

processes cited as the rate controllers are methanogenesis, conversion of fatty acids into biogas and the hydrolysis of suspended solids.

A second class of models involves an intermediate complexity. These is characterized by a higher number of steps and/or bacterial populations and inhibitions. Stand out the acidogenesis, acetogenesis, and methanogenesis.

The detailed kinetic models have been proposed as a result of the progress of knowledge about the anaerobic digestion process. The most prominent is the Anaerobic Digestion Model No.1 (ADM1) (BATSTONE et al., 2002a, 2002b). The classical ADM1 describes the process as 19 bioconversions steps that include 24 species, according with the schematic representation of Fig. 4 (a). This model considers various specific bacterial populations, inhibition effects and chemicals equilibria. The general purpose of the model intends the application for any substrate and permits the inclusion of details for specific cases. The main disadvantages of these class of models, however, is the complexibility of computational implementation, the large number of parameters and the adjustment difficulties.

For anaerobic co-digestion (AcoD), however, the complex physicochemical and biochemical processes show the need for improvements and modifications of the traditional approach (XIE et al., 2016). Xie et al. (2016) reveal that the pH effect, including inhibitory influence, is essential to AcoD mathematical description.

In this context, for this work we propose two modelling schemes for describe the AcoD, according with Fig. 4 (b) and Fig. 4 (c). The model Structure 1 correspond to a limiting step model applied for two different substrates (S1 and S2). It was considered that the metabolism/growth rates of microorganisms (X) control the process (CH<sub>4</sub> formation and substrates consumption) and the single population of microorganisms was affected by the concentration of H<sup>+</sup> ions.

Model Structure 2 can be classified as intermediate complexity. The model involves the assumption of a step of hydrolysis for both particulate substrate (PS1 and PS2), forming a single soluble substrate (S). In its turn, S was consumed for microorganisms (X) growth and product formation (CH<sub>4</sub>).

For both schemes, the model solution additionally assumed the following considerations: (i) cell population is an ideal single component solute; (ii) the system at in a pseudo-homogeneous state, including the solid matter; (iii) the reaction control

the kinetic of the transformations of species considered; (iv) batch system with ideal mixing.

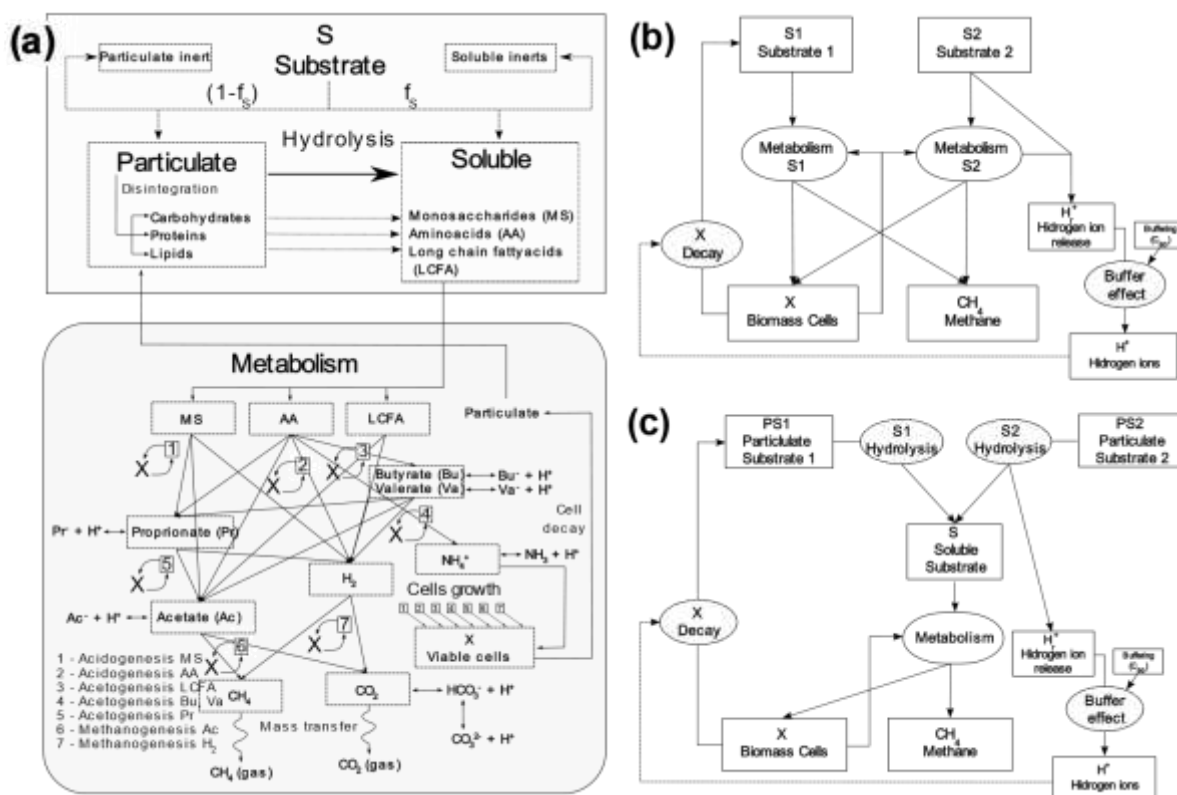


Figure 4 – Schematic representation of models used to describe anaerobic digestion process: (a) classical ADM1 model; (b) Structure 1 (two-substrate with metabolism as the limiting step); (c) Structure 2 (hydrolysis of two substrates and metabolism step).

#### 4.3.1 Model Structure 1

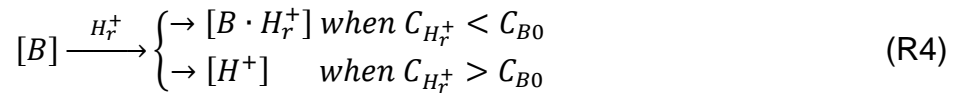
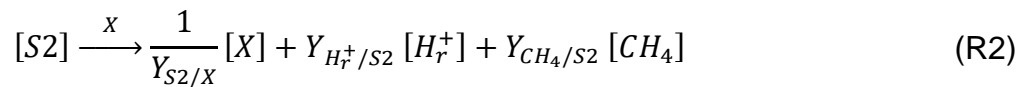
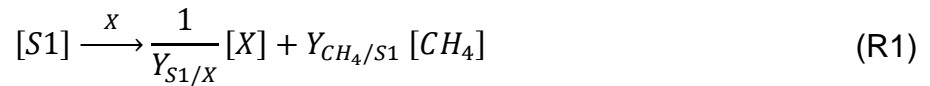
In the system of Scheme 1 (Fig. 4 (b)), the bi-substrate anaerobic digestion is represented by stoichiometry scheme of reactions R1 to R4 and involves the following species: cell biomass (X); pig manure (substrate 1 – S1); cassava bagasse (substrate 2 – S2); methane (product –  $CH_4$ ); hydrogen ions release ( $H^+$ ); and hydrogen ions ( $H^+$ ).

According with reactions R1 and R2, was considered that the growth rates of microorganisms (X) control the process ( $CH_4$  formation and substrate consumption - S1 and S2). For both substrates, the same microorganism's population act for the transformation. Also, for S2, it was considered the occurrence of hydrogen ion

release, that is established in the model by empirical observations of experimental results.

The reaction R4 represents the buffering capacity of the system. For mathematical solution simplification's, that is considered that the  $H^+$  ions released are captured by a generic buffer compound (B) until the limit of the buffering capacity ( $C_{B0}$ ). From there, the released  $H^+$  ions start the acidifying of the medium.

On the other hand, the reaction R3 predict the cells dead by the effect of free  $H^+$  ions (pH), acting as inhibitory specie. The inactive biomass, in turn, was counted as substrate 1 (S1).



In reactions/stoichiometric scheme of R1, R2, R3, and R4:  $Y_{i/k}$  is the productivity coefficient (stoichiometric parameter) that represent the consumption or formation of specie "i" in relation to specie "k" ( $g$  "i"/ $g$  "k");  $[S1]$ ,  $[S2]$ ,  $[X]$ ,  $[CH_4]$ ,  $[H_r^+]$ , and  $[H^+]$  represents the species involved in the biological transformations: Substrate 1 (pig manure), Substrate 2 (cassava bagasse), cell biomass, product (methane), released  $H^+$ , and  $H^+$  ions, respectively;  $C_{H_r^+}$  is the concentration of  $H^+$  released – an auxiliar variable ( $mol H_r^+/L$ );  $C_{B0}$  denotes the buffering capacity of the system – a parameter of the model ( $mol H^+/L$ ).

The reactions (R1) and (R2) considers that substrate 1 and 2 were consumed for the cell growth rate in the presence of cell biomass and that these transformations are hitched to the methane production. In the exponential growth phase, the cells generation is proportional to the concentration of biomass ( $C_X$ ,  $g X/L$ ), according with Eqs (1) and (2). The proportionality coefficient is known as specific growth rate ( $\mu_{S1}$  and  $\mu_{S2}$ ,  $day^{-1}$ ). In this work the First order, Monod and Simplified Contois models

(Table 4) were used for evaluating  $\mu_i$ , as presented below. In these equations,  $r_{i,j}$  is the rate of transformation of the specie “i” in the reaction “j” [ $g$  “i”/( $L \cdot day$ )].

$$r_{X,R1} = \mu_{S1} C_X \quad (1)$$

$$r_{X,R2} = \mu_{S2} C_X \quad (2)$$

Considering the strong influence of pH observed on the experimental results, the reaction (R3) considers the cell decay by the effect of hydrogen ions concentration ( $C_{H^+}$ ,  $mol H^+/L$ ). The Eq. (3) shows the rate as a function of  $C_X$ ,  $C_{H^+}$  and the cell decay coefficient parameter ( $k_d$ ).

$$r_{X,R3} = -k_d C_{H^+} C_X \quad (3)$$

For predict the  $H^+$  behavior ( $C_{H^+}$ ,  $mol H^+/L$ ) was considered the buffering capacity of the system ( $C_{B0}$ ). The expression of Eq. (4) establishes that the rate of  $H^+$  ions in the system is zero when  $C_{H_r^+} < C_{B0}$  and equal to the rate of  $H^+$  ions released in reaction R2 when  $C_{H_r^+} > C_{B0}$ . To allow the evaluation of the inequality, was inserted an auxiliary variable  $C_{H_r^+}$  that represents the total amount of  $H^+$  ions released during the bioreaction.

$$\text{In the Eq. (4), } H\langle C_{H_r^+} - C_{B0} \rangle \text{ is the Heaviside function} = \begin{cases} 0, & (C_{H_r^+} - C_{B0}) < 0 \\ 1/2, & (C_{H_r^+} - C_{B0}) = 0 \\ 1, & (C_{H_r^+} - C_{B0}) > 0 \end{cases}$$

$$r_{H^+,R4} = Y_{H_r^+/S2} Y_{S2/X} r_{X,R2} \cdot H\langle C_{H_r^+} - C_{B0} \rangle \quad (4)$$

In this work, considering the experimental results in batch system, the solution of kinetic model involves a system of ordinary differential equations (ODE). The Eq. (5) of mass balance for a generic specie “j” in batch bioreactor with ideal mixing was applied for each compound considered in the reaction scheme.

$$\frac{dC_j}{dt} = r_j \quad (5)$$

In the Table A.1 of Appendix A, the kinetic rate expressions and coefficients are presented in the form of Peterson matrix. Also, Table A.3 of Appendix A shows the system of ODE to solve for batch system.

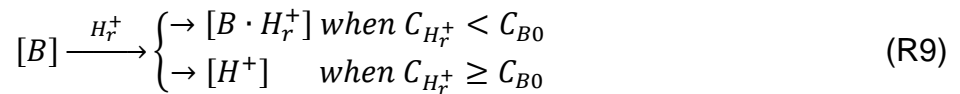
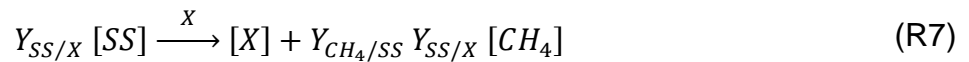
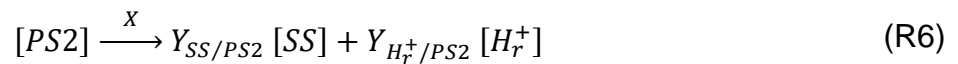
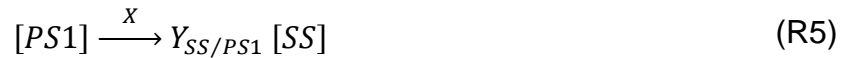


The initial conditions for solve the system is presented in Eq. (6), were:  $C_{X,0}$  is the initial biomass concentration (a parameter of the model);  $C_{COD,0}$ , the initial total COD concentration of the medium ( $mol\ COD/L$ );  $f_{S2}$  is the fraction of contribution of substrate 2 to total COD; and  $pH_0$  is the initial pH.

$$IC \begin{cases} C_X(t=0) = C_{X,0} \\ C_{S1}(t=0) = C_{COD,0} (1 - f_{S2}) - C_{X,0} \\ C_{S2}(t=0) = C_{COD,0} f_{S2} \\ V_{CH_4}(t=0) = 0 \\ C_{H_r^+}(t=0) = 0 \\ C_{H^+}(t=0) = 10^{-pH_0} \end{cases} \quad (6)$$

#### 4.3.2 Model Structure 2

The Model Scheme 2 (Fig. 4 (b)), considers the bi-substrate anaerobic digestion as four steps: (i) the hydrolysis of particulate substrates (PS1 and PS2) – reactions R5 and R6, that generate soluble substrate (SS) as the product; (ii) metabolism/methanogenesis with cell growth (X) and product formation (CH<sub>4</sub>) from SS; (iii) similarly to the model Structure 1, it was considered the cell decay (reaction R8); (iv) also, the occurrence of hydrogen ion release by PS2 and a reaction to represents the buffering capacity of the system (reaction R9) were considered.



The reactions rates for each process involved in anaerobic co-digestion (reactions R5 to R9) can be seen in the Eqs. (7) to (11). In the first step, the hydrolysis of particulate substrates was made by hydrolytic enzymes, that catalyze the breakdown of these to soluble compounds (TOMEI et al., 2009). As can be seen in

Eqs. (7) and (8) was established the rate as first order in relation to particulate substrates (PS1 and PS2) and to biomass (X). The cell growth rate of Eq. (9) was employed for methanogenesis/metabolism process and depends on the specific growth rate. In the present model scheme, as well as the model structure 1, the cell decay (Eq. 10) and the H<sup>+</sup> ions dynamic (Eq. 11) were also considered.

$$r_{PS1,R5} = -k_{PS1} C_{PS1} C_X \quad (7)$$

$$r_{PS2,R6} = -k_{PS2} C_{PS2} C_X \quad (8)$$

$$r_{X,R7} = \mu_{SS} C_X \quad (9)$$

$$r_{X,R8} = -k_d C_{H^+} C_X \quad (10)$$

$$r_{H^+,R9} = Y_{H^+/PS2} (-r_{PS2,R6}) \cdot H(C_{H^+} - C_{B0}) \quad (11)$$

For mathematical solution goal, in the Appendix A the Peterson matrix was used to present the kinetic rate expressions and stoichiometric coefficients of model scheme 2 (Table A.2). The Table A.3 shows the system of ODEs for batch bioreaction.

For model structure 2, the initial conditions for solve the ODE system is presented in Eq. (12), were:  $C_{COD,0}$ , the initial concentration of COD soluble (*mol COD/L*); and  $f_{SS2}$  is the fraction of contribution of substrate 2 to soluble COD.

$$IC \left\{ \begin{array}{l} C_X(t=0) = C_{X,0} \\ C_{PS1}(t=0) = C_{COD,0} (1 - f_{S2}) - C_{CODS,0} (1 - f_{SS2}) - C_{X,0} \\ C_{PS2}(t=0) = C_{COD,0} f_{S2} - C_{CODS,0} f_{SS2} \\ V_{CH_4}(t=0) = 0 \\ C_{H^+}(t=0) = 0 \\ C_{H^+}(t=0) = 10^{-pH_0} \\ C_{SS}(t=0) = C_{CODS,0} \end{array} \right. \quad (12)$$

### 4.3.3 Specific growth rates

For solution of the models structures 1 and 2 proposed, in turn, was necessary the establishment of the specific cell growth rate ( $\mu_i$ ). In this work, several models for evaluating  $\mu_i$  were tested, as can be seen in the Table 4. The  $\mu_i$  is a function of the composition of the fermentation medium. In this work were tested tree common

expressions: first order, Monod and simplified Contois (BEBA; ATALAY, 1986; CHEN, 1983; CONTOIS, 1959; PAVLOSTATHIS; GIRALDO-GOMEZ, 1991).

