



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

LUCAS FELIPE QUEIROZ SALVADOR DE ARAÚJO LIMA ALCÂNTARA

**EFEITO DO FURFURAL SOBRE A PRODUÇÃO DE BIOGÁS E BIOMETANO NA
PRESENÇA DE XILOSE**

Recife
2025



**CARACTERIZAÇÃO E SIMULAÇÃO DE RESERVATÓRIOS, ENERGIAS RENOVÁVEIS
E BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL**

Apoio



Gestão



LUCAS FELIPE QUEIROZ SALVADOR DE ARAÚJO LIMA ALCÂNTARA

**EFEITO DO FURFURAL SOBRE A PRODUÇÃO BIOGÁS E BIOMETANO NA
PRESENÇA DE XILOSE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Engenharia Civil
da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Engenharia Civil.

Orientadora: Prof. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos.

Coorientadora: Ma. Sayonara Costa de Araújo.

Recife

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Alcântara, Lucas Felipe Queiroz Salvador de Araújo Lima.

Efeito do furfural sobre a produção de biogás e biometano na presença de xilose /
Lucas Felipe Queiroz Salvador de Araújo Lima Alcântara. - Recife, 2025.
83 p. : il., tab.

Orientador(a): Maria de Lourdes Florencio dos Santos

Coorientador(a): Sayonara Costa de Araújo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Engenharia Civil -
Bacharelado, 2025.

Inclui referências.

1. Transição energética. 2. Furfural. 3. Xilose. 4. Biogás. 5. Biometano
6. Adaptação microbiana. I. Santos, Maria de Lourdes Florencio dos. (Orientação).
II. Araújo, Sayonara Costa de. (Coorientação). IV. Título.

620 CDD (22.ed.)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

ATA DA DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO PARA CONCESSÃO DO GRAU DE ENGENHEIRO CIVIL

CANDIDATO: LUCAS FELIPE QUEIROZ SALVADOR DE ARAÚJO LIMA ALCÂNTARA

BANCA EXAMINADORA:

Orientador: Prof. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos

Examinador 1: Prof. Dra. Shyrlane Torres Soares Veras

Examinador 2: Dra. Idayana da Costa Marinho

TÍTULO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO: EFEITO DO FURFURAL SOBRE A PRODUÇÃO BIOGÁS E BIOMETANO NA PRESENÇA DE XILOSE

LOCAL: Recife

DATA: 28 / 04 / 2025 HORÁRIO DE INÍCIO: 15h00min.

Em sessão pública, após exposição de cerca de 30 minutos, o candidato foi arguido oralmente pelos membros da banca com NOTA: 10 (dez).

1) (X) aprovado (nota $\geq 7,0$), pois foi demonstrado suficiência de conhecimento e capacidade de sistematização no tema da monografia e o texto do trabalho aceito.

As revisões observadas pela banca examinadora deverão ser corrigidas e verificadas pelo orientador no prazo máximo de 30 dias (o verso da folha da ata poderá ser utilizado para pontuar revisões).

O trabalho com nota no seguinte intervalo, **$3,0 \leq \text{nota} < 7,0$** , será reapresentado, gerando-se uma nota ata; sendo o trabalho aprovado na reapresentação, o aluno será considerado **aprovado com exame final**.

2) () reprovado. (nota $< 3,0$)

Na forma regulamentar foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca e pelo candidato.

Recife, 28 de abril de 2025



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL



Documento assinado digitalmente

MARIA DE LOURDES FLORENCIO DOS SANTOS

Data: 29/04/2025 18:13:24-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador:



Documento assinado digitalmente

SHYRLANE TORRES SOARES VERAS

Data: 29/04/2025 18:22:34-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Avaliador 1:



Documento assinado digitalmente

IDAYANA DA COSTA MARINHO

Data: 30/04/2025 09:23:55-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Avaliador 2:



Documento assinado digitalmente

LUCAS FELIPE QUEIROZ SALVADOR DE ARAUJO

Data: 29/04/2025 10:18:12-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Candidato:

Dedico este trabalho a Jesus por Maria, "*Tuus totus ego sum, et omnia mea tua sunt*".

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente e sobretudo a Santíssima Trindade, a Santíssima Virgem e aos meus santos intercessores pois até aqui o Senhor me ajudou (1 Sm. 7,12) e em tudo Lhe renderei graças (1 Tess. 5,18) porque grandes coisas que Ele fez em meu favor (Sl. 125,3).

A minha família: pais, irmãs, sobrinho, avós, tios e tias, primos e primas, tia avó Rosa (*In memoriam*) e os que considero como tal, pois sem eles nada que até aqui conquistei seria possível, e de uma forma singular e amorosa a guerreira na qual me inspiro: minha mãe Marta Suely.

Aos meus amigos, os quais Deus me permitiu unir além dos laços sanguíneos e a eles sou muito grato: aos que na fé forjamos a amizade através do Grupo de Perseverança em Cristo (GPC); aos que me aproximei ao vim para o Recife, seja através desta pesquisa no LSA, ou ainda durante a minha graduação e encontros da vida, todos de alguma forma me ajudaram a vencer essa tão exaustiva e importante etapa para minha vida pessoal e profissional. Os que para mim são especiais acredito que não preciso citar diretamente os nomes, pois sabem em minhas atitudes a tamanho da minha gratidão.

Apesar disso não poderia deixar de agradecer diretamente a Sayonara Araújo, que muito além de uma coorientadora foi uma grande amizade que me acolheu em seu projeto de doutorado e me ajudou no período em que este trabalho esteve sendo executado e em tantos outros aspectos da vida nesses últimos anos.

Ao Laboratório de Saneamento Ambiental e a minha orientadora Lourdinha Florêncio por terem aberto as portas para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus professores universitários e os do ensino básico, pois cada um, a sua forma, contribuíram para minha formação profissional.

À Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP e à Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP, por meio do Programa de Formação de Recursos Humanos da ANP para o Setor de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – PRH-ANP/FINEP. Em particular ao PRH 48.1 “Caracterização e Simulação de Reservatórios, Energias renováveis e Biotecnologia Ambiental” (PROCESSO ANP N° 48610.201019/2019-39), do Departamento de Energia Nuclear do Centro de Tecnologia e Geociências da UFPE.

RESUMO

A transição energética exige alternativas sustentáveis aos combustíveis fósseis, e a integração das biorrefinarias de primeira e segunda geração (1G e 2G) de cana-de-açúcar representa uma solução promissora para ampliar a matriz renovável no Brasil. Um dos principais desafios da produção de etanol 2G (E2G) é o aproveitamento do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana (HHBC), rico em açúcares fermentáveis como a xilose (Xil), mas também contendo compostos inibitórios como o furfural (FF). Este estudo avaliou o efeito do FF, um subproduto considerado inibidor comum em hidrolisados hemicelulósicos, sobre a DA e a produção de biogás e biológico metano (BioCH_4). Os ensaios avaliaram quatro concentrações de FF (0,6; 1,2; 2,6 e 3,6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) individualmente e na presença de Xil (5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) durante um período de 85 dias. Foram avaliados o rendimento de biogás e BioCH_4 , o consumo da Xil e conversão do FF. Os resultados demonstraram que, em concentrações controladas ($\leq 2,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), o FF não apenas foi parcialmente metabolizado por consórcios microbianos, mas também exerceu efeito sinérgico significativo quando associado à xilose, promovendo um aumento de até 2,34 vezes na produção de BioCH_4 em relação ao esperado. O maior rendimento registrado foi de 2.898,11 $\text{NmL}\cdot\text{gSV}^{-1}$ de BioCH_4 , superando todos os controles. A cinética modelada via Gompertz modificado indicou taxas máximas de produção superiores a 68,50 $\text{NmL}\cdot\text{gSV}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$, e a estimativa do CI_{50} estabeleceu o limite de tolerância microbiana em 3,4 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF. Em concentrações mais elevadas (3,6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), observou-se inibição completa da metanogênese, demonstrando toxicidade crítica do FF. Além disso, a presença de xilose acelerou a degradação do FF e redirecionou sua conversão majoritariamente para ácido furóico (AF), em detrimento do álcool furfurílico (AFo), sinalizando modulação metabólica induzida pelo substrato. A análise dos ácidos graxos voláteis confirmou a ativação de vias fermentativas distintas e mais eficientes nos ensaios combinados. O estudo reforça o potencial do FF como co-substrato em bioprocessos e destaca a importância de estratégias de adaptação microbiana e controle preciso de concentração para maximizar a produção de Biogás e BioCH_4 em biorrefinarias de 2G.

Palavras-chave: transição energética; furfural; xilose; biogás; biometano; adaptação microbiana

ABSTRACT

The energy transition requires sustainable alternatives to fossil fuels, and the integration of first- and second-generation (1G and 2G) sugarcane biorefineries represents a promising solution to expand Brazil's renewable energy matrix. One of the main challenges in second-generation ethanol (E2G) production is the use of hemicellulosic hydrolysate from sugarcane bagasse (HHSB), which is rich in fermentable sugars such as xylose (Xyl) but also contains inhibitory compounds like furfural (FF). This study evaluated the effect of FF, a byproduct commonly regarded as inhibitory in hemicellulosic hydrolysates, on anaerobic digestion (AD) and the production of biogas and biological methane (BioCH₄). The experiments assessed four FF concentrations (0.6, 1.2, 2.6, and 3.6 g·L⁻¹), both individually and in combination with Xyl (5 g·L⁻¹), over a period of 85 days. Biogas and BioCH₄ yields, Xyl consumption, and FF conversion were evaluated. The results showed that under controlled concentrations (≤ 2.6 g·L⁻¹), FF was not only partially metabolized by microbial consortia but also exhibited a significant synergistic effect when combined with xylose, promoting up to a 2.34-fold increase in BioCH₄ production compared to expected values. The highest recorded yield was 2,898.11 NmL·gVS⁻¹ of BioCH₄, surpassing all controls. Kinetics modeled using the modified Gompertz equation indicated maximum production rates exceeding 68.50 NmL·gVS⁻¹·day⁻¹, and the estimated IC₅₀ established the microbial tolerance threshold at 3.4 g·L⁻¹ of FF. At higher concentrations (3.6 g·L⁻¹), complete inhibition of methanogenesis was observed, indicating the critical toxicity of FF. Furthermore, the presence of xylose accelerated FF degradation and redirected its conversion predominantly toward furoic acid (FA) instead of furfuryl alcohol (FAI), suggesting substrate-induced metabolic modulation. The analysis of volatile fatty acids confirmed the activation of distinct and more efficient fermentative pathways in the combined assays. This study reinforces the potential of FF as a co-substrate in bioprocesses and highlights the importance of microbial adaptation strategies and precise concentration control to maximize biogas and BioCH₄ production in 2G biorefineries.

Keywords: energy transition; furfural; xylose; biogas; biomethane; microbial adaptation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Emissões totais de GEE provenientes da combustão de combustíveis por produto, Mundial.....	21
Figura 2 -	Arranjo espacial de hemicelulose de celulose e lignina nas paredes celulares de biomassa lignocelulósica.....	25
Figura 3 -	Pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.....	27
Figura 4 -	Hidrolisado hemicelulósico obtido de pré-tratamento hidrotérmico de bagaço de cana-de-açúcar.	28
Figura 5 -	Formação do furfural a partir de biomassa lignocelulósica.....	33
Figura 6 -	Etapas básicas e grupos microbianos envolvidos no processo de digestão anaeróbica.....	35
Figura 7 -	Bioconversão do furfural e intermediários.....	39
Figura 8 -	Reator BIOPAQ®IC utilizado para obtenção do lodo granular anaeróbio (a) e coleta do lodo (b).....	42
Figura 9 -	Procedimento para medição do volume e composição do biogás: seringa de vidro utilizada para deslocamento do biogás (a); medição do volume (b) e, seringa com válvula utilizada para coleta (c) e injeção de biogás no GC (d).....	46
Figura 10 -	Ensaio cinéticos para avaliar o rendimento de Biogás (A) e BioCH ₄ (B), na presença de furfural em diferentes concentrações, usando xilose como substrato.....	52
Figura 11 -	Velocidade Relativa de rendimento de BioCH ₄	55
Figura 12 -	Test de Dunn dos ensaios de rendimento de Biogás (A) e BioCH ₄ (B), na presença de furfural em diferentes concentrações, usando xilose como substrato.....	58
Figura 13 -	Conversão furfural em seus intermediários (álcool furfurílico e ácido furóico), nas concentrações: A – 0,6 FF (controle), B – 0,6 FF + 5 Xil, C – 1,2 FF (controle), D – 1,2 FF + 5 Xil, E – 2,6 FF (controle), F – 2,6 FF + 5 Xil, G – 3,6 FF (controle) e H – 3,6 FF + 5 Xil.....	62
Figura 14 -	Consumo de xilose.....	63
Figura 15 -	Geração de ácidos graxos voláteis (AGVs) para diferentes concentrações de furfural na presença de xilose e seus respectivos controles (A- 5 Xil, B – 0,6 FF, C – 0,6 FF + 5 Xil, D – 1,2 FF, E – 1,2 FF + 5 Xil, F – 2,6 FF, G – 2,6 FF + 5 Xil, H – 3,6 F e I - 3,6 FF + 5 Xil).....	66

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Estratégias destacadas para mitigar os efeitos dos compostos inibitórios presentes em hidrolisados lignocelulósicos.....	63
------------	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Concentrações dos componentes principais do bagaço de cana-de-açúcar.....	26
Tabela 2 -	Composição do hidrolisado hemicelulósico após pré-tratamentos ácidos e hidrotérmicos do bagaço de cana-de-açúcar.....	30
Tabela 3 -	Caracterização físico-química do LCE.....	43
Tabela 4 -	Delineamento experimental: concentrações de xilose e furfural utilizadas nos ensaios de batelada para avaliação da produção de biogás e biometano.....	44
Tabela 5 -	Condições cromatográficas para análise da composição do biogás.....	45
Tabela 6 -	Proporção em massa de xilose e furfural nos ensaios de co-digestão anaeróbia em reatores de 215 mL.....	50
Tabela 7 -	Potencial teórico de produção de BioCH ₄ baseado na estequiometria da conversão dos substratos xilose e furfural, conforme as concentrações adicionadas em 215 mL de volume reacional.....	51
Tabela 8 -	Parâmetros cinéticos para o rendimento de Biogás pelo modelo de Gompertz Modificado.....	53
Tabela 9 -	Parâmetros cinéticos para o rendimento de BioCH ₄ pelo modelo de Gompertz Modificado	53
Tabela 10 -	Velocidade cinética relativa de rendimento de CH ₄	55
Tabela 11 -	Avaliação do índice de sinergia e antagonismo na produção de BioCH ₄ a partir de combinações de xilose e furfural.....	56
Tabela 12 -	Produção acumulada de BioCH ₄ em relação ao potencial teórico.....	57
Tabela 13 -	pH inicial e final dos ensaios.....	68

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

1G	Primeira geração
2G	Segunda geração
AAc	Ácido acético
AB	Ácido butanóico
AF	Álcool furfurílico
AFo	Ácido furóico
AGVs	Ácidos graxos voláteis
AH	Ácido hexanóico
Alb	Ácido isobutanóico
AP	Ácido propanóico
APen	Ácido pentanóico
BCA	Bagaço de cana-de-açúcar
BioCH ₄	Bio-metano
BioH ₂	Bio-hidrogênio
C5	Pentoses
CBAM	Mecanismo de Ajuste de Fronteira de Carbono
CNTP	Condições normais de temperatura e pressão
CO ₂	Dióxido de carbono
DA	Digestão anaeróbia
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DQOadd	Demanda química de oxigênio adicionada aos reatores
E1G	Etanol de primeira geração
E2G	Etanol de segunda geração
E2G	Etanol de segunda geração
FF	Furfural

GC	Cromatografia gasosa
GEE	Gases do efeito estufa
Gli	Glicose
HHBC	Hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar
HMF	5-hidroximetil-2-furfural
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IC 50	Concentração inibitória
IEA	Agência Internacional de Energia
IS	Índice de sinergia
IS	Índice de Sinergia
LCE	Lodo anaeróbio granular de reator de cervejaria
ONU	Organização das Nações Unidas
P	Rendimento cumulativo
PBTBioCH ₄	Potencial bioquímico teórico de biometano
PBTBioCH ₄	Potencial bioquímico teórico de biometano
Pm	Potencial máximo de rendimento
PNIIGB	Plano Nacional Integrado das Infraestruturas de Gás Natural e Biometano
Rm	Taxa máxima de rendimento
SF	Sólidos fixos
Sg	Siringaldeído
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis
t	Tempo
Va	Vanilina
Xil	Xilose

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	OBJETIVOS.....	18
1.1.1	Objetivo geral.....	18
1.1.2	Objetivos específicos.....	18
1.2	JUSTIFICATIVA.....	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1	TRANSIÇÃO ENERGÉTICA E O PAPEL DAS BIOREFINARIAS BASEADAS EM CANA-DE AÇÚCAR	21
2.1.1	Transição energética global.....	21
2.2	BIORREFINARIA DE CANA-DE-AÇÚCAR: INTEGRAÇÃO: E1G2G	22
2.2.1	Conceitos e integração 1G2G	23
2.3	PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO (E2G).....	24
2.3.1	Composição do bagaço de cana-de-açúcar.....	23
2.3.2	Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar para extração de açúcares fermentáveis.....	26
2.4	HIDROLISADO LIGNOCELULÓSICO DE BAÇADO DE CANA-DE- AÇÚCAR.....	29
2.4.1	Composição do HHBC.....	29
2.5	FURFURAL: MECANISMOS DE FORMAÇÃO A PARTIR DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA E SEUS IMPACTOS NO PROCESSO DA DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	32
2.5.1	Mecanismos de formação do furfural.....	32
2.5.2	Efeitos do furfural sobre a digestão anaeróbia.....	33
2.5.2.1	Digestão anaeróbia.....	34
2.5.2.1.1	<i>Fundamentos do processo.....</i>	<i>34</i>
2.5.2.1.2	<i>Produtos: biogás e biometano.....</i>	<i>37</i>
2.5.2.2	Efeito do furfural sobre a produção de biogás e biometano.....	37
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
3.1	LOCAL DE DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL.....	42
3.2	INÓCULO: ORIGEM E CARACTERÍSTICAS.....	42
3.3	PROJETO EXPERIMENTAL.....	43

3.3.1	Delineamento dos ensaios.....	43
3.3.2	Ensaio de biodigestão.....	44
3.4	MÉTODOS ANALÍTICOS.....	45
3.4.1	Caracterização da fração gasosa.....	45
3.4.2	Caracterização da fração líquida.....	46
3.5	DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DE BIOGÁS E BIOMETANO.....	47
3.6	MODELAGEM CINÉTICA.....	48
3.7	ESTIMATIVA DA CONCENTRAÇÃO EFETIVA – Cl_{50}	48
3.8	AVALIAÇÃO DO SINERGISMO OU ANTAGONISMO.....	49
3.9	ESTIMATIVA DO POTENCIAL BIOQUÍMICO TEÓRICO DE BIOMETANO (PBT $BIOCH_4$).....	50 51
3.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1	EFEITO DO FURFURAL SOBRE O RENDIMENTO EXPERIMENTAL, POTENCIAL TEÓRICO E SINERGISMO DE BIOGÁS E $BIOCH_4$	52
4.1.1	Rendimentos e modelagem cinética de biogás e biometano.....	52
4.1.2	Estimativa do Cl_{50}.....	55
4.2	EFEITOS SINÉRGICOS E POTENCIAL TEÓRICO DE $BIOCH_4$	56
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS DE BIOGÁS E BIOMETANO.....	58
4.4	DEGRADAÇÃO DO FURFURAL E BIOCONVERSÃO.....	60
4.5	CONSUMO DA XILOSE.....	63
4.6	GERAÇÃO E CONSUMO DE ÁCIDO GRAXOS VOLÁTEIS.....	64
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
	REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

Energias renováveis como solar, eólica, hídrica e os biocombustíveis estão no centro da transição para uma matriz energética capaz de reduzir a dependência dos combustíveis fósseis, de minimizar os impactos ambientais negativos (relacionadas principalmente às emissões de gases do efeito estufa), de garantir um balanço energético e de carbono positivo e, de proporcionar um sistema mais sustentável. Sabe-se ainda que, os modelos de transição energética apontam para uma substituição gradual de combustíveis fósseis, para líquidos (como o etanol e o biodiesel) e gasosos como biogás, hidrogênio, metano (Fuess *et al.*, 2022; IEA, 2022; Safari *et al.*, 2019).

Dessa forma, a integração da biorrefinaria de cana de primeira geração (1G) com aquela de segunda geração (2G) pode contribuir para uma transição energética mais segura. Todavia, um requisito essencial para a produção de etanol de segunda geração (E2G) a partir do bagaço ou palha de cana-de-açúcar é o pré-tratamento da biomassa. O objetivo é facilitar a liberação de açúcares fermentáveis, como glicose (Gli) e xilose (Xil) (Nascimento *et al.*, 2023; Oliveira Pereira *et al.*, 2024).

Após o pré-tratamento, uma fração sólida é gerada para hidrólise enzimática e posterior fermentação alcoólica, juntamente com um subproduto conhecido como hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar (HHBC). O HHBC é composto principalmente por açúcares C5, especialmente Xil, ácidos orgânicos (ácido fórmico e acético) e compostos considerados tóxicos e inibitórios, como furanos (furfural (FF) e 5-hidroximetil-2-furfural) e fenólicos como vanilina (Va) e siringaldeído (Sg) (Adarme *et al.*, 2019).

Embora o HHBC contenha açúcares fermentáveis, a utilização da fração C5 costuma exigir o uso de leveduras geneticamente modificadas, e a presença de inibidores, demanda estratégias para minimizar seus efeitos (Nascimento *et al.*, 2023; Oliveira Pereira *et al.*, 2024). Para enfrentá-los, as usinas têm implementado estratégias específicas de mitigação de inibidores, incluindo métodos de detoxificação, como separação física, tratamentos químicos e abordagens biológicas envolvendo microrganismos adaptados (Oliveira Pereira *et al.*, 2024). No entanto, como consequência, o processo torna-se mais complexo e oneroso tanto para a produção de E2G quanto para outros processos biotecnológicos (Nascimento *et al.*, 2023), como a produção de biogás e bio-metano (BioCH₄).

