

AVALIAÇÃO DA DIGESTÃO ANAERÓBIA DO BAGAÇO DE MALTE PARA PRODUÇÃO DE ENERGIA RENOVÁVEL

DOI: <http://dx.doi.org/10.55449/conresol.6.23.XII-021>

Paula Polastri (*), Wardleison Martins Moreira, Danielly Cruz Campos Martins, Daniel Tait Vareschini, Marcelino Luiz Gimenes

* Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química, paulapolastri1983@gmail.com

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a influência de diferentes relações inóculo/substrato (RIS) na produção de metano usando bagaço de malte (BDM) como substrato. O ensaio de potencial bioquímico de metano (BMP) foi conduzido para avaliar o rendimento de metano de diferentes RIS (4, 3, 2 e 1) com base em sólidos totais voláteis (STV). Além disso, foram avaliados o desempenho do inóculo utilizando celulose microcristalina como substrato padrão, o potencial bioquímico de metano teórico e a biodegradabilidade dos substratos. O melhor resultado obtido em relação a produção de metano no ensaio de BMP foi na RIS 4, com rendimento específico de metano de $304,18 \text{ NmL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{STV}}^{-1}$. Por outro lado, a RIS 1 mostrou a menor produção, apresentando um perfil da curva de produção acumulada de biogás e metano com possível inibição e de difícil biodegradabilidade. Portanto, o aumento no rendimento de metano do BDM foi diretamente proporcional ao aumento da RIS, assim como o inóculo usado no ensaio de BMP apresentou desempenho satisfatório conforme resultados obtidos nos biorreatores de controle positivo.

PALAVRAS-CHAVE: biodegradabilidade, biogás, potencial bioquímico de metano, relação inóculo/substrato, resíduo sólido.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the influence of different inoculum to substrate ratios (ISR) on the methane production using brewery spent grain (BSG) as substrate. The biochemical methane potential (BMP) assay was conducted to evaluate the effect on methane yield of different ISR (4, 3, 2 and 1) based on volatile solids. In addition, the performance of the inoculum was assessed using microcrystalline cellulose as a standard substrate. The theoretical methane potential and the biodegradability of the substrates were also evaluated. The best result obtained in relation to methane production in the BMP assay was in ISR 4, with a specific methane yield of $304.18 \text{ NmL}_{\text{CH}_4} \text{ g}_{\text{vs}}^{-1}$. However, ISR 1 showed the lowest production, presenting a profile of the accumulated production curve of biogas and methane with possible inhibition and difficult biodegradability. Therefore, the increase in BDM methane yield was directly proportional to the increase in ISR, as well as the inoculum used in the BMP assay showed satisfactory performance according to the results obtained in the positive control bioreactors.

KEY WORDS: biodegradability, biogas, biochemical methane potential, inoculum to substrate ratio, solid waste.

INTRODUÇÃO

As ações voltadas para a busca de soluções para os resíduos sólidos sob a premissa do desenvolvimento sustentável se tornaram um elemento de extrema importância da política ambiental global e nacional (BRASIL, 2010). Além disso, as mudanças climáticas progressivas, assim como o esgotamento dos combustíveis convencionais, exigem mudanças rápidas e a transição de uma economia linear para uma economia circular. Logo, os resíduos sólidos orgânicos, como uma fonte de poluição, podem ser utilizados para a produção de energia por meio de biocombustíveis como biogás, metano, hidrogênio, etanol, biodiesel e outros (SZAJA *et al.*, 2021).

Neste contexto, o Brasil, terceiro maior produtor de cerveja do mundo, atrás apenas da China e dos Estados Unidos, produziu em 2021, 14,30 bilhões de litros de cerveja (BARTHHAAS, 2022). Para produzir 100 litros de cerveja, são gerados aproximadamente 20 kg de bagaço de malte (BDM), representando 85% do total de resíduos sólidos produzidos no processo de fabricação da cerveja (MUSSATTO, 2014).

A principal aplicação do BDM é como ração para bovinos, no entanto, várias alternativas têm sido propostas para o uso deste resíduo sólido na produção de energia, sendo motivada pela crise energética que o mundo está vivendo



Atualmente. Além disso, a grande disponibilidade deste material aliada à sua composição química e baixo custo faz do BDM uma matéria-prima de grande interesse para aplicação nesta área (MUSSATTO, 2014). Portanto, vários estudos têm proposto o uso BDM na produção de energia, por meio de processos de digestão anaeróbia (DA) para produção de biogás (BOUGRIER *et al.*, 2018; MAINARDIS *et al.*, 2019; VITANZA *et al.*, 2016).