Table 4 – Specific growth rate models tested in this work.

Model	Equation ( $i = S1$ or $S2$ )	Eq.
First order	$\mu_i = k_1 C_i$	(13)
Monod	$\mu_i = \frac{\mu_m C_i}{C_i + K_S}$	(14)
Simplified Contois	$\mu_i = \frac{\mu_m C_i}{C_i + K_C C_X}$	(15)

The expressions of Table 4 involve the following parameters:  $k_1$  is the first order constant ( $L/(g \cdot day)$ );  $\mu_m$  is the maximum specific growth rate ( $day^{-1}$ );  $K_S$  is the saturation parameter of the Monod equation ( $g X/L$ );  $K_C$  is the Contois coefficient ( $g "i"/g X$ ); and  $C_X$  is the cell biomass concentration ( $g X/L$ ).

## 4.4 MATERIALS AND METHODS

### 4.4.1 Inoculum/main substrates and co-substrate

Swine Manure was used as inoculum and main substrate in two sets of experiments of AcoD. In each of them, they were collected fresh (identified as SM1 and SM2) from a finishing pig farm (rural area of Cerro Largo municipality, Rio Grande do Sul State, Brazil) and directly used at the experimental sets. At experimental batch 1, the inoculum was diluted with distilled water at 1:0.5. At experimental batch 2, the inoculum was diluted with distilled water until the dilution of the inoculum used in the first experiment was reached.

As co-substrate was used cassava bagasse (identified as CB), which was supplied by a sour cassava starch agroindustry (rural area of Salvador das Missões municipality, Rio Grande do Sul State, Brazil), and stored at 4 °C. For both set of experiments, CB was used *in natura*, maintaining its original moisture.

Physicochemical parameters of Total solids (TS), Volatile solids (VS), Chemical oxygen demand (COD), Chemical oxygen demand soluble (CODS), Total Kjeldahl nitrogen (TKN), and Total ammonia nitrogen (TAN), were assessed for SM1, SM2 and CB according to standard methods (APHA, 2005). Results of these characterizations are summarized at Table 5.

#### **4.4.2 Experimental setup**

Two experimental batch of AcoD in batch were conducted in this study. Which were carried out in 500 mL Erlenmeyers, designated biodigesters, with a fixed volume of solution referring to the diluted inoculum, of 200 mL.

Experimental batch 1 was divided into five groups, including the control C1 (just SM1 addition, with initial pH adjustment at 8.0). In the others groups, were added SM1 with different CB concentrations, in relation of TS total (g/L), named as R1 (4.5 g/L), R2 (8.8 g/L), R3 (12.92 g/L) and R4 (16.87 g/L), which also had pH adjustment until 8.0 at the beginning of this experiment, using sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) as buffering solution.

Experimental batch 2 was divided into five groups, begging with the control, that had the same CB addition of the R4, named as R5 (16.87 g/L), followed by others experimental groups with increasing additions of CB. Those groups were denominated as R6 (21.39 g/L), R7 (25.70 g/L), R8 (29.80 g/L) and R9 (33.72 g/L). At all these five groups, SM2 was added as inoculum and substrate. The pH adjustment at 8.0 was performed in all treatments at the beginning of this experiment, using a  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  buffering solution.

Each condition was conducted in triplicate, and before co-digestion process the inoculum and co-substrate has been fully stirred.

#### **4.4.3 Biodigesters, methane production, and physicochemical characterization**

The digesters in experiments were closed with rubber stoppers. Hypodermic needles were inserted through the stoppers to allow gas exit, and a valve was connected to the needle to control the pressure inside the digesters. Digesters were placed inside an incubator (37 °C), and the produced gas was conducted to inverted glass bottles outside the incubator containing an alkaline solution (2 M NaOH) to

absorb CO<sub>2</sub>. The remaining CH<sub>4</sub> displaced the alkaline solution into collecting vessels to determine the volume of CH<sub>4</sub>. Collecting vessels had their masses measured at room conditions (~25 °C) to gauge the volume of methane produced, considering the density of the alkaline solution (GUWY, 2004). In this way, the remainder referring to CH<sub>4</sub>, provides the displacement of this alkaline solution to the collecting vessels, being thus possible to determine the CH<sub>4</sub> volume, directly, from the displaced NaOH mass, under ambient conditions. Similar water displacement technique for measuring CH<sub>4</sub> production, through CO<sub>2</sub> absorption in alkaline solutions, was used in other study (SCHOMMER et al., 2020) and reported elsewhere (BEDOÍĆ et al., 2019; LEE et al., 2017; WICKHAM et al., 2016).

Digesters were manually mixed once a day, and experimental batch 1 and 2 were carried out for 88 e 31 days, respectively. These incubation periods were based on CH<sub>4</sub> production rates, that is, anaerobic digestions were terminated when CH<sub>4</sub> production rates reached zero or near-zero values. Results are presented as cumulative methane production (mL CH<sub>4</sub>/L <sub>reactor</sub>), and average values were compared using ANOVA one-way and Tukey Post-Hoc Analysis to identify significant differences ( $p < 0.01$  or  $p < 0.05$ ) among the groups.

At the beginning ( $t_0$ ) and at the end ( $t_f$ ) of AcoD experiments, the contents of the digesters were evaluated for TS, VS, COD, CODS, TKN, TAN (APHA, 2005), and pH values.

#### **4.4.4 Kinetic modeling: solution, adjustment, and selection**

To study the kinetic of methane production in anaerobic co-digestion system, several model's adjustment was done. The data sets of all conditions tested was made in only one step.

The models tested involves three different aspects. Firstly, the models Structures 1 and 2 and related hypothesis were applied, according with section 4.3. A second aspect analyzed refers to the specific growth rate ( $\mu_i$ ) behavior. For  $\mu_i$ , the models of Table 4 were employed. Also, the buffering capacity ( $C_{B0}$ ) parameter was examined. The adjustment of one parameter for each experimental run was tested and, based in tendency observed during computational work, a linear relationship

according with Eq. (16). By this mean a decrease in the number of parameters is achievable.

$$C_{B0} = a - b C_{S2,0} \quad (16)$$

The combination of model structure type, specific growth rate model, and buffering capacity behavior provided several model adjustments. The trust-region-reflective optimization algorithm Coleman and Li (1996) was used for estimation of the model parameters. A modified least-squares function was used as the objective to be minimized.

The model solution (and consequently obtaining of the objective function value) involves the solution of a system of ordinary differential equation (ODE), as presented in Table A.3 of Appendix A. For ODE solution was employed the Runge-Kutta fourth-order method, described by Shampine and Reichelt (1997). The algorithms and solvers used in this work were programmed in Matlab R2015a software.

In order to obtain information about the quality of data fit, the following determination coefficients were evaluated, according to Eq. (17-20) below: (i) for all CH<sub>4</sub> data, including all experimental runs ( $R^2_{CH_4, total}$ ); (ii) for CH<sub>4</sub> in each experimental run ( $R^2_{CH_4, j}$ ); (iii) for final COD concentrations – sum of substrate 1 and 2 ( $R^2_{COD}$ ); and (iv) for final pH, considering all experimental runs ( $R^2_{pH}$ ). In the application of model structure 2,

$$R^2_{CH_4, total} = 1 - \frac{\sum_{j=1}^{nr} \sum_{k=1}^{ne} (V_{CH_4}|_{mod,k}^{j''} - V_{CH_4}|_{exp,k}^{j''})^2}{\sum_{j=1}^{nr} \sum_{k=1}^{ne} (V_{CH_4}|_{exp,k}^{j''} - \overline{V_{CH_4}|_{exp}})^2} \quad (17)$$

$$R^2_{CH_4, j} = 1 - \frac{\sum_{k=1}^{ne} (V_{CH_4}|_{mod,k}^{j''} - V_{CH_4}|_{exp,k}^{j''})^2}{\sum_{k=1}^{ne} (V_{CH_4}|_{exp,k}^{j''} - \overline{V_{CH_4}|_{exp}})^2} \quad (18)$$

$$R^2_{COD} = 1 - \frac{\sum_{j=1}^{nr} (C_{COD}|_{mod,F}^{j''} - C_{COD}|_{exp,F}^{j''})^2}{\sum_{j=1}^{nr} (C_{COD}|_{exp,F}^{j''} - \overline{C_{COD}|_{exp,F}})^2} \quad (19)$$

$$R^2_{pH} = 1 - \frac{\sum_{j=1}^{nr} (pH|_{mod,F}^{j''} - pH|_{exp,F}^{j''})^2}{\sum_{j=1}^{nr} (pH|_{exp,F}^{j''} - \overline{pH|_{exp,F}})^2} \quad (20)$$

Were:  $y|_{exp,k}^{j''}$  and  $y|_{mod,k}^{j''}$  are the measured and predicted values of a generic variable “y”, respectively.  $V_{CH_4}$  is the cumulative CH<sub>4</sub> production (mL CH<sub>4</sub>/L <sub>reactor</sub>);  $C_{COD}$  is the COD concentration – sum of substrate 1 and 2;  $pH = -\log(C_{H^+})$  is the hydrogenionic potential. The subscript “k” denotes the experimental point along the time of the run “j”; subscript “F” means the final value;  $ne$  is the number of experimental points in the experimental run “j”;  $nr$ , the number of experimental runs.

Considering that the model results predict the CH<sub>4</sub> behavior and, additionally, the final pH and COD concentration, we use the weighted sum method for the multi-objective optimization problem (CH<sub>4</sub>, COD and pH adjustment) according with Eq. (21). The function takes into account the number of experimental results obtained for each monitored variable (CH<sub>4</sub>, COD, and pH). While the CH<sub>4</sub> were evaluated over time, having obtained several experimental data in each run, the COD and pH were evaluated only at the end. In this way, weight 1 was assigned for CH<sub>4</sub> and 0.1 for COD and pH.

$$F_{obj} = (1 - R^2_{CH_4,total}) + 0.1 (1 - R^2_{COD}) + 0.1 (1 - R^2_{pH}) \quad (21)$$

Taking into account the several adjustments performed, for selection of the best model was calculated the corrected Akaike information criterion (AICc) (see Eq. (22)). AICc was used to determine the most appropriate model, considering different number of adjusted parameters (AKAIKE, 1973; HURVICH; TSAI, 1991). The selection of the best mathematical model consisted in the adoption of the one with the lowest AICc value. In which,  $nd$  is the total number of adjusted experimental points with the model and  $np$  is the number of parameters of the model.

$$AICc = nd \ln \left( \frac{F_{obj}}{nd} \right) + 2(np + 1) \left( 1 + \frac{np + 2}{nd - np - 2} \right) \quad (22)$$

## 4.5 RESULTS AND DISCUSSIONS

### 4.5.1 Characterization of inoculums, co-substrate and AcoD experiments

The characterizations of inoculums/main substrates (SM1 and SM2) and co-substrate (CB) used at this study are presented in Table 5. SM2 was diluted to obtain the same TS ratio (73.79 g/L) from SM1. The others physicochemical parameters of

SM1 and SM2 presented similar values. The characteristics of SM1 and SM2 used in this study were comparable to reported values in literatures (CAO et al., 2020; DENNEHY et al., 2016; JIMÉNEZ et al., 2015; KAFLE AND KIM, 2013; SCHOMMER et al., 2020).

Table 5 – Physicochemical parameters of inoculums/main substrates and co-substrate employed in anaerobic co-digestion experiments.

Inoculum and main substrate	TS (g/L)	VS (g/L)	COD (g O <sub>2</sub> /L)	CODS (g O <sub>2</sub> /L)	TKN (g/L)	TAN (g/L)	pH
SM1	73.79	40.61	75.54	22.87	3.30	1.68	7.08 ± 0.01
SM2	73.79	47.94	82.31	32.94	3.83	1.15	7.12 ± 0.02
Co-substrate	TS (g/g)	VS (g/g)	COD (g O <sub>2</sub> /g)	CODS (g O <sub>2</sub> /g)	TKN (mg/g)	TAN (mg/g)	pH
CB	16.75 ± 0.06*	98.21 ± 0.11	1.32 ± 0.07	0.06 ± 0.00	1.56 ± 0.04	0.17 ± 0.07	-

SM1: diluted (1:0.5) fresh swine manure; SM2: diluted (0.82:0.18) fresh swine manure; CB: Cassava Bagasse, in dry basis; TS: total solids; VS: volatile solids; COD: chemical oxygen demand; CODS: chemical oxygen demand soluble; TKN: total Kjeldahl nitrogen; TAN: total ammonia nitrogen. Data in the table are expressed as Means ± SD.

\* On wet basis.

The cassava bagasse, consisting 16.75 ± 0.06 g/g total solids and 98.21 ± 0.11 g/g volatile solids, presented a COD and CODS value of 1.32 ± 0.07 and 0.06 g O<sub>2</sub>/g, respectively. The TKN and TAN values were 1.56 ± 0.04 and 0.17 ± 0.07 mg/g, respectively. Was presented similar TS values from cassava residue (19.39 ± 0.03 g/L) (ZHANG et al., 2011) and from cassava starch wastewater (16.89 ± 0.17 g/L) (WADJEAM et al., 2019); TKN of 3 mg/g from cassava pulp (GLANPRACHA; ANNACHHATRE, 2016); and COD and CODS of 1.78 ± 0.02 and 0.93 ± 0.01 g/g, respectively, from cassava stillage (WANG et al., 2011). Also were exposed similar values of COD and CODS of 1.04 ± 0.03 and 0.22 ± 0.01 g/g, respectively, from peels of wild cassava *Manihot glaziovii* (MOSHI et al., 2015). And was reported that cassava bagasse may contain about 75% moisture. At this study 83,25% of moisture



was found. Any difference in the compositions of agro-industrial wastes are influenced by variety and environmental factors (NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, 2009).

The initial and final characteristics of the digested contents during experimental batch 1 and 2 are shown in Table 6. At initial day ( $t_0$ ), values of the physical-chemical parameters increased with the addition of total solids from the cassava bagasse. Considering experimental batch 1 and 2, initial TS and VS levels ranged from 73.79 to 107.5 g/L and 40.61 to 81.06 g/L, respectively. In relation to COD, the experimental batch operated in concentrations that varied from 75.54 to 126.83 g O<sub>2</sub>/g.

The physicochemical parameters removal are used to reflect the amount of degraded substrate in co-digestion systems. After AcoD, these reduction are positively correlated to the corresponding methane production (YU et al., 2020). At the end of the experimental batch 1 ( $t_f=88$  days), TS and VS levels reduced, with values between 42.96 - 34.00 g/L and 26.00 - 19.74 g/L. The total COD removal levels ranged between 69.7-77.3%. The removal efficiency in VS concentration ranged from 41.0 up to 58.6%. These results are lower than total COD removal rates as total COD measures not only insoluble and soluble compounds, but also intermediates compounds, as VFA, that are often lost by evaporation when determining VS concentrations. These results are in accordance with those reported elsewhere (ORIVE et al., 2016). Also, it is worth mentioning that COD removal is an important parameter to be monitored during anaerobic digestion, since it indicates the stabilization of organic matter. The higher removal efficiency, the more biodegradable and the bio stabilized is the final residue (VERONEZE et al., 2019).

Control group C1 (with initial pH adjustment) had high parameters reduction with similar VS removal (51.4%) than 53.9% presented by (DENNEHY et al., 2016). And control group C0, presented better removal of TS (56%) and VS (62.8%), in comparison with C1. This indicates possibly higher methane production performance of the control without pH adjustment. However, both C0 and C1 had lower removals in the evaluated physicochemical parameters than the other groups with the addition of cassava bagasse.

Table 6 - Physicochemical parameters at the begging (t0) and at the end (tf) of anaerobic co-digestion experiments.