O FF é um dos inibidores presentes no HHBC em maiores concentrações e é conhecido por causar danos ao DNA, inativar enzimas glicolíticas e comprometer processos celulares microbianos (Balasundaram *et al.*, 2022). A maior parte das pesquisas sobre os efeitos de inibidores, incluindo o FF, tem se concentrado na produção de bio-hidrogênio. No entanto, até o momento, apenas alguns estudos avaliaram seu efeito na produção de BioCH₄ (Benjamin; Woods; Ferguson, 1984; Barakat *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2019). Nesse contexto, ainda existem lacunas na literatura sobre o impacto do FF, em conjunto com a xilose, sobretudo, na produção de BioCH₄. Isso inclui o nível de inibição, os mecanismos de tolerância microbiana e os fatores ambientais e operacionais que podem influenciar significativamente o rendimento de biogás e BioCH₄.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos de diferentes concentrações de FF sobre a produção de biogás e BioCH₄, considerando a presença individual e combinada dos principais componentes do HHBC, FF e Xil.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar o efeito de diferentes concentrações de FF, na produção de biogás e BioCH₄, considerando a presença individual e combinada do composto com o principal açúcar, Xil presente no HHBC;
- b) Estimar os parâmetros cinéticos relacionados à produção de biogás e BioCH₄ na presença individual de FF e Xil quanto as suas misturas;
- c) Investigar os efeitos sinérgicos ou antagônicos entre os componentes do HHBC (FF e Xil) durante a produção de biogás e BioCH₄;
- d) Analisar a conversão do FF em seus compostos intermediário álcool furfurílico (AF) e ácido furóico (AFo) e seus efeitos sobre a digestão anaeróbia (DA);
- e) Investigar o consumo da Xil e a conversão dos compostos em ácidos graxos voláteis (AGV) bem como as mudanças nos perfis fermentativos.

1.2 JUSTIFICATIVAS

A crescente demanda global por soluções sustentáveis para a crise climática e energética tem impulsionado a busca por alternativas renováveis e de baixo impacto ambiental. Segundo a Agência Internacional de Energia (IEA), a guerra na Ucrânia e os compromissos assumidos na COP-26 reacenderam o debate sobre a transição energética, acelerando a expansão das energias renováveis em um ritmo 85% superior ao dos últimos cinco anos (IEA, 2024). Nesse cenário, os biocombustíveis emergem como uma alternativa estratégica, alinhada às metas de descarbonização e segurança energética.

O Brasil ocupa uma posição de destaque nesse contexto, sendo o segundo maior produtor mundial de biocombustíveis, como etanol (IEA, 2024). Cabe destacar ainda que, o país abriga a única empresa global que opera usinas de etanol de segunda geração (E2G) em escala industrial, desempenhando um papel crucial na transição energética. Essa empresa opera duas usinas em plena capacidade: a primeira, localizada no Bioparque Costa Pinto, em Piracicaba (SP), que alcançou uma produção de 30.000 m³ na safra 2023/2024; e a segunda, situada no Bioparque de Guariba, que iniciou operações em 2024 como a maior usina de E2G do mundo (Raízen, 2024).

Além disso, o país tem um vasto potencial para ampliar a produção de biogás e BioCH₄, combustíveis essenciais para reduzir a dependência de fontes fósseis e promover a sustentabilidade no setor energético e de transportes.

A produção de biogás e biometano no Brasil tem experimentado um crescimento expressivo nos últimos anos, impulsionado por políticas públicas, investimentos e inovações tecnológicas. Em 2023, o país registrou a operação de 338 novas plantas de biogás e biometano, representando um aumento de 32% em relação a 2022 (CIBiogás, 2023). Com isso, o número total de plantas cadastradas subiu de 130 em 2014 para 1.365 em 2023, conforme dados do CIBiogás (2023).

A Empresa de Pesquisa Energética (2023) destaca que a produção de biogás no país cresceu cerca de 87% nos últimos 10 anos, demonstrando o interesse do mercado nacional pelo setor. Com o início da operação das plantas que atualmente estão em fase de implementação e reformulação, a previsão é que ocorra um acréscimo de cerca de 574 milhões Nm³/ano de biogás, o que corresponde a um crescimento de aproximadamente 20% na produção nacional (EPE, 2023).

Esse avanço é resultado de iniciativas como a Lei do Combustível do Futuro, sancionada em 2024, que estabelece incentivos para o biometano, promovendo sua substituição por combustíveis fósseis e contribuindo para a redução de emissões de gases de efeito estufa, além de fomentar a economia circular (Brasil, 2025). Além disso, o Plano Nacional Integrado das Infraestruturas de Gás Natural e Biometano (PNIIGB) visa estruturar a metodologia para a elaboração de um plano que integre o biometano à malha de gás natural (Empresa de Pesquisa Energética, 2025).

Além disso, a COP30, que será realizada no Brasil em 2025, representa uma oportunidade única para consolidar o protagonismo do país na agenda global de descarbonização (Brasil, 2025). A ampliação da produção de biogás e BioCH₄, especialmente a partir de subprodutos do setor sucroenergético como o HHBC, está em sintonia com compromissos internacionais, como o RenovaBio e o Programa Combustível do Futuro, além de se alinhar ao Mecanismo de Ajuste de Fronteira de Carbono (CBAM) da União Europeia, que favorece produtos fabricados com energia renovável (ABREMA, 2024; Brasil, 2017).

Diante desse panorama, a presente pesquisa busca preencher uma lacuna crítica no conhecimento científico e tecnológico ao investigar o efeito do FF e da Xil na produção de BioCH₄ a partir do HHBC. A compreensão desses impactos permitirá o desenvolvimento de estratégias para otimizar a conversão do HHBC em energia renovável, promovendo maior eficiência nos bioprocessos e agregando valor à cadeia produtiva do setor sucroenergético. Assim, espera-se contribuir significativamente para o avanço das biorrefinarias de cana-de-açúcar, o fortalecimento da economia circular e o cumprimento das metas climáticas nacionais e globais.

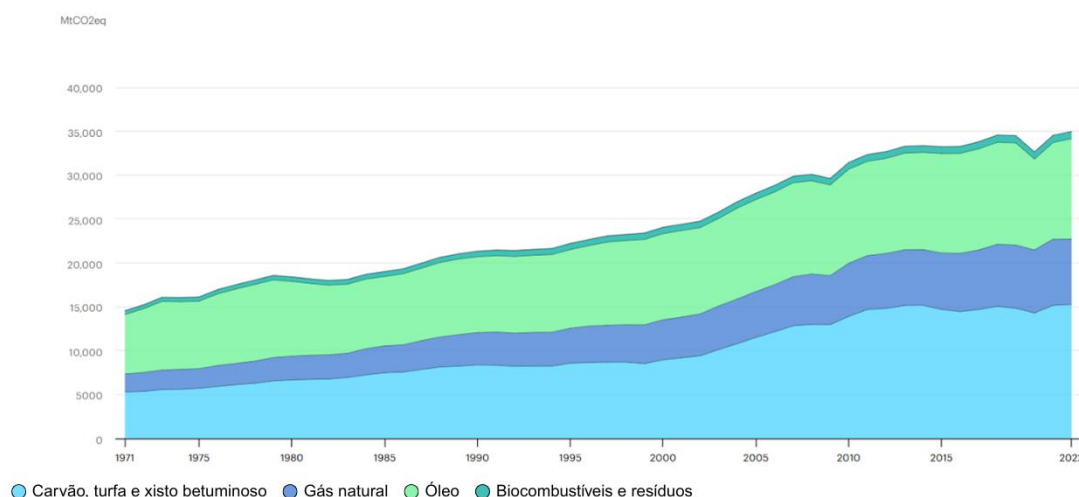
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 TRANSIÇÃO ENERGÉTICA E O PAPEL DAS BIOREFINARIAS BASEADAS EM CANA-DE-AÇÚCAR

2.1.1 Transição energética global

A geração de energia é a principal responsável pela emissão de gases do efeito estufa (GEE), especialmente o dióxido de carbono (CO_2), devido à combustão de combustíveis fósseis. Dados da IEA destacam o impacto significativo dessas fontes na liberação de GEE ao longo das décadas (Figura 1).

Figura 1 - Emissões totais de GEE provenientes da combustão de combustíveis por produto, Mundial



Fonte: International Energy Agency (2024)

As emissões de GEE têm implicações diretas para o meio ambiente e a saúde pública. Relatórios da Organização das Nações Unidas (ONU) apontam que, para limitar o aquecimento global a 1,5°C e mitigar seus impactos, as emissões devem ser reduzidas em 42% até 2030 e 57% até 2035 (ONU, 2024).

Além do desafio das emissões, há uma crescente demanda energética projetada para os próximos anos. No Brasil, estima-se um aumento médio de 2,1% ao ano no consumo de energia até 2034 (Ministério de Minas e Energia, 2024). No entanto, a matriz energética do país ainda apresenta uma dependência significativa de fontes não renováveis, que representam 50,1% do total (Empresa de Pesquisa

Energética, 2024). Esses fatores reforçam a necessidade urgente de ampliar o uso de fontes renováveis para garantir um futuro energético mais sustentável.

Diante desse cenário, fontes renováveis como solar, eólica, hídrica, geotérmica, oceânica e biomassa emergem como alternativas estratégicas para reduzir a emissão de GEE, impulsionar o crescimento econômico, ampliar o acesso à energia e minimizar impactos ambientais e à saúde. Entre essas fontes, os biocombustíveis têm se destacado, com o Brasil ocupando a segunda posição no ranking mundial de produção, atrás apenas dos Estados Unidos (EIA, 2024).

Nesse contexto, as biorrefinarias baseadas na cana-de-açúcar desempenham um papel fundamental na geração de energia renovável e na produção de produtos de alto valor agregado. Experiências bem-sucedidas com a DA de resíduos do setor sucroenergético demonstram o potencial dessa abordagem para a conversão eficiente de biomassa em energia renovável (Eng Sánchez *et al.*, 2021; Moraes *et al.*, 2014; Volpi; Fuess; Moraes, 2021).

Para avançar na eficiência técnica, científica e econômica da produção de biocombustíveis e seus subprodutos, a integração das biorrefinarias de primeira geração (1G) e segunda geração (2G) (1G2G) surge como uma estratégia promissora. Essa abordagem visa otimizar os processos produtivos, minimizar desperdícios e maximizar o aproveitamento de matérias-primas renováveis. Além de potencializar a sinergia entre tecnologias complementares, essa integração contribui para a sustentabilidade ambiental e para soluções econômicas mais eficientes no setor sucroenergético.

2.2 BIORREFINARIA DE CANA-DE-AÇÚCAR: INTEGRAÇÃO E1G2G

Os biocombustíveis podem ser agrupados, de modo geral, em duas grandes categorias: os de 1G, obtidos a partir de culturas alimentares como cana-de-açúcar, milho, beterraba, trigo, arroz, óleo de soja, girassol e palma, cuja tecnologia de produção já é amplamente consolidada; e os de 2G, produzidos a partir de biomassa lignocelulósica, oriunda de resíduos agrícolas, florestais ou subprodutos industriais, os quais ainda requerem avanços tecnológicos e econômicos para sua ampla viabilização (Kumari; Singh, 2018; Moraes; Zaiat; Bonomi, 2015).

Apesar dos benefícios ambientais e econômicos associados aos biocombustíveis, a produção de etanol de 1ª geração (E1G) enfrenta um dilema: a

competição pelo uso de matérias-primas agrícolas que também são destinadas à alimentação humana, além da necessidade de extensas áreas de cultivo para garantir sua sustentabilidade produtiva (Kumari; Singh, 2018). Outro aspecto relevante é o elevado volume de vinhaça, gerada durante o processo de destilação, a qual, se descartada de forma inadequada, pode representar sérios impactos ambientais (Moraes *et al.*, 2014; Moraes; Zaiat; Bonomi, 2015).

Nesse contexto, a valorização da biomassa lignocelulósica residual, como bagaço e palha da cana-de-açúcar, surge como alternativa estratégica para suprir parte da demanda por matéria-prima na produção de etanol, por meio do chamado etanol celulósico ou E2G. Essa abordagem permite aproveitar subprodutos da própria cadeia produtiva do E1G, promovendo eficiência no uso da biomassa e maior sustentabilidade do processo produtivo (Moraes; Zaiat; Bonomi, 2015).

A integração entre as rotas de produção de E1G e E2G constitui uma estratégia promissora para aumentar a produtividade de etanol sem expansão de área cultivada, além de promover sinergias econômicas e ambientais. Essa integração também viabiliza o uso de subprodutos como fontes alternativas de carbono, como o HHBC e a vinhaça, que podem ser tratados ou reaproveitados em processos complementares, como a produção de biogás, BioCH₄, biofertilizantes ou químicos de valor agregado (DE SÁ *et al.*, 2020).

2.2.1 Conceitos e integração 1G2G

As biorefinarias de 1G são amplamente consolidadas no Brasil e em outros países devido à sua eficiência produtiva e viabilidade econômica. Nessas indústrias, o E1G é obtido por meio da fermentação do caldo da cana-de-açúcar, utilizando cepas como a *Saccharomyces cerevisiae*, capazes de converter os açúcares presentes no caldo em etanol (Phong *et al.*, 2019). Após a fermentação, o etanol é purificado por destilação, tornando-se adequado para uso como biocombustível e outras aplicações industriais.

Um subproduto fundamental do processo 1G é o bagaço de cana-de-açúcar (BCA), tradicionalmente utilizado para cogeração de energia nas próprias usinas. No entanto, seu aproveitamento pode ser ampliado por meio de processos de pré-tratamento que liberam açúcares fermentáveis, permitindo sua utilização na produção de E2G (Zheng *et al.*, 2021). Esse avanço tem impulsionado a indústria

sucroenergética brasileira, resultando na implantação de plantas industriais dedicadas ao E2G (Raízen, 2024; GranBio, 2014).

Contudo, para viabilizar a integração entre biorefinarias 1G2G, ainda há desafios significativos a serem superados. Entre eles, destacam-se os altos custos e complexidade do pré-tratamento do BCA, que pode gerar compostos inibitórios, a hidrólise enzimática, que demanda insumos onerosos e apresenta baixo teor de sólidos, e a maximização da utilização dos componentes da biomassa (Shibukawa *et al.*, 2023).

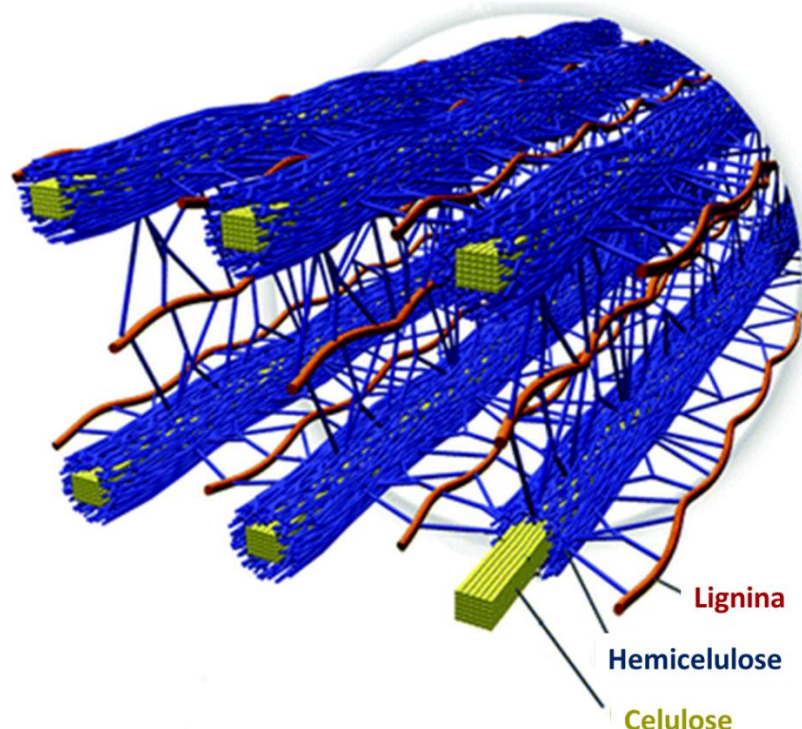
2.3 PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO (E2G)

O E2G é um biocombustível produzido a partir de biomassas lignocelulósicas. A conversão do BCA em E2G requer um pré-tratamento eficiente para romper a estrutura recalcitrante da biomassa e liberar açúcares fermentáveis. No entanto, esse processo apresenta desafios como a formação de compostos inibitórios que afetam a ação dos microrganismos fermentadores e os elevados custos operacionais, exigindo estratégias de otimização para viabilizar economicamente a tecnologia (Wongsurakul *et al.*, 2022)

2.3.1 Composição do bagaço de cana-de-açúcar

O BCA é uma biomassa lignocelulósica complexa, composta predominantemente por celulose, hemicelulose e lignina (Figura 2). Esses componentes estão organizados em uma matriz heterogênea cuja composição varia conforme a espécie da cana e as condições de cultivo (Bajpai, 2016). A compreensão detalhada dessa composição é essencial para o desenvolvimento de estratégias de pré-tratamento mais eficazes, visando otimizar a conversão do BCA em biocombustíveis e outros produtos de valor agregado.

Figura 2 - Arranjo espacial de hemicelulose de celulose e lignina nas paredes celulares de biomassa lignocelulósica



Fonte: Brandt *et al.* (2013)

A celulose é o principal componente estrutural da parede celular vegetal, composta por unidades de glicose unidas por ligações β -1,4-glicosídicas. Essas ligações conferem alta resistência à degradação, especialmente devido à sua organização em regiões cristalinas fortemente ordenadas, intercaladas por porções amorfas menos organizadas de degradação (Dampanaboina; Yuan; Mendu, 2021). Essa elevada cristalinidade representa um dos principais obstáculos à hidrólise enzimática eficiente, dificultando o acesso das enzimas à matriz polimérica (Iroba; Tabil, 2015). Além disso, a celulose desempenha papel essencial na sustentação mecânica, crescimento e desenvolvimento das plantas (Dampanaboina; Yuan; Mendu, 2021).

A hemicelulose, por sua vez, é um heteropolissacarídeo composto por diversos monossacarídeos, como Xil, arabinose, glicose e galactose, dispostos em estruturas ramificadas e altamente complexas (Xie, *et al.*, 2020). Sua composição varia conforme a origem vegetal e a parte da planta considerada, refletindo a diversidade funcional e estrutural do tecido (Huang, *et al.*, 2021). As cadeias de hemicelulose se associam à celulose por ligações de hidrogênio, contribuindo para a resistência mecânica e flexibilidade da parede celular. Além disso, funcionam como matriz de ligação para a deposição de lignina, essencial à formação da parede celular secundária (Berglund *et*

al., 2020; Zhang, *et al.*, 2021). A recuperação dos açúcares da hemicelulose é de grande relevância para a obtenção de biocombustíveis e bioprodutos de valor agregado (Scapini *et al.*, 2021).

A lignina é um polímero fenólico heterogêneo, derivado principalmente dos álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico (Chen, *et al.*, 2021). É responsável por conferir rigidez, impermeabilidade e resistência às paredes celulares das plantas (Chen, *et al.*, 2021). Além disso, atua como barreira física contra patógenos, estresse ambiental e ataque microbiano, aumentando a durabilidade e longevidade dos tecidos vegetais (Liao *et al.*, 2020; Maceda; Terrazas, 2022).

A composição química do BCA, em termos de teores de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas, está apresentada na Tabela 1. Essa composição pode variar amplamente em função de diferentes fatores, como a variabilidade genética entre cultivares de cana (García, *et al.*, 2022), condições edafoclimáticas, técnicas de manejo agrícola, estágio de colheita, além do método de processamento e pré-tratamento da biomassa (Alarcón *et al.*, 2022; Chourasia *et al.*, 2021).

Tabela 1 - Concentrações dos componentes principais do bagaço de cana-de-açúcar

% em peso				Referências
Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	
37,74	27,23	20,57	6,53	Szczerbowski <i>et al.</i> (2014)
37,40	33,80	26,80	1,60	Ruiz <i>et al.</i> (2011)
35,28	33,28	25,20	4,10	Ayeni <i>et al.</i> (2015)
42,19	27,60	21,56	2,84	Rocha <i>et al.</i> (2015)
40,84	24,07	33,71	0,68	Philippini <i>et al.</i> (2019)
42,11	28,42	19,20	-	Kaur (2016)*
40,40	20,90	22,50	4,00	Igbojionu; Lalue; Pecoraro (2020)
22,90	29,83	0,38	3,37	Román; Zambrano; Murillo (2024)*
42,40	25,20	19,70	3,10	Melesse; Hone; Mekonnen (2022)

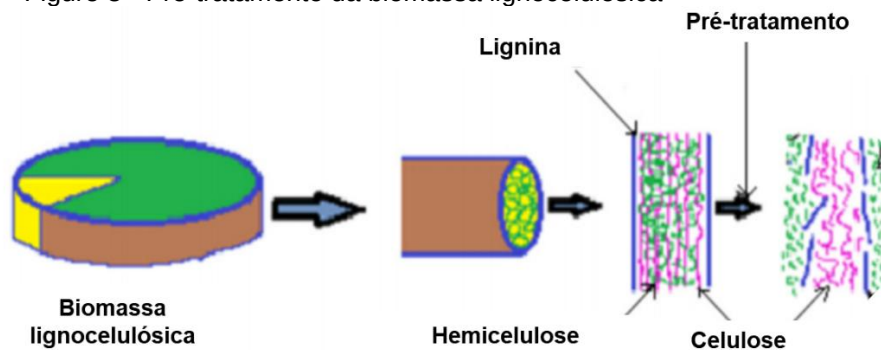
*Valores Médios

Fonte: O Autor (2025)

2.3.2 Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar para extração de açúcares fermentáveis

Devido à natureza recalcitrante do BCA seu uso em biorrefinarias está condicionado a etapa de pré-tratamento (Figure 3), através da qual é melhorada a digestibilidade enzimática dos compostos, resultando em maior rendimento de açúcares fermentáveis (Nascimento *et al.*, 2023).

Figure 3 - Pré-tratamento da biomassa lignocelulósica



Fonte: Kumari; Singh (2018).

São diversos os tipos de pré-tratamento que podem ser feitos no BCA com métodos químicos, físico, biológicos ou ainda a combinação de mais de uma forma, cada qual adequado a determinados casos (Oliveira Pereira *et al.*, 2024).

