

III-407 – ESTUDO DA VINHAÇA TRATADA COMO INÓCULO ALTERNATIVO PARA BIODIGESTÃO ANAERÓBICA DO BAGAÇO DE CANA

Liliana Andréa dos Santos⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Mestre em Engenharia Ambiental pela UFRPE. Doutoranda em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Rebeca Beltrão Valença⁽²⁾

Bióloga com ênfase em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestranda em Engenharia Civil pela UFPE.

André Felipe de Melo Sales Santos⁽³⁾

Engenheiro Químico pela UFPE, Mestre em Engenharia Civil pela UFPE, Doutor em Engenharia Civil pela UFPE, Pós-Doutor em Engenharia Química pela UFPE. Professor Adjunto do Departamento de Engenharia de Alimentos da UFRPE.

Maurício Alves da Motta Sobrinho⁽⁴⁾

Engenheiro Químico pela Universidade Católica de Pernambuco. Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Campina Grande. Doutor em Engenharia de Processos pelo Institut National Polytechnique de Lorraine. Professor adjunto do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco.

José Fernando Thomé Jucá⁽⁵⁾

Engenheiro Civil pela UFPE, Mestre em Geotecnia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Doutor pela Universidad Politécnica de Madrid, Pós-doutor pela Universidade de São Paulo (USP). Professor permanente do Departamento de Engenharia Civil.

Endereço⁽¹⁾: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE - CEP: 50670-901- Tel: (81) 21267215 - e-mail:liliana.andrea.santos@gmail.com

RESUMO

A indústria sucroalcooleira possui destaque na economia brasileira, sendo responsável, entretanto, pela geração de elevadas quantidades de efluentes líquidos, resíduos e emissões em sua cadeia produtiva. Estes subprodutos não devem ser destinados sem o devido tratamento no meio ambiente, devido seu alto poder poluidor e grandes quantidades produzidas. Entre subprodutos produzidos pela indústria sucroalcooleira destacam-se o bagaço de cana e a vinhaça. A vinhaça é um efluente líquido, de alta carga orgânica, marrom-escura e característica ácida. O bagaço de cana é um resíduo lignocelulósico, pouco degradável. A biodigestão anaeróbia é uma alternativa para bioestabilizar esses resíduos, além de produzir biogás e biofertilizante. O objetivo desse trabalho foi avaliar o uso da vinhaça tratada anaerobicamente como inóculo alternativo para uso na biodigestão anaeróbia em fase sólida de bagaço de cana, visando à produção de biogás. Foram realizados ensaios de caracterização físico-química da vinhaça tratada, bruta e do bagaço de cana e ensaios de potencial bioquímico de metano (BMP), para avaliar a capacidade de biodegradação de bagaço de cana através da geração de biogás e metano (CH₄) em condição mesofílica. O resultado obtido para a percentagem de Sólidos Totais Voláteis (STV) do bagaço de cana foi de 95,83%, indicando elevada concentração matéria orgânica, o pH do bagaço de cana in natura (B) e da vinhaça bruta (V) e das configurações B+H₂O, V1, B+V1, antes e depois da biodigestão apresentaram pH na faixa ácida, enquanto que o pH da vinhaça tratada e os ensaios B + V2, V1 e V2, antes da digestão foram dentro da faixa ótima da metanogênese. As triplicatas com B+V2 não mantiveram o pH dentro da faixa ótima. Em termos de geração de biogás, o valor médio das configurações experimentais utilizadas nos ensaios BMP, o B+V2 apresentou o maior volume acumulado de biogás de 123,67 NmL, 3,4 vezes maior que o B+V1 com 36,34 NmL. A taxa máxima de geração de biogás foi 35,69 NmL obtida no 2º dia de experimento no ensaio B+V2. Os resultados da caracterização de biogás indicaram que apenas no ensaio B + V2, obteve-se metano em baixa concentração (7,92%). Conclui-se que a vinhaça tratada utilizada como alternativa de inóculo apresentou valores de pH dentro da faixa ótima para atividade metanogênica. O ensaio B+ V2 obteve um maior volume acumulado de biogás e uma taxa de geração diária quando comparado com as outras configurações experimentais. O seu uso como inóculo fraco favorece a economia de água e espera-se que ao longo da operação do biodigestor em fase sólida ocorra favorecimento de espécies aptas a biodegradar o bagaço.