Experimental batch 1																						
Reactor	TS (g/L)			VS (g/L)			COD (g O <sub>2</sub> /L)			CODS (g O <sub>2</sub> /L)			TKN (g/L)			TAN (g/L)			pH			
	t0	P (%)	tf	t0	P (%)	tf	t0	P (%)	Tf	t0	P (%)	tf	t0	P (%)	Tf	t0	P (%)	tf	t0	tf		
C1	73.79	0	42.96	40.61	0	23.95	75.54	0	22.29	22.87	0	16.54	3.298	0	3.22	1.680	0	1.68	8.01	8.09		
			±			±			± 2.15			±			±			±	±	±	±	±
			9.74			1.40			2.10			0.40			0.01			0.01	0.01			
R1	78.29	5.75	42.55	45.03	9.81	24.81	81.48	7.29	20.55	23.14	1.14	9.22	3.305	0.21	3.17	1.681	0.04	1.59	8.00	8.06		
			±			±			±			±			±			±	±	±	±	
			2.83			1.87			2.07			0.32			0.16			0.12	0.02			
R2	82.59	10.66	38.13	49.26	17.55	26.00	87.16	13.33	22.63	23.39	2.20	10.83	3.312	0.41	3.08	1.682	0.09	1.59	8.01	8.06		
			±			±			±			±			±			±	±	±	±	
			2.68			0.30			2.19			0.28			0.14			0.01	0.07			
R3	86.71	14.90	37.30	53.30	23.81	23.92	92.60	18.42	21.63	23.63	3.20	9.06	3.318	0.61	3.17	1.682	0.13	1.59	8.03	7.96		
			±			±			±			±			±			±	±	±	±	
			1.75			3.00			3.27			0.32			0.43			0.03	0.09			
R4	90.66	18.61	34.00	57.18	28.97	23.67	97.81	22.77	22.16	23.86	4.13	7.30	3.324	0.79	3.17	1.683	0.17	1.59	8.04	8.03		
			±			±			±			±			±			±	±	±	±	
			5.40			1.93			2.48			0.43			0.16			0.06	0.06			
Experimental batch 2																						
Reactor	TS (g/L)			VS (g/L)			COD (g O <sub>2</sub> /L)			CODS (g O <sub>2</sub> /L)			TKN (mg/L)			TAN (mg/L)			pH			
	t0	P (%)	tf	t0	P (%)	tf	t0	P (%)	Tf	t0	P (%)	tf	t0	P (%)	Tf	t0	P (%)	tf	t0	tf		
R5	90.65	18.61	53.64	64.51	25.68	42.31	104.58	21.29	62.76	33.93	2.91	23.40	3.860	0.68	3.64	1.153	0.25	1.12	8.03	8.03		
			±			±			± 3.58			±			±			±	±	±	±	
			2.57			0.84			3.00			0.28			0.04			0.04	0.02			
R6	95.18	22.48	73.70	68.95	30.47	57.41	110.56	25.54	97.93	34.19	3.66	31.36	3.867	0.86	3.83	1.154	0.31	1.12	8.00	5.72		
			±			±			±			±			±			±	±	±	±	
			8.86			1.56			3.38			0.40			0.00			0.00	0.02			

			71.48			64.90						32.26			3.83			1.12	8.02	5.61
R7	99.48	25.83	±	73.18	34.49	±	116.24	29.18	106.36	34.44	4.36	±	3.874	1.03	±	1.155	0.37	±	±	±
			3.36			0.92			± 5.51			0.80			0.58			0.03	0.03	0.13
			78.68			65.19						30.24			3.83			1.12	8.02	5.72
R8	103.59	28.17	±	77.21	37.91	±	121.66	32.34	110.65	34.68	5.02	±	3.881	1.20	±	1.155	0.43	±	±	±
			2.48			2.30			± 2.78			1.96			0.43			0.03	0.03	0.14
			91.09			62.21						30.71			3.83			1.12	8.01	5.23
R9	107.50	31.37	±	81.06	40.85	±	126.83	35.10	116.64	34.91	5.65	±	3.887	1.35	±	1.156	0.49	±	±	±
			9.60			7.48			± 2.51			2.68			0.48			0.02	0.02	0.03

C1: Control diluted (1:0.5) fresh swine manure with pH adjustment; R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 and R9: Experiments with addition of different concentrations of cassava Bagasse *in natura* with swine manure; P: Percentage of co-substrate contribution; TS: total solids; VS: volatile solids; COD: chemical oxygen demand; CODS: chemical oxygen demand soluble; TKN: total Kjeldahl nitrogen; TAN: total ammonia nitrogen. Data in the table are expressed as Means ± SD.

Additionally, the highest rates physicochemical parameters removal were observed for group R4 (Experimental batch 1) and R5 (Experimental batch 2). Were obtained relevant removal rates of TS, VS, COD and CODS for R5, in comparison to other groups at experimental batch 2, which were 62.5, 58.6, 77.3 and 69.4%, respectively. For R5, despite the fact that the process was carried out for only 31 days, expressive removal rates were achieved. And for TKN and TAN, there was no significant difference ( $p < 0.05$ ) between the initial and final values of the experimental groups presented, except for the R4 group that showed the greatest variation in the results.

In front of the above-mentioned expressive removal results, its shown that co-digestion of swine manure and cassava bagasse until ratio 16.87 g/L of TS (group R4 and R5) is technically feasible. Was exposed that considering that AD is a biodegradation technique, it is not expected a complete elimination of the pollutant potential of the treated wastes (ORIVE et al., 2016).

#### 4.5.2 Influence of pH on methane production

At the preliminary test (data presented in Section 3), a strong methane production was observed in the first days at reactors R15, R30, R45 and R60 in relation to the control (C1). However, the curves of this reactors soon stabilized and the group with only SM1 (Control reactor) stood out, presenting the best results in most of the process. Similar circumstances were noticed by Jensen et al., (2014), that studied AcoD of mixed sewage sludge and crude glycerol. Authors verified a reduction in the methane production rate in their tests from the 2 and 4% glycerol mixtures. Thus, it was pointed that glycerol overload resulted in inhibition through volatile fatty acids (VFA) accumulation, since the inhibition occurred after 3–4 days and not immediately, what indicate absence of any inhibitory compound glycerol. Therefore, at this preliminary study, probably the inhibition of methane production occurred due to the high demand for cassava bagasse that provided a lot of organic load, which was degraded very quickly causing VFA accumulation. At the end (tf:91 days) of this experiment, reactor R15 recovered reaching a cumulative production of  $19275 \pm 3187.7$  mL CH<sub>4</sub>/L <sub>reactor</sub>, with final pH of  $7.59 \pm 0.29$ . Whereas the other reactors (R30, R45 and R60), were not able to recover, probably due to the high acidification of the medium, expressed by the final pH that fluctuated between 4.82 to 4.11 (Table 4 of section 3). Such as Fan et al. (2020), at the beginning of the AD process, the pH value of this reactors dropped rapidly according to the content co-substrate increase, due to the elevated the large amount of acid generation in the acidogenesis stage. Similar context also occurred at anaerobic digestion of SM with semi-continuous feeding, in which just 10 days after start the digestion, accumulation of intermediate products appeared, resulting in acid poisoning of the middle (CHEN et al., 2015). Van ngo et al. (2016) experienced that when the reactor was exposed to low pH for 5 days, were needed more than 30 days until the microorganism's biomass in the reactor was fully recovered. Situation that can describe the behavior of the reactor R15. Despite of that, at other study was observed acid failure irreversible at the anaerobic digestion, in which the methanogenic reaction could not be recovered (SUN et al., 2020), similar to observed for reactors R30, R45 and R60.

It has been described that during the quickly degradation of agricultural waste, on acetogenesis stage, occur a generation of higher amount of VFA, what consequently reduce pH value. To avoid this, can be added a alkalinity solution

(KAINTHOLA et al., 2019). Kafle and Kim (2013) studied the co-digestion of apple waste (AW) with SM in batch digestors at mesophilic temperature. The results showed some inhibition during the digester start-up period in digestors with AW:SM (33:77) due to the rapid acidification of apple waste. Thereby, was suggested that for high organic loading rate ( $OLR > 5.0 \text{ g VS/L}$ ) anaerobic digestors the AW should not exceed 33%, or else additional alkalinity should be added. Besides, was discussed the high sensitivity of methanogenic bacteria to pH, since is important to keep the pH value until 8.0, to create a good reactor capacity. If this number reaches less than 6.5, stability problems can occur in the reactor. The pH value has a significant effect on the activity of various microorganisms in the reactor, what is most evident at the start of the anaerobic digestion process, because methane-producing bacteria are more rapidly affected by than other bacteria (KAMYAB; ZILOUEI, 2021).

During anaerobic fermentation, consequent accumulation acidic fermented products lead to the failure of pH homeostasis. The influential factor is the amount of undissociated volatile fatty acids released that affected the cell metabolism and consequently methane generation (VENKATA MOHAN et al., 2017). At low pH conditions, it is promoted the accumulation of butyrate, ethanol and butanol (CHAGANTI et al., 2011) intermediate fermentation products, that are not desirable in anaerobic digestion process (BOLAJI; DIONISI, 2017). To effective degradation of organic wastes during AD, is requires that all well working microorganisms, given the main of this process are hydrolytic bacteria, acidogenic bacteria, acetogens and methanogens. Acidogenic are responsible by metabolic pathways of VFA distribution and concentration, which can affect the pH at biodigester environment. Therefore, pH control have been used to reduce the consumption of VFA by methanogens, microorganisms who produce methane (ZHOU et al., 2018). At this context, during AcoD study of food waste and municipal sludge, was observed a large amount of organic matters, which resulted in excessive accumulation of VFA and consequently acidification the system. Then, due to this, occurred the inhibition of the methanogenic activity, what reduce the biogas production. To solve that, was added  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , as buffering solution, promoting a gradual recovery of the methanogenic activities and increasing in biogas yield (ALMOMANI; BHOSALE, 2020). Furthermore, at another AD study using cassava starch polymer as substrate, was added  $5.6 \text{ g/L}$  of sodium

bicarbonate to provide an alkalinity reserve to the reactors, thus, preventing collapse of system in view of the possible high acidification at the beginning of digestion (CREMONEZ et al., 2019). Similar approach, of adding buffering solution for initial pH adjustment was proposed in this work for experimental batch 1 and 2.

Carrying on, at preliminary experiment, Control reactor (C0) reached production of  $16072 \pm 201.78$  mL CH<sub>4</sub>/L reactor. Comparable value was verified at control reactor C1 (experimental batch 1; with Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> addition) with  $21155 \pm 594.30$  mL CH<sub>4</sub>/L reactor. Besides that, was visualized that pH fluctuated from  $7.21 \pm 0.08$  to  $8.25 \pm 0.05$  (Table 4 of section 3) throughout digestion. Similar pH variation for the control (between 7.25 and 8.16), within the optimal range for methanogenesis, was reported (ARIAS et al., 2020). It was observed in another AD study, that pH values also increased to a more alkaline value, from 7.11 to 7.96 along the process in all the reactors (WU et al., 2020). The pH increased at reactors without buffering solutions, due to raised ammonia, which is the product of the degradation of nitrogenous organics (CHEN et al., 2015).

The pH for the different treatments of experimental batch 1 and 2, were measured to observe the influence of buffer capacity in relation to added TS content of cassava bagasse. For the Control C1, and the treatments R1, R2, R3, R4 and R5, the final pH value did not differ ( $p < 0.01$ ) from initial pH (Table 6). In the experimental batch 1, the slight alkaline pH initial values, adjusted with Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, avoided the acidification of AD systems, which frequently causes a widespread death of methanogens (WU et al., 2020). In another study, the influence of pH adjustment with NaOH, on biogas generation from food wastes was investigated. The results indicated that the cumulative methane yield in the group with pH at 8.00, were higher than pH uncontrolled group, respectively. As well as TS and VS removal rates of total mixture, that reached maximum of 52.07 and 63.46%, respectively (YANG et al., 2015). This TS and VS removal rates were similar than obtained at group R4 with 62.5 and 58.6%, respectively.

At experimental batch 2, all groups started with pH adjusted at approximately 8.0 and the final pH were  $8.03 \pm 0.02$ ,  $5.72 \pm 0.02$ ,  $5.61 \pm 0.13$ ,  $5.72 \pm 0.14$  and  $5.23 \pm 0.03$  (Table 6), for group R5, R6, R7, R8 e R9, respectively. Given that R5 started with the same TS ratio (90.66 g/L) than R4 (experimental batch 1). This strategy was

employed for R5 be used as a basis to be compared with the other treatments (R6, R7, R8 e R9), that started with higher proportions of cassava bagasse. Different from R5 which maintained the same initial pH (did not differ statistically  $p < 0.05$ ), the other reactors R6, R7, R8 and R9 showed pH reduction during AcoD. Similar behavior was identified at other study of AcoD, in which pH values decreased to 5.2 with increasing vegetable wastes concentration in the mixture due to the high VFA generation (MAZARELI et al., 2016). This was justified, because residues and wastewater from the food industries generally have a low pH and contain large amounts of organic matter, dissolved and suspended solids (EL-KAMAH et al., 2010; MATEUS et al., 2020). Therefore, greater additions of CB, affected the buffer capacity of the added  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , which was not enough to prevent acidification (ions  $\text{H}^+$  generation) of the system. It is recommended pH adjustment more times during anaerobic digestion at systems that allow this control.

#### 4.5.3 Kinetic modeling and methane production

Models structures 1 and 2 (according with section 4.2), three specific growth rate models (Table 4) and linear and independent buffering capacity hypothesis were tested to provide the adjustment parameters showed by Table 7. The parameters were evaluated aiming to select the most adequate model and your hypothesis to describe the kinetics of cumulative methane production at the different experimental conditions. From the high determination coefficients ( $R^2_{CH_4, total} = 0.9811$ ;  $R^2_{COD} = 0.9636$ ;  $R^2_{pH} = 0.9912$ ) and the lower AICc value (-3125.876), the first order specific growth rate with model structure 1, and linear buffering capacity behavior from substrate 2, showed the best performance.

The structure 2 proposed for this work, did not show as satisfactory adjustments as for those found for the models described with structure 1. Therefore, in this work, only the results of the best adjustment of structure 2 was presented, which was also with the specific growth rate first order model (adjustment 7). These results indicate that hydrolysis, which was proposed as a limiting step for structure 2, was not shown to be limiting, but rather the separate metabolism of the two substrates.

Table 7 - Parameters of structure type, specific growth rate, and buffering capacity hypothesis for models' adjustments.

Parameter	Models adjustment							
	1	2	3	4	5	6	7	
Model considerations								
Model structure	Structure 1	Structure 1	Structure 1	Structure 1	Structure 1	Structure 1	Structure 2	
Specific growth rate	First order*	First order*	Monod*	Monod*	Contois*	Contois*	First order	
Buffering capacity	Independent**	Linear***	Independent**	Linear***	Independent**	Linear***	Linear***	
Quality of the model adjustment								
$R^2_{CH_4,j}$	1	0.944183	0.93484981	0.938401983	0.786504481	0.936641106	0.697511402	0.750500706
	2	0.91253	0.923177572	0.917289473	0.949075564	0.917627883	0.980407503	0.907839781
	3	0.987806	0.987231962	0.987990648	0.988391176	0.989074108	0.993581403	0.952971225
	4	0.986894	0.986248831	0.985972468	0.990716586	0.985699403	0.990055542	0.869866704
	5	0.991884	0.99179903	0.992224857	0.979656699	0.992675674	0.964035922	0.693238293
	6	0.985842	0.987527833	0.983439174	0.956672324	0.984761658	0.905743213	0.51379576
	7	0.757369	0.679306867	0.740811728	0.704834473	0.759395972	0.421900801	-32.17388269
	8	0.740275	0.306548928	0.852377189	-2.071332074	0.851018871	-3.164280008	-120.9964379



Parameter	Models adjustment							
	1	2	3	4	5	6	7	
	9	0.569434	0.498502154	0.568442723	-0.10821122	0.571867471	-0.397815143	-56.85859501
	10	0.799702	0.398180886	0.811683054	-0.346299157	0.764579626	-0.742009975	-89.53714367
$R^2_{CH_4, total}$		0.980989	0.981134982	0.981111865	0.971616773	0.981231421	0.965514821	0.730873397
$R^2_{COD}$		0.973136	0.963553741	0.971546679	0.968370643	0.97591333	0.850563169	0.542491565 (particulate) 0.804731008 (soluble)
$R^2_{pH}$		0.993429	0.991217418	0.979538614	0.990405347	0.990084674	0.940808244	-0.63765797
$F_{obj}$		0.022354	0.023387902	0.023779606	0.032505628	0.022168778	0.055348038	0.398170143
$nd$		330	330	330	330	330	330	330
$np$		20	12	22	14	22	14	13
$AICc$		-3122.94	-3125.875686	-3097.938633	-3012.864785	-3121.085952	-2837.229558	-2188.25628

\* For both substrates ( $\mu_{S1}$  and  $\mu_{S2}$ );

\*\* One  $C_{B0}$  parameter evaluated for each experimental run;

\*\*\* Using linear relationship of Eq. (14).