Dai *et al.* (2020) obtiveram maior rendimento de xilo-oligossacarídeos, além de aumento significativo na sacarificação da celulose, por meio de um processo de hidrólise ácida utilizando ácido fórmico. De forma semelhante, Wei *et al.* (2021) alcançaram expressivas taxas de recuperação de açúcares (91,5%) para Glic e (84%) para Xil, empregando uma solução aquecida de etilenoglicol e água, catalisada por FeCl_3 . No contexto dos pré-tratamentos biológicos, De Souza e Shivakumar (2022) utilizaram o fungo *Pycnoporus coccineus*, promovendo um aumento no rendimento de açúcares fermentáveis e uma redução de 70% no teor de lignina do BCA, fator que contribuiu também para a diminuição no tempo de fermentação.

Na indústria voltada à produção de E2G, o pré-tratamento alcalino com NaOH tem sido testado. Ruan *et al.* (2024) reportaram um rendimento de 54,6% de sólidos recuperados e remoção de 82,3% da lignina, o que resultou em aumento na liberação de açúcares redutores. Em linha com esses resultados, Yaverino-Gutierrez *et al.* (2024) obtiveram recuperação de até 68,0% de Xil, adequada para posterior fermentação alcoólica.

Outro método promissor é o pré-tratamento hidrotérmico (Figura 4) por ser uma abordagem eficiente e prática, que utiliza apenas água e dispensa o uso de produtos químicos adicionais ou materiais anticorrosivos de alto custo, apresenta grande potencial para aplicação na indústria (Ruiz *et al.*, 2013). Ele é realizado através do

aquecimento da biomassa em meio aquoso por determinado tempo e temperatura, geralmente cerca de 200 °C (Ilanidis *et al.*, 2021).

Figura 4 - Hidrolisado hemicelulósico obtido de pré-tratamento hidrotérmico de bagaço de cana-de-açúcar.



Fonte: O Autor (2025)

Nesse tipo de pré-tratamento ocorre a hidrólise, apenas com água, catalisada pelos íons de hidrônio resultantes da autoionização da água e pelos ácidos orgânicos liberados pela biomassa (Ilanidis *et al.*, 2021). A eficiência do pré-tratamento é ajustada através da temperatura e do tempo de exposição. Em alguns casos, ácidos como o ácido sulfúrico são adicionados para catalisar o processo, aumentando a eficiência da solubilização da hemicelulose e a remoção de lignina (Ahmad *et al.*, 2022).

De forma geral, o pré-tratamento do BCA resulta na separação da biomassa em duas frações principais: uma fração líquida, denominada HHBC, e uma fração sólida, rica em celulose e lignina residual, conhecida como celulignina. A fração sólida é comumente direcionada à etapa de hidrólise enzimática para a subsequente produção de E2G. Por sua vez, a fração líquida pode ter diferentes destinos: ser descartada, reutilizada em processos industriais ou ainda valorizada na produção de biocombustíveis gasosos, como biogás e biometano, ampliando o aproveitamento energético da biomassa e promovendo a integração entre rotas tecnológicas (Baêta *et al.*, 2016b; Vaz *et al.*, 2021).

De forma geral após o pré-tratamento do BCA são geradas duas frações; líquida (HHBC) e sólida (celulignina).

2.4 HIDROLISADO DE HEMICELULOSE DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

2.4.1 Composição do HHBC

O HHBC é composto majoritariamente por açúcares fermentáveis e diversos subprodutos derivados da biomassa, cujas concentrações variam conforme a origem do BCA e as condições aplicadas no pré-tratamento (Baêta *et al.*, 2016b; Kumari; Singh, 2018; Rabelo *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2017). A valorização do HHBC representa uma oportunidade estratégica para agregar valor às biorrefinarias de 2G, possibilitando a integração da produção de E2G com a geração de outros biocombustíveis, como bio-hidrogênio (BioH_2), BioCH_4 , biogás e etanol secundário. A Tabela 2 apresenta os intervalos típicos de concentração dos principais componentes presentes no HHBC oriundo de pré-tratamentos ácidos e hidrotérmicos.

Os açúcares constituem os principais componentes do HHBC. Compostos como Xil, manose, galactose e arabinose têm origem, predominantemente, na degradação da hemicelulose, enquanto Glic e celobiose são provenientes da solubilização parcial da celulose (Chai *et al.*, 2019; Santo *et al.*, 2018). Entre os subprodutos formados durante os pré-tratamentos, destacam-se os ácidos orgânicos, como ácido acético (AAc) e ácido fórmico, liberados principalmente pela quebra da hemicelulose em condições hidrotérmicas. O FF é gerado por meio da desidratação das pentoses, especialmente da Xil, enquanto o HMF é formado a partir da desidratação das hexoses, como a Glic, liberada da hemicelulose e da celulose. Além disso, compostos fenólicos como Va e Sg têm origem na degradação térmica da lignina (Du *et al.*, 2018; Sasaki; Adschiri; Arai, 2003; Vallejos *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2020).

Tabela 2 - Composição do hidrolisado hemicelulósico após pré-tratamentos ácidos e hidrotérmicos do bagaço de cana-de-açúcar

Compostos g.L⁻¹	Ilanidis <i>et al.</i> (2021)	Bittencourt <i>et al.</i> (2019)	De Sá <i>et al.</i> (2020)	Campos <i>et al.</i> (2021)	Adarme <i>et al.</i> (2019)	Ribeiro <i>et al.</i> (2017)	Nakasu <i>et al.</i> (2016)
Xil	20,4 ± 0,2	15,31 ± 0,34	12,00 ± 0,00*	5,29 ± 0,01	15,31 ± 0,34	18,40 ± 1,13	49,00 ± 0,84
Glic	2,8 ± 0,00*	2,65 ± 0,02	2,00 ± 0,00*	0,079 ± 0,00	2,65 ± 0,022	3,16 ± 0,21	7,82 ± 0,97
Arabinose	0,5 ± 0,00*	0,86 ± 0,09	0,60 ± 0,00*	0,71 ± 0,01	0,86 ± 9,49 × 10 ⁻²	0,66 ± 0,06	3,60 ± 0,06
Celobiose	-	-	-	0,69 ± 0,02	-	-	-
Galactose	0,3 ± 0,00*	-	-	-	-	-	-
Manose	0,4 ± 0,00*	-	-	-	-	-	-
Ácido Acético	4,001 ± 0,006	11,92 ± 0,24	8,00 ± 0,00*	1,46 ± 0,02	11,92 ± 0,24	10,98 ± 1,10	1,20 ± 0,02
Ácido Fórmico	0,998 ± 0,054	10,49 ± 0,26	4,00 ± 0,00*	-	10,49 ± 0,26	6,58 ± 0,15	0,70 ± 0,01
FF	2,50 ± 0,02	1,33 ± 0,01	3,00 ± 0,00*	0,88 ± 0,00	1,33 ± 1,16 × 10 ⁻²	3,93 ± 0,41	0,03 ± 0,003
HMF	< 0,01 ± 0,00*	0,58 ± 0,00	1,50 ± 0,00*	0,09 ± 0,00	0,58 ± 3,31 × 10 ⁻³	7,82 ± 0,97	0,20 ± 0,02
Va	0,0372 ± 0,0008	-	-	-	-	-	-
Sg	0,0184 ± 0,0004	-	-	-	3,24 ± 0,10	-	-
Condições de pré- tratamento	Reator de 1L T- 316, 5,1min após chegar a temperatura de 205°C e razão RLS 7:1	Reator Paar de 1,9L, 183°, 41min, pressão de 11,7 bar e concentração de 3,94 mL. gBC ⁻¹	Reator Paar de 2L, 185°C, 35 min, pressão de 10,22 bar e RSL 1:6 (g.mL ⁻¹)	Reator Paar de 1L, 170 °C, pressão de 203 MPa e RSL 1:10 (m.v ⁻¹)	Reator Paar de 2L, 183°C, 41min e RSL 3,94 mL. gBCA ⁻¹	Reator Parr 2L, 178,6 °C, 43,6min e RSL 0,24 g.mL ⁻¹	Reator de Liga de Aço, 10min a 150 rpm e RSL - 1:1 (m.v ⁻¹)

*Desvio padrão não informado; RLS - razão líquido sólido; RSL - razão sólido líquido; HMF – hidroximetilfurfural; Sg - siringaldeído

Fonte: O Autor, 2025

Várias alternativas para o aproveitamento do HHBC têm sido estudadas, desde a produção de E2G, ácidos orgânicos, xilitol, probióticos, biocombustíveis gasosos (como BioH₂, biogás e BioCH₄), entre outros.

Atualmente, nas plantas industriais de E2G, o HHBC é predominantemente direcionado para a fermentação alcoólica visando à produção de etanol. Contudo, essa destinação apresenta desafios técnicos significativos, uma vez que os açúcares C5 (pentoses) presentes no HHBC não são metabolizados pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, tradicionalmente utilizadas na produção de E1G. Além disso, a presença de compostos, como FF, HMF e fenóis, exige o uso de leveduras geneticamente modificadas ou o desenvolvimento de processos fermentativos separados, com microrganismos específicos para pentoses. Essas limitações reduzem a atratividade do HHBC na cadeia produtiva do E2G (Bittencourt *et al.*, 2019; De Sá *et al.*, 2020).

Uma das alternativas mais interessantes, considerando o cenário atual das biorrefinarias de cana, é destinar o HHBC como substrato para a produção de biogás ou BioCH₄ via digestão anaeróbia (Adarme *et al.*, 2019; Baêta *et al.*, 2016b; Barakat *et al.*, 2012; Bittencourt *et al.*, 2019; Ribeiro *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2019; Zheng *et al.*, 2021). No entanto, estudos apontam que tanto a fermentação para produção de etanol quanto os processos de digestão anaeróbia são negativamente impactados pela presença de compostos, como aldeídos furânicos (FF e HMF). Esses compostos inibem o metabolismo microbiano, prejudicando o desempenho fermentativo e resultando em baixas taxas de produção de BioH₂ e BioCH₄ (Baêta *et al.*, 2016a; Monlau *et al.*, 2014; Quéméneur *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2017a; Siqueira; Reginatto, 2015).

Diante desse cenário, torna-se necessária a detoxificação prévia do HHBC para viabilizar sua aplicação eficiente nos diferentes processos biotecnológicos (Campos *et al.*, 2021; Volpi *et al.*, 2021). A literatura destaca diversas abordagens de detoxificação, classificadas em métodos físicos (como evaporação, filtração por membranas), químicos (adsorção com carvão ativado, troca iônica, neutralização, extração com solventes orgânicos) e biológicos (utilização de microrganismos adaptados, específicos ou geneticamente modificados) (Balasundaram *et al.*, 2022).

O Quadro 1 apresenta um resumo das estratégias descritas na literatura para mitigar os efeitos inibitórios de compostos tóxicos presentes em hidrolisados

lignocelulósicos, com vistas à melhoria da eficiência dos processos de fermentação e digestão anaeróbia.

Quadro 1 - Estratégias destacadas para mitigar os efeitos dos compostos inibitórios presentes em hidrolisados lignocelulósicos.

Estratégia	Procedimento/Comentário
Realizar o processo em dois estágios	A etapa acidogênica pode hidrolisar e detoxificar o hidrolisado, melhorar os parâmetros cinéticos e potencializar a produção de metano na etapa metanogênica
Codigestão	Utilizar resíduos de mesmo processo visando diluir, e consequentemente reduzindo-os efeitos tóxicos e inibitórios
Detoxificação/condicionamento com aditivos químicos	Suplementação química, ou seja, a adição de álcalis [NaOH, Ca(OH) ₂ , NH ₄ OH], agentes redutores com NaBH ₄ , polímeros
Aquecimento e vaporização	Evaporação de inibidores voláteis por aquecimento
Extração líquido-sólido	Troca iônica, adsorção com carvão ativado, uso de cinzas
Detoxificação biológica	Uso de microrganismos geneticamente modificados ou adaptados a degradação de inibidores
Evolução adaptativa de microrganismos no ambiente inibitório	Adaptação através da realização de testes com concentrações crescentes dos compostos/ meio sintético ou hidrolisado hemicelulósico real
Energia genética/metabólica	Uso de microrganismos geneticamente modificados para desintoxicar hidrolisados lignocelulósicos

Fonte: Adaptado de Balasundaram *et al.* (2022); Adarme *et al.*, 2019; Baêta *et al.*, 2016a.

2.5 FURFURAL: MECANISMOS DE FORMAÇÃO A PARTIR DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA E SEUS IMPACTOS NO PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA

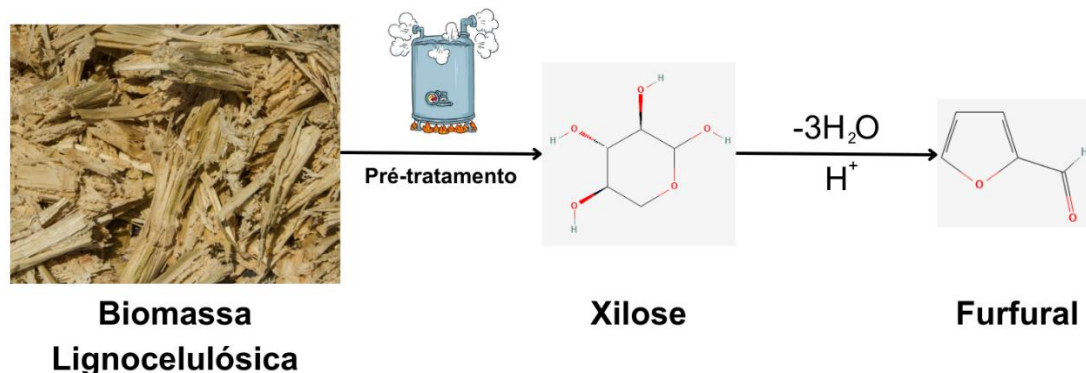
2.5.1 Mecanismos de formação do furfural

O FF é um aldeído aromático heterocíclico formado principalmente a partir da degradação térmica de pentoses, especialmente Xil. A hidrólise da hemicelulose sob essas condições promove a liberação de açúcares solúveis, os quais, sob condições mais severas de temperatura e acidez, sofrem reação de desidratação que culmina na formação do FF (Baêta *et al.*, 2016a).

Conforme ilustrado na Figura 5, o processo é catalisado por ácidos orgânicos, como o ácido acético, que é liberado da biomassa durante a quebra dos grupos acetil

presentes na hemicelulose. A formação de FF é favorecida em temperaturas superiores a 170 °C e em meios com pH ácido, o que caracteriza ambientes típicos de pré-tratamentos industriais (Baêta *et al.*, 2016a).

Figura 5 - Formação do furfural a partir de biomassa lignocelulósica



Fonte: O Autor (2025).

Condições de processamento mais agressivas promovem maior degradação de pentoses, especialmente arabinose e Xil, aumentando significativamente a geração de FF (Baêta *et al.*, 2016a). A presença desse composto nos hidrolisados representa um grande desafio para os processos biotecnológicos, como a DA para produção de biocombustíveis. Estudos relatam que concentrações elevadas de FF podem inibir a atividade microbiana, afetando enzimas-chave envolvidas na conversão de açúcares, o que compromete a eficiência da produção de biogás e BioCH₄ (Ribeiro *et al.*, 2017).

2.5.2 Efeitos do furfural sobre a digestão anaeróbia

O FF é amplamente reconhecido na literatura como um dos principais compostos inibitórios presentes em HHBCs, resultante da degradação térmica de pentoses durante o pré-tratamento da biomassa. Sua presença no meio reacional pode comprometer significativamente o desempenho da DA, especialmente nas etapas relacionadas à produção de biogás e BioCH₄ (Balasundaram *et al.*, 2022)

Diversos estudos apontam que o FF apresenta elevada toxicidade para os microrganismos anaeróbios, particularmente para arqueas metanogênicas, impactando negativamente a atividade enzimática, o metabolismo energético e a integridade estrutural celular (Baêta *et al.*, 2016b; Ribeiro *et al.*, 2017c; Monlau *et al.*, 2014). Seus efeitos deletérios estão associados a mecanismos como: (i) inibição da

glicólise e do ciclo de Krebs (Balasundaram *et al.*, 2022); (ii) danos a organelas intracelulares, incluindo membranas mitocondriais, vacúolos, citoesqueleto e cromatina nuclear (Guo *et al.*, 2008); (iii) formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), induzindo apoptose celular (Monlau *et al.*, 2014); e (iv) interação com o DNA, promovendo quebras nas fitas e inibindo a replicação, o que reduz a taxa de crescimento microbiano (Muñoz-Páez *et al.*, 2019; Kim, 2018).

Além disso, seu caráter hidrofóbico facilita a difusão pelas membranas celulares, intensificando a toxicidade e prolongando a fase de latência da DA. A presença do FF também pode promover o acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs), indicando desequilíbrios no processo de metanogênese e agravando o comprometimento da produção de biometano (Monlau *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2017).

2.5.2.1 Digestão anaeróbia

2.5.2.1.1 Fundamentos do processo

A DA é um processo biológico complexo no qual a matéria orgânica é decomposta na ausência de oxigênio molecular, por meio da ação sinérgica de grupos distintos de microrganismos. Essa degradação resulta, predominantemente, na formação de BioCH₄ e CO₂, além de menores quantidades de outros gases como sulfeto de hidrogênio (H₂S), hidrogênio (H₂), amônia (NH₃) e vapor d'água (H₂O) (Harper; Pohland, 1986; Moraes; Zaiat; Bonomi, 2015).

O processo foi inicialmente descrito por Jan Baptista Van Helmont no século XVII, que observou a produção de gases inflamáveis a partir da decomposição de materiais orgânicos (Horan; Yaser; Wid, 2018). Posteriormente, em 1776, Alessandro Volta confirmou que a produção de gás estava associada ao processo fermentativo e era proporcional à quantidade de matéria orgânica em decomposição (Deublein; Steinhauser, 2011; Horan; Yaser; Wid, 2018). O interesse pela tecnologia aumentou globalmente a partir da década de 1970, impulsionado pelas crises energéticas e pela crescente preocupação ambiental quanto à dependência de fontes fósseis (Albuquerque *et al.*, 2012; Atelge *et al.*, 2020).

A DA pode ser descrita em até nove etapas microbianas distintas, conforme proposto por Harper e Pohland (1986), e simplificadas em cinco fases principais:

A taxa de hidrólise depende diretamente da natureza do substrato. Para materiais lignocelulósicos, como o BCA, essa etapa pode ser limitante da taxa global do processo (Atelge *et al.*, 2020; Kunz; Steinmetz; Amara, 2019).

(b) Acidogênese

Durante a acidogênese, os produtos da hidrólise são fermentados por bactérias acidogênicas, resultando na produção de AGVs como ácido acético, propiônico, butírico, bem como álcool (principalmente etanol), cetonas, H₂, H₂S e CO₂ (Li; Chen; Wu, 2019). Essa fase também gera novas células bacterianas e é crítica para o equilíbrio do sistema.

(c) Acetogênese

Nesta etapa, os AGVs formados anteriormente são convertidos em acetato, CO₂ e H₂ por bactérias acetogênicas (Rajendran *et al.*, 2020). A sintrofia entre essas bactérias e as arqueias metanogênicas garante a estabilidade da conversão. Além disso, bactérias homoacetogênicas podem utilizar CO₂ e H₂ para formar acetato, contribuindo para o fornecimento do principal substrato da metanogênese (Aquino; Chernicharo, 2005; Kunz; Steinmetz; Amara, 2019).

(d) Metanogênese

A metanogênese é a etapa final do processo, conduzida por arqueias metanogênicas que convertem acetato (via metanogênese acetoclástica) ou H₂ + CO₂ (via metanogênese hidrogenotrófica) em CH₄ e CO₂ (Rajendran *et al.*, 2020; Von Sperling, 2016). As vias acetoclástica e hidrogenotrófica operam simultaneamente, sendo a primeira responsável por cerca de 70% da produção de metano (Gomez Camacho; Ruggeri, 2018).

(e) Sulfetogênese

Em presença de compostos sulfurados, como sulfato (SO₄²⁻), as bactérias redutoras de sulfato (BRS) competem com os microrganismos metanogênicos pelos substratos, redirecionando o fluxo de H₂ e acetato para a formação de H₂S (Chen *et*

al., 2014; Jiménez *et al.*, 2018). A competição pode reduzir significativamente a produção de metano e alterar a eficiência do processo (Chernicharo, 2016; Callado; Damianovic; Foresti, 2017).

2.5.2.1.2 Produtos: biogás e biometano

O biogás é uma fonte energética renovável obtida por meio da DA de resíduos orgânicos. Composto principalmente por metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), o biogás bruto necessita passar por um processo de purificação, conhecido como upgrading, para remoção de impurezas como sulfeto de hidrogênio (H_2S), umidade e traços de compostos voláteis (CIBiogás, 2023; Empresa de Pesquisa Energética, 2023).

Após a purificação, o biogás é convertido em BioCH_4 , um combustível versátil com aplicações industriais, veiculares e energéticas, possui alto poder calorífico inferior ($\text{PCI} \approx 50 \text{ kJ/g}$), o que o torna altamente atrativo como substituto ao gás natural (Faber, 2021; U.S. Energy Information Administration, 2022). As tecnologias de produção incluem a digestão anaeróbica de resíduos orgânicos, gaseificação de biomassa e processos Power-to-Gas (Hagos *et al.*, 2017; Zhao; Xu; Wang, 2019). No Brasil, o biometano a ser comercializado que apresentar composição especificada pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), incluindo ($\text{CH}_4 > 90\%$, $\text{CO}_2 < 3\%$ e $\text{H}_2\text{S} < 10 \text{ mg/m}^3$) (Empresa de Pesquisa Energética, 2023).

2.5.2.2 Efeito do furfural sobre a produção de biogás e biometano

A maior parte dos estudos envolvendo compostos inibitórios foca na elucidação dos efeitos do FF e outros subprodutos da hidrólise ácida ou hidrotérmica sobre a produção biológica de hidrogênio, principalmente em processos de fermentação escura (Akobi; Hafez; Nakhla, 2016; Lin *et al.*, 2020; Monlau *et al.*, 2014; Muñoz-Páez *et al.*, 2019; Quéméneur *et al.*, 2012; Siqueira; Reginatto, 2015; Sun *et al.*, 2019). Nessas investigações, tem-se observado que a presença de FF altera a composição da microbiota fermentativa, promovendo o aumento relativo da abundância de espécies como *Clostridium bifermentans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium sartagoforme* e *Lactobacillus* (Muñoz-Páez *et al.*, 2019; Quéméneur *et al.*, 2012).