PALAVRAS-CHAVE: Digestão anaeróbia, Biogás, Metano, Energia

INTRODUÇÃO

Brasil é líder mundial de cana-de-açúcar e seus subprodutos, tendo obtido na safra de 2016-2017 uma produção de 657,18 milhões de toneladas de cana de açúcar e gerou de 27,80 bilhões de litros de etanol. Nas usinas de açúcar e álcool são produzidas grandes quantidade de subprodutos sólidos, líquidos e gasosos, os quais não podem ser destinados diretamente (*in natura*) no meio ambiente, pois causam sérios problemas ambientais. Entre os resíduos produzidos destacam-se o bagaço de cana-de-açúcar, a torta de filtro e a vinhaça. Destacam-se a vinhaça e o bagaço de cana produzidos em grandes quantidades.

A vinhaça é um o resíduo resultante do processo de produção de etanol, que sobra após a destilação do caldo de cana-de-açúcar (mosto fermentado), para a obtenção do etanol. Para cada litro de etanol é produzido cerca de 12 litros de vinhaça (BELAI, 2006). É caracterizado como um efluente líquido marrom-escuro, altamente poluente ao meio ambiente, com elevada concentração de carga orgânica, pH ácido, alta concentração de potássio e odor forte. Devido a essas características e por apresentar um custo baixo, a vinhaça vem sendo utilizada na fertirrigação de áreas cultivadas com cana (BELAI, 2006).

Após passar por um processo de tratamento como a biodigestão anaeróbia, que remove carga orgânica, compostos orgânicos e nutrientes, a vinhaça tem seu pH alterado para a faixa de neutralidade, além de ser rica em microrganismos metanogênicos (BARROS et al., 2016). Dessa forma vinhaça tratada anaerobicamente pode ser utilizada como inóculo alternativo biodigestores anaeróbios para tratar resíduos da própria usina, como o bagaço de cana. Esta alternativa ainda favorece o reaproveitamento da água da vinhaça tratada e nutrientes residuais. Avaliando do ponto de vista microbiológico, os microrganismos presentes na vinhaça tratada anaerobicamente possuem os arsenais enzimáticos necessários para degradação de material mais complexo como o bagaço.

O bagaço de cana é um resíduo lignocelulósico, constituído por celulose, hemicelulose e lignina, ou seja, de difícil biodegradação. Para cada tonelada de cana processada são gerados cerca de 0,135 toneladas de bagaço, que representou na safra de 2016-2017, uma geração de 88,71 milhões de bagaço de cana (BRASIL, 2007).

A grande maioria das usinas sucroalcooleiras do Brasil realizam o aproveitamento energético de bagaço de cana através da co-geração, que consiste na queima do bagaço em caldeiras para geração de energia elétrica. Contudo, o rendimento energético na co-geração de energia é apenas 15-20%, além disso, nem todo bagaço é usado nas caldeiras, restando um excedente que pode ser utilizado na biodigestão anaeróbia.