Table 8 – Parameters of the best model: Structure 1, with first order specific growth rate, and linear buffering capacity hypothesis.

Parameter	Symbol and unity	Value
First order kinetic constant for the specific growth rate related to the consumption of Substrate S1	$k_{1,S1},$ $L (g COD S1)^{-1} day^{-1}$	2.369E-04
First order kinetic constant for the Substrate S2	$k_{1,S2},$ $L (g COD S2)^{-1} day^{-1}$	1.299E-02
Linear coefficient of empiric expression for the buffering capacity of the system ( $C_{B0}$ )	$a, (mol H^+) L^{-1}$	6.322E-05
Angular coefficient of the $C_{B0}$ expression	$b, (mol H^+) (g COD S2)^{-1}$	4.022E-10
Cell decay coefficient parameter	$k_d, L (mol H^+)^{-1} day^{-1}$	3.660E+06
Stoichiometric coefficient - $H^+$ release related to S2 consumption	$Y_{H^+/S2},$ $(mol H^+) (g COD S2)^{-1}$	2.812E-06
Stoichiometric coefficient: consumption of S1 in relation to cell growth, X	$Y_{S1/X},$ $(g COD S1) (g COD X)^{-1}$	11.05
Stoichiometric coefficient: consumption of S2 in relation to cell growth, X	$Y_{S2/X},$ $(g COD S1) (g COD X)^{-1}$	2.994
Stoichiometric coefficient: productivity of $CH_4$ in relation to S1 consumption	$Y_{CH_4/S1},$ $(mL CH_4) (g COD S1)^{-1}$	479.5
Stoichiometric coefficient: productivity of $CH_4$ in relation to S2 consumption	$Y_{CH_4/S2},$ $(mL CH_4) (g COD S2)^{-1}$	47.79
Initial concentration of biomass cell in experimental batch 1	$C_{X,0}^{1}, (g COD X) L^{-1}$	12.01
Initial concentration of biomass cell in experimental batch 2	$C_{X,0}^{2}, (g COD X) L^{-1}$	10.49

Although some similar values were observed in the other adjustment models solving by structure 1, the adjustment 2 selected (Table 7) presents the fewer necessary parameters number to kinetic modelling ( $np = 12$ ), as shown in Table 8. The best adjusted model presented higher  $k_{1,S2}$  value (1.299E-02 L/(g COD)(day))

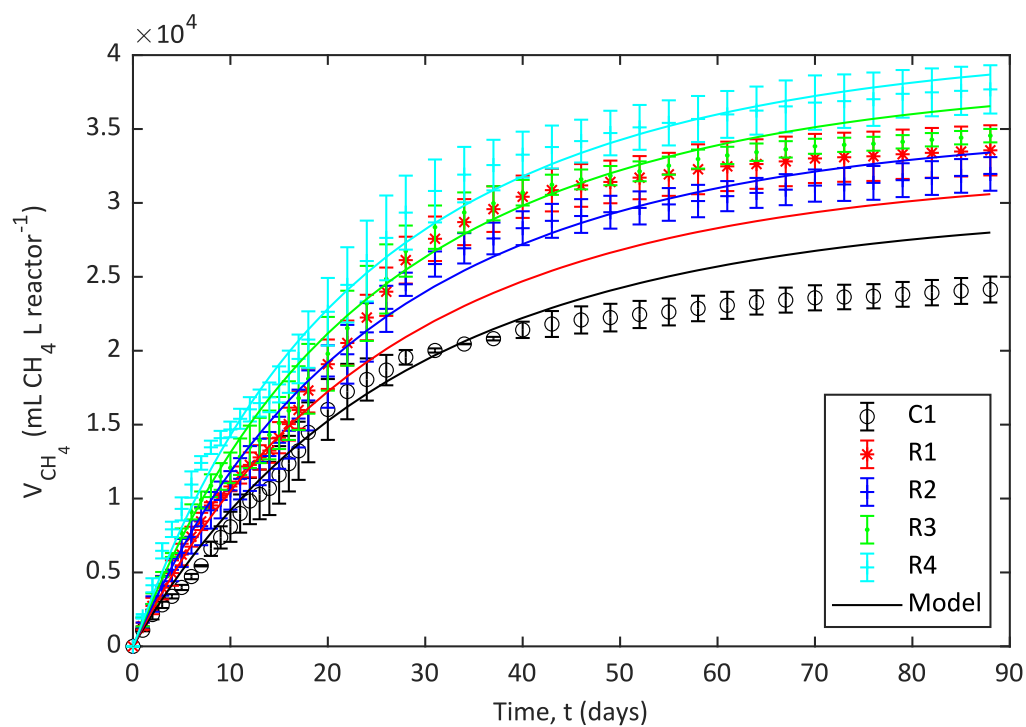
than  $k_{1,S1}$  (2.369E-04 L/(g COD)(day)), indicating that the organic compounds degradable substances of the substrate 2 have been more rapidly hydrolyzed (SILVA et al., 2021). Similar context was observed at other study (MENDIETA et al., 2020), which pointed out that higher first order kinetic constant for the specific growth rate in related to the higher non-fiber carbohydrates presents at the substrate, that is quickly degradable.

As can be seen in Table 8, the cell decay constant ( $k_d$ ) presented high value (3.660E+06 L/(mol H<sup>+</sup>)(day)), which is related to microorganism decay rate as a function of VFA production (PAVLOSTATHIS; GIRALDO-GOMEZ, 1991). In relation to  $Y_{H^+/S2}$ , this stoichiometric coefficient presents a low value (2.812E-06 mol H<sup>+</sup>/(g COD S2)(day)), referring to release of small amounts of H<sup>+</sup> ions, which change pH gradually.

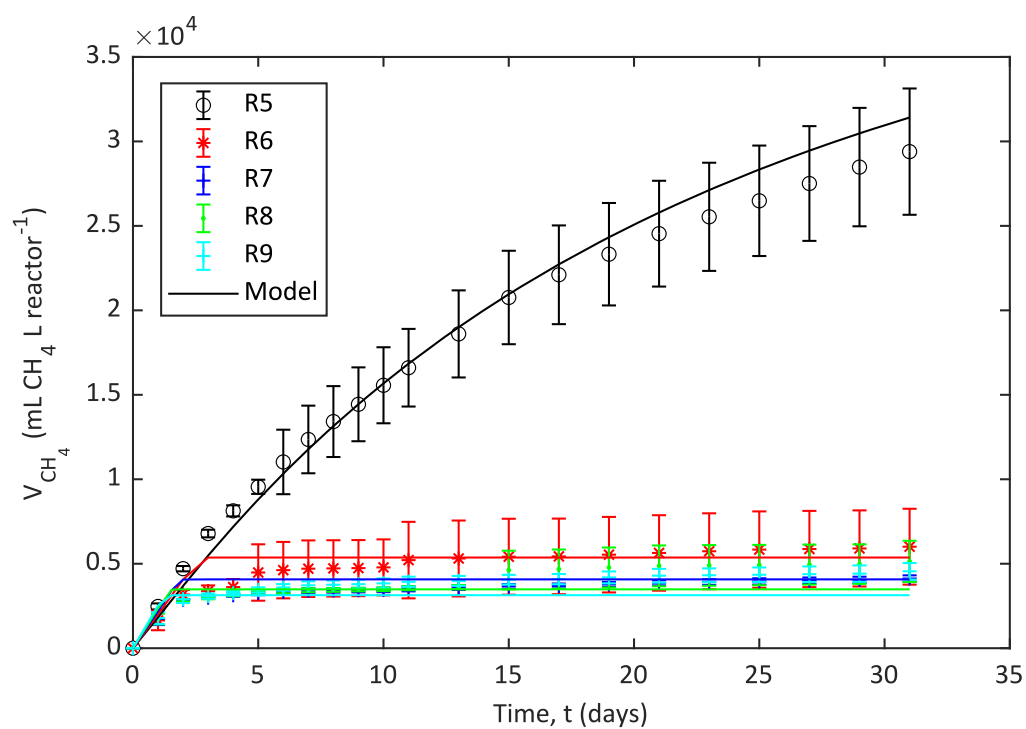
The simulated productivity of CH<sub>4</sub> ( $Y_{CH_4/S1} = 479.5$  mL CH<sub>4</sub>/g COD S1) in relation to S1 consumption, was higher than productivity for S2 ( $Y_{CH_4/S2} = 49.79$  CH<sub>4</sub>/g COD S2). Same situation was observed for stoichiometric coefficient of consumption of S1 ( $Y_{S1/X}$ ) and S2 ( $Y_{S2/X}$ ) in relation to cell growth. In which, substrate 1, presented the higher values of cell growth and productivity of methane. It indicates that swine manure had high biodegradability and abundance of degradable organic matter for produce methane (CAO et al., 2020), compared to cassava bagasse.

Parameters of initial concentrations of biomass cell in experimental batch 1 and 2, were in good accordance, with values of 12.01 and 10.49 g COD X/L. Similar results were expected, since swine manure was collected in the same place, despite having been in different days and climate.

In order to further prove the performance of co-digestion of experimental batch 1 and 2, the cumulative methane production of two experimental batch are shown in Fig. 5 (a) e (b), respectively. Experimental data is represented by the points, while the continuous line corresponds to the modeled data. First order equation solved by proposed structure 1, was suitable to describe the anaerobic digestion of swine manure and cassava bagasse at different concentrations.



(a)



(b)

Figure 5 – Kinetic of cumulative methane ( $\text{CH}_4$ ) production: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.

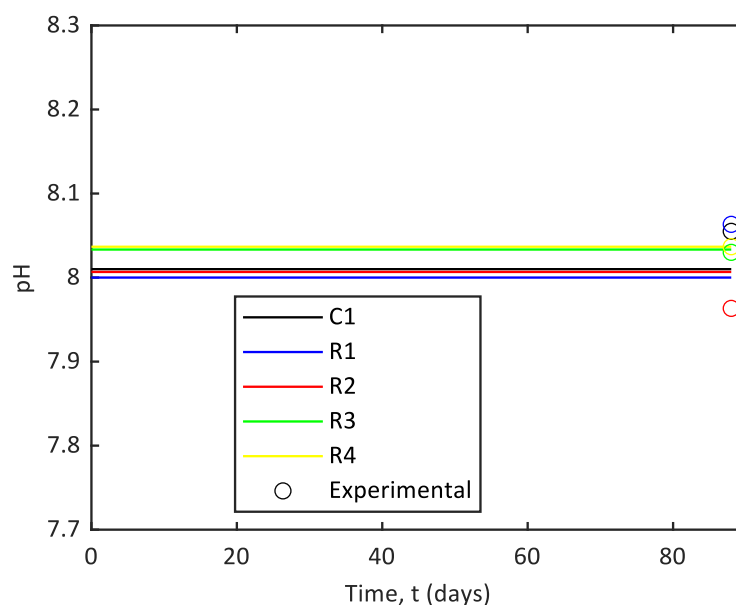
It was reported, that first order model is more appropriate for the wastes that have a granular structure, like cassava bagasse, because hydrolysis is a rate-limiting step during the anaerobic digestion process. Besides, this model assumes that there is a proportional relationship between degraded volatile solids and the methane production (DU et al., 2019). The performance of anaerobic digestion of corn straw also was well evaluated by the first order kinetic equation (XU et al., 2019). Besides, a modified first order model provided the best fit to the substrates of food waste and swine manure used (DENNEHY et al., 2016). And, first order model was also suitable to describe methane yield in AcoD of agricultural crop residues from non-centrifugal cane sugar agribusiness sector (MENDIETA et al., 2020).

The profiles of cumulative methane production in different treatments of experimental batch 1, with SM and CB, are shown in Fig. 5 (a). The methane contents in all the reactors gradually increased in the first 8 days, where began the first peak. Sequentially, a slower methane production occurred in all reactors. And from day 16 there was a new fast methane production tendency originating the second peak, which stabilized again from day 31. The first peak on the daily methane production was assigned to the rapid degradation of easily degradable organics, while the second peak derived from the slowly biodegradable organics (ZHANG et al., 2017). The final cumulative methane production of this experiment (tf:88 days) for R1, R2, R3 and R4 were  $34325 \pm 1736.1$ ,  $33424 \pm 1189.3$ ,  $36922 \pm 485.47$  and  $41129 \pm 1783.6$  mL CH<sub>4</sub>/L reactor, respectively. Accordingly, all treatments presented better performance than controls C0 ( $16072 \pm 201.78$  mL CH<sub>4</sub>/L reactor or  $111.66 \pm 1.40$  mL CH<sub>4</sub>/g VS initial) and C1 ( $21155 \pm 594.30$  mL CH<sub>4</sub>/L reactor or  $104.18 \pm 2.93$  mL CH<sub>4</sub>/g VS initial). The cumulative methane production in the control groups showed best result than reported at previous study using also just swine at 32 g VS/L ( $88.9$  mL CH<sub>4</sub>/g VS initial) (LI et al., 2018a).

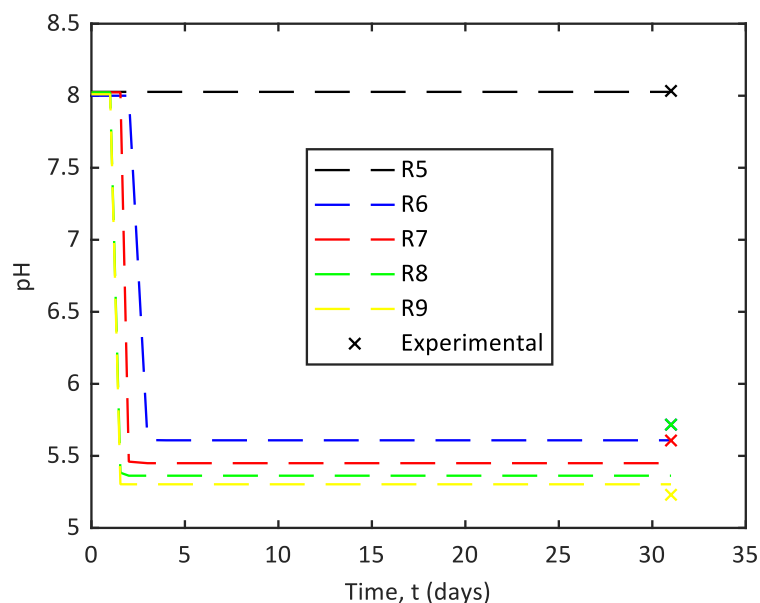
In addition, as can be seen in Fig. 5 (a), the adjusted model described the cumulative production of methane with an upward trend as the concentration of substrate 2 in the reactors increased. However, the experimental group R2 presented experimental results slightly superior to the group R3 (with greater addition of cassava bagasse than R2). But this can be justified by the proximity in the concentration of

total solids of cassava bagasse addition, which reflected in close results of methane production, verified by the large error bars.

The maximum methane production was obtained for R4 (experimental batch 1) and for R5 (experimental batch 2), showed by Fig. 5 (a) and (b), respectively. Reactors R6, R7, R8 and R9 operated during 31 days (moment that methane production stopped on this reactors) and achieved cumulative methane production of  $6723.7 \pm 2513.4$ ,  $4730.4 \pm 214.84$ ,  $6033.0 \pm 1433.8$  and  $5470.2 \pm 589.92$  mL CH<sub>4</sub>/L reactor, respectively. As seen from Fig. 5 (b), the profiles of low methane production of these four experimental groups were similarity to each other ( $p < 0.05$ ) with clear difference among reactor R5 that presented the highest cumulative methane production rate ( $32086 \pm 4080.6$  mL CH<sub>4</sub>/L reactor). For reactors R6, R7, R8 and R9 the addition of high rates of cassava bagasse was tested, which probably provided many nutrients that were quickly degraded. Thereby, at the same time, many VFA were produced and the buffering capacity of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> added at the beginning of anaerobic digestion was not sufficient to contain the destabilization of the system. This was observed by the reduction of the final pH in the four reactors, which varied from an initial value from approximately 8.00 to 5.23-5.72 (Table 6).