Entretanto, quando se trata do efeito do furfural na DA com foco na produção de BioCH_4 , os estudos ainda são limitados. Dentre os poucos relatos encontrados na

literatura destacam-se os trabalhos de Barakat *et al.* (2012), Ghasimi *et al.* (2016) e Sun *et al.* (2019), os quais investigaram a influência de inibidores furânicos, incluindo o FF sobre a metanogênese. Esses estudos também demonstram uma lacuna significativa no que se refere à identificação da comunidade microbiana metanogênica presente em sistemas anaeróbios contendo furfural como co-substrato ou contaminante.

Contudo, a influência do FF na DA não é linear nem totalmente compreendida pela literatura atual. Evidências sugerem que seu impacto depende da concentração do composto, da composição do inóculo e das condições operacionais. Altas concentrações ($\geq 3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) são frequentemente associadas à inibição severa da metanogênese (Barakat *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2024a,b). Por outro lado, concentrações moderadas ou baixas têm apresentado efeitos inesperadamente positivos, sugerindo uma possível ação sinérgica na produção de biogás e BioCH₄ (Caroca *et al.*, 2021; Araújo *et al.*, 2024a,b).

Essa ambiguidade é bem ilustrada por estudos contrastantes. Por exemplo, Barakat *et al.* (2012) observaram uma inibição de 72,8% na produção de BioCH₄ ao utilizar $1,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF combinado com $1,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Xil. Já Araújo *et al.* (2024a), utilizando $5,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de xilose com $1,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF, relataram uma redução de apenas 27,9% no rendimento acumulado máximo de BioCH₄ (Pm).

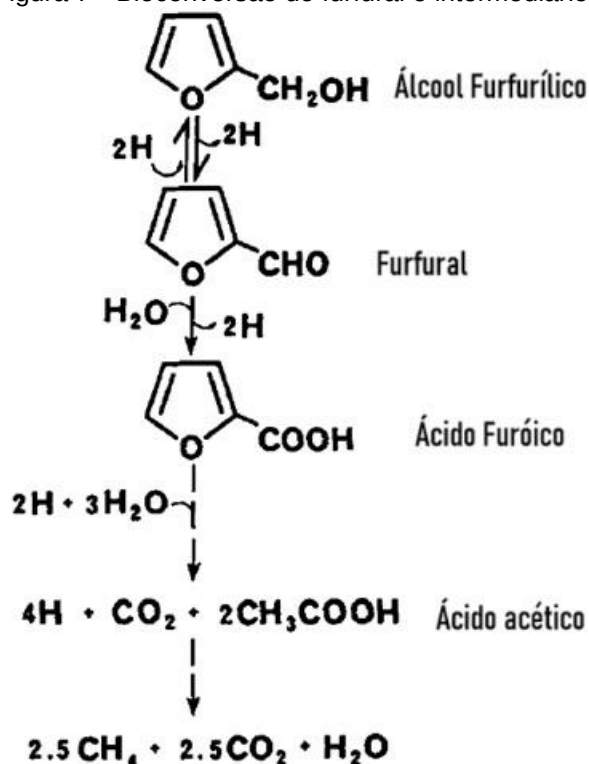
Mais ainda, na concentração de $0,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF, Araújo *et al.* (2024a) relataram um aumento de 5,4% em Amáx, resultado que está em concordância com Ghasimi *et al.* (2016), que observaram melhora no rendimento de BioCH₄ sob $0,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF, em condições mesofílicas e termofílicas.

Adicionalmente, os resultados de Sun *et al.* (2019) evidenciam que combinações binárias de substratos intermediários da acetogênese (como ácido acético ou etanol) com FF apresentam menor efeito inibitório sobre a produção de BioCH₄ quando comparadas a misturas ternárias contendo FF e outro inibidor adicional, como a Va. Tal observação reforça a complexidade da interação entre compostos inibitórios e destaca a necessidade de investigação sistemática das sinergias ou antagonismos entre diferentes subprodutos presentes nos hidrolisados hemicelulósicos.

O FF também pode ser co-metabolizado e convertido em intermediários menos tóxicos, como álcool furfurílico (AF), ácido furóico (AFo) e ácido acético (AAc) (Figura

7), este último, um substrato central na via acetoclástica da metanogênese (Sun *et al.*, 2019).

Figura 7 - Bioconversão do furfural e intermediários



Fonte: Adaptado, Rivard e Grohmann (1991)

A conversão biológica do FF sob condições anaeróbicas, com formação de intermediários como AF, AFo e AAc, representa um processo-chave de oxirredução com implicações diretas na mitigação da toxicidade do FF em sistemas de DA. Essa biotransformação não apenas reduz os efeitos inibitórios do FF sobre microrganismos sensíveis, mas também favorece a eficiência metabólica da microbiota metanogênica ao gerar metabólitos mais assimiláveis. O processo é predominantemente mediado por reações redutivas dependentes de cofatores redox, como NADH/NAD⁺ e NADPH/NADP⁺ (Guarnieri *et al.*, 2017; Rodríguez *et al.*, 2021; Tsuge *et al.*, 2014; Zhang; Han; Ezeji, 2012; Zheng *et al.*, 2006).

Dentre os produtos dessa conversão, o AF é amplamente reportado na literatura, sendo detectado em diversos sistemas microbianos. Boopathy (2009) demonstrou que concentrações de FF de até 1,4 g·L⁻¹ estimularam o crescimento de *Methanococcus* sp., promovendo uma conversão quase estequiométrica de FF em AF. Essa transformação favoreceu a atividade de arqueias metanogênicas

acetoclásticas, geralmente inibidas pelo FF, resultando em aumento significativo da produção de BioCH₄.

Resultados similares foram observados com *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 e *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032, ambos com elevada capacidade de reduzir FF a AF sob condições anaeróbias. Zhang, Han e Ezeji (2012) verificaram que, em *C. acetobutylicum*, a redução do FF favoreceu a regeneração de NAD⁺, atuando como aceptor final de elétrons em uma reação de dois elétrons (2e⁻), o que impulsionou a glicólise e o crescimento celular. De modo análogo, Tsuge *et al.* (2014) demonstraram que *C. glutamicum*, ainda que classicamente associado a metabolismo aeróbio, foi capaz de operar essa conversão em condições anaeróbias, com redução significativa nas razões NADH/NAD⁺ e NADPH/NADP⁺, sugerindo a presença de enzimas redutivas endógenas com alta afinidade pelo FF.

Complementarmente, Rodríguez *et al.* (2021) identificaram que *Bacillus cereus*, uma bactéria anaeróbia facultativa, foi capaz de converter FF por meio de aldeído redutases e álcool desidrogenases, com alta eficiência mesmo em concentrações superiores a 3,8 g·L⁻¹. A presença de glicose como co-substrato foi fundamental para a regeneração de NAD⁺ e, consequentemente, para o metabolismo redutivo do FF. Contudo, observou-se que concentrações excessivas de glicose reduziram a taxa de conversão e a produção de AF, evidenciando o papel limitante da natureza e concentração do co-substrato no processo.

A literatura enfatiza a importância dos cofatores redox (NAD(P)H/NAD(P)⁺), uma vez que sua mobilização para a redução do FF pode comprometer o balanço redox celular. Esse desequilíbrio impacta negativamente processos metabólicos centrais, como glicólise, biossíntese de solventes e regeneração energética, podendo inclusive levar à interrupção do metabolismo celular (Zhang; Han; Ezeji, 2012).

Em sistemas compostos por consórcios microbianos complexos, os compostos AF, AFo e AAc atuam como intermediários no metabolismo do FF até sua conversão final em BioCH₄ e dióxido de carbono (CO₂). Rivard e Grohmann (1991) demonstraram que, em determinados consórcios anaeróbios, o FF foi sequencialmente transformado por rotas específicas, conforme apresentado na Figura 7 com aumento na proporção de microrganismos metanogênicos adaptados. Essa adaptação sugere um mecanismo natural de tolerância à presença de compostos lignocelulósicos inibitórios, garantindo a continuidade e a eficiência do processo de digestão anaeróbia mesmo em ambientes adversos.

Dessa forma, embora o FF seja amplamente citado como um agente inibidor da metanogênese, ainda não há consenso na literatura quanto aos limiares exatos de toxicidade, tampouco sobre os efeitos sinérgicos em diferentes cenários operacionais. Tais lacunas apontam para a necessidade urgente de estudos sistemáticos que considerem a natureza do inóculo, capacidade de conversão do FF em seus intermediários, o tempo de exposição, a presença de co-substratos e o perfil metabólico da microbiota.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

O presente estudo experimental foi conduzido nos laboratórios de Saneamento Ambiental (LSA) e de Biologia Molecular e Tecnologia Ambiental (LABIOTA), ambos pertencentes à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em Recife–PE.

3.2 INÓCULO: ORIGEM E CARACTERÍSTICAS

O inóculo empregado foi lodo granular anaeróbico proveniente de um reator de circulação interna (BIOPAQ®IC, PAQUES), (Figura 8), operando em condições mesofílicas (37 ± 1 °C) para o tratamento de efluente da indústria cervejeira, localizado no município de Itapissuma-PE.

Figura 8 - Reator BIOPAQ®IC utilizado para obtenção do lodo granular anaeróbico (a) e coleta do lodo (b).



Fonte: O Autor (2025)

Após a coleta, o lodo granular anaeróbico proveniente do reator da cervejaria (LCE) foi submetido a um processo de elutriação. O procedimento consistiu na homogeneização do lodo com água deionizada, seguida por etapas de decantação por gravidade, nas quais o sobrenadante foi cuidadosamente descartado. O processo

foi repetido sucessivamente até que a fase líquida superficial apresentasse aspecto visualmente límpido, assegurando a concentração da biomassa ativa no fundo do recipiente.

Após o processo de elutriação, o lodo foi incubado a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ em sala termostatzada para compensar a produção de metano ou de qualquer outro produto a partir da biodegradabilidade de matéria orgânica residual (Holliger *et al.* 2016). Posteriormente, uma alíquota foi retirada para fins de caracterização físico-química. A caracterização incluiu os seguintes parâmetros: pH (Eletrométrico, 4500-H+ B), sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e sólidos fixos (SF) (Gravimétrico, 2540 B; D; E), alcalinidade total e parcial (Titulométrico, 2320 B) descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017), os valores da caracterização do inóculo estão na Tabela 3. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Após caracterização, o LCE foi acondicionado a 20°C , sob condições anaeróbias, até sua utilização experimental.

Tabela 3 - Caracterização físico-química do LCE.

Parâmetros	Valores
pH	7,45
Sólidos totais (g.L^{-1})	$45,90 \pm 0,20$
Sólidos totais voláteis (g.L^{-1})	$83,30 \pm 2,11$
Alcalinidade total ($\text{g CaCO}_3\text{.L}^{-1}$)	1261,86
Alcalinidade parcial ($\text{g CaCO}_3\text{.L}^{-1}$)	793,08

Fonte: O Autor (2025).

3.3 PROJETO EXPERIMENTAL

3.3.1 Delineamento dos ensaios

Todos os experimentos foram conduzidos seguindo as diretrizes da norma VDI 4630 (2016). Os ensaios foram executados com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes concentrações de FF sobre a produção acumulada de biogás e BioCH_4 , tanto na presença quanto na ausência de Xil.

As concentrações de FF testadas ($0,6$; $1,2$; $2,6$ e $3,6 \text{ g.L}^{-1}$) foram definidas com base em valores tipicamente encontrados em HHBC submetidos a pré-tratamentos ácido e hidrotérmico, conforme discutido anteriormente (Tabela 2, Seção 2.4.1). A Xil,

representando um açúcar monomérico predominante da fração C5 dos HHBC, foi utilizada como substrato modelo na concentração de $5,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, conforme estabelecido por De Sá *et al.* (2020) e Quéméneur *et al.* (2012). A Tabela 4 apresenta o delineamento dos ensaios, com as respectivas concentrações de FF e Xil aplicadas em cada tratamento.

Tabela 4 - Delineamento experimental: concentrações de xilose e furfural utilizadas nos ensaios de batelada para avaliação da produção de biogás e biometano.

Ensaio	Xil ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	FF ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
5,0 Xil*	5,0	0,0
0,6 FF*	0,0	6,0
1,2 FF*	0,0	1,2
2,6 FF*	0,0	2,6
3,6 FF*	0,0	3,6
5,0 Xil + 0,6 FF	5,0	0,6
5,0 Xil + 1,2 FF	5,0	1,2
5,0 Xil + 2,6 FF	5,0	2,6
5,0 Xil + 3,6 FF	5,0	3,6

*Ensaio de controle.

Fonte: O Autor (2025).

3.3.2 Ensaios de biodigestão

Os ensaios em batelada foram realizados em triplicata, operados em condições mesofílicas em frascos de borossilicato de 250 mL e com volume de trabalho mantido em torno de 215 mL e headspace em 30%. Os ensaios tiveram duração de 85 dias. Todos os reatores foram inoculados com LCE na concentração de $1,0 \text{ g}\cdot\text{SV}\cdot\text{L}^{-1}$.

Macronutrientes: KH_2PO_4 ($140 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); NH_4Cl ($110 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); Na_2HPO_4 ($150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e micronutrientes: $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($3330 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); ZnCl_2 ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); $\text{CoC}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e HCl ($1\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$) foram adicionados, segundo proposto por Siqueira; Reginatto, (2015) e De Sá *et al.* (2013), respectivamente; assim como extrato de levedura ($0,10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) e resazurina ($200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) de acordo com Florencio *et al.* (1993). O pH inicial foi ajustado para 8,0 por meio de adição de NaOH 40% (m/m) ou HCl (1M). Após o ajuste os reatores foram tamponados com bicarbonato de sódio ($1\text{ gNaHCO}_3\cdot\text{gDQO}_{\text{add}}^{-1}$).

Todos os frascos foram lacrados com tampa e borracha de isobutileno isopreno e, posteriormente, purgados com gás N₂ durante 2 minutos para garantir condições de anaerobiose. Os reatores foram agitados a 120 rpm e incubados em uma sala termostatzada a $35 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.4.1 Caracterização da fração gasosa

A composição da fração gasosa gerada nos reatores foi analisada por cromatografia gasosa (GC), utilizando o equipamento GC-2014 (*Shimadzu Scientific Instruments*). Os principais constituintes monitorados foram hidrogênio (H₂), nitrogênio (N₂), metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂). As condições operacionais do método cromatográfico estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5 - Condições cromatográficas para análise da composição do biogás.

Coluna	Carboxen® 1010PLOT (Supelco) (30 m x 0,52 mm x 30 µm)
Temperatura de injeção	200 °C
Modo de injeção	Split 5:1
Gás de arraste	Argônio
Fluxo do gás	3,5 mL/min
Rampa de temperatura	35 °C/min, 24 °C por 1 min até 170°C
Detector	Detector de condutividade térmica (TCD)
Temperatura do detector	250 °C
Tempo total de análise	7,6 min

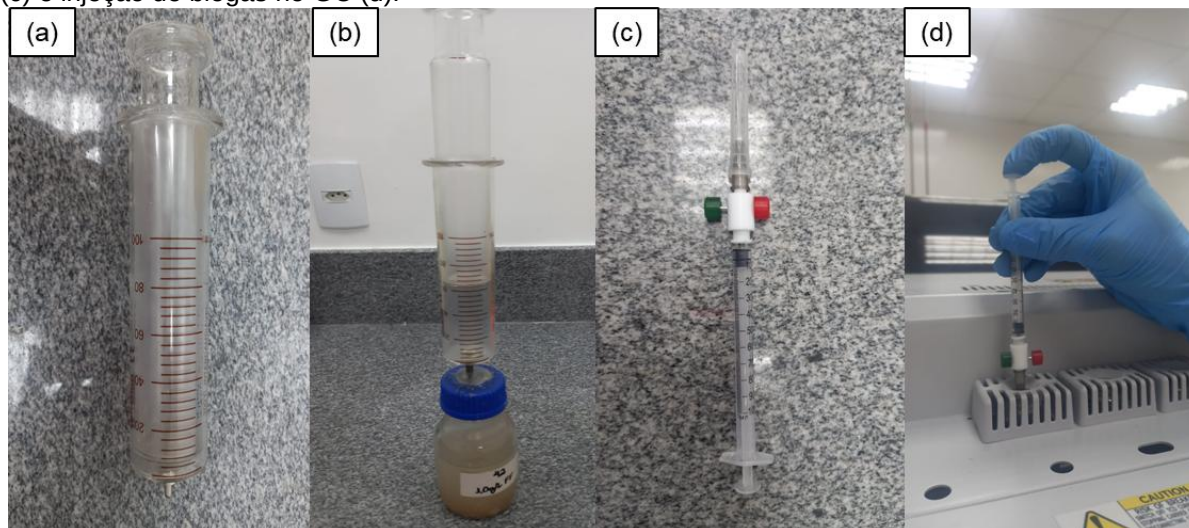
Fonte: O Autor (2025)

Antes de cada análise, o volume de biogás acumulado no headspace dos reatores foi deslocado utilizando uma seringa de vidro com conexão metálica (Luer Metal, Arti Glass), conforme Figura 9a. Os reatores foram removidos da estufa apenas no momento da coleta, de forma a manter as condições termofílicas estáveis.

Uma amostra de 200 µL de biogás foi retirada do headspace de cada reator com o auxílio de uma seringa de 1 mL (13×0,45 mm, Descarpac) acoplada a uma válvula de gás (Mininert®, Supelco) e imediatamente injetada no cromatógrafo a gás

(Figura 9). As análises foram realizadas duas vezes por semana, permitindo o monitoramento da evolução da composição gasosa ao longo do tempo.

Figura 9 - Procedimento para medição do volume e composição do biogás: seringa de vidro utilizada para deslocamento do biogás (a); medição do volume (b) e, seringa com válvula utilizada para coleta (c) e injeção de biogás no GC (d).



Fonte: O Autor (2025).

3.4.2 Caracterização da fração líquida

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são padrões cromatográficos adquiridos da Sigma-Aldrich (Brasil), como D-xilose (Xil), ácido acético (AAc), ácido propanóico (AP), ácido isobutanóico (Alb), ácido butanóico (AB), ácido pentanóico (APen), ácido hexanóico (AH), Furfural (FF) e seus intermediários: álcool furfurílico (AF), ácido furoico (AFo).

As análises para determinação das concentrações de Xil foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando equipamentos *Shimadzu* e *Agilent 1100 série*. A quantificação de Xil foi realizada com detector de índice de refração (*RID-20A, Shimadzu*).

Para a execução das análises cromatográficas mencionadas, as amostras foram coletadas (aproximadamente 2 mL), transferidas para microtubos tipo Eppendorf, e centrifugadas em centrífuga HERMLE Z 306 (Labortechnik GmbH) a 14.000 rpm por 10 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi filtrado com filtros de seringa de celulose regenerada (0,45 μm) e diluído conforme necessário para posterior análise.

A quantificação dos AGVs — AAc, AP, Alb, AB, APen e AH —, bem como dos compostos furânicos (FF, AF e AFo) foi realizada por cromatografia gasosa (GC), utilizando um cromatógrafo Agilent 7890A, equipado com sistema de injeção automática, injetor split/splitless e detector de espectrometria de massas por ionização por elétrons (MS – modelo 7975C, Agilent). O gás de arraste utilizado foi hélio com fluxo de 1 mL.min⁻¹, com modo de injeção split 10:1, temperatura do injetor e linha da transferência de 250°C, temperatura do analisador de massas quadrupolo 150°C, temperatura da fonte 230°C, temperatura inicial da coluna de 100°C por 1 min. A rampa de temperatura foi ajustada para 8°C.min⁻¹ até 150°C por 1 min.; 35°C.min⁻¹ até 200°C por 8 min. e tempo de análise 18 min.

As análises de demanda química de oxigênio (DQO) foram realizadas pelo método colorimétrico 5220 D, enquanto as determinações de pH foram realizadas pelo método eletrométrico 4500-H⁺ B (APHA, 2017). As medições de DQO foram feitas nas soluções para estimar a DQO adicionada (DQOadd) para tamponamento dos reatores e o pH foi aferido no início (dia zero) e ao final dos testes.

3.5 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DE BIOGÁS E BIOMETANO

A produção acumulada de biogás e BioCH₄ em cada ensaio foi determinada a partir do volume diário produzido e da respectiva composição gasosa do headspace. O volume de biogás foi medido utilizando uma seringa de vidro aplicando-se o método de deslocamento do êmbolo, conforme descrito por Owen *et al.* (1979). A composição gasosa foi determinada por cromatografia gasosa, conforme as condições detalhadas anteriormente na Seção 3.4.1.