A determinação do potencial bioquímico de metano (em inglês, *biochemical methane potential* - BMP) de resíduos sólidos orgânicos é um componente chave da pesquisa de DA, e o ensaio de BMP é amplamente utilizado para determinar a biodegradabilidade e o rendimento de metano de diferentes substratos (HAFNER *et al.*, 2020a).

Nos ensaios de BMP, a relação inóculo/substrato (RIS) é um parâmetro importante, pois afeta a eficiência da DA (DECHRUGSA *et al.*, 2013). Recomenda-se que a proporção em termos de sólidos totais voláteis (STV) do inóculo seja maior que a do substrato para minimizar problemas de acidificação ou inibição por excesso de substrato, sendo considerado padrão o uso de $RIS \geq 2$ (HOLLIGER *et al.*, 2016; VDI, 2016). Estudos anteriores mostraram que o aumento da RIS afeta positivamente o rendimento de metano (CAILLET *et al.*, 2019; YORUKLU *et al.*, 2018).

OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo determinar o potencial bioquímico de metano do bagaço de malte (BDM) em diferentes relações inóculo/substrato (RIS) e avaliar o desempenho do inóculo utilizando um substrato padrão.

METODOLOGIA

Substratos e inóculo

O resíduo sólido BDM utilizado como substrato foi obtido por um processo que emprega apenas malte para produção de cerveja, sem a presença de adjuntos, sendo coletado em uma cervejaria localizada em Maringá, Paraná, Brasil, após a produção de cerveja do tipo Pilsen, estilo de maior produção. Celulose microcristalina (CEL) (*Synth, Mingtai Chemical*) foi usada como substrato padrão. Como inóculo, foi utilizado lodo anaeróbio com 110 dias, mantido em biorreator em temperatura mesofílica. A Figura 1 ilustra o BDM, o inóculo e o biorreator em que foi mantido.

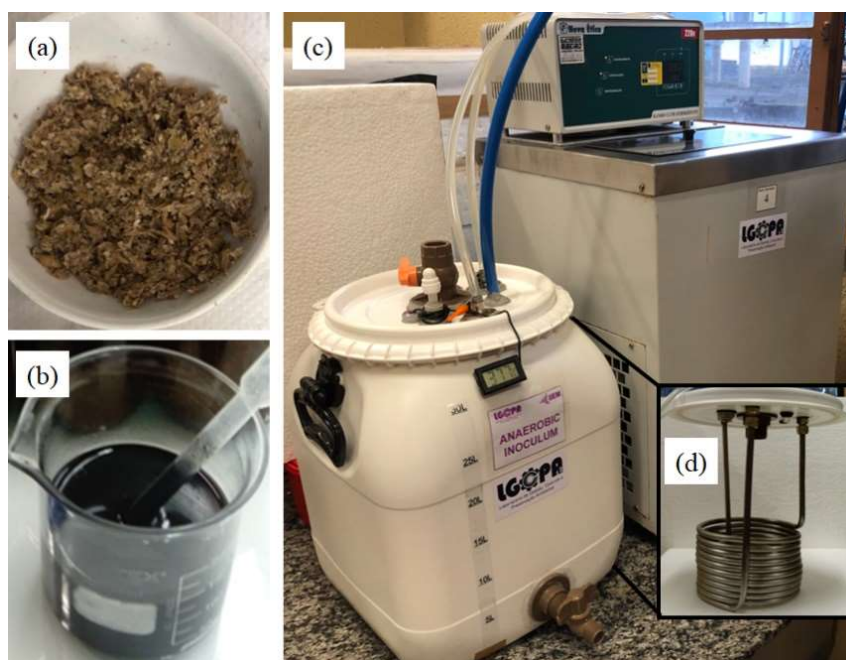


Figura 1: Materiais utilizados nos experimentos: (a) bagaço de malte; (b) inóculo; (c) biorreator de inóculo mesofílico e banho termostático; (d) detalhe interno da serpentina de aço inox para recirculação de água aquecida. Fonte: Autores, 2023.