(a)



(b)

Figure 6 – pH behavior: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.

This pH behavior was also described by the adjusted model, which can be seen in Fig. 6 (a) and (b), for experimental batch 1 and 2, respectively. The Fig. 6 (a) clearly illustrates that initial pH control improve methane production performance of Co-DA. But at high concentrations (above of 16.87 g/L) of cassava bagasse (Fig. 6 (b)) system buffering capacity decreases as well as the production of methane, according to Fig. 5 (b). Similar approach was presented by Yu et al. (2021), who indicated that high organic loading rate can overload the reactors, leading to rapid accumulation of VFA in the biodigester, which inhibit biogas production during fermentation.

At a low pH system, acidogens and methanogens, acid-producing bacteria and CH<sub>4</sub>-producing bacteria, respectively, are easily affected. Given that for acidogens the preferred pH range is 5.5-6.5, and for methanogens is 7.8-8.2 (CHAGANTI et al., 2011), it is recommended to operate at pH range of 6.5–8.0, since methanogenesis refers rate-limiting step of anaerobic digestion (DAHUNSI et al., 2016). Thus, the reduced pH in those reactors probably limited the methanogens and interrupted methane production. It was reported in another study that methane high yields may be correlated to the high carbohydrates content of the agro-industrial wastes together

with the pH adjustment in the feedstock since acidic conditions favors VFA accumulation to a greater degree than alkaline conditions (GRESES et al., 2020).

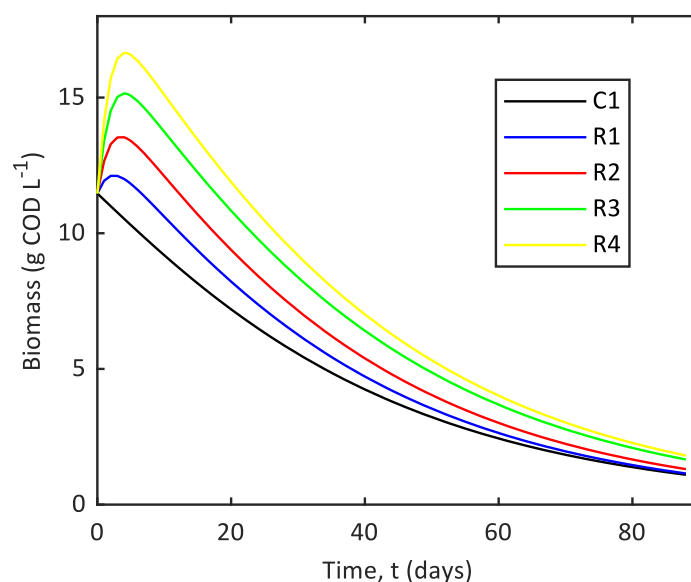
Another study evaluated the two-phase anaerobic digestion process of a cassava starch-based polymer. The results showed that this substrate presented technical feasibility, and in the concentration of 8.9 g/L VS had the best results for methane production, with 249 mL CH<sub>4</sub>/g VS. However, in concentrations above 8.9 g/L VS, cause destabilization in the reactors by the great formation of volatile acids (ions H<sup>+</sup> generation) and consequent reduction in the stability of microbiological cultures (CREMONEZ et al., 2020). At other study using cassava starch polymer under different inoculum to substrate ratios and buffering solution to maintained process stability, higher TS and VS removal values were found in cassava starch polymer lower ratio treatments (CREMONEZ et al., 2019). Besides, it was verified at study that utilized phosphate as buffering solution, that despite the favorable initial pH with the addition of large quantity of buffering agent, pH in all the reactors decreased along the experiment because of the production of acidic intermediates, causing a looping effect. This occur by substrate concentration, since tend to affect the rate of pH reduction (YAN et al., 2014). Similar to this work, the experiments do not had pH adjust during the process intentionally to simplify the operation for future application.

The reactor R4 methane yield value was improved by 48.6% when comparing value obtained from C1. This result is in good accordance with similar researches regarding co-digestion of SM with other agro-industrial wastes. Ferrer et al. (2014) observed that the AcoD of swine manure with tomato and pepper increased methane production in 41% and 44%, respectively compared with swine manure only. Panichnumsin et al. (2010) obtained an improvement in the methane yield in 41% when co-digested swine manure with cassava pulp in concentrations up to 60% of the incoming VS. The results showed that co-digestion resulted in higher reduction of volatile solids (61%), but lower buffering capacity, similar to reported in this study. Zou et al. (2018) experimented AcoD of residual sludge with addition of 12 g VS/L of greening waste and decocted chinese herbs waste, obtaining 132.3 and 143.4 mL CH<sub>4</sub>/g VS<sub>initial</sub>, respectively. And the highest methane yield of 145.98 mL CH<sub>4</sub>/g VS<sub>initial</sub> was showed at anaerobic co-digestion of swine manure and maize stalk by Zhang et al. (2015). These results can be compared to the presented at this study, in

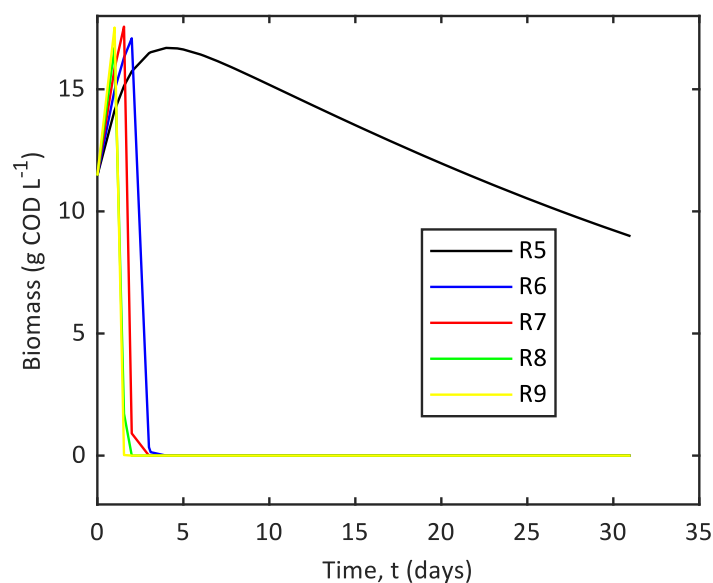


which at reactor R4 was obtained cumulative methane production of  $41130 \pm 1783.6$  mL  $\text{CH}_4/\text{L}_{\text{reactor}}$  or  $143.87 \pm 6.24$  mL  $\text{CH}_4/\text{g VS}_{\text{initial}}$ . But this founded result was higher compare other study of batch mesophilic anaerobic co-digestion using swine manure and apple, in which was achieved 102.1 mL  $\text{CH}_4/\text{g VS}_{\text{initial}}$ , with initial substrates VS load of 32 g VS/L (LI et al., 2018a).

The concentration of cell biomass was interpreted by the adjusted model from Fig. 7 (a) and (b), for experimental batch 1 and 2, respectively. It can be seen that the cell concentration of the experimental groups in batch 1 and group R5 in batch 2, initially showed a cell growth and then over time this cell biomass was consumed as methane production was verified. It was observed that the microorganisms go through various phases, namely, cell growth, stationary phase and death. The shape of the cell growth curve depends on heterogeneity and ambient conditions, concentration and the types of substrates and microorganisms. The effective growth usually occurs with an exponential curve, followed by a latency phase, in which cell growth is stabilized for a while (MONOD, 1949). This scenario can be visualized briefly by the curves formed at the beginning of the experimental batch 1, and in the reactor R5, of the batch 2. At the other experimental groups of the batch 2 (Fig. 7 (b)) there was no latency phase. Soon after a brief cell growth, it declined heavily. This reduction is associated with the decrease of the pH value, as shown in Fig. 6 (b), which provided the inhospitable environment for cell biomass.



(a)



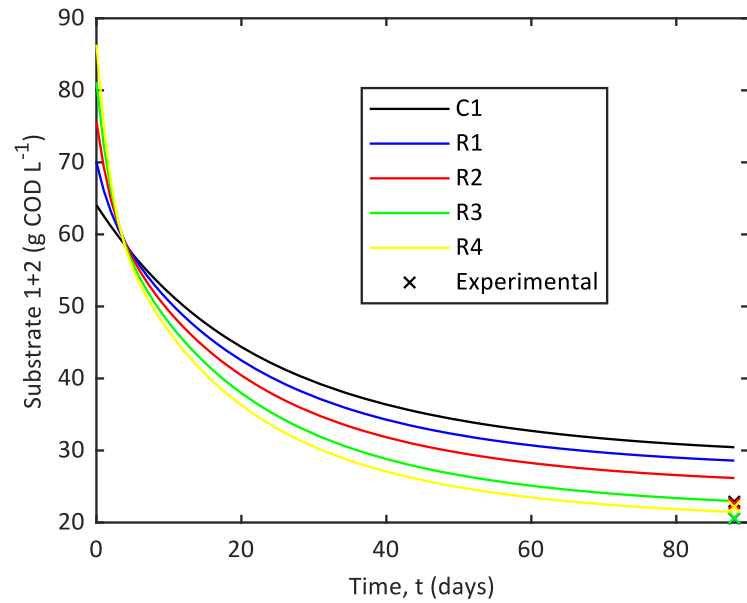
(b)

Figure 7 – Cell Biomass behavior: modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.

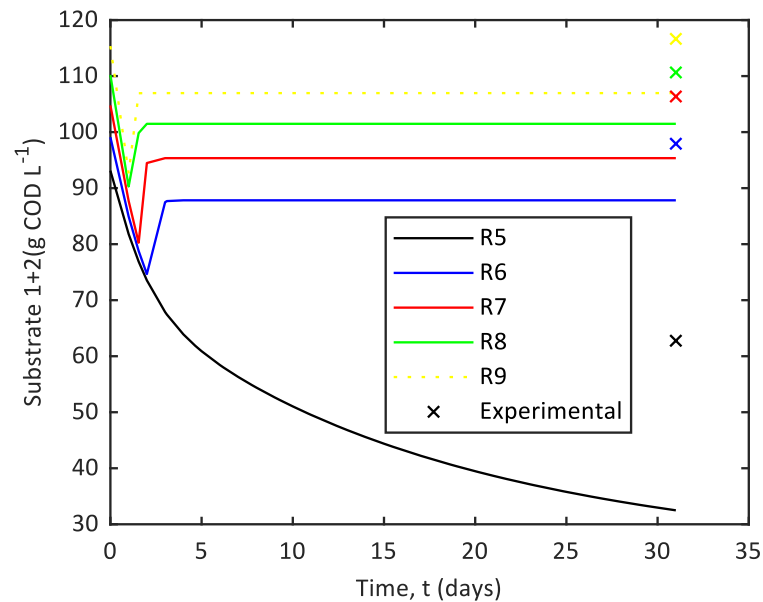
It was reported that if many nutrients are accumulated in the anaerobic digestion system, the pH value may change due to substrate degradation and generation of toxic substances. Thus, there is a reduction in the concentration of living cells, which can be attributed to changing concentrations of nutrients and inhibitors (KYTHREOTOU et al., 2014). This occurs during the hydrolysis stage in anaerobic digestion, causing cell death, referring to a limiting step in the process for the production of methane (LAUWERS et al., 2013). This way, the high production toxic substances as ions  $H^+$ , during degradation step of substrates, induced rapid cell death, inhibiting methane production in reactors with a high concentration of cassava bagasse. Context that was well described by the adjusted model, which previously illustrates this inhibition in the production of methane, in reactors R6, R7, R8 and R9 by Fig. 5 (b).

The behavior of substrates 1 and 2 represented by the adjusted model, in relation to the concentration of chemical oxygen demand, for batch 1 and 2, is illustrated in Fig. 8 (a) and (b), respectively. The experimental batch 1 was well described by the experimental and model data, indicating that the COD concentration of the substrates gradually decreased over the experimental time. In the end, the

experimental group R4 showed the greatest reduction in the COD concentration in relation to the other groups, according to data already presented in Table 6.



(a)



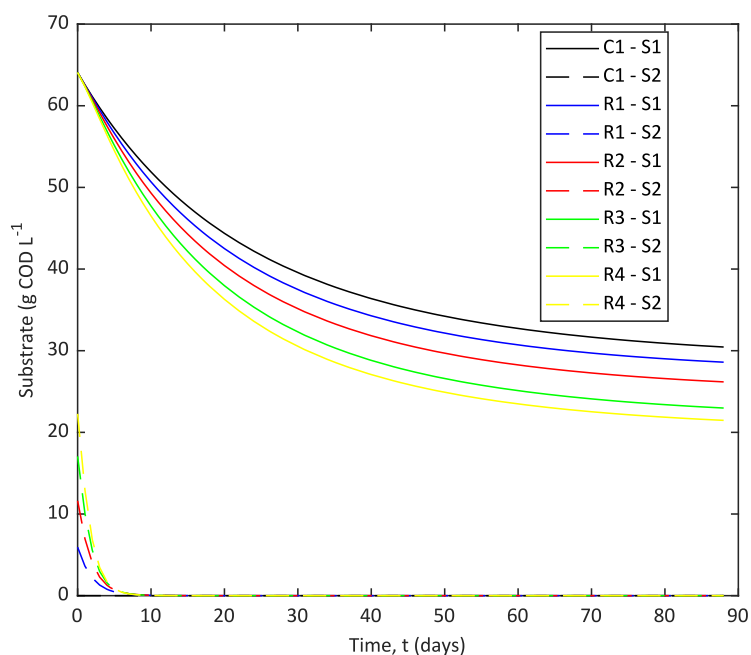
(b)

Figure 8 – Substrate S1 + S2 behavior: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.

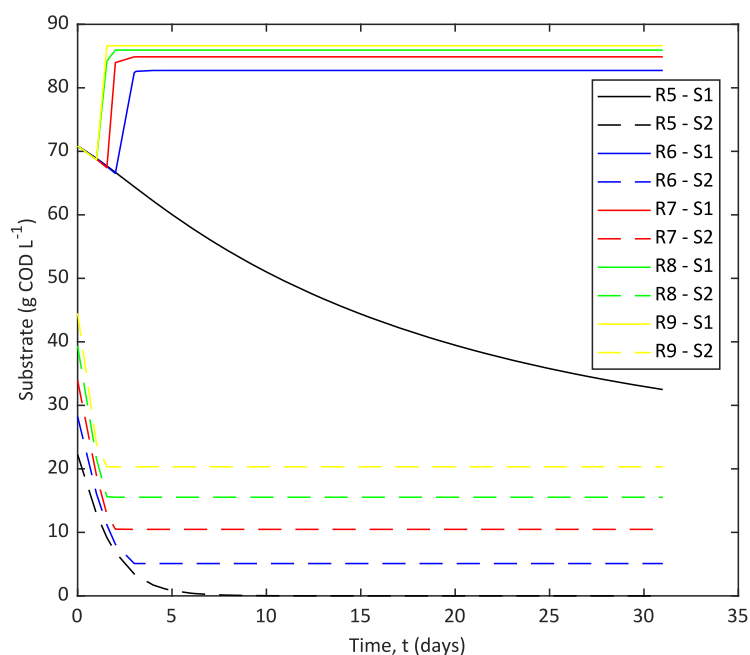
In experimental batch 2, same behavior was seen for reactor R5. But, for other reactors (R6, R7, R8 and R9) at the beginning there was a small decrease in the

substrates, but soon there was an evident increase in their concentration. This scenario was inversely proportional to that illustrated in Fig. 7 (b). This occurred, probably due to the decay of the biomass cell concentration, which was inactivated by the presence of toxic substances, which reduced the pH - leaving only concentration of substrates in biodigester. This behavior highlights the issue of system destabilization and cell death.

The behavior of the substrates individually for experimental batch 1 and 2, can be better visualized in Fig. 9 (a) and (b), respectively. Fig. 9 (a) indicates that the concentration of chemical oxygen demand of substrate 2, in batch 1, at the beginning, has completely consumed to the production of methane, reducing its concentration to zero. And the concentration of substrate 1 also decreased over time, but it was more gradual and not entirely. The Fig. 9 (b) shows the reduction over time of the substrate 2, in experimental batch 1, with all the COD concentration used by the R5 reactor. In addition, there is an increase in the concentration of substrate 1, illustrated by the raise in the curve that had already been seen in Fig. 8 (b). This increase in concentration refers to the higher presence of substrate 1, since active cell biomass was reduced because of the drastic reduction in pH (Fig. 6 (b)), leaving the environment inhospitable for microorganisms.