O volume de BioCH₄ foi calculado usando a Equação 1, proposta por (LOGAN *et al.*, 2002), onde $V_{g,i}$ e $V_{g,i-1}$ são respectivamente o volume acumulado de BioCH₄ no tempo atual e anterior, $C_{g,i}$ e $C_{g,i-1}$ são o percentual de BioCH₄ medidos por cromatografia gasosa no headspace do reator no intervalo atual e no anterior, $V_{G,i}$ e $V_{G,i-1}$ são respectivamente o volume acumulado de biogás no tempo atual e anterior e V_g o volume de headspace no reator. Todos os valores de volume foram corrigidos em condições normais de temperatura e pressão (CNTP) e tomados em NmL.

$$V_{g,i} = V_{g,i-1} + C_{g,i}(V_{G,i} - V_{G,i-1}) + V_g(C_{g,i} - C_{g,i-1}) \quad (1)$$

A partir dos valores obtidos na Equação (1) foram calculados os rendimentos acumulados de biogás e BioCH₄ conforme a Equação 2 e 3, em que $R_{g,i}$ e $R_{G,i}$ são, respectivamente, os rendimentos acumulados diários de BioCH₄ e biogás em NmL de CH₄.gSV⁻¹ e NmL de Biogás.gSV⁻¹, e QL a quantidade de inóculo adicionado em cada reator em g.

$$R_{g,i} = \frac{V_{g,i}}{QL} \quad (2)$$

$$R_{G,i} = \frac{V_{G,i}}{QL} \quad (3)$$

3.6 MODELAGEM CINÉTICA

A equação de Gompertz modificada, Equação 4, foi utilizada para determinar os parâmetros cinéticos via regressão de dados experimentais do rendimento cumulativo de biogás e BioCH₄, em que P é o rendimento do biogás no tempo t , P_m é o potencial máximo de rendimento, R_m taxa máxima de produção, λ representa a fase lag e e a constante de Euler ($\approx 2,718$). Tal modelo é amplamente utilizado em pesquisas semelhantes para prevê comportamento sigmoidal na produção acumulada de biogás e BioCH₄ (Akobi; Hafez; Nakhla, 2016; Baêta, *et al.*, 2016a,b; Caroca *et al.*, 2021).

$$P = P_m \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m}{P_m} e(\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (4)$$

A validade do modelo foi verificada pelo coeficiente de determinação (R^2). A modelagem foi realizada empregando o software OriginLab v10 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

3.7 ESTIMATIVA DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA – CI 50

Com base em Siqueira; Reginato, (2015), a partir dos dados da velocidade máxima de rendimento de biogás e BioCH₄ obtidos por meio do modelo de Gompertz modificado, foi determinada a razão entre a velocidade máxima de cada ensaio

contendo Xil e diferentes concentrações de FF e a velocidade máxima do ensaio controle, que continha apenas Xil. Essa normalização dos resultados seguiu a Equação 5.

$$Rm_{relativo} = \frac{Rm_{inibidor}}{Rm_{controle}} \quad (5)$$

Onde: $Rm_{inibidor}$ e $Rm_{controle}$ representam, respectivamente, a velocidade máxima de produção de Biogás ou BioCH₄ nos ensaios contendo Xil e diferentes concentrações de FF, e no ensaio controle contendo apenas Xil.

A partir desses dados, foi construída uma curva relacionando a velocidade relativa de rendimento às diferentes concentrações dos inibidores, ajustando-se os resultados a equações polinomiais. Com base nessas equações, foi estimada a concentração do inibidor capaz de reduzir a velocidade relativa de produção dos biogases em 50%, denominada CI₅₀ (Yu; Fang, 2001; Siqueira; Reginato, 2015). O ajuste dos dados foi realizado utilizando o software OriginLab v10.

3.8 AVALIAÇÃO DO SINERGISMO OU ANTAGONISMO

Para avaliar o efeito sinérgico ou antagônico da mistura dos substratos (Xil e FF), com base nos valores de rendimento máximo de BioCH₄ (P_m), fornecidos pelo modelo de Gompertz Modificado, utilizou-se o Índice de Sinergia (IS), conforme Equação (6), Donoso-Bravo *et al.* (2019):

$$IS = \frac{BioCH_4_{observado}}{BioCH_4_{esperado}} \quad (6)$$

O valor de BioCH₄ esperado foi obtido de forma proporcional, a partir dos rendimentos individuais dos substratos isolados (Xil e FF), de acordo com a Equação (7):

$$BioCH_4_{esperado} = \sum BioCH_4(Si) * \%Si \quad (7)$$

Onde $\text{BioCH}_4(\text{S}_i)$ representa o rendimento de BioCH_4 ($\text{NmL} \cdot \text{gSV}^{-1}$) da digestão individual de cada substrato, e $\% \text{S}_i$ é a proporção de cada substrato presente na mistura Tabela 6.

Tabela 6 - Proporção em massa de xilose e furfural nos ensaios de co-digestão anaeróbia em reatores de 215 mL

Ensaio	Xil (g)	FF (g)	% Xil	% FF
5,0 Xil + 0,6 FF	1,075	0,129	89,30%	10,70%
5,0 Xil + 1,2 FF	1,075	0,258	80,60%	19,40%
5,0 Xil + 2,6 FF	1,075	0,559	65,80%	34,20%
5,0 Xil + 3,6 FF	1,075	0,774	58,10%	41,90%

Fonte: O Autor (2025).

Valores de IS superiores a 1 indicam sinergismo, enquanto valores inferiores indicam antagonismo metabólico.

3.9 ESTIMATIVA DO POTENCIAL BIOQUÍMICO TEÓRICO DE BIOMETANO (PBT BioCH_4)

O PBTBioCH_4 foi determinado com base na estequiometria da conversão de Xil ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$) e FF ($\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$), considerando o volume e a massa efetivamente adicionada aos ensaios (em 215 mL de meio). Considerou-se que 1g de Xil gera 373 mL de BioCH_4 e que 1g de FF gera 583 mL de BioCH_4 . O PBTBioCH_4 foi obtido multiplicando-se a massa (g) pelo fator de conversão correspondente, conforme Tabela 7.

O potencial combinado (Xil + FF) foi obtido somando-se os volumes teóricos individuais, resultando nos potenciais mostrados para cada ensaio com mistura. Por fim, o potencial teórico (%) foi calculado pela razão entre o volume acumulado de BioCH_4 obtido experimentalmente e o volume teórico previsto.

Tabela 7 - Potencial teórico de produção de BioCH₄ baseado na estequiometria da conversão dos substratos xilose e furfural, conforme as concentrações adicionadas em 215 mL de volume reacional

Ensaio	Xil (g.L ⁻¹)	FF (g.L ⁻¹)	Massa de Xilose (g) em 215 mL	Massa de FF (g) em 215 mL	BioCH ₄ Teórico Total (NmL BioCH ₄ .gsubstrato ⁻¹)
5,0 Xil*	5,0	0,0	1,075	0,000	400,975
0,6 FF*	0,0	0,6	0,000	0,129	752,07
1,2 FF*	0,0	1,2	0,000	0,258	150,414
2,6 FF*	0,0	2,6	0,000	0,559	325,897
3,6 FF*	0,0	3,6	0,000	0,774	451,842
5,0 Xil + 0,6 FF	5,0	0,6	1,075	0,129	476,182
5,0 Xil + 1,2 FF	5,0	1,2	1,075	0,258	551,389
5,0 Xil + 2,6 FF	5,0	2,6	1,075	0,559	726,872
5,0 Xil + 3,6 FF	5,0	3,6	1,075	0,774	852,817

*Controles apenas com um tipo de substrato.

Fonte: O Autor (2025).

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para avaliar a diferença significativa ou não entre os grupos dos ensaios investigados, preliminarmente, avaliou-se a premissa de normalidade dos dados, por meio do teste de Shapiro-Wilk. Diante da violação dessa premissa, optou-se pela utilização do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), para identificar possíveis diferenças univariadas entre os grupos.

Quando o teste de Kruskal-Wallis indicou diferenças estatisticamente significativas, foi realizado o teste post-hoc de Dunn, com correção dos valores de p pelo método de Bonferroni, a fim de determinar quais pares de grupos apresentavam diferenças significativas. Todas as análises foram conduzidas no ambiente estatístico R (R Core Team, 2024), e os resultados foram apresentados por meio de representações gráficas.

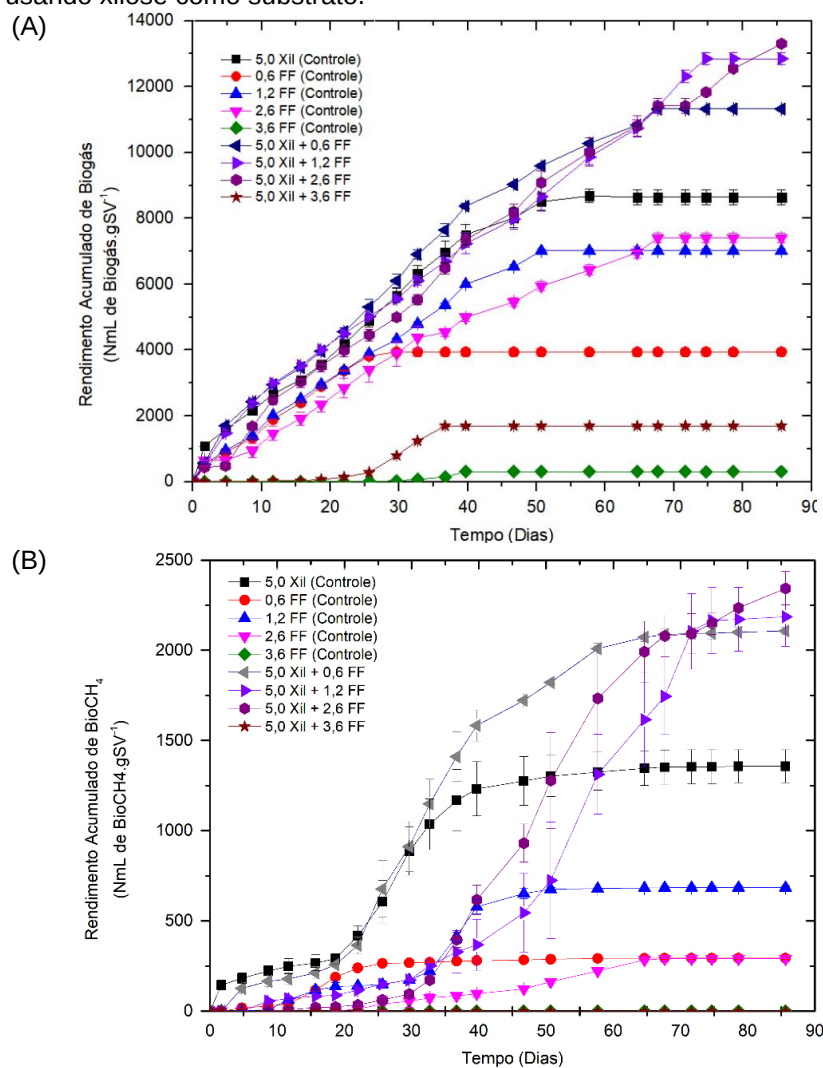
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EFEITO DO FURFURAL SOBRE O RENDIMENTO EXPERIMENTAL, POTENCIAL TEÓRICO E SINERGISMO DE BIOGÁS E BIOCH₄

4.1.1 Rendimentos e modelagem cinética de biogás e biometano

A avaliação dos ensaios em batelada conduzidos por 85 dias demonstrou o efeito do furfural FF, em diferentes concentrações, sobre o rendimento acumulado de biogás e BioCH₄, tanto na presença quanto na ausência de Xil, conforme Figura 10.

Figura 10 - Ensaios cinéticos para avaliar o rendimento de Biogás (A) e BioCH₄ (B), na presença de furfural em diferentes concentrações, usando xilose como substrato.



Fonte: O Autor (2025)

Os parâmetros cinéticos estimados pelo modelo de Gompertz modificado estão apresentados nas Tabela 8 e Tabela 9; com base nelas e na Figura 10, observou-se que nos controles contendo exclusivamente Xil ($5,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), os rendimentos máximos estimados foram de $9032,85 \text{ NmL de biogás} \cdot \text{gSV}^{-1}$ e $1390,05 \text{ NmL de BioCH}_4 \cdot \text{gSV}^{-1}$, com taxas máximas de rendimento (Rm) de $207,20$ e $45,02 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 8 - Parâmetros cinéticos para o rendimento de Biogás pelo modelo de Gompertz Modificado

Ensaio	Pm (NmL de Biogás.gSV ⁻¹)	Rm (NmL de Biogás.gSV ⁻¹ .Dia ⁻¹)	λ (Dias)	R ²
5,0 Xil (Controle)	9032,85	207,20	0,07	0,990
0,6 FF (Controle)	3996,09	190,60	1,33	0,990
1,2 FF (Controle)	7321,60	171,58	1,53	0,992
2,6 FF (Controle)	7999,04	139,39	2,23	0,995
3,6 FF (Controle)	311,63	35,73	31,22	0,993
5,0 Xil + 0,6 FF	12125,14	218,35	0,36	0,994
5,0 Xil + 1,2 FF	16062,21	179,24	-0,98	0,987
5,0 Xil + 2,6 FF	14874,60	195,00	3,06	0,993
5,0 Xil + 3,6 FF	1711,55	174,25	24,63	0,996

Fonte: O Autor (2025).

Tabela 9 - Parâmetros cinéticos para o rendimento de BioCH₄ pelo modelo de Gompertz Modificado

Ensaio	Pm (NmL de BioCH ₄ .gSV ⁻¹)	Rm (NmL de BioCH ₄ .gSV ⁻¹ .Dia ⁻¹)	λ (Dias)	R ²
5,0 Xil (Controle)	1390,05	45,02	9,87	0,972
0,6 FF (Controle)	289,58	21,26	9,72	0,994
1,2 FF (Controle)	714,30	24,71	19,08	0,960
2,6 FF (Controle)	346,02	6,99	24,74	0,986
3,6 FF (Controle)	-	-	-	-
5,0 Xil + 0,6 FF	2146,55	65,33	15,08	0,994
5,0 Xil + 1,2 FF	2898,11	53,72	34,08	0,986
5,0 Xil + 2,6 FF	2421,40	68,50	31,68	0,998
5,0 Xil + 3,6 FF	-	-	-	-

Fonte: O Autor (2025).

Por outro lado, os ensaios contendo apenas FF apresentaram rendimento variável em função da concentração. Em concentrações entre $0,6$ e $2,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, observou-se rendimento significativa de biogás e BioCH₄, sugerindo que o FF foi parcialmente metabolizado. Os valores estimados de Pm para o BioCH₄ nas concentrações $0,6$, $1,2$ e $2,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, foram de $289,58 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1}$, $714,30 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1}$ e $346,02 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1}$, nesta ordem. Conforme reportado por Barakat *et al.* (2012), o FF

pode ser parcialmente metabolizado por consórcios microbianos em determinadas concentrações, atuando como fonte de carbono alternativa para produção de biometano, o que foi corroborado pelos resultados observados nos ensaios sem adição de substrato convencional. Contudo, na concentração mais elevada ($3,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), foi observada inibição total da atividade metanogênica, com rendimentos nulos de BioCH_4 , indicando o limiar de toxicidade do FF sob as condições testadas.

No ensaio controle contendo apenas xilose, o tempo de latência foi relativamente curto ($\lambda = 9,87$ dias), refletindo a alta biodisponibilidade do substrato e a boa adaptação do inóculo às condições do meio. Da mesma forma, os ensaios com FF isolado nas concentrações mais baixas ($0,6$ e $1,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) também apresentaram valores de λ próximos ou inferiores a 20 dias ($9,72$ e $19,08$ dias, respectivamente), sugerindo uma tolerância microbiana inicial ao composto e uma possível capacidade de metabolização do FF.

A adição de xilose aos testes contendo FF revelou efeito positivo marcante sobre o rendimento de biogás e BioCH_4 , especialmente nas concentrações moderadas de FF. Os valores máximos para o rendimento de BioCH_4 nas combinações ($5,0 \text{ Xil} + 0,6 \text{ FF}$, $5,0 \text{ Xil} + 1,2 \text{ FF}$ e $5,0 \text{ Xil} + 2,6 \text{ FF}$) foram, respectivamente, $2146,55 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1}$, $2898,11 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1}$ e $2421,40 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1}$.

A R_m também foi significativamente elevada, atingindo até $68,50 \text{ NmL} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ no ensaio com $5,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de xilose e $2,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF. Ainda que o tempo de latência (λ) tenha aumentado em algumas condições (por exemplo, $34,08$ dias no ensaio com $1,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF), o volume final de BioCH_4 compensou essa desaceleração inicial.

A combinação de $5,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de Xil com $3,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF resultou em um rendimento de apenas $1696,09 \text{ NmL}$ de biogás $\cdot \text{gSV}^{-1}$ e inibição completa da produção de BioCH_4 , evidenciando um efeito antagônico severo. Esse resultado é consistente com a literatura, que indica que concentrações superiores a $3,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF podem comprometer a integridade celular, inibir enzimas-chave da metanogênese e interferir na atividade de arqueias metanogênicas (Araújo *et al.*, 2024a; Balasundaram *et al.*, 2022).

4.1.2 Estimativa do CI50

Outro parâmetro amplamente utilizado por pesquisadores para avaliar a toxicidade de um dado composto é o CI50 (Akobi; Hafez; Nakhla, 2017; Siqueira; Reginatto, 2015), que representa a concentração do composto capaz de reduzir em 50% a velocidade da atividade metabólica do sistema. Para tanto as velocidades de rendimento de BioCH₄ foram normalizadas em relação a velocidade do controle. Na Tabela 10, observa-se os valores de $Rm_{relativo}$ para diferentes concentrações de FF. Houve favorecimento da taxa relativa especialmente na concentração de 2,6 g.L⁻¹ de FF, enquanto na maior concentração testada a taxa foi nula.

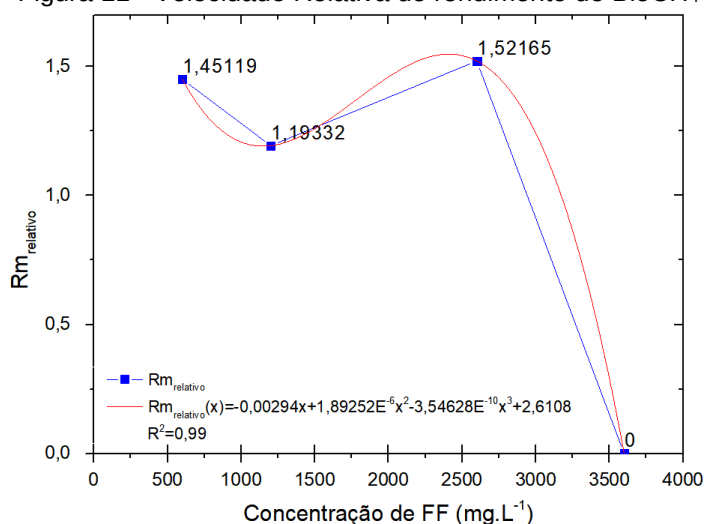
Tabela 10 – Velocidade cinética relativa de rendimento de CH₄

Concentração de FF (g.L ⁻¹)	$Rm_{relativo}$
0,6	1,45
1,2	1,19
2,6	1,52
3,6	0,00

Fonte: O Autor (2025)

Os valores de $Rm_{relativo}$ foram ajustados a uma equação polinomial de terceira ordem, com as concentrações de FF em mg.L⁻¹, conforme gráfico da Figura 11, permitindo a estimativa do CI₅₀, que foi determinado em 3,4 g.L⁻¹ de FF. Esse resultado reforça o impacto do FF do processo na produção de BioCH₄ e destaca a existência de um limite de tolerância microbiana, além do qual a eficiência do processo está comprometida.

Figura 11 - Velocidade Relativa de rendimento de BioCH₄



Fonte: O Autor (2025)

4.2 EFEITOS SINÉRGICOS E POTENCIAL TEÓRICO DE BIOCH₄

Avaliando o rendimento observado de BioCH₄ em relação aos valores esperados, baseados na soma dos controles individuais (Xil + FF), foi possível identificar três interações sinérgicas e uma antagonica (Tabela 11). Nos ensaios com 0,6; 1,2 e 2,6 g·L⁻¹ de FF associados a 5,0 g·L⁻¹ de Xil, os valores de BioCH₄ observado foram superiores aos esperados, resultando em IS de 1,69, 2,30 e 2,34, respectivamente.

Tabela 11 - Avaliação do índice de sinergia e antagonismo na produção de BioCH₄ a partir de combinações de xilose e furfural.

Ensaio	BioCH ₄ Observado (NmL·gSV ⁻¹)	BioCH ₄ Esperado (NmL·gSV ⁻¹)	Índice de Sinergia (IS)	Interpretação
5,0 Xil + 0,6 FF	2146,55	1272,49	1,69	Sinérgico
5,0 Xil + 1,2 FF	2898,11	1259,05	2,30	Sinérgico
5,0 Xil + 2,6 FF	2421,40	1033,01	2,34	Sinérgico
5,0 Xil + 3,6 FF	0,00	1427,09	0,00	Antagonismo

Fonte: O Autor (2025)

Esse comportamento evidencia que, em concentrações baixas a moderadas, o FF não apenas deixa de inibir o processo, como pode atuar como co-substrato, contribuindo para o aumento do rendimento global de BioCH₄. Além disso, a alta atividade metanogênica observada nos ensaios com 1,2 e 2,6 g·L⁻¹ de FF, mesmo diante da presença de um composto classicamente descrito como inibitório, pode estar relacionada a uma adaptação microbiana prolongada, favorecida pelo tempo de incubação estendido (85 dias). Essa adaptação pode ter induzido a expressão de enzimas específicas como aldeído redutases e álcool desidrogenases, promovendo a conversão de FF em metabólitos menos tóxicos (Ródriguez *et al.*, 2021).

Por outro lado, no ensaio combinado de 5,0 g·L⁻¹ de Xil + 3,6 g·L⁻¹ de FF, observou-se total ausência de produção de BioCH₄, apesar do rendimento teórico esperado ser de 1427,09 NmL·gSV⁻¹. O índice de sinergia igual a zero indica um efeito antagonico severo, compatível com uma inibição total da atividade metanogênica.

Esse resultado está alinhado com relatos clássicos como os de Araújo *et al.* (2024a), que demonstraram a toxicidade do FF a partir de $3,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, afetando drasticamente a viabilidade celular e a função das arqueias metanogênicas.

Com relação a avaliação da produção acumulada de BioCH_4 em relação ao potencial teórico (Tabela 12) revelou variações expressivas no desempenho dos diferentes ensaios. Os controles com Xil e concentrações moderadas de FF apresentaram rendimentos consideráveis, com destaque para $0,6$ e $1,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF, que atingiram $84,1\%$ e $97,9\%$ do potencial teórico, respectivamente, indicando uma tolerância metabólica eficiente ao FF. Em contrapartida, concentrações elevadas de FF, como $2,6$ e $3,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, provocaram forte colapso na produção de BioCH_4 , com percentuais de apenas $19,2\%$ e $0,0\%$, respectivamente, evidenciando um claro efeito tóxico e inibitório sobre a microbiota metanogênica.

Tabela 12 - Produção acumulada de BioCH_4 em relação ao potencial teórico.

