



UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
E CIÊNCIAS AMBIENTAIS

ESTUDO DA ACIDOGÊNESE E METANOGÊNESE APLICADA NO
TRATAMENTO DA VINHAÇA DA CANA-DE-AÇÚCAR

VANESSA VERONA PERUZZO

Caxias do Sul - 2017



UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
CIÊNCIAS AMBIENTAIS

VANESSA VERONA PERUZZO

ESTUDO DA ACIDOGÊNESE E METANOGÊNESE APLICADA NO
TRATAMENTO DA VINHAÇA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais (PPGECAM) da Universidade de Caxias do Sul, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciências Ambientais.

Caxias do Sul – 2017

V548e Verona Peruzzo, Vanessa

Estudo da Acidogênese e Metanogênese Aplicada no
Tratamento da Vinhaça da Cana-de-açúcar / Vanessa Verona Peruzzo. —
2017.

105 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais,
2017.

Orientação: Lademir Luiz Beal.

1. Digestão anaeróbia. 2. Cana-de-açúcar. 3. Vinhaça. 4.
Biogás. I. Luiz Beal, Lademir, orient. II. Título.

***“ESTUDO DA ACIDOGÊNESE E METANOGÊNESE APLICADA
AO TRATAMENTO DA VINHAÇA DA CANA-DE-AÇÚCAR.”***

Vanessa Verona Peruzzo

Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciências Ambientais, Área de Concentração: Gestão e Tecnologia Ambiental.

Caxias do Sul, 22 de junho de 2017.

Banca Examinadora:

Dr. Lademir Luiz Beal
Orientador
Universidade de Caxias do Sul

Dr. Luiz Olinto Monteggia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Suelen Osmarina Paesi
Universidade de Caxias do Sul

*“Você pode ficar desapontado se falhar, mas você está
certamente condenado se não tentar”*

Beverly Sills

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade de Caxias do Sul pelo espaço disponibilizado para a realização deste trabalho. Ao Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais, por sua estrutura curricular que contribuíram para minha aprendizagem e agregaram novos conhecimentos. E a PETROBRAS pela bolsa de estudos concedida.

Ao professor Dr. Luiz Olinto Monteggia pela disponibilidade em colaborar na elaboração deste trabalho. A Profa. Dra. Suelen Osmarina Paesi por sua simpatia, dedicação e disposição ao longo do desenvolvimento de toda a pesquisa. A profa. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos por aceitar o convite e colaborar com seu conhecimento para a conclusão deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Lademir Luiz Beal pela orientação, paciência, seus ensinamentos e pela oportunidade de realizar o mestrado. Aos colegas que fizeram e fazem parte da equipe do LATAM, principalmente a Eduardo R. Lovatel, Juliane I. de Azevedo e Felipe H. Sachet. Aos demais bolsistas IC (Ana, Bruna, Daniela, Fernando, Gabriela, Isadora, Norton, Daiane, Thays e Henrique), as colegas de mestrado (Camila, Janaina, Letícia e Vânia) e ao Prof. Dr. Juliano R. Gimenez. Agradeço a todos pelas conversas, pelas ajudas, pelas risadas e pela amizade. Levarei comigo somente lembranças boas dessa equipe.

As minhas amigas de longa data, Bruna, Camila, Carolina, Fabíola, Fernanda e Michele (Ambientaletes) que me incentivaram para que eu realizasse o mestrado, pela amizade e por estarem comigo em mais uma etapa. A Juliana Lautert pela amizade e por compartilhar comigo as angústias e alegrias do mestrado. Ao Prof. Ms. Romualdo N. Vanacôr pela sabedoria e apoio para que eu ingressasse nesse novo desafio.

Ao funcionário da UCS, Flávio Arí Pedrotti, por sua cordialidade e dedicação em fornecer todo o suporte para a conclusão deste trabalho.