(a)



(b)

Figure 9 – Substrate S1 and S2 behavior individually: experimental and modelling results. (a) experimental batch 1; (b) experimental batch 2.

This inhibition of the process behavior by cell death due to acid failure can be clearly visualized by simulations, which indicates the consistency of the model employed. At an experiment study, it was verified that low pH conditions in the reactor accelerated the decay of methanogenic biomass. When the experiments were tested at pH 5.1, a cell death of approximately 90% of archaeal biomass took place, leading to complete failure of the system (acidic failure). Thus, the results indicated that the microorganisms are easily inactivated under low pH environmental (SUN et al., 2020).

According to exposed results, in general the methane production of swine manure and cassava bagasse was greater in buffered experiments (experimental batch 1 and 2) when compared to the non-buffered acid conditions (preliminary experiment). Showing that the pH has a strong impact on the functioning of the system. Zhang et al. (2015) reported that pH has a very significant effect on the anaerobic co-digestion and optimal yields could be obtained by optimizing conditions of the manure, co-substrate ratio and pH. Furthermore, at another study, the stabilization of the cassava starch wastewater pH favored the process of methane production, heightening the accumulated production by 27.6% (ANDRADE et al.,

2020). In addition, it was observed at AD study of vegetable and salad waste, that biogas production was stimulated in the buffered reactor, promoting also higher removal of VS and COD (BOLAJI; DIONISI, 2017). Different studies have shown that pH is a key factor, which affects the performance of the AD process (ALMOMANI; BHOSALE, 2020; KAINTHOLA et al., 2019; WU et al., 2020).

Therefore, this context indicates the need for pH control at AcoD with CB, considering its low self-buffering capacity, which possibly contributed to the excessive accumulation of ions  $H^+$ , the decline of living cell biomass and subsequently affect the performance of methane production. However, the results presented in this research demonstrated that agro-industrial residues as cassava bagasse can be treated by means of co-digestion with swine manure with pH control, potentiating increasing the methane production. Therefore, the use SM and CB at AcoD can be considered as a sustainable and interesting alternative for the management and valorization of this residues, furthermore product bioenergy and reduce their environmental impacts.

#### 4.6 CONCLUSIONS

This study showed that addition of CB as co-substrate can increase cumulative methane production at 48.6% compared to control group (using just swine manure) until addition of 16.87 g/L of TS. However, further increasing CB could failure the AcoD performance remarkably due to accumulation of fatty acids which possibly impaired the cumulative methane production. This scenario showed that the buffering solution addition at the begging of the process was not enough to prevent the pH reduction for higher contents of cassava bagasse. Moreover, the first order specific growth rate with model structure 1, and linear buffering capacity behavior from substrate cassava bagasse, with high determination coefficients, was selected to best described the anaerobic co-digestion of SM and CB. This best model described well the phenomenon of inhibition visualized by the drop in pH, in reactors with a high concentration of cassava bagasse, which reflected in the inactivation of cellular biomass and low methane production. Finally, the results of this study suggest that control strategies for a good pH management over the time to alleviating acid inhibition should be taken during AcoD.

## 5 CONSIDERAÇÕES E PERSPECTIVAS

Este estudo foi realizado para avaliar o desempenho da co-digestão anaeróbia (Co-DA) de dejetos de suínos (DS) e bagaço de mandioca (CB) e seu potencial de produção de metano. A partir de testes preliminares, foi avaliado que, devido a grande quantidade de matéria orgânica biodegradável do bagaço de mandioca empregado, ocorreu uma rápida acidificação do sistema promovida possivelmente pela alta produção de ácidos graxos. Diante disso, foi definido o ajuste do pH inicial nos reatores, por meio da adição de uma solução tamponante de carbonato de sódio, para os conjuntos experimentais de biodigestão anaeróbia subsequentes. Para isso, foram realizados dois conjuntos experimentais mantendo constante o volume do inóculo/ substrato principal (dejetos de suínos), com adição de crescentes concentrações de sólidos totais (4,50 – 16,87 g/L – Batelada 1; 16,87 - 33,72 g/L – Batelada 2) do cosubstrato (bagaço de mandioca).

Os resultados experimentais dos dois conjuntos experimentais realizados apontaram que a adição de CB pode aumentar a produção cumulativa de metano em até 48,6% em relação ao grupo Controle (utilizando apenas DS). O resultado foi averiguado no grupo que apresentou a máxima produção cumulativa de metano (R4 – 16,87 g/L), com 21155 mL CH<sub>4</sub>/L reactor. No entanto, nos reatores em que foram adicionadas maiores concentrações de CB, foi observado novamente uma redução no pH o que afetou notavelmente o desempenho da Co-DA. Este estudo indicou que a solução tamponante adicionada não foi suficiente para evitar o acúmulo de ácidos graxos em adições muito altas de CB. Em estudos futuros, sugere-se a viabilidade do emprego de soluções tamponantes para o controle de pH, em alguns momentos ao longo do tempo de operação do biorreator, para minimizar a inibição do sistema por ácidos graxos durante a Co-DA de dejetos de suínos e bagaço de mandioca.

Em relação aos resultados simulados, o modelo com a taxa de crescimento específica de primeira ordem resolvido com a estrutura do modelo 1 e a hipótese de capacidade tamponante linear do substrato 2 (bagaço de mandioca), foi o modelo mais adequado para descrever a cinética da produção cumulativa de metano nas diferentes condições experimentais empregadas. Esse melhor ajuste, com o modelo de estrutura 1 desenvolvido para este trabalho, apresentou elevados coeficientes de determinação, prevendo de forma inovadora e simplificada a Co-DA de dejetos de

suínos e bagaço de mandioca, por meio da etapa limitante do processo como sendo o crescimento celular e ainda, levando em consideração o comportamento do sistema sendo relacionado com a capacidade tamponante do sistema, conforme a geração de íons  $H^+$  pelo cosubstrato.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUDI, K.; ÁLVAREZ-GALLEGO, C. J.; ROMERO-GARCÍA, L. I. Evaluation of methane generation and process stability from anaerobic co-digestion of sugar beet by-product and cow manure. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 121, p. 566–572, 2016.

ABOUELENIEN, F.; NAMBA, Y.; KOSSEVA, M. R.; NISHIO, N.; NAKASHIMADA, Y. Enhancement of methane production from co-digestion of chicken manure with agricultural wastes. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 80–87, 2014.

ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K.; PARK, H.; CHOI, O.; SINDHU, R.; PARAMESWARAN, B.; PANDEY, A.; PARK, J. H.; SANG, B. I. Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 301, p. 122725, 2020.

ALMOMANI, F.; BHOSALE, R. R. Enhancing the production of biogas through anaerobic co-digestion of agricultural waste and chemical pre-treatments. **Chemosphere**, v. 255, p. 126805, 2020.

ANDRADE, L. R. S.; CRUZ, I. A.; DE MELO, L.; VILAR, D. DA S.; FUESS, L. T.; REIS E SILVA, G.; SILVA MANHÃES, V. M.; TORRES, N. H.; SORIANO, R. N.; BHARAGAVA, R. N.; ROMANHOLO FERREIRA, L. F.; FIGUEIREDO, R. T. Oyster shell-based alkalization and photocatalytic removal of cyanide as low-cost stabilization approaches for enhanced biogas production from cassava starch wastewater. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 139, p. 47–59, 2020.

APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **APHA**, n. twenty-first ed., Washington, 2005.

ARIAS, D. E.; VELUCHAMY, C.; DUNFIELD, K. E.; HABASH, M. B.; GILROYED, B. H. Hygienization and microbial metabolic adaptation during anaerobic co-digestion of swine manure and corn stover. **Bioresource Technology**, v. 306, p. 123168, 2020.

ARTHURSON, V. Closing the global energy and nutrient cycles through application of biogas residue to agricultural land - potential benefits and drawbacks. **Energies**, v. 2, p. 226–242, 2009.

ASTALS, S.; ARISO, M.; GALÍ, A.; MATA-ALVAREZ, J. Co-digestion of pig manure

and glycerine: Experimental and modelling study. **Journal of Environmental Management**, v. 92, p. 1091–1096, 2011.

ASTALS, S.; MUSENZE, R. S.; BAI, X.; TANNOCK, S.; TAIT, S.; PRATT, S.; JENSEN, P. D. Anaerobic co-digestion of pig manure and algae: Impact of intracellular algal products recovery on co-digestion performance. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 97–104, 2015.

AWOSUSI, A.; SETHUNYA, V.; MATAMBO, T. Synergistic effect of anaerobic co-digestion of South African food waste with cow manure: Role of low density-polyethylene in process modulation. **Materials Today: Proceedings**, v. 38, p. 793–803, 2020.

AZIZ, N. I. H. A.; HANAFIAH, M. M. Life cycle analysis of biogas production from anaerobic digestion of palm oil mill effluent. **Renewable Energy**, v. 145, p. 847–857, 2020.

BAKER, B. R.; MOHAMED, R.; AL-GHEETHI, A.; AZIZ, H. A. Advanced technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A systematic review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, p. 1–20, 2020.

BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIDAKI, I.; KALYUZHNYI, S. V.; PAVLOSTATHIS, S. G.; ROZZI, A.; SANDERS, W. T. M.; SIEGRIST, H.; VAVILIN, V. A. **Anaerobic Digestion Model N°1**. Scientific ed. IWA Publishing, 2002a.

BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIDAKI, I.; KALYUZHNYI, S. V.; PAVLOSTATHIS, S. G.; ROZZI, A.; SANDERS, W. T. M.; SIEGRIST, H.; VAVILIN, V. A. Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). **Water Science and Technology**, v. 45, p. 65–73, 2002b.

BEBA, A.; ATALAY, F. S. Mathematical models for methane production in batch fermenters. **Biomass**, v. 11, p. 173–184, 1986.

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**, v. 213, p. 700–709, 2019.

BOLAJI, I. O.; DIONISI, D. Acidogenic fermentation of vegetable and salad waste for chemicals production: Effect of pH buffer and retention time. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, p. 5933–5943, 2017.

- BONCZ, M. A.; FORMAGINI, E. L.; SANTOS, L. D. S.; MARQUES, R. D.; PAULO, P. L. Application of urea dosing for alkalinity supply during anaerobic digestion of vinasse. **Water Science and Technology**, v. 66, p. 2453–2460, 2012.
- CAO, L.; KEENER, H.; HUANG, Z.; LIU, Y.; RUAN, R.; XU, F. Effects of temperature and inoculation ratio on methane production and nutrient solubility of swine manure anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 299, p. 122552, 2020.
- CHAGANTI, S. R.; KIM, D. H.; LALMAN, J. A. Flux balance analysis of mixed anaerobic microbial communities: Effects of linoleic acid (LA) and pH on biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 14141–14152, 2011.
- CHANDRA, B.; ROSARIA, M.; FRUNZO, L.; HULLEBUSCH, E. D. VAN; ESPOSITO, G. Bioresource Technology ADM1 based mathematical model of trace element complexation in anaerobic digestion processes. **Bioresource Technology**, v. 276, p. 253–259, 2019.
- CHANDRA, R.; TAKEUCHI, H.; HASEGAWA, T. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 1462–1476, 2012.
- CHAVADEJ, S.; WANGMOR, T.; MAITRIWONG, K.; CHAICHIRAWIWAT, P.; RANGSUNVIGIT, P.; INTANOO, P. Separate production of hydrogen and methane from cassava wastewater with added cassava residue under a thermophilic temperature in relation to digestibility. **Journal of Biotechnology**, v. 291, p. 61–71, 2019.
- CHEN, C.; ZHENG, D.; LIU, G. J.; DENG, L. W.; LONG, Y.; FAN, Z. H. Continuous dry fermentation of swine manure for biogas production. **Waste Management**, v. 38, p. 436–442, 2015.
- CHEN, J. L.; ORTIZ, R.; STEELE, T. W. J.; STUCKEY, D. C. Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 1523–1534, 2014.
- CHEN, L.; CONG, R. G.; SHU, B.; MI, Z. F. A sustainable biogas model in China: The case study of Beijing Deqingyuan biogas project. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 78, p. 773–779, 2017.

- CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4044–4064, 2008.
- CHEN, Y. R. Kinetic analysis of anaerobic digestion of pig manure and its design implications. **Agricultural Wastes**, v. 8, p. 65–81, 1983.
- CHENG, J.; ZHU, C.; ZHU, J.; JING, X.; KONG, F.; ZHANG, C. Effects of waste rusted iron shavings on enhancing anaerobic digestion of food wastes and municipal sludge. **Journal of Cleaner Production**, v. 242, p. 118195, 2020.
- CHERNICHARO, C.A.L. **Anaerobic Reactors**. (first edition.), London UK: IWA Publishing, 2007.
- COLEMAN, T. F.; LI, Y. An interior trust region approach for nonlinear minimization subject to bounds. **SIAM Journal on Optimization**, v. 6, p. 418–445, 1996.
- CONTOIS, D. E. Kinetics of Bacterial Growth: Relationship between Population Density and Specific Growth Rate of Continuous Cultures. **Journal of General Microbiology**, v. 21, p. 40–50, 1959.
- CREMONEZ, P. A.; SAMPAIO, S. C.; TELEKEN, J. G.; WEISER MEIER, T.; DIETER, J.; TELEKEN, J. Influence of inoculum to substrate ratio on the anaerobic digestion of a cassava starch polymer. **Industrial Crops and Products**, v. 141, p. 111709, 2019.
- CREMONEZ, P. A.; SAMPAIO, S. C.; TELEKEN, J. G.; MEIER, T. W.; FRIGO, E. P.; DE ROSSI, E.; DA SILVA, E.; ROSA, D. M. Effect of substrate concentrations on methane and hydrogen biogas production by anaerobic digestion of a cassava starch-based polymer. **Industrial Crops and Products**, v. 151, p. 112471, 2020.
- DAHUNSI, S. O.; ORANUSI, S.; OWOLABI, J. B.; EFEOVBOKHAN, V. E. Mesophilic anaerobic co-digestion of poultry dropping and Carica papaya peels: Modelling and process parameter optimization study. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 587–600, 2016.
- DAS, D.; VARANASI, J. L.; DAS, D.; VARANASI, J. L. Biomethanation. In: **Fundamentals of Biofuel Production Processes**, p. 117–130, 2019.
- DEEPANRAJ, B.; SIVASUBRAMANIAN, V.; JAYARAJ, S. Experimental and kinetic study on anaerobic digestion of food waste: The effect of total solids and pH. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 7, p. 063104, 2015.
- DENNEHY, C.; LAWLOR, P. G.; CROIZE, T.; JIANG, Y.; MORRISON, L.;

- GARDINER, G. E.; ZHAN, X. Synergism and effect of high initial volatile fatty acid concentrations during food waste and pig manure anaerobic co-digestion. **Waste Management**, v. 56, p. 173–180, 2016.
- DONOSO-BRAVO, A.; MAILIER, J.; MARTIN, C.; RODRÍGUEZ, J.; ACEVES-LARA, C. A.; WOUWER, A. VANDE. Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: A review. **Water Research**, v. 45, p. 5347–5364, 2011.
- DU, X.; TAO, Y.; LI, H.; LIU, Y.; FENG, K. Synergistic methane production from the anaerobic co-digestion of *Spirulina platensis* with food waste and sewage sludge at high solid concentrations. **Renewable Energy**, v. 142, p. 55–61, 2019.
- EL-KAMAH, H.; TAWFIK, A.; MAHMOUD, M.; ABDEL-HALIM, H. Treatment of high strength wastewater from fruit juice industry using integrated anaerobic/aerobic system. **Desalination**, v. 253, p. 158–163, 2010.
- FAN, Y.; LEI, Z.; YANG, X.; KOBAYASHI, M.; ADACHI, Y.; ZHANG, Z.; SHIMIZU, K. Effect of nano-bubble water on high solid anaerobic digestion of pig manure: Focus on digestion stability, methanogenesis performance and related mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 315, p. 123793, 2020.
- FAO. Overview of global meat market developments in 2019. **Meat Market Review**, p. 1–11, 2020.
- FARGHALI, M.; MAYUMI, M.; SYO, K.; SATOSHI, A.; SEIICHI, Y.; TAKASHIMA, S.; ONO, H.; AP, Y.; YAMASHIRO, T.; AHMED, M. M.; KOTB, S.; IWASAKI, M.; IHARA, I.; UMETSU, K. Potential of biogas production from manure of dairy cattle fed on natural soil supplement rich in iron under batch and semi-continuous anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 309, p. 123298, 2020.
- FERRER, P.; CAMBRA-LÓPEZ, M.; CERISUELO, A.; PEÑARANDA, D. S.; MOSET, V. The use of agricultural substrates to improve methane yield in anaerobic co-digestion with pig slurry: Effect of substrate type and inclusion level. **Waste Management**, v. 34, p. 196–203, 2014.
- FONGARO, G.; VIANCELLI, A.; MAGRI, M. E.; ELMAHDY, E. M.; BIESUS, L. L.; KICH, J. D.; KUNZ, A.; BARARDI, C. R. M. Utility of specific biomarkers to assess safety of swine manure for biofertilizing purposes. **Science of the Total Environment**, v. 479, p. 277–283, 2014.
- GALÍ, A.; BENABDALLAH, T.; ASTALS, S.; MATA-ALVAREZ, J. Modified version of