O inóculo foi obtido a partir da mistura de lodo de biorreator de uma estação municipal de tratamento de esgoto, localizada em Maringá, Paraná, Brasil, e do tratamento de águas residuárias de suinocultura em uma fazenda-escola de uma universidade, localizada em Londrina, Paraná, Brasil.

Caracterização dos substratos e inóculo

A caracterização físico-química dos substratos e inóculo seguiu as metodologias descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998). A composição elementar do BDM em termos de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e enxofre (S) foi determinada usando um analisador elementar CHNS (Thermo Scientific, FlashSmart). O oxigênio (O) foi determinado pela diferença da soma do teor de C, H, N, S e sólidos totais fixos (STF), com base no teor de sólidos totais (ST).

Ensaio de potencial bioquímico de metano

O ensaio de BMP foi utilizado para determinar a biodegradabilidade do BDM, sendo realizado de acordo com as recomendações descritas na diretriz técnica da Associação de Engenheiros Alemães (em inglês, *Verein Deutscher Ingenieure* – VDI) VDI 4630 (VDI, 2016) e nos protocolos de padronização do ensaio propostos na literatura (HAFNER *et al.*, 2020a; HOLLIGER *et al.*, 2016). O ensaio de BMP, conforme apresentado na Figura 2, ocorreu em reatores de vidro âmbar de 250 mL, com volume de *headspace* de 75 mL. Biorreatores “brancos”, considerados controle negativo foram realizados para obter o BMP a partir da atividade do inóculo, e biorreatores controle positivo foram usados para avaliar o desempenho do inóculo usando CEL como substrato padrão.

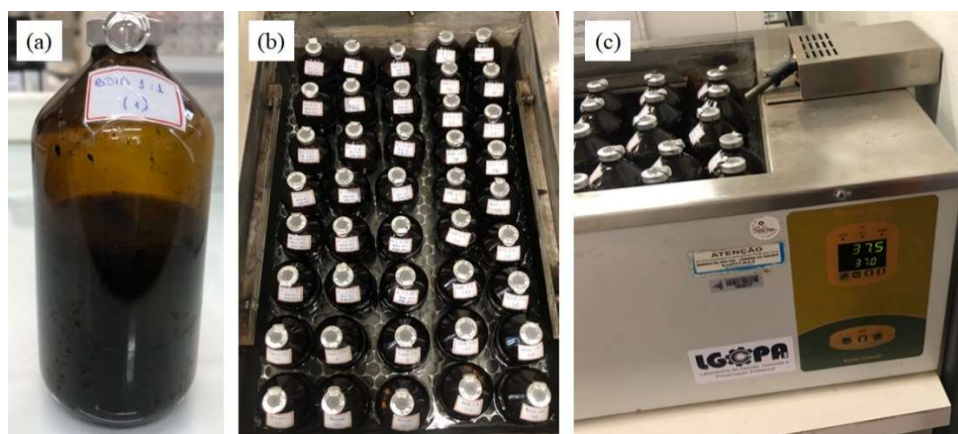


Figura 2: Ensaio de potencial bioquímico de metano: (a) detalhe de um biorreator; (b) biorreatores no banho termostático; (c) detalhe do banho termostático com controle de temperatura. Fonte: Autores, 2023.

A SIR foi calculada com base no teor de sólidos totais voláteis (STV), e RIS 4, 3, 2 e 1 foram investigadas. No entanto, para os biorreatores em que a CEL foi utilizada como substrato, a RIS foi fixada em 2. Antes da vedação de cada biorreator, aplicou-se nitrogênio gasoso (N_2) por 30 segundos, visando estabelecer condições anaeróbias (Koch *et al.*, 2015). Todos os biorreatores foram mantidos em temperatura mesofílica ($37 \pm 1^\circ C$) em banho termostático por 45 dias e agitados manualmente uma vez ao dia.

Os volumes de biogás dos biorreatores foram medidos diariamente utilizando seringas graduadas. A pressão manométrica foi medida no *headspace* dos biorreatores por meio do septo com uma seringa conectada a um medidor de pressão digital (Figura 3a).