A digestão anaeróbia é um processo de estabilização biológica da matéria orgânica por ação de diferentes de microrganismos que na ausência de oxigênio molecular, promovem a transformação de compostos orgânicos complexos em produtos mais simples, gerando biogás que é composto principalmente de metano e dióxido de carbono, que pode ser utilizando para produzir energia que pode suprir a demanda energética da usina, além de produzir biofertilizantes como produto final (CHERNICHARO, 2007; MOHANA et al., 2009).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o uso da vinhaça tratada anaerobicamente como inóculo alternativo para uso na biodigestão anaeróbia em fase sólida de bagaço de cana, visando à produção de biogás e economia de água.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção, coleta e preservação das amostras

O bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e a vinhaça bruta, utilizados foram obtidos da Usina JB S.A., empresa do Grupo JB, que produz álcool anidro, álcool hidratado e açúcar, localizada em Vitória de Santo Antão, Estado de Pernambuco. As amostras de vinhaça bruta foram obtidas diretamente da saída da torre de destilação e o bagaço após a moagem da cana diretamente na Usina JB.

A vinhaça tratada foi obtida da saída (efluente final) de um reator anaeróbio UASB, de 1000 m³, operado pela Cetrel Bioenergia, parceira da Usina JB num projeto de valorização energética e geração de energia da vinhaça, localizado ao lado da Usina JB.

As coletas das amostras de bagaço e vinhaças foram realizadas no mesmo dia. As vinhaças bruta e tratada foram acondicionadas em recipientes vedados de 5 L e mantidas sob refrigeração a temperatura de 19°C. As amostras do bagaço foram coletadas, armazenadas em saco de polietileno e lacradas, sendo armazenado a – 6°C. Antes da realização dos ensaios, o bagaço foi colocado em estufa a 65 °C até a estabilização da umidade, em seguida foi triturado em moinho de facas no Laboratório de Resíduos Sólidos do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco (GRS/DEC/UFPE), homogeneizado, peneirado e armazenado em temperatura ambiente (25 °C e 30 °C).

Caracterização das amostras

A caracterização físico-química das amostras (bagaço de cana, vinhaça bruta e tratada), foi realizada antes e após a realização dos ensaios de Potencial Bioquímico de Metano (BMP). Foram realizadas as seguintes determinações: umidade, sólidos totais (ST) e voláteis (STV), pH de acordo com as metodologias da Tabela 1.

Tabela1 - Caracterização físico-química do bagaço de cana

Parâmetro	Amostra	Metodologia	Equipamento
pH	Vinhaça bruta, Vinhaça Tratada, Bagaço	Potenciométrico	pHmetro Digimed DM23
ST, STF, STV e umidade	Bagaço de cana	WHO (1979)	Estufa e mufla

Ensaio do Potencial Bioquímico de Metano (Ensaio BMP)

O ensaios de potencial bioquímico de metano (BMP) avalia a capacidade de biodegradação de substratos sólidos ou líquidos através da geração de biogás e metano (CH₄) sob condições padrões de umidade, sólidos voláteis, pH e temperatura (FIRMO, 2013). A literatura apresenta a existência de diversas metodologias utilizáveis para o ensaio BMP. Neste trabalho, foram utilizadas adaptações das metodologias de Hansen et al. (2004) e Alves (2008).

Os reatores utilizados neste ensaio consistem em frascos de borossilicato de 250 mL, dotados de tampas de Nylon rosqueadas e de anéis de vedação em borracha. A tampa do reator possui duas válvulas-agulha, sendo uma para alívio da pressão do biogás produzido (durante o ensaio) ou para a inserção de N₂ (no início do ensaio) e outra onde fica instalado um manômetro mecânico de 1 kgf/cm² para medição da pressão do biogás produzindo no reator.