- ADM1 model for agro-waste application. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2783–2790, 2009.
- GLANPRACHA, N.; ANNACHHATRE, A. P. Anaerobic co-digestion of cyanide containing cassava pulp with pig manure. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 112–121, 2016.
- GRASSI, M. C. B.; PEREIRA, G. A. G. Energy-cane and RenovaBio: Brazilian vectors to boost the development of Biofuels. **Industrial Crops and Products**, v. 129, 2018, p. 201–205, 2019.
- GRESES, S.; TOMÁS-PEJÓ, E.; GÓNZALEZ-FERNÁNDEZ, C. Agroindustrial waste as a resource for volatile fatty acids production via anaerobic fermentation. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122486, 2020.
- GUO, M.; SONG, W.; BUHAIN, J. Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 712–725, 2015.
- GUWY, A. J. Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 3, p. 131–139, 2004.
- 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**, v. 76, p. 1485–1496, 2017.
- HELENAS PERIN, J. K.; BIESDORF BORTH, P. L.; TORRECILHAS, A. R.; SANTANA DA CUNHA, L.; KURODA, E. K.; FERNANDES, F. Optimization of methane production parameters during anaerobic co-digestion of food waste and garden waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 272, p. 123130, 2020.
- HU, Y.; CHENG, H.; TAO, S. Environmental and human health challenges of industrial livestock and poultry farming in China and their mitigation. **Environment International**, v. 107, p. 111–130, 2017.
- HUANG, C.; XIONG, L.; GUO, H. J.; LI, H. L.; WANG, C.; CHEN, X. F.; ZHAO, C.; CHEN, X. DE. Anaerobic digestion of elephant grass hydrolysate: Biogas production, substrate metabolism and outlet effluent treatment. **Bioresource Technology**, v. 283, p. 191–197, 2019.
- HUSAIN, A. Mathematical models of the kinetics of anaerobic digestion - A selected review. **Biomass and Bioenergy**, v. 14, p. 561–571, 1998.

IEA. Analysis and forecast to 2024. **Renewables**, 2019.

IEA. The impacts of the Covid-19 crisis on global energy demand and CO<sub>2</sub> emissions. **Global Energy Review 2020**, p. 1–55, 2020.

ISIKGOR, F. H.; BECER, C. R. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers. **Polymer Chemistry**, v. 6, p. 4497–4559, 2015.

JENSEN, P. D.; ASTALS, S.; LU, Y.; DEVADAS, M.; BATSTONE, D. J. Anaerobic codigestion of sewage sludge and glycerol, focusing on process kinetics, microbial dynamics and sludge dewaterability. **Water Research**, v. 67, p. 355–366, 2014.

JIANG, Y.; DENNEHY, C.; LAWLOR, P. G.; HU, Z.; MCCABE, M.; CORMICAN, P.; ZHAN, X.; GARDINER, G. E. Inhibition of volatile fatty acids on methane production kinetics during dry co-digestion of food waste and pig manure. **Waste Management**, v. 79, p. 302–311, 2018.

JIMÉNEZ, J.; GUARDIA-PUEBLA, Y.; CISNEROS-ORTIZ, M. E.; MORGAN-SAGASTUME, J. M.; GUERRA, G.; NOYOLA, A. Optimization of the specific methanogenic activity during the anaerobic co-digestion of pig manure and rice straw, using industrial clay residues as inorganic additive. **Chemical Engineering Journal**, v. 259, p. 703–714, 2015.

JIN, W.; XU, X.; YANG, F.; LI, C.; ZHOU, M. Performance enhancement by rumen cultures in anaerobic co-digestion of corn straw with pig manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 115, p. 120–129, 2018.

KAFLE, G. K.; KIM, S. H. Anaerobic treatment of apple waste with swine manure for biogas production: Batch and continuous operation. **Applied Energy**, v. 103, p. 61–72, 2013.

KAINTHOLA, J.; KALAMDHAD, A. S.; GOUD, V. V. A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques. **Process Biochemistry**, v. 84, p. 81–90, 2019.

KAMYAB, B.; ZILOUEI, H. Investigating the efficiency of biogas production using modelling anaerobic digestion of baker's yeast wastewater on two-stage mixed-UASB reactor. **Fuel**, v. 285, p. 119198, 2021.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ANJUM, M.; MAHMOOD, T.; DAWSON, L. The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v. 31, p. 1737–1744, 2011.

- KUNZ, A.; MIELE, M.; STEINMETZ, R. L. R. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5485–5489, 2009.
- KYTHREOTOU, N.; FLORIDES, G.; TASSOU, S. A. A review of simple to scientific models for anaerobic digestion. **Renewable Energy**, v. 71, p. 701–714, 2014.
- LABATUT, R. A.; ANGENENT, L. T.; SCOTT, N. R. Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 2255–2264, 2011.
- LAUWERS, J.; APPELS, L.; THOMPSON, I. P.; DEGRÈVE, J.; VAN IMPE, J. F.; DEWIL, R. Mathematical modelling of anaerobic digestion of biomass and waste: Power and limitations. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 39, p. 383–402, 2013.
- LAVERGNE, C.; BOVIO-WINKLER, P.; ETCHEBEHERE, C.; GARCÍA-GEN, S. Towards centralized biogas plants: Co-digestion of sewage sludge and pig manure maintains process performance and active microbiome diversity. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122442, 2020.
- LEE, E.; CUMBERBATCH, J.; WANG, M.; ZHANG, Q. Kinetic parameter estimation model for anaerobic co-digestion of waste activated sludge and microalgae. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 9–17, 2017.
- LI, B.; DINKLER, K.; ZHAO, N.; SOBHI, M.; MERKLE, W.; LIU, S.; DONG, R.; OECHSNER, H.; GUO, J. Influence of anaerobic digestion on the labile phosphorus in pig, chicken, and dairy manure. **Science of the Total Environment**, v. 737, p. 140234, 2020.
- LI, D.; LIU, S.; MI, L.; LI, Z.; YUAN, Y.; YAN, Z.; LIU, X. Effects of feedstock ratio and organic loading rate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and cow manure. **Bioresource Technology**, v. 189, p. 319–326, 2015.
- LI, K.; LIU, R.; CUI, S.; YU, Q.; MA, R. Anaerobic co-digestion of animal manures with corn stover or apple pulp for enhanced biogas production. **Renewable Energy**, v. 118, p. 335–342, 2018a.
- LI, K.; LIU, R.; SUN, C. Comparison of anaerobic digestion characteristics and kinetics of four livestock manures with different substrate concentrations. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 133–140, 2015.
- LI, Y.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C.; HE, Y.; LIU, X. Comparison of methane



production potential, biodegradability, and kinetics of different organic substrates. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 565–569, 2013.

LI, Y.; LU, J.; XU, F.; LI, Y.; LI, D.; WANG, G.; LI, S.; ZHANG, H.; WU, Y.; SHAH, A.; LI, G. Reactor performance and economic evaluation of anaerobic co-digestion of dairy manure with corn stover and tomato residues under liquid, hemi-solid, and solid state conditions. **Bioresource Technology**, v. 270, p. 103–112, 2018b.

LI, Y.; CHEN, Y.; WU, J. Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. **Applied Energy**, v. 240, p. 120–137, 2019.

LÜ, H.; ZHOU, J.; LIU, J.; LÜ, C.; LIAN, F.; LI, Y. Optimization of hydrothermal pretreatment for co-utilization of xylose and glucose of cassava anaerobic residue for producing ethanol. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 27, p. 920–927, 2019.

MA, H.; GUO, Y.; QIN, Y.; LI, Y. Y. Nutrient recovery technologies integrated with energy recovery by waste biomass anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 520–531, 2018.

MANJUSHA, C.; BEEVI, B. S. Mathematical Modeling and Simulation of Anaerobic Digestion of Solid Waste. **Procedia Technology**, v. 24, p. 654–660, 2016.

MAO, C.; FENG, Y.; WANG, X.; REN, G. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540–555, 2015.

MATA-ALVAREZ, J.; DOSTA, J.; MACÉ, S.; ASTALS, S. Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 31, p. 99–111, 2011.

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**, v. 36, p. 412–427, 2014.

MATEUS, S.; CARVALHEIRA, M.; CASSIDY, J.; FREITAS, E.; OEHMEN, A.; REIS, M. A. M. Two-stage anaerobic digestion system treating different seasonal fruit pulp wastes: Impact on biogas and hydrogen production and total energy recovery potential. **Biomass and Bioenergy**, v. 141, p. 105694, 2020.

MAZARELI, R. C. DA S.; DUDA, R. M.; LEITE, V. D.; OLIVEIRA, R. A. DE. Anaerobic co-digestion of vegetable waste and swine wastewater in high-rate horizontal

reactors with fixed bed. **Waste Management**, v. 52, p. 112–121, 2016.

MENDIETA, O.; CASTRO, L.; RODRÍGUEZ, J.; ESCALANTE, H. Synergistic effect of sugarcane scum as an accelerant co-substrate on anaerobic co-digestion with agricultural crop residues from non-centrifugal cane sugar agribusiness sector. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122957, 2020.

MENEZES LIMA, J. A.; CORREA MAGALHÃES FILHO, F. J.; CONSTANTINO, M.; FORMAGINI, E. L. Techno-economic and performance evaluation of energy production by anaerobic digestion in Brazil: bovine, swine and poultry slaughterhouse effluents. **Journal of Cleaner Production**, v. 277, p. 123332, 2020.

MINATO, K.; KOUDA, Y.; YAMAKAWA, M.; HARA, S.; TAMURA, T.; OSADA, T. Determination of GHG and ammonia emissions from stored dairy cattle slurry by using a floating dynamic chamber. **Animal Science Journal**, v. 84, p. 165–177, 2013.

MOMAYEZ, F.; KARIMI, K.; TAHERZADEH, M. J. Energy recovery from industrial crop wastes by dry anaerobic digestion: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 673–687, 2019.

MONOD, J. The growth of bacterial cultures. **Annual Reviews in M**, v. 3, p. 371–394, 1949.

MOSHI, A. P.; TEMU, S. G.; NGES, I. A.; MALMO, G.; HOSEA, K. M. M.; ELISANTE, E.; MATTIASSON, B. Combined production of bioethanol and biogas from peels of wild cassava *Manihot glaziovii*. **Chemical Engineering Journal**, v. 279, p. 297–306, 2015.

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**, v. 79, p. 308–322, 2017.

NEUMANN, P.; TORRES, A.; FERMOSO, F. G.; BORJA, R.; JEISON, D. Anaerobic co-digestion of lipid-spent microalgae with waste activated sludge and glycerol in batch mode. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 100, p. 85–88, 2015.

NIGAM, POONAM SINGH NEE'; PANDEY, A. **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation**, 2009.

- NING, J.; ZHOU, M.; PAN, X.; LI, C.; LV, N.; WANG, T.; CAI, G.; WANG, R.; LI, J.; ZHU, G. Simultaneous biogas and biogas slurry production from co-digestion of pig manure and corn straw: Performance optimization and microbial community shift. **Bioresource Technology**, v. 282, p. 37–47, 2019.
- OLIVEIRA, P. A. V. DE. Manual de manejo e utilização dos dejetos suínos. **Documentos / Embrapa**, p. 188, 1993.
- ORIVE, M.; CEBRIÁN, M.; ZUFÍA, J. Techno-economic anaerobic co-digestion feasibility study for two-phase olive oil mill pomace and pig slurry. **Renewable Energy**, v. 97, p. 532–540, 2016.
- PANICHNUMSIN, P.; NOPHARATANA, A.; AHRING, B.; CHAIPRASERT, P. Production of methane by co-digestion of cassava pulp with various concentrations of pig manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, p. 1117–1124, 2010.
- PANIGRAHI, S.; DUBEY, B. K. A critical review on operating parameters and strategies to improve the biogas yield from anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. **Renewable Energy**, v. 143, p. 779–797, 2019.
- PARMAR, A.; STURM, B.; HENSEL, O. Crops that feed the world: Production and improvement of cassava for food, feed, and industrial uses. **Food Security**, v. 9, p. 907–927, 2017.
- PAUDEL, S. R.; BANJARA, S. P.; CHOI, O. K.; PARK, K. Y.; KIM, Y. M.; LEE, J. W. Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1194–1205, 2017.
- PAVLOSTATHIS, S. G.; GIRALDO-GOMEZ, E. Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Control**, v. 21, p. 411–490, 1991.
- 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**, v. 102, p. 170–178, 2020.
- PRADHAN, P.; MAHAJANI, S. M.; ARORA, A. Production and utilization of fuel pellets from biomass: A review. **Fuel Processing Technology**, v. 181, p. 215–232, 2018.
- QIAN, X.; SHEN, G.; WANG, Z.; ZHANG, X.; CHEN, X.; TANG, Z.; LEI, Z.; ZHANG, Z. Enhancement of high solid anaerobic co-digestion of swine manure with rice straw pretreated by microwave and alkaline. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, p.

100208, 2019.

RAJBHANDARI, B. K.; ANNACHHATRE, A. P. Anaerobic ponds treatment of starch wastewater: Case study in Thailand. **Bioresource Technology**, v. 95, p. 135–143, 2004.

RAPOSO, F.; DE LA RUBIA, M. A.; FERNÁNDEZ-CEGRÍ, V.; BORJA, R. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 861–877, 2012.

RASAPOOR, M.; YOUNG, B.; BRAR, R.; SARMAH, A.; ZHUANG, W. Q.; BAROUTIAN, S. Recognizing the challenges of anaerobic digestion: Critical steps toward improving biogas generation. **Fuel**, v. 261, p. 116497, 2020.

REN, J.; YUAN, X.; LI, J.; MA, X.; ZHAO, Y.; ZHU, W.; WANG, X.; CUI, Z. Performance and microbial community dynamics in a two-phase anaerobic co-digestion system using cassava dregs and pig manure. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 342–351, 2014.

RISBERG, K.; CEDERLUND, H.; PELL, M.; ARTHURSON, V.; SCHNÜRER, A. Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. **Waste Management**, v. 61, p. 529–538, 2017.

SAGASTUME GUTIÉRREZ, A.; CABELLO ERAS, J. J.; HENS, L.; VANDECASTEELE, C. The energy potential of agriculture, agroindustrial, livestock, and slaughterhouse biomass wastes through direct combustion and anaerobic digestion. The case of Colombia. **Journal of Cleaner Production**, v. 269, 2020.

SAWATDEENARUNAT, C.; SURENDRA, K. C.; TAKARA, D.; OECHSNER, H.; KHANAL, S. K. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 178, p. 178–186, 2015.

SCHOMMER, V. A.; WENZEL, B. M.; DAROIT, D. J. Anaerobic co-digestion of swine manure and chicken feathers: Effects of manure maturation and microbial pretreatment of feathers on methane production. **Renewable Energy**, v. 152, p. 1284–1291, 2020.

SHAMPINE, L. F.; REICHELT, M. W. The MATLAB ode suite. **SIAM Journal of Scientific Computing**, v. 18, p. 1–22, 1997.