Para determinação da composição do biogás, amostras de gás foram coletadas diariamente durante a primeira semana, em dias alternados na segunda semana e a cada três dias a partir da terceira semana até o final do ensaio. A composição do biogás em termos de metano (CH_4) foi determinada em um cromatógrafo a gás (Trace GC Ultra, Thermo Scientific) (Figura 3b), equipado com um detector de condutividade térmica (TCD). As injeções do cromatógrafo foram realizadas no modo *splitless*, com o injetor a uma temperatura de $100^\circ C$. Hélio foi usado como gás de arraste a uma vazão de 10 mL min^{-1} . A coluna cromatográfica utilizada foi a HP-Plot U ($30\text{ m} \times 0,53\text{ mm} \times 0,20\text{ }\mu\text{m}$), operada em modo isotérmico a $40^\circ C$.

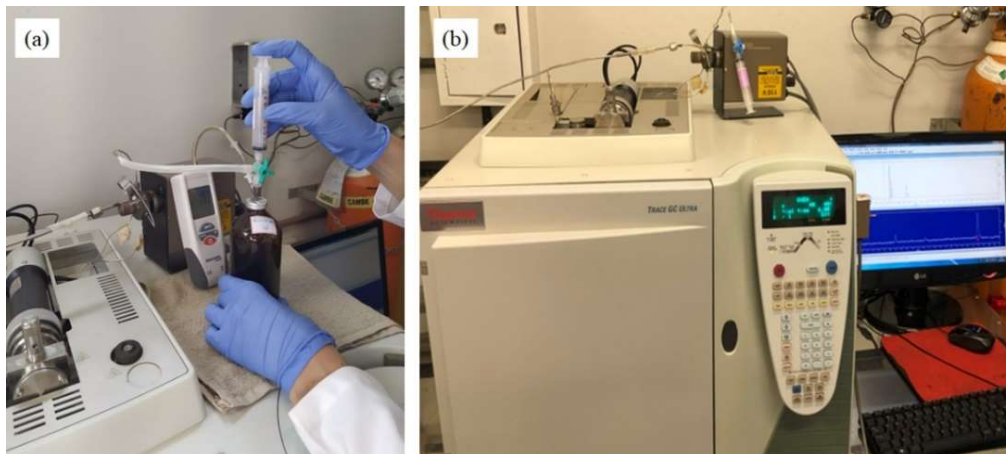
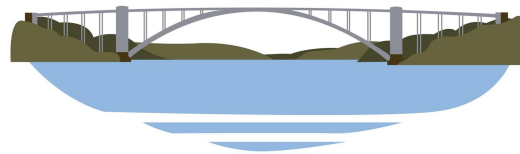


Figura 3: Ilustração da amostragem de biogás: (a) detalhe da medição do volume e composição do biogás; (b) cromatógrafo a gás usado para determinação da composição do biogás. Fonte: Autores, 2023.

Os volumes de biogás medidos foram normalizados para temperatura e pressão padrão (273,15 K e 1013,25 mbar), conforme Equação 1, e indicado como mililitro normal (NmL) (HAFNER *et al.*, 2020b; VDI, 2016). A pressão de vapor da água foi calculada como sugerido por Strömberg *et al.* (2014), representada pela Equação 2.

$$V_N = V \times \frac{(P_{atm} - P_{vap}) \times T_N}{P_N \times T} \quad \text{Equação (1)}$$

$$P_{vap} = 10^{8,1962 \left(\frac{1730,63}{T - 39,724} \right)} \quad \text{Equação (2)}$$

Na Equação 1, V_N corresponde ao volume de biogás normalizado, em NmL; V o volume de biogás medido pelo método volumétrico, em mL; P_{atm} a pressão atmosférica no momento da medição, em mbar; P_{vap} a pressão de vapor da água em função da temperatura ambiente ou de operação, em mbar; T_N a temperatura normal, 273,15 K; P_N a pressão normal, 1013,25 mbar; e T a temperatura do biogás, ou seja, a temperatura de operação, em K. Na Equação 2, P_{vap} corresponde a pressão de vapor da água, em mbar; e T a temperatura do biogás, em K.

A produção de biogás e metano dos biorreatores substrato e controle positivo foram subtraídas da produção média dos biorreatores brancos (produção do inóculo) e dividida pela massa de substrato adicionada com base nos sólidos voláteis. Todos os valores de produção de biogás e de metano foram expressos em termos de rendimento específico ($\text{NmL g}_{\text{STV}}^{-1}$). O ensaio de BMP foi encerrado quando a produção diária de metano foi inferior a 1% por três dias consecutivos em relação à produção acumulada de metano (HAFNER *et al.*, 2020a).