Ensaio	Potencial teórico de biometano (NmL $\text{BioCH}_4 \cdot \text{g_substrato}^{-1}$)	BioCH_4 acumulado (NmL $\text{BioCH}_4 \cdot \text{g_substrato}^{-1}$)	Percentual do Teórico (%)
5 Xil (Controle)	400,90	292,10	72,8
0,6 FF (Controle)	75,20	63,20	84,1
1,2 FF (Controle)	150,40	147,20	97,9
2,6 FF (Controle)	325,80	62,60	19,2
3,6 FF (Controle)	415,40	0,00	0,0
5 Xil + 0,6 FF	476,10	452,10	94,9
5 Xil + 1,2 FF	551,30	457,50	82,9
5 Xil + 2,6 FF	726,80	502,70	69,1
5 Xil + 3,6 FF	816,30	0,00	0,0

Fonte: O Autor (2025)

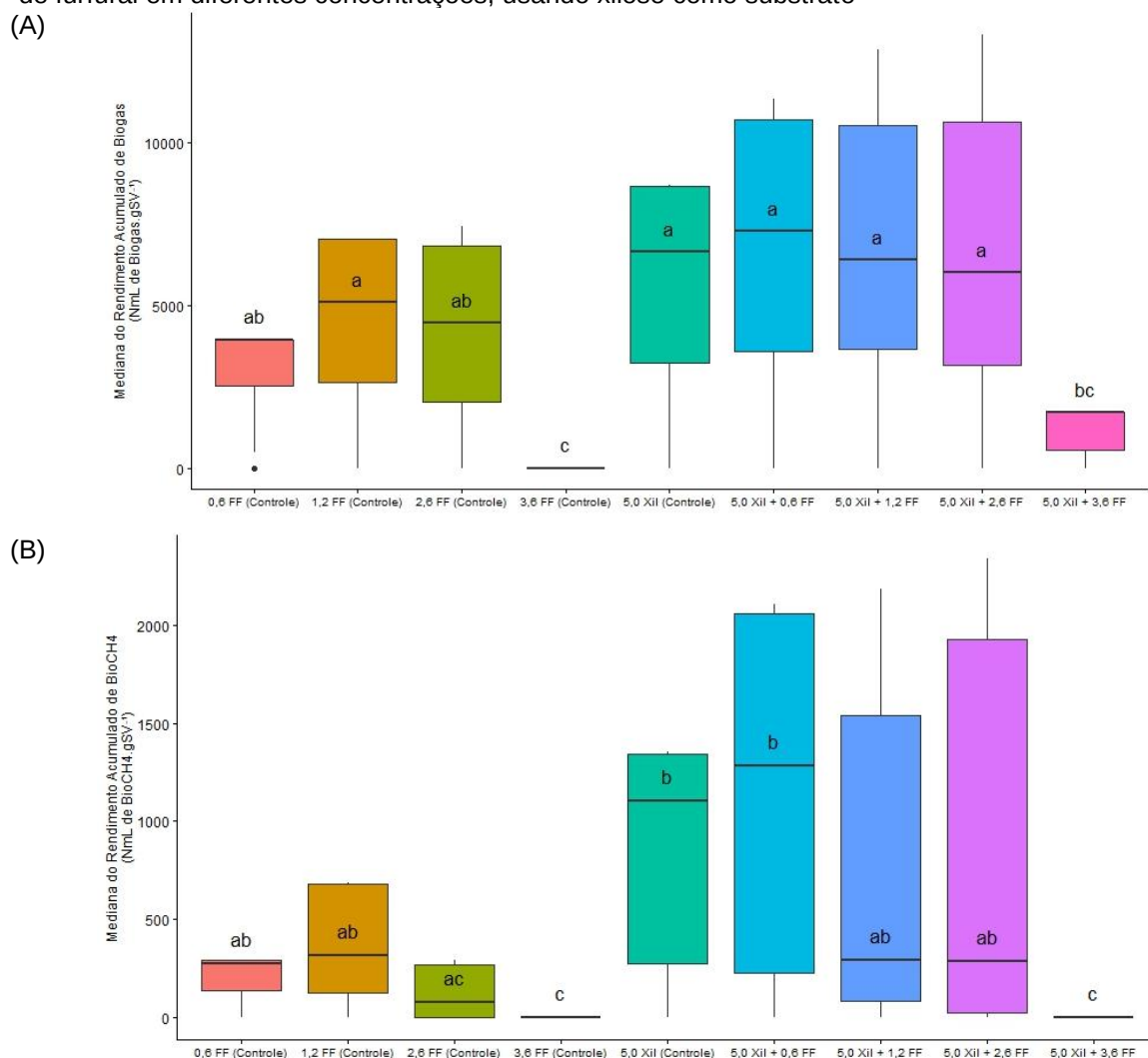
Nos ensaios combinados, observou-se efeito sinérgico notável até $2,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF. A combinação de $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de Xil com $0,6$ e $1,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF resultou em rendimentos de $94,9\%$ e $82,9\%$, respectivamente, muito próximos ou superiores aos controles isolados. Isso sugere que a presença de Xil pode atuar como co-substrato eficiente, promovendo a regeneração de cofatores redox (NAD^+/NADH), favorecendo a biotransformação do FF e mitigando seus efeitos tóxicos. Entretanto, a combinação com $3,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF resultou em completo antagonismo, com produção nula de

metano, indicando que acima de determinado limiar de concentração, o sistema perde sua capacidade de adaptação, mesmo na presença de um co-substrato fermentescível.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS DE BIOGÁS E BIOMETANO

A análise dos rendimentos acumulados de biogás e BioCH₄ apresentou padrões distintos de desempenho e permitiu identificar variações estatisticamente significativas entre os ensaios avaliados. O uso de gráficos estatísticos do tipo boxplot, associados ao teste de Dunn (Figura 12), possibilitou uma avaliação da variabilidade dos dados e das diferenças entre os grupos experimentais.

Figura 12 - Teste de Dunn dos ensaios de rendimento de Biogás (A) e BioCH₄ (B), na presença de furfural em diferentes concentrações, usando xilose como substrato



Fonte: O Autor (2025)

No que se refere à produção de biogás, os controles contendo as três menores concentrações de FF apresentaram medianas intermediárias, com variabilidade considerável entre as amostras. Esses tratamentos foram agrupados nos grupos “a” e “ab”, indicando ausência de diferenças estatísticas significativas entre si e em relação ao controle com xilose. Em contrapartida, o controle com maior concentração do composto foi classificado no grupo “c”, com rendimento visivelmente inferior e estatisticamente diferente dos demais, sugerindo possível efeito inibitório dessa concentração sobre a atividade microbiana.

Por outro lado, os ensaios com as três menores concentrações de FF assistidos por Xil apresentaram os maiores valores medianos de produção de biogás. Esses grupos, pertencentes ao grupo estatístico “a”, não diferiram entre si e mostraram melhor desempenho em comparação aos controles, indicando efeito sinérgico da combinação entre xilose e baixos teores de FF. Apesar da maior dispersão observada nesses tratamentos, o comportamento dos dados indica consistência nos altos rendimentos. Já a combinação de xilose com $3,6 \text{ g.L}^{-1}$ de FF apresentou um declínio no rendimento, sendo agrupada estatisticamente como “bc”, o que reforça a tendência de que concentrações elevadas de FF são desfavoráveis mesmo na presença de um substrato.

O rendimento de BioCH_4 seguiu tendência semelhante à do biogás, porém com variações mais acentuadas nos agrupamentos estatísticos. O controle com $3,6 \text{ g.L}^{-1}$ de FF, novamente, apresentou o pior desempenho, sendo incluído no grupo “c” com rendimento significativamente inferior. De forma consistente com os dados de biogás, essa mesma concentração na presença do substrato também resultou em baixas medianas de produção de BioCH_4 , sendo igualmente alocada no grupo “c”. Tais dados indicam que concentrações elevadas de FF prejudicam fortemente o processo metanogênico, mesmo quando associada a Xil.

Ainda no rendimento de BioCH_4 , os demais controles de FF foram classificados nos grupos “ab” e “ac”. Embora esses resultados indiquem certo rendimento a partir do FF em concentrações menores concentrações, sua variabilidade e posição estatística apontam desempenho inferior quando na presença de xilose. O destaque, no entanto, foi o ensaio com xilose e $0,6 \text{ g.L}^{-1}$ de FF, o qual obteve a maior mediana de rendimento acumulado e foi incluído no grupo “b”, estatisticamente superior aos outros ensaios. Esse comportamento evidencia que menores concentrações de FF junto a Xil pode melhorar o rendimento de BioCH_4 .

Além disso, os gráficos de rendimento acumulado ao longo do tempo, fornecidos anteriormente, corroboram o comportamento estatístico do teste de Dunn. Os ensaios que apresentaram curvas crescentes e elevadas ao longo dos dias coincidem com aqueles que obtiveram as maiores velas no gráfico de Dunn, indicando consistência nos resultados.

4.4 DEGRADAÇÃO DO FURFURAL E BIOCONVERSÃO

Nos ensaios realizados, avaliou-se a degradabilidade do FF, bem como sua conversão em compostos metabólicos intermediários. Assim como relatado por Rivard e Grohmann (1991) a degradação do FF em AF e AFo constituíram etapas intermediárias a produção de BioCH₄ e CO₂. A Figura 13 apresenta os gráficos correspondentes às dinâmicas de consumo do FF e formação e subsequente consumo dos seus intermediários.

Para os controles, observou-se que, na concentração de 0,6 g·L⁻¹, o FF foi detectado até 6,27 dias. Em concentrações mais elevadas, com 1,2 e 2,6 g·L⁻¹, sua presença se estendeu até 9,27 dias. No ensaio com 3,6 g·L⁻¹ de FF, o composto permaneceu no sistema por cerca de 9,27 dias sem sofrer degradação, sendo detectado até 44,27 dias.

A formação de AFo foi mais expressiva nas menores concentrações de FF. Com 0,6 g·L⁻¹, o pico foi em 2,27 dias (0,47 g·L⁻¹), desaparecendo do sistema após 16,27 dias. Esse padrão também foi observado em 1,2 e 2,6 g·L⁻¹ de FF, cujos picos ocorreram em 6,27 dias (0,97 g·L⁻¹) e 9,27 dias (0,6 g·L⁻¹), respectivamente. Nessas condições, o composto foi detectado até 16,27 e 23,17 dias. No ensaio com 3,6 g·L⁻¹, o pico de AFo ocorreu em 37,27 dias (0,41 g·L⁻¹), permanecendo nesse patamar até o final do tempo em que foi analisado.

A formação de AF foi mais pronunciada nas maiores concentrações de FF. Com 0,6 e 1,2 g·L⁻¹ de FF, os picos foram registrados em 2,27 dias (0,13 g·L⁻¹) e 9,27 dias (0,72 g·L⁻¹), sendo detectados apenas até 9,27 dias. Já em 2,6 e 3,6 mg·L⁻¹ de FF, os picos ocorreram em 9,27 dias (0,22 g·L⁻¹) e 37,70 dias (0,29 g·L⁻¹), com detecção até 16,27 dias para a primeira concentração e permaneceu estável para a segunda concentração até o tempo em que foi analisado.

Nos ensaios com adição de Xil, observou-se aceleração na degradação do FF em comparação aos ensaios controle. Para 0,6 e 1,2 g·L⁻¹, o FF foi detectado até 2,00

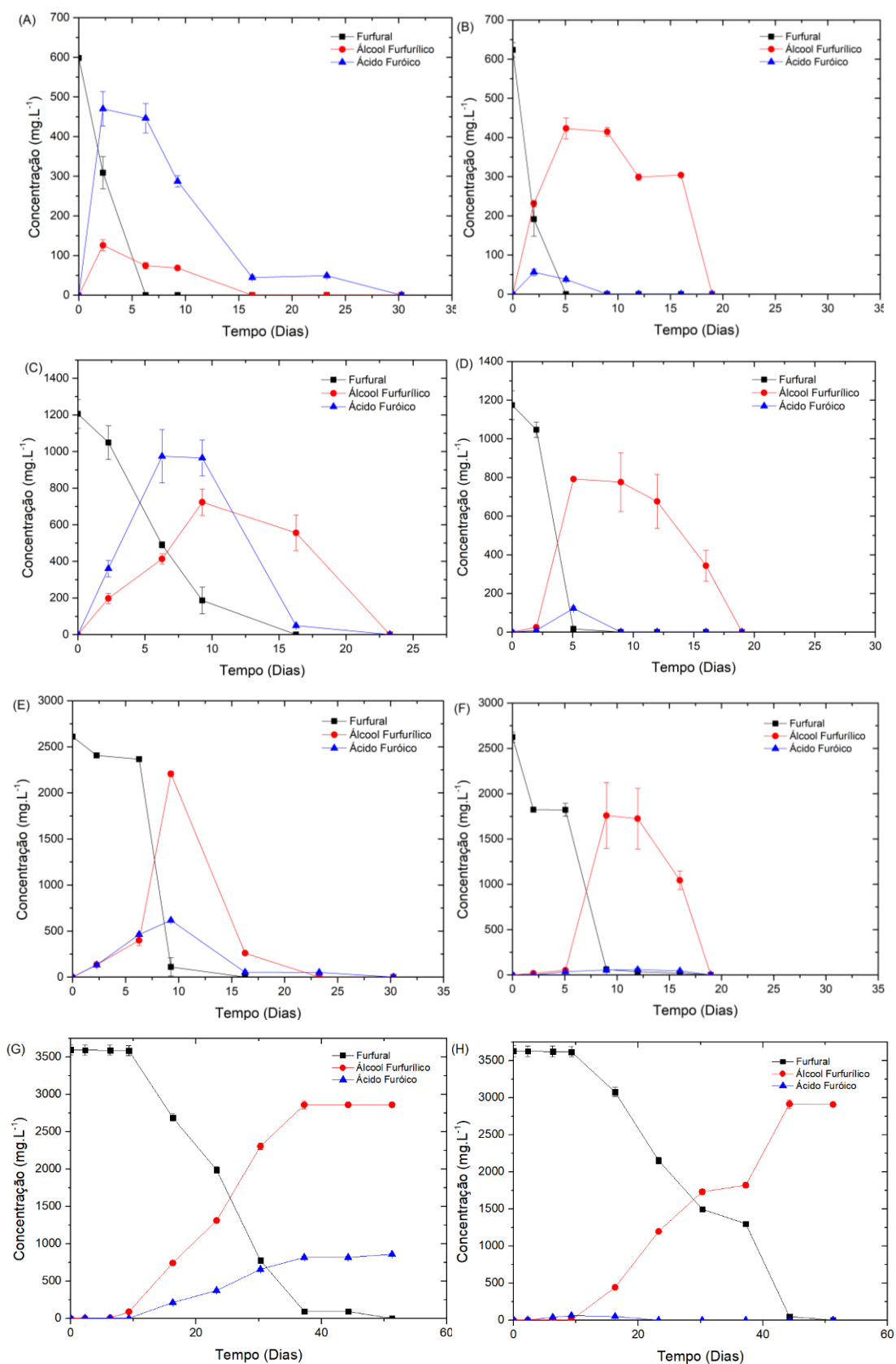
e 5,06 dias. Já em 2,6 e 3,6 g·L⁻¹, foi detectado até 16,01 e 44,37 dias, respectivamente, evidenciando comportamento distinto em relação aos ensaios sem xilose.

A presença de Xil favoreceu significativamente a formação de AF, tornando-o o principal produto da conversão do FF em todas as concentrações testadas. Em 0,6 g·L⁻¹ de FF, o pico foi em 5,06 dias (0,42 g·L⁻¹), sendo detectado até 16,01 dias. Em 1,2 g·L⁻¹ de FF, o pico foi também até 16,01 dias (0,79 g·L⁻¹). Em 2,6 g·L⁻¹ de FF, o pico ocorreu em 8,98 dias (1,76 g·L⁻¹), com detecção até 16,01 dias. No ensaio com 3,6 mg·L⁻¹ de FF, o pico foi em 44,27 dias (2,91 g·L⁻¹), também permanecendo estável durante o restante do tempo analisado

Por outro lado, a formação de AFo foi significativamente reduzida com a adição de xilose. Em 0,6 e 1,2 g·L⁻¹ de FF, os picos ocorreram em 5,06 dias (0,06 e 0,12 g·L⁻¹, respectivamente), desaparecendo após esse tempo. Em 2,6 g·L⁻¹ de FF, o pico foi em 11,97 dias (0,06 g·L⁻¹), sendo detectado até 16,01 dias. Na condição com 3,6 g·L⁻¹ de FF, o pico foi em 9,27 dias (0,02 mg·L⁻¹), com detecção até 23,27 dias. Esses dados mostram que a xilose favoreceu uma rota metabólica direcionada à formação de AF, em detrimento da formação de AFo.

A análise do comportamento dos ensaios com e sem xilose mostrou um padrão consistente na dinâmica de conversão do FF. A presença de Xil acelerou significativamente sua degradação e favoreceu a formação de AF, enquanto reduziu substancialmente a produção de AFo. Isso sugere que a Xil modifica a rota metabólica do furfural, direcionando sua conversão mais rápida, principalmente para AF. Estudos já indicaram que a glicose estimula a regeneração do cofator NAD⁺, essencial para a conversão do FF (Guarnieri *et al.*, 2017; Tsuge *et al.*, 2014; Zhang; Han; Ezeji, 2012), e esse mesmo efeito parece ocorrer com a xilose que também depende dessas coenzimas para sua metabolização (CADETE *et al.*, 2016). No ensaio contendo a maior concentração de FF o consórcio microbiano não conseguiu degradar o AFo e o AF, sobretudo esse segundo, pois eles acumularam nos reatores até o término dos experimentos.

Figura 13 - Conversão furfural em seus intermediários (álcool furfurílico e ácido furfórico), nas concentrações: A – 0,6 FF (controle), B – 0,6 FF + 5 Xil, C – 1,2 FF (controle), D – 1,2 FF + 5 Xil, E – 2,6 FF (controle), F – 2,6 FF + 5 Xil, G – 3,6 FF (controle) e H – 3,6 FF + 5 Xil

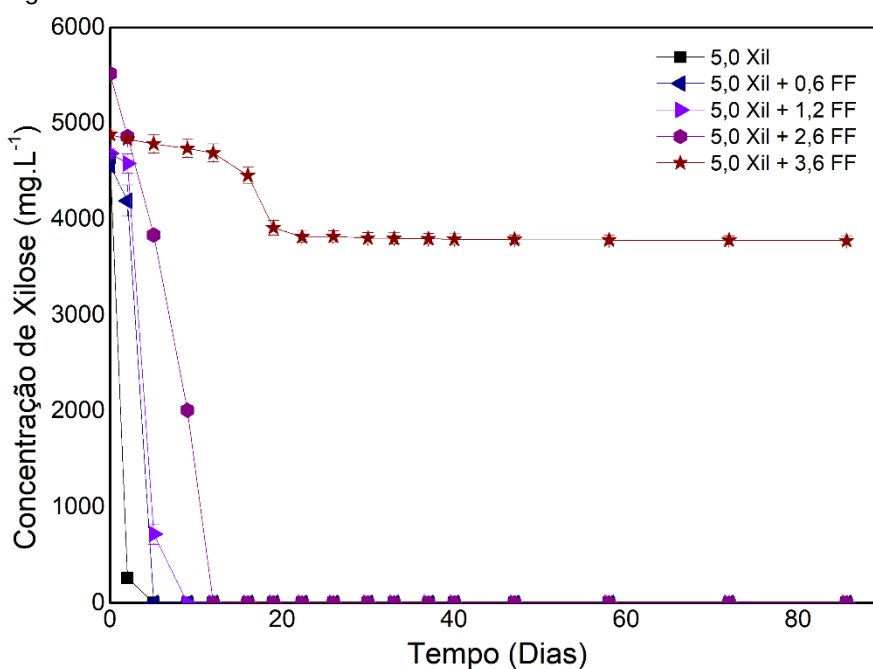


Fonte: O Autor (2025)

4.5 CONSUMO DA XILOSE

Conforme a Figura 14, o consórcio microbiano foi capaz de consumir totalmente o substrato em todos os ensaios, exceto naquele com a maior concentração de FF. Observa-se que, à medida que a concentração de FF aumenta, também se eleva o tempo necessário para o consumo da Xil, o que indica que esse composto atua como limitante da velocidade de degradação do substrato. No ensaio com 5,0 g/L de Xil e 3,6 g.L⁻¹ de FF, os microrganismos conseguiram apenas consumir parcialmente a Xil, o que explica a baixa produção de biogás observada nesta condição. Esse resultado evidencia que concentrações elevadas de FF comprometem a eficiência metabólica do consórcio no consumo do substrato.

Figura 14 - Consumo de xilose



Fonte: O Autor (2025)

Nas três menores concentrações de FF testadas, o tempo necessário para o consumo da Xil foi semelhante ao tempo demandado para a conversão do FF em seus intermediários. Isso demonstra que, nessas condições, o consumo do FF e da Xil estão diretamente correlacionados. A degradação do FF pode ter sido afetada pela regeneração dos cofatores NAD(P)H/NAD(P), cuja disponibilidade adequada é fundamental para o funcionamento dos processos metabólicos centrais, inclusive o consumo do substrato. Portanto, o equilíbrio redox promovido pela conversão do FF

em concentrações moderadas parece não ter afetado negativamente a atividade microbiana, sendo necessário somente um maior período para metabolização dos compostos; enquanto sua presença em excesso levou à inibição metabólica, como descrito por Zhang; Han e Ezeji (2012).

4.6 GERAÇÃO E CONSUMO DE ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS

A formação de AGVs, particularmente AAc, AP e AB, foi avaliada entre os ensaios e apresentou padrões distintos conforme a presença isolada ou combinada de Xil e FF, o comportamento metabólico dos ensaios estão descritos nos gráficos da Figura 15.

No controle com somente a Xil (A), observou-se uma produção bem distribuída dos três principais ácidos. O AAc foi predominante, seguido pelo AP e AB, com todos atingindo seus picos próximos a 18,98 dias. Após esse período, iniciou-se uma fase de queda gradual na concentração desses compostos, indicando uma fase ativa de fermentação nos primeiros vinte dias e um posterior declínio associado ao consumo dos substratos disponíveis o que coincide com o comportamento de rendimento dos gases, sobretudo BioCH₄.

Ao avaliar os ensaios de controle com FF, notou-se que, na sua forma isolada, a geração dos ácidos foi mais limitada em diversidade e duração. O ácido acético foi o principal composto formado, especialmente entre 16,37 (B), 23,37 (D) e 37,73 (F) dias, mas sua persistência foi curta nas duas menores concentrações, com rápido decréscimo após esse intervalo. Os outros ácidos também surgiram em concentrações detectáveis, porém com menor expressividade e por períodos mais breves.