- SHEN, J.; ZHAO, C.; LIU, Y.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C. Biogas production from anaerobic co-digestion of durian shell with chicken, dairy, and pig manures. **Energy Conversion and Management**, v. 198, p. 110535, 2019.
- SIDDIQUE, M. N. I.; WAHID, Z. A. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 194, p. 359–371, 2018.
- SILVA, HAYNÁ H. L.; DOS SANTOS, LILIANA ANDRÉA OLIVEIRA, C. R. DE M.; PORTO, T. S.; JUCÁ, JOSÉ FERNANDO THOMÉ SANTOS, A. F. DE M. S. Determination of methane generation potential and evaluation of kinetic models in poultry wastes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 32, p. 101936, 2021.
- SLEPETIENE, A.; VOLUNGEVICIUS, J.; JURGUTIS, L.; LIAUDANSKIENE, I.; AMALEVICIUTE-VOLUNGE, K.; SLEPETYS, J.; CESEVICIENE, J. The potential of digestate as a biofertilizer in eroded soils of Lithuania. **Waste Management**, v. 102, p. 441–451, 2020.
- SOLÉ-BUNDÓ, M.; PASSOS, F.; ROMERO-GÜIZA, M. S.; FERRER, I.; ASTALS, S. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, p. 471–482, 2019.
- STALEY, B. F.; DE LOS REYES, F. L.; BARLAZ, M. A. Effect of spatial differences in microbial activity, pH, and substrate levels on methanogenesis initiation in refuse. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, p. 2381–2391, 2011.
- SUN, M.; LIU, B.; YANAGAWA, K.; HA, N. T.; GOEL, R.; TERASHIMA, M.; YASUI, H. Effects of low pH conditions on decay of methanogenic biomass. **Water Research**, v. 179, p. 115883, 2020.
- TIAN, H.; DUAN, N.; LIN, C.; LI, X.; ZHONG, M. Anaerobic co-digestion of kitchen waste and pig manure with different mixing ratios. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 120, p. 51–57, 2015.
- TOMEI, M. C.; BRAGUGLIA, C. M.; CENTO, G.; MININNI, G. Modeling of Anaerobic digestion of sludge. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 1003–1051, 2009.
- TULLO, E.; FINZI, A.; GUARINO, M. Review: Environmental impact of livestock farming and Precision Livestock Farming as a mitigation strategy. **Science of the Total Environment**, v. 650, p. 2751–2760, 2019.

VAN NGO, A.; NGUYEN, H. T.; VAN LE, C.; GOEL, R.; TERASHIMA, M.; YASUI, H. A dynamic simulation of methane fermentation process receiving heterogeneous food wastes and modelling acidic failure. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 18, p. 239–247, 2016.

VENKATA MOHAN, S.; SRIKANTH, S.; NIKHIL, G. N. Augmentation of bacterial homeostasis by regulating in situ buffer capacity: Significance of total dissolved salts over acidogenic metabolism. **Bioresource Technology**, v. 225, p. 34–39, 2017.

VERONEZE, M. L.; SCHWANTES, D.; GONÇALVES, A. C.; RICHART, A.; MANFRIN, J.; DA PAZ SCHILLER, A.; SCHUBA, T. B. Production of biogas and biofertilizer using anaerobic reactors with swine manure and glycerin doses. **Journal of Cleaner Production**, v. 213, p. 176–184, 2019.

WADJEAM, P.; REUNGSANG, A.; IMAI, T.; PLANGKLANG, P. Co-digestion of cassava starch wastewater with buffalo dung for bio-hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, p. 14694–14706, 2019.

WANG, B.; DONG, F.; CHEN, M.; ZHU, J.; TAN, J.; FU, X.; WANG, Y.; CHEN, S. Advances in Recycling and Utilization of Agricultural Wastes in China: Based on Environmental Risk, Crucial Pathways, Influencing Factors, Policy Mechanism. **Procedia Environmental Sciences**, v. 31, p. 12–17, 2016.

WANG, M.; ZHOU, J.; YUAN, Y. X.; DAI, Y. M.; LI, D.; LI, Z. D.; LIU, X. F.; ZHANG, X. Y.; YAN, Z. Y. Methane production characteristics and microbial community dynamics of mono-digestion and co-digestion using corn stalk and pig manure. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, p. 4893–4901, 2017.

WANG, W.; XIE, L.; CHEN, J.; LUO, G.; ZHOU, Q. Biohydrogen and methane production by co-digestion of cassava stillage and excess sludge under thermophilic condition. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3833–3839, 2011.

WANG, Z.; JIANG, Y.; WANG, S.; ZHANG, Y.; HU, Y.; HU, Z. HU; 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**, v. 114, p. 96–106, 2020.

WARD, A. J.; HOBBS, P. J.; HOLLIMAN, P. J.; JONES, D. L. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 7928–7940, 2008.

WEI, S.; ZHANG, H.; CAI, X.; XU, J.; FANG, J.; LIU, H. Psychrophilic anaerobic co-digestion of highland barley straw with two animal manures at high altitude for enhancing biogas production. **Energy Conversion and Management**, v. 88, p. 40–48, 2014.

WEIDE, T.; DUQUE, C.; SCHOMAKER, M.; BRÜGGING, E. Biomass and Bioenergy Effects of enzyme addition on biogas and methane yields in the batch anaerobic digestion of agricultural waste ( silage , straw , and animal manure ). **Biomass and Bioenergy**, v. 132, p. 105442, 2020.

WICKHAM, R.; GALWAY, B.; BUSTAMANTE, H.; NGHIEM, L. D. Biomethane potential evaluation of co-digestion of sewage sludge and organic wastes. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 113, p. 3–8, 2016.

WU, X.; TIAN, Z.; LV, Z.; CHEN, Z.; LIU, Y.; YONG, X.; ZHOU, J.; XIE, X.; JIA, H.; WEI, P. Effects of copper salts on performance, antibiotic resistance genes, and microbial community during thermophilic anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, v. 300, p. 122728, 2020.

XIAO, Y.; YANG, H.; YANG, H.; WANG, H.; ZHENG, D.; LIU, Y.; PU, X.; DENG, L. Improved biogas production of dry anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, v. 294, p. 122188, 2019.

XIE, S.; HAI, F. I.; ZHAN, X.; GUO, W.; NGO, H. H.; PRICE, W. E.; NGHIEM, L. D. Anaerobic co-digestion: A critical review of mathematical modelling for performance optimization. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 498–512, 2016.

XU, H.; LI, Y.; HUA, D.; MU, H.; ZHAO, Y.; CHEN, G. Methane production from the anaerobic digestion of substrates from corn stover: Differences between the stem bark, stem pith, and leaves. **Science of the Total Environment**, v. 694, p. 133641, 2019.

YAN, B. H.; SELVAM, A.; XU, S. Y.; WONG, J. W. C. A novel way to utilize hydrogen and carbon dioxide in acidogenic reactor through homoacetogenesis. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 249–257, 2014.

YANG, L.; HUANG, Y.; ZHAO, M.; HUANG, Z.; MIAO, H.; XU, Z.; RUAN, W. Enhancing biogas generation performance from food wastes by high-solids thermophilic anaerobic digestion: Effect of pH adjustment. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 105, p. 153–159, 2015.

- YE, J.; LI, D.; SUN, Y.; WANG, G.; YUAN, Z.; ZHEN, F.; WANG, Y. Improved biogas production from rice straw by co-digestion with kitchen waste and pig manure. **Waste Management**, v. 33, p. 2653–2658, 2013.
- YU, Q.; SUN, C.; LIU, R.; YELLEZUOME, D.; ZHU, X.; BAI, R.; LIU, M.; SUN, M. Anaerobic co-digestion of corn stover and chicken manure using continuous stirred tank reactor: The effect of biochar addition and urea pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 319, p. 124197, 2021.
- YU, X.; ZHANG, C.; QIU, L.; YAO, Y.; SUN, G.; GUO, X. Anaerobic digestion of swine manure using aqueous pyrolysis liquid as an additive. **Renewable Energy**, v. 147, p. 2484–2493, 2020.
- YUN, T.; PANG, B.; LU, J.; LV, Y.; CHENG, Y.; WANG, H. Study on the derivation of cassava residue and its application in surface sizing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 80–84, 2019.
- ZHANG, J.; WANG, Z.; WANG, Y.; ZHONG, H.; SUI, Q.; ZHANG, C.; WEI, Y. Effects of graphene oxide on the performance, microbial community dynamics and antibiotic resistance genes reduction during anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 850–859, 2017.
- ZHANG, Q.; HE, J.; TIAN, M.; MAO, Z.; TANG, L.; ZHANG, J.; ZHANG, H. Bioresource Technology Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8899–8906, 2011.
- ZHANG, T.; MAO, C.; ZHAI, N.; WANG, X.; YANG, G. Influence of initial pH on thermophilic anaerobic co-digestion of swine manure and maize stalk. **Waste Management**, v. 35, p. 119–126, 2015.
- ZHAO, W.; JEANNE HUANG, J.; HUA, B.; HUANG, Z.; DROSTE, R. L.; CHEN, L.; WANG, B.; YANG, C.; YANG, S. A new strategy to recover from volatile fatty acid inhibition in anaerobic digestion by photosynthetic bacteria. **Bioresource Technology**, v. 311, p. 123501, 2020.
- ZHOU, C.-H.; XIA, X.; LIN, C.-X.; TONG, D.-S.; BELTRAMINI, J. Catalytic conversion of lignocellulosic biomass to fine chemicals and fuels. **Chemical Society reviews**, v. 40, p. 5588–617, 2011.
- ZHOU, M.; YAN, B.; WONG, J. W. C.; ZHANG, Y. Enhanced volatile fatty acids



production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 68–78, 2018.

ZOU, H.; CHEN, Y.; SHI, J.; ZHAO, T.; YU, Q.; YU, S.; SHI, D.; CHAI, H.; GU, L.; HE, Q.; AI, H. Mesophilic anaerobic co-digestion of residual sludge with different lignocellulosic wastes in the batch digester. **Bioresource Technology**, v. 268, p. 371–381, 2018.

ZOU, Y.; DU, F.; HU, Q.; YUAN, X.; DAI, D.; ZHU, M. Bioresource Technology Integration of *Pleurotus tuoliensis* cultivation and biogas production for utilization of lignocellulosic biomass as well as its benefit evaluation. **Bioresource Technology**, v. 317, p. 124042, 2020.

## APÊNDICES/ APPENDIX

### Appendix A: Kinetic rate expressions and coefficients in Peterson matrix form

**Table A.1.** Peterson matrix for kinetic rate expressions and coefficients of model Scheme 1 (of Fig. 4 (b))

Transformation (j)		Compounds and stoichiometric coefficients						Rate of transformations	
j	Name	Reaction	X	S1	S2	CH <sub>4</sub>	H <sub>r</sub> <sup>+</sup>		H <sup>+</sup>
1	Cell growth by consumption of substrate 1 (R1)	$Y_{S1/X} [S1] \xrightarrow{X} [X] + Y_{CH_4/S1} Y_{S1/X} [CH_4]$	1	-Y <sub>S1/X</sub>	0	$Y_{CH_4/S1} \cdot Y_{S1/X}$	0	0	$r_1 = \mu_{S1} C_X$
2	Cell growth by consumption of substrate 2 (R2)	$Y_{S2/X} [S2] \xrightarrow{X} [X] + Y_{H_r^+/S2} Y_{S2/X} [H_r^+] + Y_{CH_4/S2} Y_{S2/X} [CH_4]$	1	0	-Y <sub>S2/X</sub>	$Y_{CH_4/S2} \cdot Y_{S2/X}$	$Y_{H_r^+/S2} \cdot Y_{S2/X}$	0	$r_2 = \mu_{S2} C_X$
3	Cells dead (R3)	$[X] \xrightarrow{H^+} [S1]$	-1	1	0	0	0	0	$r_3 = k_d C_{H^+} C_X$
4	Buffer effect (R4)	$[B] \xrightarrow{H_r^+} \begin{cases} \rightarrow [B \cdot H_r^+] & \text{when } C_{H_r^+} < C_{B0} \\ \rightarrow [H^+] & \text{when } C_{H_r^+} \geq C_{B0} \end{cases}$	0	0	0	0	0	1	$r_4 = Y_{H_r^+/S2} Y_{S2/X} r_2 \cdot H(C_{H_r^+} - C_{B0})$

**Table A.2.** Peterson matrix for kinetic rate expressions and coefficients of model Scheme 2 (of Fig. 4 (c))

Transformation (j)			Compounds and stoichiometric coefficients						Rate of transformations	
j	Name	Reaction	X	PS1	PS2	CH <sub>4</sub>	H <sub>r</sub> <sup>+</sup>	H <sup>+</sup>	SS	
1	Hydrolysis of particulate substrate 1 (R5)	$[PS1] \xrightarrow{X} Y_{SS/PS1} [SS]$	0	-1	0	0	0	0	$Y_{SS/PS1}$	$r_1 = k_{PS1} C_{PS1} C_X$
2	Hydrolysis of particulate substrate 2 (R6)	$[PS2] \xrightarrow{X} Y_{SS/PS2} [SS] + Y_{H_r^+/PS2} [H_r^+]$	0	0	-1	0	$Y_{H_r^+/PS2}$	0	$Y_{SS/PS2}$	$r_2 = k_{PS2} C_{PS2} C_X$
3	Cell growth by soluble substrate consumption (R7)	$Y_{SS/X} [SS] \xrightarrow{X} [X] + Y_{CH_4/SS} Y_{SS/X} [CH_4]$	1	0	0	$Y_{CH_4/SS} \cdot Y_{SS/X}$	0	0	$-Y_{SS/X}$	$r_3 = \mu_{SS} C_X$
4	Cells dead (R8)	$[X] \xrightarrow{H^+} [PS1]$	-1	1	0	0	0	0	0	$r_4 = k_d C_{H^+} C_X$
5	Buffer effect (R9)	$[B] \xrightarrow{H_r^+} \begin{cases} \rightarrow [B \cdot H_r^+] & \text{when } C_{H_r^+} < C_{B0} \\ \rightarrow [H^+] & \text{when } C_{H_r^+} \geq C_{B0} \end{cases}$	0	0	0	0	0	1	0	$r_5 = Y_{H_r^+/PS2} r_2 \cdot H \langle C_{H_r^+} - C_{B0} \rangle$

**Table A.3.** System of ordinary differential equations to solve for obtainment of dynamic behavior of the compounds involved in models' structures.

Model Structure 1	Model Structure 2
$\frac{dC_X}{dt} = r_X = (\mu_{S1} + \mu_{S2} - k_t C_{H^+}) C_X$	$\frac{dC_X}{dt} = r_X = (\mu_{SS} - k_t C_{H^+}) C_X$
$\frac{dC_{S1}}{dt} = r_{S1} = (-Y_{S1/X} \mu_{S1} + k_d C_{H^+}) C_X$	$\frac{dC_{PS1}}{dt} = r_{PS1} = (-k_{PS1} C_{PS1} + k_d C_{H^+}) C_X$
$\frac{dC_{S2}}{dt} = r_{S2} = -Y_{S2/X} \mu_{S2} C_X$	$\frac{dC_{PS2}}{dt} = r_{PS2} = -k_{PS2} C_{PS2} C_X$
$\frac{dV_{CH_4}}{dt} = r_{CH_4} = (Y_{CH_4/S1} Y_{S1/X} \mu_{S1} + Y_{CH_4/S2} Y_{S2/X} \mu_{S2}) C_X$	$\frac{dV_{CH_4}}{dt} = r_{CH_4} = Y_{CH_4/SS} Y_{SS/X} \mu_{SS} C_X$
$\frac{dC_{H_r^+}}{dt} = r_{H_r^+} = Y_{H_r^+/S2} Y_{S2/X} \mu_{S2} C_X$	$\frac{dC_{H_r^+}}{dt} = r_{H_r^+} = Y_{H_r^+/PS2} k_2 C_{PS2} C_X$
$\frac{dC_{H^+}}{dt} = r_{H^+} = Y_{H_r^+/S2} Y_{S2/X} \mu_{S2} C_X \cdot H\langle C_{H_r^+} - C_{B0} \rangle$	$\frac{dC_{H^+}}{dt} = r_{H^+} = Y_{H_r^+/PS2} k_{PS2} C_{PS2} C_X \cdot H\langle C_{H_r^+} - C_{B0} \rangle$
	$\frac{dC_{SS}}{dt} = r_{SS} = (k_{PS1} C_{PS1} + k_{PS2} C_{PS2}) C_X$