Potencial bioquímico de metano teórico

O potencial bioquímico de metano teórico (BMPT) foi calculado com base na Equação proposta por Symons e Buswell (1933) (Equação 3), e o BMPT foi usado para avaliar a biodegradabilidade dos substratos, por meio da relação entre o BMP observado e o BMPT (VAZIFEHKHORAN; TRIOLO, 2019) (Equação 4).

$$\text{TBMP} = \frac{\left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8} \right) \times 22,4 \times 1000}{12n + a + 16b + 14c} \quad \text{Equação (3)}$$

$$\text{BD} = \frac{\text{BMP}}{\text{TBMP}} \times 100 \quad \text{Equação (4)}$$

Na Equação 3, TBMP é o potencial bioquímico de metano teórico, em $\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{STV}}^{-1}$; n , a , b e c correspondem ao número de átomos do carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, respectivamente, expressos em percentual de massa seca, ou seja, % de sólidos totais; e 22,4 é o volume de 1 mol de gás na temperatura e pressão normal, em L. Na Equação 4, BD corresponde a biodegradabilidade do substrato, em %; BMP o potencial bioquímico de metano observado, em $\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{STV}}^{-1}$; e TBMP o potencial bioquímico de metano teórico, em $\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{g}_{\text{STV}}^{-1}$.



Análise estatística dos resultados

A produção acumulada de biogás e de metano foram analisadas usando análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando um software estatístico.

RESULTADOS

Caracterização dos substratos e inóculo

As características dos substratos e do inóculo são apresentadas na Tabela 1. O resultado obtido na relação STV/ST (0,96) indica um alto potencial de transformação orgânica do BDM, pois substratos que apresentam STV/ST maior que 0,70 podem ser considerados facilmente biodegradáveis (PAVAN *et al.*, 2000). Os valores de ST (22,27%) e STV (21,49%) obtidos para o BDM são semelhantes aos resultados obtidos por Bougrier *et al.* (2018), em que encontraram valores de ST e STV entre 22,91-26,23% e 21,93-24,96%, respectivamente.

Tabela 1. Caracterização físico-química dos substratos e inóculo.
Fonte: Autores, 2023.

Parâmetro	Bagaço de malte	Celulose microcristalina ^(a)	Inóculo ^(b)
ST (%)	22,27 ($\pm 0,08$)	94,40 ($\pm 0,09$)	3,57 ($\pm 0,07$)
STV (%)	21,49 ($\pm 0,03$)	94,34 ($\pm 0,11$)	2,38 ($\pm 0,09$)
STV/ST	0,96	0,99	0,66
C (%ST)	45,71 ($\pm 1,07$)	ND	ND
H (%ST)	6,07 ($\pm 0,12$)	ND	ND
N (%ST)	3,65 ($\pm 0,21$)	ND	ND
S (%ST)	0,15 ($\pm 0,00$)	ND	ND
O ^(c) (%ST)	43,64	ND	ND
C/N	12,52	ND	ND
Fórmula química	C ₁₅ H ₂₃ O ₁₀ N	C ₆ H ₁₀ O ₅ ^(d)	ND
BMPT (NmL _{CH₄} g _{STV} ⁻¹)	446	415 ^(d)	ND

Nota: ND: não determinado; ST: sólidos totais; STV: sólidos totais voláteis; C/N: relação carbono/nitrogênio; BMPT: potencial bioquímico de metano teórico baseado na composição elementar; (a) substrato padrão; (b) mistura de lodo anaeróbico com 110 dias; (c) calculado por diferença; (d) da literatura. Os valores médios são relatados e valores entre parênteses representam o desvio padrão ($n = 3$).

Como esperado, devido ao caráter orgânico do substrato, os resultados da análise elementar mostram um alto teor de carbono no BDM. Os valores de carbono e nitrogênio encontrados para o BDM foram 50,5 e 3,6 %ST, respectivamente, semelhantes aos relatados por Dudek *et al.* (2019). Valores na faixa de 45,6-47,5%ST para carbono e 2,4-2,9%ST para nitrogênio em amostras de BDM foram relatados por Mainardis *et al.* (2019), sendo valores próximos aos encontrados neste estudo para carbono, porém menores para nitrogênio.