Os ensaios foram realizados em triplicatas. Em cada reator foi adicionado 5g de resíduo de bagaço *in natura* seco e triturado (B) e 50 mL de água destilada ou das vinhaças bruta (V1) e tratada (V2) de acordo com as configurações experimentais apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Configurações experimentais dos ensaios BMP

Configurações experimentais	Bagaço	Vinhaça bruta	Vinhaça tratada	Água destilada
B + H ₂ O	5 g	-	-	50 mL
V1	-	50 mL	-	-
V2	-	-	50 mL	-
B + V ₁	5 g	50 mL	-	-
B + V ₂	5 g	-	50 mL	-

Onde: B=bagaço bruto; V1=vinhaça bruta; V2=Vinhaça tratada

As configurações V1, V2, B+H₂O foram realizadas para avaliar, respectivamente, a produção de biogás dos substratos brutos, sem inoculação de microrganismos (brancos). A configuração B+V1 foi incluída para avaliar a interação do substrato com a vinhaça bruta (V1) e a B+V2, do bagaço com a vinhaça tratada (V2). A vinhaça tratada (V2), obtida na saída o reator anaeróbio UASB, apresenta grande quantidade de microrganismos (facultativos e anaeróbios) dispersos, sendo assim possível ser utilizada como um inóculo “fraco”, quando da não existência de outros mais adequados. Adicionalmente, o efluente do reator UASB do tratamento de vinhaça pode ser utilizado em reatores em fase sólida evitando gastos de água, geralmente da ordem de 40 a 50% em massa de bagaço adicionada, em digestores em fase sólida clássicos, reduzindo custos e otimizando o processo com menores prejuízos ambientais.

Depois de preenchidos, nas proporções indicadas na Tabela 2, os reatores BMP foram fechados, os manômetros retirados e foi realizada uma recirculação com nitrogênio gasoso (marca Linde de alta pureza) com as válvulas abertas por 2 minutos. O objetivo desse procedimento é expurgar o oxigênio existente no interior do headspace do reator proporcionando condições ambientais mais adequadas para a anaerobiose. Após a recirculação as válvulas de saída e entrada de gás foram fechadas, os manômetros reacoplados aos reatores mantendo-se uma pressão em todos os frascos da ordem de 0,2 Kgf/cm². Em seguida, os reatores foram incubados em estufa com temperatura controlada de 37° C. O monitoramento da pressão nos reatores foi realizado diariamente através da leitura da pressão interna indicada pelos manômetros dos reatores. A composição do biogás (CO₂ e CH₄) foi analisada por cromatografia gasosa utilizando um cromatógrafo a gás APPA GOLD, com detector de condutibilidade térmica (TCD), com uma coluna *Porapak "N"* que utiliza o H₂ como gás de arraste a uma temperatura do forno de 60°C. As medições foram realizadas ao 15º dia de transcorrido o experimento, mantendo a atmosfera do frasco do BMP nos dois últimos 2 dias antecedentes sem descarte para aumentar o volume de biogás disponível para a injeção. As análises físico-químicas e cromatográficas ocorreram no Laboratório do Grupo de Resíduos Sólidos (GRS) do Departamento de Engenharia Civil da UFPE.

Antes das amostras de biogás serem injetadas foi necessário realizar a calibração do cromatógrafo pela injeção de padrão de biogás conhecido, com composição de 60 % de CH₄ e 40% de CO₂. Assim, pode-se determinar a composição de biogás pela comparação da amostra padrão com a amostra injetada através do Sistema de Aquisição de Dados Cromatográficos N2000 Chromatostation.

RESULTADOS

O resultado obtido para a percentagem de Sólidos Totais Voláteis (STV) do bagaço de cana foi de 95, 83%, indicando elevada concentração matéria orgânica. A percentagem de STV é um parâmetro importante para determinar a quantidade de matéria orgânica, presente nos substratos, passíveis de biodegradação (FIRMO, 2013). Valores de sólidos voláteis abaixo de 20% indica substrato bioestabilizado (KELLY, 2002). Leite et al. (2015) e Paoli et al. (2011) obtiveram percentagens de sólidos voláteis de 97,84% e 97,20%, similares ao encontrado nesse trabalho.