A conversão de FF em ácido acético foi analisada por Rivard e Grohmann (1991) como etapa posterior a degradação do AFo, a presença desse AGV explica a geração de BioCH₄ pelos controles já que esse ácido é o metabólito utilizado pelo principal grupo de metanogênicos existente, as arqueas acetoclásticas. Dessa forma é possível notar que em certas concentrações o FF também é um co-substrato para a DA. Já em concentrações mais elevadas, como 3,6 g·L⁻¹ (H), houve exceção com forte acúmulo de AB até o dia 37,27, o que sugere uma mudança no perfil fermentativo.

A introdução da Xil em combinação com FF alterou significativamente a dinâmica de produção dos ácidos. Em todas as combinações testadas, a presença de Xil promoveu maior diversidade de AGVs e prolongou a sua formação ao longo do tempo. Com $0,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF (C), por exemplo, os três ácidos principais atingiram picos acentuados entre 16,01 e 37,01 dias, com destaque para o ácido acético. A produção foi mais intensa e persistente quando comparada ao ensaio com FF isolado na mesma concentração, e mesmo após os picos iniciais, os ácidos mantiveram-se em níveis expressivos por vários dias.

Nas três menores concentrações de FF associadas à Xil, nota-se uma mudança na formação entre os ácidos. Ainda que o AAc permanecesse como um dos mais abundantes, o AB aumentou consideravelmente sua concentração, principalmente entre 22,31 e 40,01 dias. Com $0,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF (C) o AP foi gerado em concentrações semelhante ao AB, porém mostrou comportamento mais estável e contínuo, sustentando-se em níveis relevantes até fases finais do experimento. Essa redistribuição na variedade e concentração dos AGVs indicam mudanças nas rotas metabólicas significativas frente à composição do meio, essas mudanças levaram a geração de maiores concentrações de AGVs o que por conseguinte permitiu uma maior metabolização para geração de biogás e BioCH₄.

A condição mais extrema, com $3,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de FF e Xil (I), apresentou um perfil bastante singular. O AP passou a predominar em relação ao AAc, atingindo valores máximos em torno de 25,96 dias e mantendo-se elevado até o final do período avaliado. O AB também teve destaque, com crescimento progressivo até o mesmo intervalo, enquanto o AAc manteve-se em patamar mais modesto durante todo o experimento. Esse comportamento sugere um redirecionamento metabólico que favorece vias fermentativas específicas, do butirato e propanoato ao invés direcionar para rotas metanogênicas, essas vias foram descritas por Mockaitis *et al.* (2020) que observaram a possibilidade desse comportamento em sistemas nos quais a Xil esteve presente como principal substrato.

A análise comparativa entre os ensaios mostrou que a Xil exerce papel fundamental na sustentação e diversificação da produção de AGVs. Sua presença favoreceu o surgimento de picos bem definidos, ampliação da janela fermentativa e maior presença de AGVs. Por outro lado, o FF, quando adicionado isoladamente, resultou em perfis mais restritos e curta duração na formação de ácidos. Já em

combinação com a Xil, em concentrações moderadas, contribuiu para a manutenção da produção e modulação do perfil de AGVs gerados.

Figura 15 (Parte 1) - Geração de ácidos graxos voláteis (AGVs) para diferentes concentrações de furfural na presença de xilose e seus respectivos controles (A- 5 Xil, B – 0,6 FF, C – 0,6 FF + 5 Xil, D – 1,2 FF, E – 1,2 FF + 5 Xil, F – 2,6 FF, G – 2,6 FF + 5 Xil, H – 3,6 FF e I - 3,6 FF + 5 Xil)

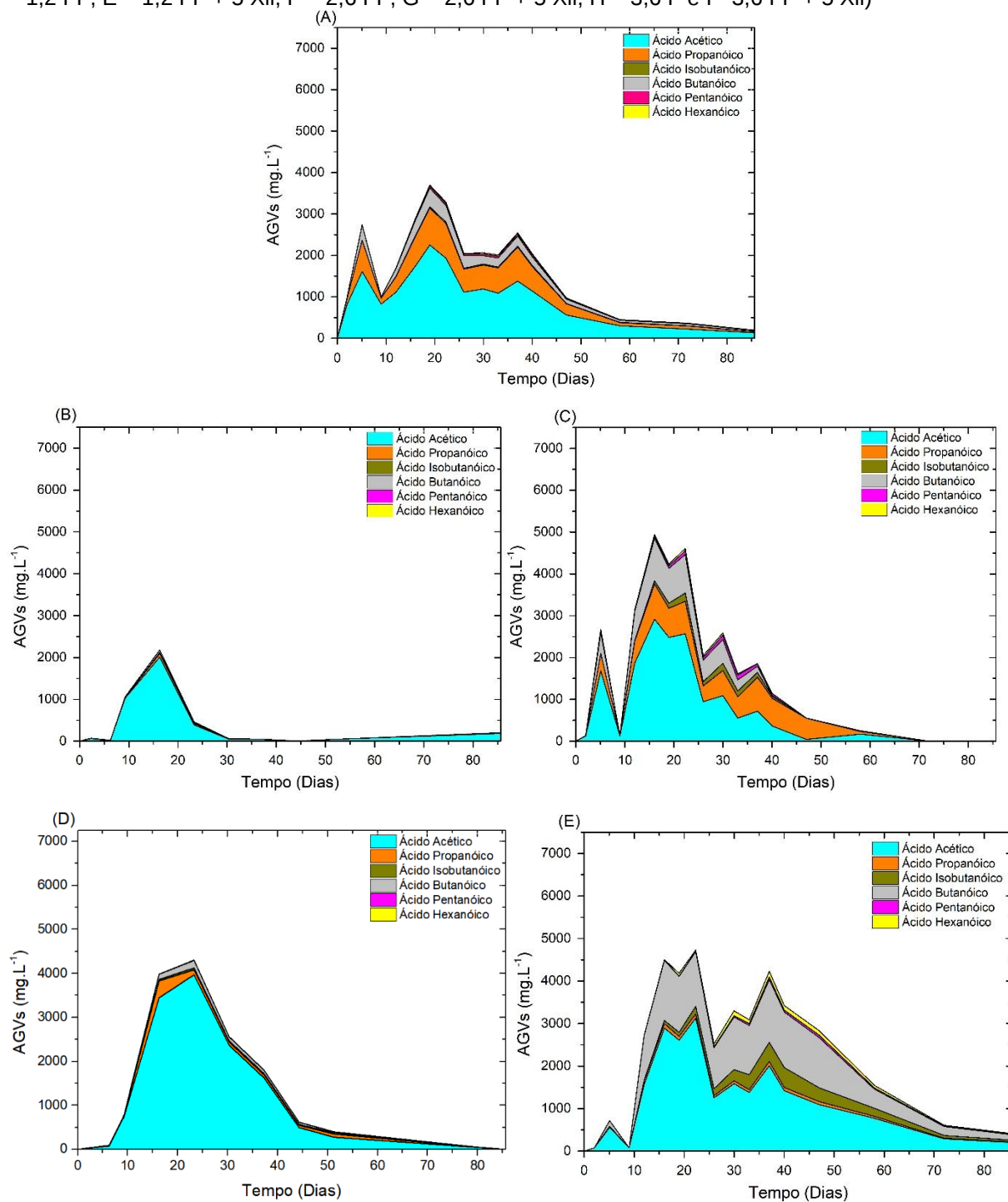
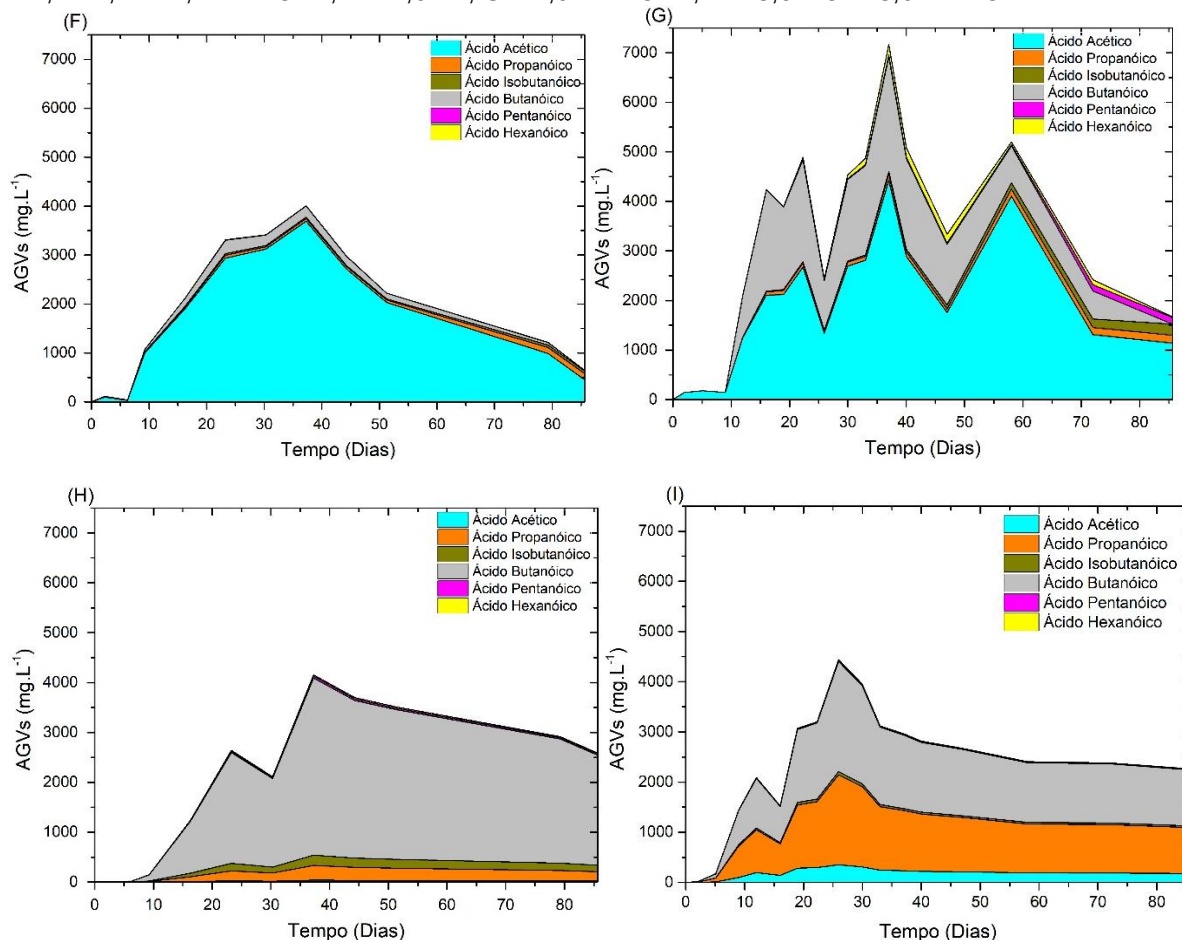


Figura 15 (Parte 2) - Geração de ácidos graxos voláteis (AGVs) para diferentes concentrações de furfural na presença de xilose e seus respectivos controles (A- 5 Xil, B – 0,6 FF, C – 0,6 FF + 5 Xil, D – 1,2 FF, E – 1,2 FF + 5 Xil, F – 2,6 FF, G – 2,6 FF + 5 Xil, H – 3,6 F e I - 3,6 FF + 5 Xil



Fonte: O Autor (2025)

A variação do pH observada na Tabela 13 entre os ensaios corrobora a dinâmica fermentativa inferida pela formação de AGVs. O controle contendo apenas Xil apresentou a maior queda de pH, refletindo fermentação mais acidogênica. Tal efeito pode estar relacionado a razão pela qual esse foi o ensaio que ficou mais distante da produção teórica de BioCH₄, já que a acidificação do sistema fez com que o meio não fosse mais propício para atuação dos microrganismos metanogênicos, que atuam em faixas de pH neutras a básicas. Já nos demais ensaios, a redução do pH foi mais discreta, sugerindo um possível efeito tamponante dos metabólitos.

Tabela 13 - pH inicial e final dos ensaios

Ensaio	pH inicial	pH final
5,0 Xil	$7,78 \pm 0,06$	$5,46 \pm 0,01$
0,6 FF	$8,04 \pm 0,05$	$6,82 \pm 0,01$
1,2 FF	$8,18 \pm 0,02$	$6,99 \pm 0,01$
2,6 FF	$8,18 \pm 0,01$	$6,93 \pm 0,20$
3,6 FF	$8,19 \pm 0,01$	$7,00 \pm 0,06$
5,0 Xil + 0,6 FF	$7,91 \pm 0,10$	$7,66 \pm 0,01$
5,0 Xil + 1,2 FF	$8,05 \pm 0,02$	$7,00 \pm 1,12$
5,0 Xil + 2,6 FF	$8,10 \pm 0,01$	$7,68 \pm 0,02$
5,0 Xil + 3,6 FF	$8,15 \pm 0,02$	$7,74 \pm 0,10$

Fonte: O Autor (2025)

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou de forma clara e consistente que o FF, tradicionalmente reconhecido por seu potencial inibitório sobre microrganismos participantes da DA, pode assumir um papel sinérgico e catalisador nesse processo quando aplicado em concentrações controladas e combinado com Xil, um dos principais açúcares derivados do HHBC. Esse comportamento foi evidenciado nos experimentos conduzidos, nos quais concentrações de FF entre 0,6 e 2,6 g·L⁻¹, quando associadas a 5,0 g·L⁻¹ de xilose, resultaram em rendimentos de BioCH₄ significativamente superiores à soma dos rendimentos dos compostos aplicados isoladamente, com índices de sinergia de 1,69, 2,30 e 2,34, respectivamente. A máxima produção acumulada observada foi de 2898,11 NmL·gSV⁻¹, reforçando a atuação do FF como co-substrato eficiente e estratégico para a produção de biogás.

Os experimentos evidenciaram que, em faixas baixas a moderadas de concentração (até 2,6 g·L⁻¹), o FF não apenas deixou de comprometer o processo, como contribuiu significativamente para o aumento do rendimento de biogás e BioCH₄, sinalizando seu aproveitamento como co-substrato promissor em processos biotecnológicos. Esse efeito positivo é reforçado pelo aumento das taxas relativas de produção de metano ($R_{m\text{relativo}}$), que alcançaram até 1,52 na condição de 2,6 g·L⁻¹ de FF com Xil, além da alta eficiência em relação ao potencial teórico de BioCH₄, que atingiu 94,9% e 82,9% nos ensaios com 0,6 e 1,2 g·L⁻¹ de FF, respectivamente.

A análise dos parâmetros cinéticos evidenciou taxas elevadas de rendimento de biogás e BioCH₄ e comportamento adaptativo do consórcio microbiano, inclusive diante da presença isolada do FF. Ensaios contendo apenas FF nas concentrações de 0,6 e 1,2 g·L⁻¹ apresentaram rendimentos relevantes de biogás e BioCH₄, indicando que o consórcio microbiano foi capaz de tolerar e metabolizar o composto, mesmo sem a presença de um substrato convencional.

Observou-se que o sistema foi capaz de metabolizar o composto e sustentar sua atividade bioquímica em níveis eficientes, refletindo a capacidade de adaptação das comunidades microbianas diante de compostos potencialmente tóxicos. Isso foi evidenciado na conversão do FF em intermediários como o álcool furfurílico (AFo) e o ácido furóico (AF), especialmente nas menores concentrações testadas. A formação

e subsequente consumo desses compostos indicam não apenas degradação efetiva do FF, mas também sua integração às rotas metabólicas do processo.

A presença da Xil, por sua vez, desempenhou papel fundamental ao favorecer a degradação do FF e redirecionar seu metabolismo para vias menos inibitórias, favorecendo sua conversão em intermediários como o AF e AFo, e garantindo estabilidade metabólica ao longo do processo. A presença de Xil acelerou a degradação do FF e favoreceu majoritariamente a formação de AF — com picos de até $1,76 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ em $2,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF — em detrimento da formação de AFo, além de promover o consumo completo do substrato em todas as condições testadas, exceto na de maior concentração testada ($3,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF), indicando uma clara modulação positiva da rota metabólica microbiana.

As interações entre FF e Xil revelaram efeitos amplamente sinérgicos sob determinadas condições, com ganhos expressivos na produção de BioCH_4 , superando os rendimentos obtidos com os compostos isoladamente. Tal sinergismo foi estatisticamente comprovado pela análise de Dunn, na qual os tratamentos com Xil e FF até $2,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ se destacaram com os maiores valores medianos de produção de biogás e metano, demonstrando consistência nos dados e desempenho superior. Esses resultados evidenciam que a associação entre FF e Xil não apenas mitiga os efeitos inibitórios do primeiro, como também contribui para a diversificação dos AGVs, ampliando a janela fermentativa e favorecendo o rendimento global do processo.

Essa complementaridade entre os compostos revelou-se estratégica para manter a atividade metanogênica em bons níveis de rendimento, inclusive diante de desafios bioquímicos impostos pelo FF. Em contrapartida, os limites de tolerância microbiana tornaram-se evidentes nas concentrações mais elevadas do composto, nas quais se observou inibição completa da produção de metano, reafirmando a importância do controle quantitativo na aplicação de substratos complexos. A condição de $3,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF resultou não apenas na ausência total de produção de BioCH_4 , mas também na permanência dos intermediários AF e AFo até o final do experimento, caracterizando falha completa na degradação e evidenciando o limiar tóxico do sistema, cujo CI_{50} foi estimado em $3,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de FF.

Neste contexto, torna-se evidente a necessidade de aprofundar os estudos voltados à adaptação de consórcios microbianos aos compostos típicos do HHBC, como o FF, bem como aos seus açúcares. Investigações direcionadas à seleção ou engenharia de comunidades microbianas capazes de tolerar e metabolizar

eficientemente esses compostos podem representar uma estratégia promissora para mitigar os efeitos antagônicos observados em concentrações mais elevadas. A adaptação microbiana frente a esse tipo de substrato pode ampliar a janela operacional dos processos de biorrefino ligados à DA, consolidando seu papel como via tecnológica estratégica para a conversão de resíduos lignocelulósicos em energia limpa e renovável frente à emergente indústria de E2G dentro do contexto da transição energética.

REFERÊNCIAS

ABREMA – Associação Brasileira de Resíduos e Meio Ambiente. Combustível do Futuro: um passo à frente na descarbonização. 24 set. 2024. Disponível em: <https://www.abrema.org.br/2024/09/24/combustivel-do-futuro-um-passo-a-frente-na-descarbonizacao/>. Acesso em: 21 jan. 2025.

ADARME, O. F. H. *et al.* Use of anaerobic co-digestion as an alternative to add value to sugarcane biorefinery wastes. **Bioresource Technology**, v. 287, n. March, p.121443, 2019.

AHMAD, F. *et al.* Bioprospecting Sulfuric Acid Assisted Hydrothermal Pretreatment of Sugarcane Bagasse and Microbial Community Structure for Methane Production. **Bioenergy Research**, v. 15, n. 1, p. 631–649, 2022.

AKOBI, C.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G. Impact of furfural on biological hydrogen production kinetics from synthetic lignocellulosic hydrolysate using mesophilic and thermophilic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 17, p. 12159–12172, 2017.

AKOBI, C.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G. The impact of furfural concentrations and substrate-to-biomass ratios on biological hydrogen production from synthetic lignocellulosic hydrolysate using mesophilic anaerobic digester sludge. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 598–606, 2016.

ALARCÓN, E. *et al.* Changes in chemical and structural composition of sugarcane bagasse caused by alkaline pretreatments [Ca(OH)₂ and NaOH] modify the amount of endoglucanase and β -glucosidase produced by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. **Chemical Engineering Communications**, v. 209, n. 5, p. 594–606, 2022.

ALBURQUERQUE, J. A. *et al.* Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. **Biomass and Bioenergy**, v. 40, p. 181–189, 2012.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION – WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 23. ed. Washington, D.C.: APHA, 2017.

AQUINO, S. F. DE; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 152–161, 2005.

ARAÚJO, S. C.; ALCÂNTARA, L. F. Q. S. A. L.; VERAS, S. T. S.; KATO, M. T.; FLORENCIO, L. Understanding sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate: enhancing biogas and biomethane production. In: **INTERNATIONAL WATER ASSOCIATION – IWA. CONFERENCE ON SMALL WATER AND WASTEWATER SYSTEMS, 17.; CONFERENCE ON RESOURCE-ORIENTED SANITATION, 9.**, 2024, Curitiba. Proceedings... Curitiba: IWA, 2024a.

ARAÚJO, S. C.; ALCÂNTARA, L. F. Q. S. A. L.; SILVA, E. M.; VERAS, S. T. S.; RODRIGUES JÚNIOR, J. C.; KATO, M. T.; FLORENCIO, L. Effect of furfural on biomethane production from xylose. In: **INTERNATIONAL WATER ASSOCIATION – IWA. WORLD CONFERENCE ON ANAEROBIC DIGESTION**, 18., 2024, Istanbul. Proceedings... Istanbul: IWA, 2024b.

ATELGE, M. R. *et al.* A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery. **Fuel**, v. 270, p. 117494, 2020a.

AYENI, A. O. *et al.* Compositional analysis of lignocellulosic materials: Evaluation of an economically viable method suitable for woody and non-woody biomass. **American Journal of Engineering Research**, 2015.

BAÊTA, B. E. L. *et al.* Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysates by two-stage anaerobic digestion process. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 436–446, 2016a.

BAÊTA, B. E. L. *et al.* Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolysates in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 137–146, 2016b.

BAJPAI, Pratima. Structure of Lignocellulosic Biomass. In: **Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production**, p. 7–12, 2016.

BALASUNDARAM, G. *et al.* Recalcitrant compounds formation , their toxicity , and mitigation : Key issues in biomass pretreatment and anaerobic digestion. **Chemosphere**, v. 291, n. P3, p. 132930, 2022.

BARAKAT, A. *et al.* Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 90–99, 2012.

BENJAMIN, M. M.; WOODS, S. L.; FERGUSON, J. F. Anaerobic toxicity and biodegradability of pulp mill waste constituents. **Water Research**, v. 18, n. 5, p. 601–607, 1984.

BERGLUND, J. *et al.* Wood hemicelluloses exert distinct biomechanical contributions to cellulose fibrillar networks. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, 2020.