A relação C/N obtida para o BDM (12,52) está abaixo do valor considerado ótimo para digestão anaeróbia (20-30) (PARKIN; OWEN, 1986). No entanto, para baixas relações C/N, como obtido para o BDM, o uso de uma maior SIR em ensaios de BMP e a co-digestão anaeróbia com um ou mais substratos é indicado para melhorar as relações C/N (MAINARDIS *et al.*, 2019; MATA-ALVAREZ *et al.*, 2014). Vitanza *et al.* (2016) apresentaram relação C/N de 12,4, valor próximo em relação ao resultado obtido neste estudo.

Produção de biogás e metano

A produção acumulada de biogás e metano, a concentração de metano e a biodegradabilidade dos substratos, para cada RIS avaliada para o BDM e CEL, são apresentadas na Tabela 2.



Tabela 2. Produção de biogás e metano, teor de metano e biodegradabilidade do bagaço de malte para diferentes relações inóculo/substrato. Fonte: Autores, 2023.

Biorreator	RIS	Produção acumulada de biogás (NmL g _{STV} ⁻¹)	Produção acumulada de metano (NmL _{CH₄} g _{STV} ⁻¹)	Conteúdo de metano (CH ₄ %)	Biodegradabilidade (%)
CEL	2	598,61 (±10,64)	343,67 (±3,33)	53,35 (±0,57)	83,01
BDM 4	4	524,78 (±30,43) ^a	304,18 (±16,39) ^a	55,61 (±0,79)	68,20
BDM 3	3	486,55 (±12,56) ^{ab}	270,62 (±3,53) ^b	54,83 (±0,48)	60,67
BDM 2	2	468,34 (±10,19) ^b	267,17 (±8,90) ^b	55,74 (±0,28)	59,69
BDM 1	1	390,55 (±13,67) ^c	214,79 (±3,61) ^c	53,76 (±1,06)	48,16

Nota: Letras diferentes indicam que a diferença das médias é significativa ao nível de 0,05; BDM = bagaço de malte; CEL = celulose microcristalina usada como substrato padrão; RIS = relação inóculo/substrato; STV = sólidos totais voláteis; NmL = mililitro normal a 273,15 K e 1013,25 mbar. Os valores médios são relatados e os valores entre parênteses representam o desvio padrão (n = 4).

Ao avaliar a Tabela 2, a RIS 4 apresentou o melhor desempenho no processo de digestão anaeróbia. Por outro lado, a RIS 1 resultou no menor rendimento de biogás e metano, em que pode estar relacionada à sobrecarga dos biorreatores nesta concentração. Por esse motivo, a quantidade de substrato hidrolisável disponível para os microrganismos pode ter ocasionado o acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) e, conseqüentemente, possíveis inibições na digestão anaeróbia. Bougrier *et al.* (2018) ao avaliarem 4 amostras de BDM em ensaios de BMP, obtiveram produção de metano entre 285 e 350 NmL_{CH₄} g_{STV}⁻¹, valores semelhantes aos encontrados no presente estudo. Vitanza *et al.* (2016) relataram um grau de conversão ou biodegradabilidade de 81,10% para o BDM, enquanto neste estudo o maior valor obtido foi de 68,20% na RIS 4.

A atividade biológica do inóculo foi avaliada pelo BMP do substrato de referência, em que foi utilizado celulose microcristalina (biorreatores controle positivo). O BMP da celulose atingiu uma produção de biogás de 598,61 NmL g_{STV}⁻¹, correspondendo a 80,35% do valor da produção média de biogás de 745 NmL g_{STV}⁻¹ reportada pela diretiz alemã VDI 4630:2016, considerando 100% de conversão da CEL em biogás e para crescimento dos microrganismos (VDI, 2016). Além disso, Hafner *et al.* (2020a) relataram que os resultados de BMP só podem ser validados se o BMP controle positivo estiver entre 340 e 395 NmL_{CH₄} g_{STV}⁻¹. Logo, o ensaio de BMP realizado foi válido, pois foi obtido um valor médio de 343,67 NmL_{CH₄} g_{STV}⁻¹ para o BMP controle positivo.