O pH do bagaço de cana e da vinhaça bruta foram respectivamente 4,52 e 3,5. Esses valores foram similares aos encontrados por Leite et al. (2015) e Paoli (2011) que obtiveram pH entre 4,21 e 3,5, respectivamente para bagaço e vinhaça bruta, não estando na faixa mais adequada, podendo favorecer a etapa de hidrólise e acetogênese, mas interferindo na metanogênese, cuja faixa ideal está entre 6,5 e 7,6 (CHERNICHARO, 1997). O pH da vinhaça tratada antes da sua introdução nos reatores apresentou um valor de 7,68 considerado dentro da faixa ideal para a metanogênese.

Foram realizadas análises do pH dos ensaios para cada configuração e respectivas triplicatas antes e após o teste. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores de pH inicial e final nos ensaios de BMP

Configurações experimentais	pH inicial	pH final
(B+H ₂ O) ₁	4,92	4,05
(B+H ₂ O) ₂	4,68	4,32
(B+H ₂ O) ₃	4,68	4,16
Medias (B+H ₂ O)	4,8	4,2
(V1) ₁	3,54	3,52
(V1) ₂	3,55	3,44
(V1) ₃	3,55	3,46
Medias (V1)	3,5	3,5
(V2) ₁	7,45	8,1
(V2) ₂	7,49	8,05
(V2) ₃	7,53	8,14
Medias (V2)	7,5	8,1
(B+V1) ₁	3,5	3,75
(B+V1) ₂	3,53	3,68
(B+V1) ₃	3,56	3,74
Medias (B+V1)	3,5	3,7
(B+V2) ₁	7,15	4,95
(B+V2) ₂	7,13	4,87
(B+V2) ₃	7,16	5,15
Medias (B+V2)	7,1	5,0

Onde: números após os parênteses de cada configurações experimentais indicam as triplicatas respectivas

As configurações B+ H₂O, V1, B+V1, antes e depois da biodigestão apresentaram pH na faixa ácida, enquanto que nas configurações B+V2, V1 e V2, antes da digestão foram dentro da faixa ótima da metanogênese. Os valores de pH nas triplicatas dos reatores de V2, antes e o da digestão anaeróbia variaram de 6,89 a 7,26 e no final do experimento houve ligeira alcalinização. No final do experimento as triplicatas com B+V2 não mantiveram o pH dentro da faixa ótima para as bactérias metanogênicas(Tabela 3). Em termos de geração de biogás, considerando o valor médio das configurações experimentais utilizadas nos ensaios BMP, o B+V2 apresentou o maior volume acumulado de biogás de 123,67 NmL, 3,4 vezes maior que o B+V1 com 36,34 NmL. O volume acumulado de biogás de V1 e V2 foi similar, ou seja, não houve diferença significativa entre os brancos dos inóculos. A taxa máxima de geração de biogás foi 35,69NmL obtida no 2º dia de experimento no cenário B+V2 (Figura 1).

Tabela 4: Resultados da produção de biogás nos testes BMP

DIAS	Volume de biogás diário médio ¹ para cada configuração(Nml)				
	B+H ₂ O	V1	V2	B+V1	B+V2
0	0	0	0	0	0
1	1	3,82	3,82	1	35,7
2	2	7,65	7,65	2	83,5
3	3	7,65	8,29	3	91,8
4	4	10,84	13,39	4	95,6
5	5	12,11	13,39	5	95,6
6	6	12,11	13,39	6	95,6
7	7	12,75	13,39	7	95,6
8	8	13,39	13,39	8	95,6
9	9	13,39	14,02	9	97,5
10	10	13,39	14,02	10	97,5
11	11	14,66	15,3	11	98,8
12	12	15,94	15,3	12	100,1
13	13	15,94	15,3	13	100,1
14	14	17,85	17,21	14	106,5
15	15	18,49	17,21	15	107,7
16	16	18,49	17,85	16	107,7
17	17	18,49	17,85	17	108,4
18	18	18,49	18,49	18	109,6
19	19	19,12	19,12	19	111,6
20	20	20,4	21,67	20	111,6
21	21	20,4	22,95	21	114,1
22	22	21,67	22,95	22	114,1
23	23	22,31	23,59	23	116
24	24	22,31	23,59	24	116
25	25	22,31	23,59	25	119,2
26	26	22,31	24,22	26	121,1
27	27	23,59	24,22	27	123,7
28	28	23,59	24,22	28	123,7
29	29	23,59	24,22	29	123,7
Total acumulado (NmL)	29	23,59	24,22	29	123,7
Media diária total (Nml/dia)	1	0,8	0,8	1	4,3