BITTENCOURT, G. A. *et al.* Fractionation of sugarcane bagasse using hydrothermal and advanced oxidative pretreatments for bioethanol and biogas production in lignocellulose biorefineries. **Bioresource Technology**, v. 292, p. 121963, 2019.

BOOPATHY, Raj. Anaerobic biotransformation of furfural to furfuryl alcohol by a methanogenic archaeobacterium. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 8, p. 1070–1072, 2009.

BRANDT, A. *et al.* Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 550–583, 2013.

BRASIL. Lei nº 13.576, de 26 de dezembro de 2017. Dispõe sobre a Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio) e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, ano 154, n. 247, p. 6, 27 dez. 2017. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2017/Lei/L13576.htm. Acesso em: 20 jun. 2024

BRASIL. Ministério da Integração e do Desenvolvimento Regional. COP30. Disponível em: <https://www.gov.br/mdr/cop30>. Acesso em: 21 jan. 2025.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Biometano: Lei do Combustível do Futuro impulsiona nova indústria verde e já apresenta resultados concretos no Brasil. 13/01/2025. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/noticias/biometano-lei-do-combustivel-do-futuro-impulsiona-nova-industria-verde-e-ja-apresenta-resultados-concretos-no-brasil>. Acesso em: 12 abr. 2025.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Consumo de energia deverá crescer, em média, 2,1% ao ano nos próximos dez anos, mostra projeção. Brasília, DF, 4 abr. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/noticias/consumo-de-energia-devera-crescer-em-media-2-1-ao-ano-nos-proximos-dez-anos-mostra-projecao>. Acesso em: 15 nov. 2024.

CABRERA ROMÁN, A. D.; VELÁSQUEZ ZAMBRANO, M. E.; MUÑOZ MURILLO, J. P. Characterization of the physicochemical, bromatological properties, and antioxidant activity of powdered sugarcane bagasse. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 41, n. 2, 2024.

CADETE, R. M. *et al.* Exploring xylose metabolism in *Spathaspora* species: XYL1.2 from *Spathaspora passalidarum* as the key for efficient anaerobic xylose fermentation in metabolic engineered *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2016.

CALLADO, N. H.; DAMIANOVIC, M. H. Z.; FORESTI, E. Influência da razão CAMPOS, I. M. *et al.* Hydrogen production by *Enterobacter* sp. LBTM 2 using sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate and a synthetic substrate: understanding and controlling toxicity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, p. e20201679, 2021.

CAROCA, E. *et al.* Influence of phenols and furans released during thermal pretreatment of olive mill solid waste on its anaerobic digestion. **Waste Management**, v. 120, p. 202–208, 2021.

CHAI, X. *et al.* A hydrothermal-carbonization process for simultaneously production of sugars, graphene quantum dots, and porous carbon from sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 282, p. 142–147, 2019.

CHEN, F. *et al.* A rapid thioacidolysis method for biomass lignin composition and tricin analysis. **Biotechnology for Biofuels**, v. 14, n. 1, 2021.

CHEN, J. L. *et al.* Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1523–1534, 2014.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Reatores Anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016.

CHOURASIA, V. R. *et al.* Improving enzymatic digestibility of sugarcane bagasse from different varieties of sugarcane using deep eutectic solvent pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 337, p. 125480, 2021.

CIBIOGÁS. Nota Técnica: N° 002/2010. **Panorama do Biogás no Brasil em 2021**. Foz do Iguaçu, 2022.

CIBIOGÁS. Panorama do Biogás no Brasil 2023. Disponível em: <https://materiais.cibiogas.org/panorama-do-biogas-2023>. Acesso em: 9 abr. 2025.

CIBIOGÁS. Produção de biogás no Brasil poderia abastecer 40 mil ônibus por ano. Disponível em: <https://cibiogas.org/noticias/producao-de-biogas-no-brasil-poderia-abastecer-40-mil-onibus-por-ano/>. Acesso em: 21 abr. 2025.

DAI, L. *et al.* A novel recyclable furoic acid-assisted pretreatment for sugarcane bagasse biorefinery in co-production of xylooligosaccharides and glucose. **Biotechnology for Biofuels**, v. 14, n. 1, 2020.

DAMPANABOINA, L.; YUAN, N.; MENDU, V. Estimation of Crystalline Cellulose Content of Plant Biomass using the Updegraff Method. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2021, n. 171, 2021.

DE SÁ, L. R. V. *et al.* Biohydrogen production using xylose or xylooligosaccharides derived from sugarcane bagasse obtained by hydrothermal and acid pretreatments. **Renewable Energy**, v. 146, p. 2408–2415, 2020.

DE SÁ, L. R. V. *et al.* Pentoses, hexoses and glycerin as substrates for biohydrogen production: An approach for Brazilian biofuel integration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 7, p. 2986–2997, 2013.

DE SOUZA, L.; SHIVAKUMAR, S.; DAS, A. Dual phase statistical optimization of biological pre-treatment of sugarcane bagasse with *Pycnoporus coccineus* MScMS1 for polyhydroxyalkanoates production. **Journal of Environmental Management**, v. 302, p. 113948, 2022.

Detoxification Strategies: **A Mini Review**. **Molecules** 2018, Vol. 23, Page 309, v. 23, n. 2, p. 309, 2018.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. Biogas from waste and renewable resources: An introduction. 2nd. ed. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011.

DONOSO-BRAVO, Andres; ORTEGA, Valentina; LESTY, Yves; BOSSCHE, Hugues Vanden; OLIVARES, Diego. Addressing the synergy determination in anaerobic co-

digestion and the inoculum activity impact on BMP test. **Water Science and Technology**, [S. l.], v. 80, n. 2, p. 387–396, 2019. DOI: 10.2166/WST.2019.292.

DQO/[SO₄²⁻] e da concentração de Na⁺ na remoção de matéria orgânica e sulfato em reator UASB. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 2, p. 381–390, 2017.

DU, F. L. *et al.* A comparative study for the organic byproducts from hydrothermal carbonizations of sugarcane bagasse and its bio-refined components cellulose and lignin. **PLOS ONE**, v. 13, n. 6, p. e0197188, 2018.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (EPE). *Balanço Energético Nacional 2024: Ano base 2023 / BEN 2024*. Rio de Janeiro: EPE, 2024. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-819/topico-723/BEN2024.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2024.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. Minuta da Metodologia para Elaboração do Plano Nacional Integrado das Infraestruturas de Gás Natural e Biometano – Consulta Pública. Rio de Janeiro: EPE, 2025. Disponível em: https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-875/topico-753/Minuta_Metodologia_Plano%20Integrado_Consulta%20P%C3%BAblica_19.03.2025.pdf. Acesso em: 21 mar. 2025.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. Panorama do Biometano. Dezembro de 2023. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-781/Panorama%20de%20Biometano.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2025.

ENG SÁNCHEZ, F. *et al.* Value-added soluble metabolite production from sugarcane vinasse within the carboxylate platform: An application of the anaerobic biorefinery beyond biogas production. **Fuel**, v. 286, p. 119378, 2021.

ESPIRITO SANTO, M. *et al.* Structural and compositional changes in sugarcane bagasse subjected to hydrothermal and organosolv pretreatments and their impacts on enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 64–74, 2018.

FLORENCIO, L. *et al.* Effect of cobalt on the anaerobic degradation of methanol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 75, n. 5, p. 368–374, 1993.

FUESS, L. T.; ZAIAT, M.; NASCIMENTO, C. A. O. Can biogas-producing sugarcane biorefineries techno-economically outperform conventional ethanol production? Deciphering the way towards maximum profitability. **Energy Conversion and Management**, v. 254, p. 115206, 2022.

GARCÍA, J. M. *et al.* Variability for cell-wall and yield components in commercial sugarcane (*Saccharum* spp.) progeny: contrasts with parental lines and energy cane. **Journal of Crop Improvement**, v. 36, n. 6, p. 769–788, 2022.

GHASIMI, D. S. M. *et al.* Impact of lignocellulosic-waste intermediates on hydrolysis and methanogenesis under thermophilic and mesophilic conditions. **Chemical Engineering Journal**, v. 295, p. 181–191, 2016.

GOMEZ CAMACHO, C. E.; RUGGERI, B. Syntrophic microorganisms interactions in anaerobic digestion (ad): a critical review in the light of increase energy production. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, n. May, p. 391–396, 2018.

GRANBIO. GranBio inicia produção de etanol de segunda geração. 2014. Disponível em: <https://www.granbio.com/centro-de-midia/press-releases/granbio-inicia-producao-de-etanol-de-segunda-geracao/?form=MG0AV3>. Acesso em: 03 fev. 2025.

GUARNIERI, M. T. *et al.* Conversion and assimilation of furfural and 5-(hydroxymethyl)furfural by *Pseudomonas putida* KT2440. **Metabolic Engineering Communications**, v. 4, p. 22–28, 2017.

GUO, G. L. *et al.* Characterization of dilute acid pretreatment of silvergrass for HAGOS, Kiros *et al.* Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 76, p. 1485-1496, 2017.

HARPER, S. R.; POHLAND, F. G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, n. 4, p. 585–602, 1986.

HOLLIGER, C. *et al.* Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.

HORAN, N.; YASER, A. Z.; WID, N. Anaerobic digestion processes: Applications and effluent treatment. 1st. ed. [s.l.] **Springer**, 2018.

HUANG, L. Z. *et al.* Recent Developments and Applications of Hemicellulose From Wheat Straw: A Review. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 22 jun. 2021.

IGBOJIONU, L. I.; LALUCE, C.; PECORARO, E. Two-stage alkaline and acid pretreatment applied to sugarcane bagasse to enrich the cellulosic fraction and improve enzymatic digestibility. **Detritus**, v. 13, p. 106–113, 2020.

ILANIDIS, D. *et al.* Effects of operational conditions on auto-catalyzed and sulfuric-acid-catalyzed hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse at different severity factor. **Industrial Crops and Products**, v. 159, p. 113077, 2021.

International Energy Agency (IEA). *Global conventional biofuel production, 2011-2023*. Paris: IEA, [2024?]. Disponível em: <https://www.iea.org/data-and-statistics/charts/global-conventional-biofuel-production-2011-2023>. Acesso em: 8 abr. 2025.

International Energy Agency (IEA). *Greenhouse gas emissions from energy: data explorer*. Paris: IEA, [2024?]. Disponível em: <https://www.iea.org/data-and->

statistics/data-tools/greenhouse-gas-emissions-from-energy-data-explorer. Acesso em: 8 abr. 2025.

International Energy Agency (IEA). y. Renewables 2021 Analysis and forecast to 2026. 2021. Disponível em: <https://www.iea.org/reports/renewables-2021>. Acesso em: dezembro 2024.

International Energy Agency.(IEA) The role of gas in today's energy transitions. 2019. Disponível em <https://iea.blob.core.windows.net/assets/cc35f20f-7a94-44dc-a750-41c117517e93/TheRoleofGas.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2025.

IROBA, K. L.; TABIL, L. G. Photoacoustic Spectroscopy in the Assessment of the Quantitative Composition of the Biomass — Barley Straw. **Biofuels - Status and Perspective**, 2015.

JIMÉNEZ, J. *et al.* Microbial community dynamics reflect reactor stability during the anaerobic digestion of a very high strength and sulfate-rich vinasse. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 93, n. 4, p. 975–984, 2018.

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, n. January, p. 81–90, 2019.

KAUR, R. Value-added chemicals from lignin and hemicellulose fractions of sugarcane bagasse. 2016.

KIM, D. Physico-Chemical Conversion of Lignocellulose: Inhibitor Effects and KUMARI, D.; SINGH, R. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 90, n. March, p.877–891, 2018.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARA, A. C. DO. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. 1a ed. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 2019.

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

LIAO, J. J. *et al.* Current advancement on the isolation, characterization and application of lignin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 985–1024, 2020.

LIN, S. P. *et al.* Enhanced bioethanol production using atmospheric cold plasma-assisted detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate. **Bioresource technology**, v. 313, 2020.

LOGAN, B. E. *et al.* Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers. **Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 11, p. 2530–2535, 2002.

MACEDA, A.; TERRAZAS, T. Fluorescence Microscopy Methods for the Analysis and Characterization of Lignin. **Polymers** **2022**, Vol. **14**, Page **961**, v. 14, n. 5, p. 961, 2022.

MELESSE, G. T.; HONE, F. G.; MEKONNEN, M. A. Extraction of Cellulose from Sugarcane Bagasse Optimization and Characterization. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2022, 2022.

MOCKAITIS, G. *et al.* Acidic and thermal pre-treatments for anaerobic digestion inoculum to improve hydrogen and volatile fatty acid production using xylose as the substrate. **Renewable Energy**, v. 145, p. 1388–1398, 2020.

MONLAU, F. *et al.* Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 5, p. 934–951, 2014.

MORAES, B. S. *et al.* Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense? **Applied Energy**, v. 113, p. 825–835, 2014.

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 888–903, 2015.

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 888–903, 2015.

MUÑOZ-PÁEZ, K. M. *et al.* Distinct effects of furfural, hydroxymethylfurfural and its mixtures on dark fermentation hydrogen production and microbial structure of a mixed culture. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 4, p. 2289–2297, 2019.

NAKASU, P. Y. S. *et al.* Acid post-hydrolysis of xylooligosaccharides from hydrothermal pretreatment for pentose ethanol production. **Fuel**, v. 185, p. 73–84, 2016.

NASCIMENTO, V. M. *et al.* Mapping potential solvents for inhibitors removal from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate and its impact on fermentability. **Industrial Crops and Products**, v. 192, n. September 2022, 2023.

O'FLAHERTY, V.; COLLINS, G.; MAHONY, T. The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 39–55, 2006.

OLIVEIRA PEREIRA, I.; DOS SANTOS, Â. A.; GUIMARÃES, N. C.; LIMA, C. S.; ZANELLA, E.; MATSUSHIKA, A.; RABELO, S. C.; STAMBUK, B. U.; IENCZAK, J. L. First- and second-generation integrated process for bioethanol production: fermentation of molasses diluted with hemicellulose hydrolysate by recombinant

Saccharomyces cerevisiae. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 121, n. 4, p. 1314–1324, 2024.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. ONU: países precisam reduzir 42% das emissões de gases de efeito estufa para evitar aumento da temperatura global. 2024. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/281962-onu-pa%C3%ADses-precisam-reduzir-42-das-emiss%C3%B5es-de-gases-de-efeito-estufa-para-evitar-aumento>. Acesso em: 05 dez. 2024.

PHILIPPINI, R. R. *et al.* Pretreatment of Sugarcane Bagasse from Cane Hybrids: Effects on Chemical Composition and 2G Sugars Recovery. **Waste and Biomass Valorization**, v. 10, n. 6, p. 1561–1570, 2019.

PHONG, H. X. *et al.* Ethanol Production From Sugar-Cane Juice By Using Thermotolerant Yeasts. **TNU Journal of Science and Technology**, v. 202, n. 09, p. 185-192, 2019.

QUÉMÉNEUR, M. *et al.* Inhibition of fermentative hydrogen production by lignocellulose-derived compounds in mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 4, p. 3150–3159, 2012.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 08 abr. 2025.

RABELO, S. C. *et al.* Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 17, p. 7887–7895, 2011.

RAÍZEN. *Raízen inaugura maior planta de etanol de segunda geração do mundo.* [S. l.]: Raízen, 20 mar. 2024. Disponível em: <https://raizen.com/sala-de-imprensa/raizen-inaugura-maior-planta-de-etanol-de-segunda-geracao-do-mundo>. Acesso em: 8 abr. 2025.

RAJENDRAN, K. *et al.* Advancing anaerobic digestion through two-stage processes: Current developments and future trends. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 123, n. January, p. 109746, 2020.

REHMAN, M. L. U. *et al.* Anaerobic digestion. **Water Environment Research**, v. 91, n. 10, p. 1253–1271, 2019.

residual do biodiesel para geração de hidrogênio, 1,3-propanodiol e metano. 2021. 101. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

RIBEIRO, F. R. *et al.* Anaerobic digestion of hemicellulose hydrolysate produced after hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse in UASB reactor. **Science of the Total Environment**, v. 584–585, p. 1108–1113, 2017.

RIVARD, C. J.; GROHMANN, KAREL. Degradation of furfural (2-furaldehyde) to methane and carbon dioxide by an anaerobic consortium. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 28–29, n. 1, p. 285–295, 1991.

ROCHA, G. J. DE M. *et al.* Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical–chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 52–58, 2015.

RODRÍGUEZ M, A. *et al.* Biocatalytic transformation of furfural into furfuryl alcohol using resting cells of *Bacillus cereus*. **Catalysis Today**, v. 372, p. 220–225, 2021.

RUAN, L. *et al.* Optimizing the Conditions of Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse for Bioethanol Production. **ACS Omega**, v. 9, n. 27, p. 29566–29575, 2024.

RUIZ, H. A. *et al.* Evaluation of a hydrothermal process for pretreatment of wheat straw—effect of particle size and process conditions. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 86, n. 1, p. 88–94, 2011.

RUIZ, H. A. *et al.* Hydrothermal processing, as an alternative for upgrading agriculture residues and marine biomass according to the biorefinery concept: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 35–51, 2013.

SAFARI, A.; NANDINI, D.; LANGHELLE, O.; ROY, J.; ASSADI, M. Natural gas: A transition fuel for sustainable energy system transformation? **Energy Sci Eng**, v. 7, n. 4, p. 1075–1094, 2019.

SASAKI, M.; ADSCHIRI, T.; ARAI, K. Fractionation of sugarcane bagasse by hydrothermal treatment. **Bioresource Technology**, v. 86, n. 3, p. 301–304, 2003.

SCAPINI, T. *et al.* Hydrothermal pretreatment of lignocellulosic biomass for hemicellulose recovery. **Bioresource Technology**, v. 342, p. 126033, 2021.

SHIBUKAWA, V. P. *et al.* Impact of Product Diversification on the Economic Sustainability of Second-Generation Ethanol Biorefineries: A Critical Review. **Energies** 2023, Vol. 16, Page 6384, v. 16, n. 17, p. 6384, 2023.

SIQUEIRA, M. R.; REGINATTO, V. Inhibition of fermentative H₂ production by hydrolysis byproducts of lignocellulosic substrates. **Renewable Energy**, v. 80, p. 109–116, 2015.

SOMMER, S. G. *et al.* Animal manure: Recycling, treatment, and management. [s.l.]. **John Wiley & Sons Ltd Registered**, 2013.

SUN, C. *et al.* Inhibitory effects of furfural and vanillin on two-stage gaseous biofuel fermentation. **Fuel**, v. 252, p. 350–359, 2019.

SZCZERBOWSKI, D. *et al.* Sugarcane biomass for biorefineries: Comparative composition of carbohydrate and non-carbohydrate components of bagasse and straw. **Carbohydrate Polymers**, v. 114, p. 95–101, 2014.

TSUGE, Y. *et al.* Detoxification of furfural in *Corynebacterium glutamicum* under aerobic and anaerobic conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 20, p. 8675–8683, 2014.

U.S. ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION. **Natural gas explained - Use of natural gas**. Disponível em: <<https://www.eia.gov/energyexplained/natural-gas/use-of-natural-gas.php>>. Acesso em: 2025.

VALLEJOS, M. E. *et al.* Kinetic study of the extraction of hemicellulosic carbohydrates from sugarcane bagasse by hot water treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 1–6, 2015.

VAZ, F. L. *et al.* Chemical pretreatment of sugarcane bagasse with liquid fraction recycling. **Renewable Energy**, v. 174, p. 666–673, 2021.

VDI – Verein Deutscher Ingenieure. VDI 4630:2016-11 – Fermentation of organic materials – Characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. Düsseldorf: VDI, 2016. Disponível em: <https://www.vdi.de/en/home/vdi-standards/details/vdi-4630-fermentation-of-organic-materials-characterization-of-the-substrate-sampling-collection-of-material-data-fermentation-tests>. Acesso em: 01 abr. 2025.

VOLPI, M. P. C.; FUESS, L. T.; MORAES, B. S. Anaerobic co-digestion of residues in 1G2G sugarcane biorefineries for enhanced electricity and biomethane production. **Bioresource Technology**, v. 330, p. 124999, 2021.

WEI, W. *et al.* Co-production of fermentable glucose, xylose equivalents, and HBS-lignin from sugarcane bagasse through a FeCl₃-catalyzed EG/H₂O pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 165, p. 113440, 2021.

WONGSURAKUL, P. *et al.* Comprehensive Review on Potential Contamination in Fuel Ethanol Production with Proposed Specific Guideline Criteria. **Energies** **2022**, Vol. 15, Page 2986, v. 15, n. 9, p. 2986, 2022.

XIE, Y. *et al.* Efficient Extraction and Structural Characterization of Hemicellulose from Sugarcane Bagasse Pith. **Polymers**, v. 12, n. 3, 2020.

XU, C. *et al.* Comparative study on the properties of lignin isolated from different pretreated sugarcane bagasse and its inhibitory effects on enzymatic hydrolysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 146, p. 132–140, 2020.

YAYERINO-GUTIERREZ, M. A. *et al.* Enhanced Production of Clean Fermentable Sugars by Acid Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Sugarcane Bagasse. **Processes**, v. 12, n. 5, p. 978, 2024.

YU, H.Q., FANG, H.H.P. Inhibition on acidogenesis of dairy wastewater by zinc and copper. **Environmental Technology**. 22, 1459–1465, 2001.

ZHANG, W. *et al.* Biosynthesis and Transport of Nucleotide Sugars for Plant Hemicellulose. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021.

ZHANG, Y.; HAN, B.; EZEJI, T. C. Biotransformation of furfural and 5-hydroxymethyl furfural (HMF) by *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 during butanol fermentation. **New Biotechnology**, v. 29, n. 3, p. 345–351, 2012.

ZHAO, Haoyang; XU, Chenghua; WANG, Tengfei. Production of methane from ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, p. 6046–6053, 2008.

ZHENG, H. Y. *et al.* Towards understanding the reaction pathway in vapour phase hydrogenation of furfural to 2-methylfuran. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 246, n. 1–2, p. 18–23, 2006.

ZHENG, X. *et al.* Efficient short-time hydrothermal depolymerization of sugarcane bagasse in one-pot for cellulosic ethanol production without solid-liquid separation, water washing, and detoxification. **Bioresource Technology**, v. 339, p. 125575, 2021.