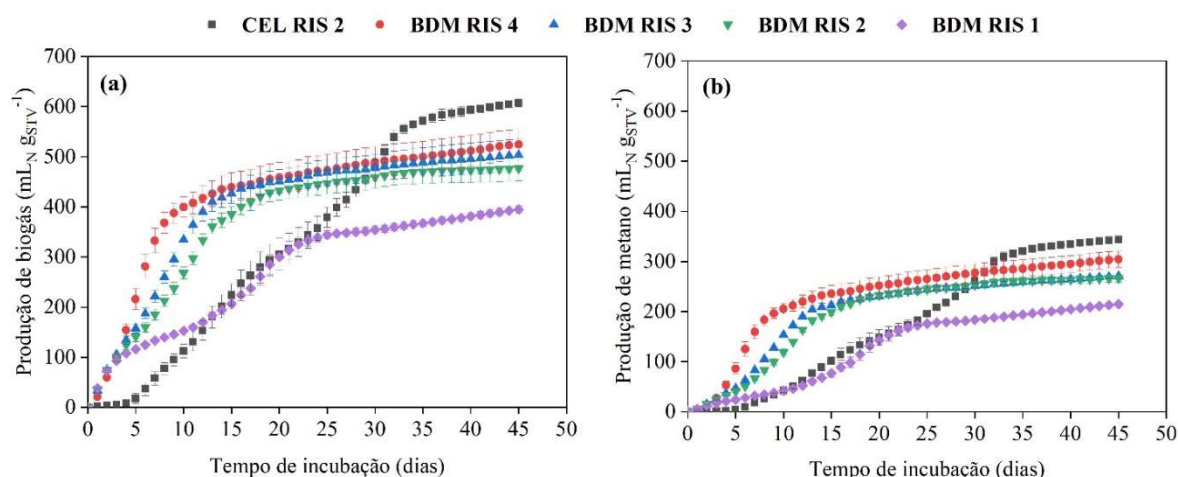
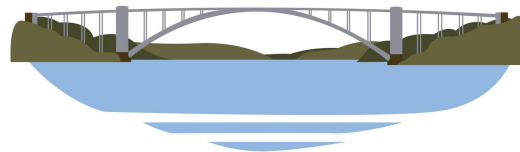


Figura 4: Curvas de produção acumulada de biogás (a) e de metano (b) do bagaço de malte (BDM) nas relações inóculo/substrato (RIS) 4, 3, 2 e 1 e da celulose microcristalina (CEL) como controle positivo no ensaio de potencial bioquímico de metano em 45 dias de incubação. Fonte: Autores, 2023.

Nota: Os valores médios são relatados e os desvios padrão representam barras verticais (n = 4).

Adicionalmente, os resultados obtidos podem ser avaliados por meio do perfil da curva da produção acumulada de biogás e metano para cada RIS testada, conforme mostra a Figura 4. Ao avaliar o perfil de produção acumulada de biogás do BDM em 45 dias de incubação apresentados na Figura 4, a maior produção foi obtida na RIS 4, seguido da RIS 3 e RIS 2, no entanto, não houve diferença significativa entre a RIS 4 e 3, e entre a RIS 3 e 2. Assim como a



produção acumulada de metano, mostrou a mesma tendência, porém não houve diferença significativa entre a RIS 3 e 2, conforme apresentado na Tabela 2. A produção de biogás ficou estável entre o 10º e o 15º dia, seguindo o mesmo comportamento de produção de biogás para as diferentes RIS avaliadas, com exceção da RIS 1 em que foi obtido a produção de biogás mais baixa. Ademais, os perfis das curvas são típicos das diferentes etapas que caracterizam o processo de produção de biogás. Em outras palavras, os perfis revelam a presença de uma fase inicial, denominada fase *lag*, seguida de uma fase de rápido aumento na produção e, finalmente, a fase de estabilização.

De acordo com a diretriz alemã VDI 4630 (VDI, 2016), substâncias facilmente conversíveis são convertidas rapidamente

em biogás e a curva correspondente é caracterizada por um aumento acentuado na produção acumulada de biogás, se caracterizando como uma curva normal, comportamento obtido nas RIS 4, 3 e 2. Por outro lado, substâncias que se degradam com dificuldade, exibem uma curva de formação de biogás retardada, sendo que o perfil desta curva também pode ser devido a uma ligeira inibição (VDI, 2016), comportamento apresentado na RIS 1, que neste caso, esta possível inibição ocorreu pelo excesso de substrato.

Por fim, o perfil de produção de biogás para a CEL diferiu dos demais experimentos e mostrou um aumento na produção a partir do 5º dia e estabilidade após o 30º dia. Resultado este já esperado, visto que, este substrato de referência é completamente degradável, porém não é de rápida biodegradabilidade (VDI, 2016).