¹ os resultados de cada configuração apresentados representam as medias aritméticas de cada triplicata

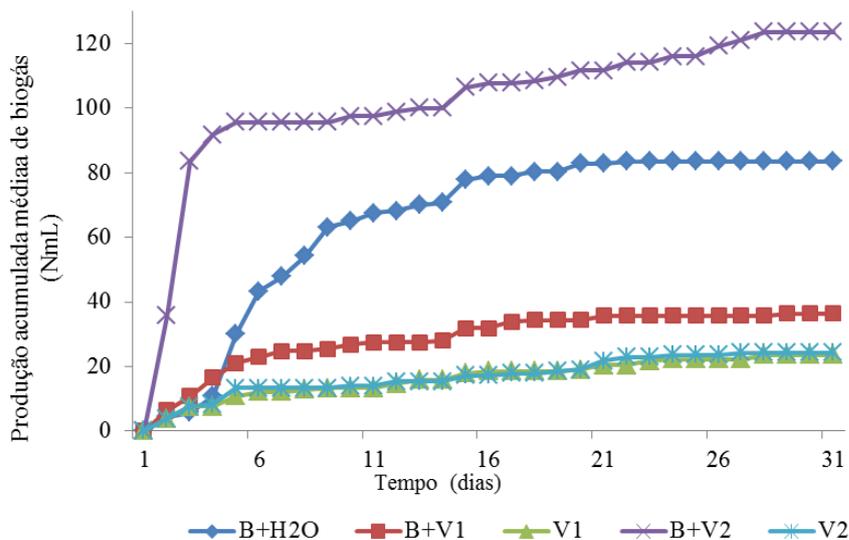


Figura 1: Volume acumulado de biogás (NmL) médio (triplicatas) nos ensaios BMP

Os resultados da caracterização de biogás indicaram que apenas no ensaio B+V2, obteve-se metano em baixíssima concentração (7,92%). Nos demais ensaios não se observou produção de metano, apenas de CO₂, indicando que houve remoção de carbono, mas não anaerobicamente. A baixa concentração de metano no biogás, no ensaio B+V2, indica que a vinhaça tratada é um inóculo fraco, que pode ser utilizado na biodigestão, na ausência de outros, mas com pouca efetividade nos primeiros 30 dias de operação do reator. Espera-se que com a operação, ao longo do tempo, haja uma concentração dos microrganismos anaeróbios, mais adaptados a biodigestão do bagaço, melhorando sua eficiência. Neste caso, para acelerar o processo, é recomendada a inoculação de lodos granulares de alta atividade metanogênica (AME). Deve-se destacar que no ensaio B+V2, o pH final caiu para faixa não adequada à metanogênese o que provavelmente interferiu no resultado. Destaca-se que neste ensaio não foram realizadas compensações de alcalinidade já que as metodologias utilizadas não preconizam isto, entretanto a adição de alcalinizante adequado poderia ter imprimido um efeito-tampão favorecendo a faixa manutenção do pH adequado na faixa da metanogênese e por conseguinte, um melhor resultado na característica do biogás. Deve-se destacar ainda que o bagaço é um substrato complexo, rico em material lignocelulósico, sendo por si só de difícil biodegradação podendo assim haver possibilidade de melhoria da produção de metano, caso sejam utilizados processo de pré-tratamento do mesmo (hidrólise, tratamento térmicos, etc), para facilitar a quebra das estruturas das fibras.