CONCLUSÕES

A produção de biogás e metano do BDM na RIS 4 apresentou melhor desempenho no ensaio BMP. Além disso, o perfil da produção acumulada de biogás e metano apresentou comportamento normal. No entanto, a RIS 1 apresentou a menor produção de biogás e o menor rendimento de metano, mostrando um perfil de produção de metano com possível inibição e de difícil degradabilidade devido ao excesso de substrato. Portanto, pode-se concluir que o rendimento de metano do BDM aumenta à medida que a RIS aumenta. Além disso, o lodo anaeróbio utilizado como inóculo no ensaio BMP atendeu ao desempenho exigido nos protocolos de referência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Public Health Association (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 ed. USA: APHA: 1998.
2. Bougrier, C. *et al.* Use of trace elements addition for anaerobic digestion of brewer's spent grains. **Journal of Environmental Management**, v. 223, p. 101–107, 2018.
3. BarthHaas Group. **BarthHaas Report 2021/2022**. Nuremberg: BarthHaas GmbH & Co. KG, 2022.
4. Brasil. **Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm. Acesso em: 13 abr. 2023.
5. Caillet, H. *et al.* Influence of inoculum to substrate ratio on methane production in Biochemical Methane Potential (BMP) tests of sugarcane distillery wastewater. **Procedia Manufacturing**, v. 35, p. 259–264, 2019.
6. Dechrugsa, S. *et al.* Effects of inoculum to substrate ratio, substrate mix ratio and inoculum source on batch co-digestion of grass and pig manure. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 101–108, 2013.
7. Dudek, M. *et al.* The effect of biochar addition on the biogas production kinetics from the anaerobic digestion of brewers' spent grain. **Energies**, v. 12, n. 8, p. 1–22, 2019.
8. Hafner, S. D. *et al.* Improving inter-laboratory reproducibility in measurement of Biochemical Methane Potential (BMP). **Water**, v. 12, p. 1–30, 2020a.
9. Hafner, S. D. *et al.* Calculation of methane production from volumetric measurements. **Standard BMP Methods Document 201, Version 1.9**, n. October, p. 1–5, 2020b.
10. Holliger, C. *et al.* Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.
11. Koch, K. *et al.* Influence of headspace flushing on methane production in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. **Bioresource Technology**, v. 186, p. 173–178, 2015.
12. Mainardis, M. *et al.* Techno-economic analysis of anaerobic digestion implementation in small Italian breweries and evaluation of biochar and granular activated carbon addition effect on methane yield. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 3, p. 103184, 2019.
13. Mata-Alvarez, J. *et al.* A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013.



Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 36, p. 412–427, 2014.

14. Mussatto, S. I. Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, 1264–1275, 2014.
15. Parkin, G. F.; Owen, W. F. Fundamentals of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludges. **Journal of Environmental Engineering**, v. 112, n. 5, p. 867–920, 1986.
16. Pavan, P. *et al.* Performance of thermophilic semi-dry anaerobic digestion process changing the feed biodegradability. **Water Science and Technology**, v. 41, n. 3, p. 75–81, 2000.
17. Strömberg, S. *et al.* Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. **Waste Management**, v. 34, n. 11, p. 1939–1948, 2014.
18. Symons, G. E.; Buswell, A. M. The methane fermentation of carbohydrates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 55, n. 5, p. 2028–2036, 1933.
19. Szaja, A. *et al.* A combined anaerobic digestion system for energetic brewery spent grain application in co-digestion with a sewage sludge. **Waste Management**, v. 135, p. 448–456, 2021.
20. Vazifekhoran, A. H.; Triolo, J. M. A novel mathematical modelling of waste biomass decomposition to facilitate rapid methane potential prediction. **Journal of Cleaner Production**, v. 220, p. 1222–1230, 2019.
21. Verein Deutscher Ingenieure (VDI). **VDI 4630**: fermentation of organic materials: characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. Düsseldorf, Germany, 2016.
22. Vitanza, R. *et al.* Biovalorization of brewery waste by applying anaerobic digestion. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 30, n. 3, p. 351–357, 2016.
23. Yoruklu, H. C. *et al.* The impact of pretreatment and inoculum to substrate ratio on methane potential of organic wastes from various origins. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 20, p. 800–809, 2018.