CONCLUSÕES

A vinhaça tratada utilizada como alternativa de inóculo apresentou valores de pH dentro da faixa ótima para atividade metanogênica.

O ensaio B+V2 obteve um maior volume acumulado de biogás e uma taxa de geração diária quando comparado com as outras configurações experimentais. A configuração de B+V2 obtivesse valores não satisfatórios para porcentagem de metano, indicado que o inóculo tem baixa atividade metanogênica devido baixa concentração de microrganismos. As condições de pH não foram adequadas à manutenção da metanogênese, observado pela queda do pH ao final nas 3 triplicatas desses ensaios. A adição de alcalinidade poderia compensar este efeito, favorecendo à metanogênese e a obtenção de um biogás com maior proporção de metano.

O bagaço de cana é um substrato lignocelulósico, ou seja, de difícil biodegradação. É possível que um pré tratamento adequado possa favorecer a relação substrato/inóculo para otimizar a produção de biogás e metano. Utilizar inóculos como lodo granular e lodo floculento com atividade metanogênica favorável, para biodigestão anaeróbia de substratos, não sendo recomendado o uso de efluentes anaeróbios com esta finalidade, a não ser em caso de inexistência de outro mais adequado. O efluente de reatores anaeróbios, entretanto pode ajudar na economia de água para biodigestores de bagaço e no fornecimento de alcalinidade

adicional a digestão em fase sólida do bagaço e o controle do pH no reator. Espera-se que com a operação haja uma concentração de microrganismos aptos a degradar o bagaço de cana, por seleção natural, melhorando a eficiência da sua biodegradação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARROS, V. G.; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. Biomethane production from vinasse in upflow anaerobic sludge blanket reactors inoculated with granular sludge. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.47, p. 628–639, 2016.
2. BELAI, H. T. *Uso de subprodutos da indústria sucroalcooleira no manejo de um neossolo quartzarênico órtico típico*. 2006. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá.
3. CÓ JÚNIOR, C.; MARQUES, M. O.; TASSO JÚNIOR, L. C. Efeito residual de quatro aplicações anuais de lodo de esgoto e vinhaça na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. *Engenharia Agrícola*, Sorocaba, v. 28, n. 1, 196-203, 2008.
4. FIRMO, A. L. B. *Estudo numérico e experimental da geração de biogás a partir da biodegradação de resíduos sólidos urbanos*. Tese de Doutorado. Programa de Pós- Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Pernambuco, 2013.
5. CHERNICHARO, C. A. L. *Reatores anaeróbios*. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 1997.
6. HANSEN, T. L.; SCHMIDT, J. E.; ANGELIDAKI, I.; MARCA, E.; JANSEN, J. C.; MOSBAEK, H.; CHRISTENSEN, T. H. (2004). Method for determination of methane potentials of solid organic waste. *Waste Management*, v. 24, p. 393-400, 2004.
7. KELLY, R. J. *Solid Waste Biodegradation Enhancements and the Evaluation of Analytical Methods Used to Predict Waste Stability*. Dissertação de Mestrado. Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University. BlacksBurg, Virginia. 2002.
8. LEITE et al. Assessment of the Variations in Characteristics and Methane Potential of Major Waste Products from the Brazilian Bioethanol Industry along an Operating Season. *Energy Fuels*, v. 29, p. 4022–4029, 2015.
9. MOHANA, S.; ACHARYA, B. K.; MADAMWAR, D. Distillery spent wash: treatment technologies and potentials applications. *Journal of Hazardous Materials*, v. 163, p. 12–25, 2009.
10. PAOLI, et al. Utilization of by-products from ethanol production as substrate for biogas production. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 6621–6624, 2011.
11. WHO – International Reference Center for Waste Disposal. *Methods of Analysis of sewage sludge solid wastes and compost*. Switzerland, 1979.