À minha família, meu pai Itacir S. Peruzzo, minha mãe Regina M. V. Peruzzo, meu irmão William V. Peruzzo, pelo apoio incondicional, pelo amor, carinho e paciência infinita. Ao meu irmão e a Anaiá S. Pinto por nos presentear com a notícia de mais um integrante na família, o Ângelo. E ao meu namorado, Tiago M. Pereira, por entender e sempre apoiar as minhas escolhas.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. OBJETIVO GERAL	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1. PANORAMA ENERGÉTICO BRASILEIRO	17
3.2. CANA-DE-AÇÚCAR NO BRASIL	18
3.3. PRODUÇÃO DE ETANOL	19
3.4. GERAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA VINHAÇA	21
3.5. POTENCIAL IMPACTO AMBIENTAL DA VINHAÇA	23
3.6. TRATAMENTOS UTILIZADOS PARA A VINHAÇA	24
3.7. DIGESTÃO ANAERÓBIA	27
3.7.1. Etapas da digestão anaeróbia	29
3.7.2. Microbiologia da digestão anaeróbia	30
3.7.2.1. Bactérias fermentativas	31
3.7.2.2. Bactérias acetogênicas produtoras de H ₂	31
3.7.2.3. Arqueas metanogênicas	31
3.7.2.4. Bactérias redutoras de enxofre	32
3.7.3. Cinética da digestão anaeróbia.....	34
3.7.4. Fatores de influência na digestão anaeróbia	36
3.7.4.1. Potencial redox	36
3.7.4.2. Temperatura	37
3.7.4.3. Influência do pH	38
3.7.4.4. Ácidos graxos	40
3.7.4.5. Metais pesados	40
3.7.4.6. Tempo de detenção	41
3.7.4.7. Relação carbono nitrogênio (C/N)	42
3.7.4.8. Nitrogênio Amoniacal.....	43
3.8. BIOGÁS.....	43
4. MATERIAL E MÉTODOS	46

4.1.	ETAPA 1.....	46
4.1.1.	Equipamentos.....	46
4.1.2.	Características do substrato	47
4.1.3.	Características do inóculo	48
4.1.4.	Condições de operação	50
4.1.5.	Procedimentos de realização dos ensaios	50
4.2.	ETAPA 2.....	51
4.2.1.	Equipamentos.....	51
4.2.2.	Características do substrato	51
4.2.3.	Características do inóculo	52
4.2.4.	Condições de operação	52
4.2.5.	Procedimentos de realização dos ensaios	53
4.3.	ETAPA 3.....	54
4.3.1.	Equipamentos.....	54
4.3.2.	Características do substrato	54
4.3.3.	Características do inóculo	54
4.3.4.	Condições de operação	54
4.3.5.	Procedimentos de realização dos ensaios	55
4.4.	MÉTODOS ANALÍTICOS	55
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	56
5.1.	ETAPA 1.....	56
5.2.	ETAPA 2.....	71
5.3.	ETAPA 3.....	82
6.	CONCLUSÕES.....	92
7.	RECOMENDAÇÕES	93
	REFERÊNCIAS	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Balanço Energético Nacional de 2016 no Brasil	17
Figura 2 - Evolução no processamento da cana-de-açúcar no período de 2000 até 2015 no Brasil.....	18
Figura 3 - Evolução na produção de etanol para o período de 2000 até 2015.....	20
Figura 4 - Visão geral simplificada do processo de produção industrial do etanol.....	21
Figura 5 - Etapas da digestão anaeróbia	29
Figura 6 – Representação gráfica da redução de sulfatos.....	33
Figura 7 - Imagem capturada de grânulo anaeróbio com aumento de 50X em microscópio ...	37
Figura 8 - Faixas de temperatura para a digestão anaeróbia. Ótima para mesofílicas em torno de 30-35°C e para termofílicas em torno de 55-60°C	38
Figura 9 - Unidade experimental utilizada para realização dos ensaios.....	47
Figura 10 - Reatores de bancada utilizados para o teste da AME	49
Figura 11 - Sistema de medição de gás por deslocamento de líquido em provetas invertidas.	49
Figura 12 - Unidade experimental utilizada para realização dos ensaios.....	52
Figura 13 - Reservatório utilizado com água alcalinizada para quantificação do metano produzido e septo de borracha para a retirada de amostras de gás	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Modelos cinéticos aplicados a digestão anaeróbia	34
Tabela 2 - Parâmetros de comparação entre a digestão mesofílica e termofílica.....	39
Tabela 3 - Concentrações benéficas e inibidoras de diversas espécies químicas.....	41
Tabela 4 - Parâmetros analisados da vinhaça da cana-de-açúcar	48
Tabela 5 - Parâmetros operacionais aplicados em cada etapa experimental	50
Tabela 6 - Composição da solução estoque nutritiva	52
Tabela 7 - Volumes adicionados para compor cada experimento em pH 7,0 e pH 7,5.....	53
Tabela 8 - Parâmetros operacionais aplicados em cada etapa experimental	55
Tabela 9 - Atividade metanogênica específica, concentração de SSV e de substrato usadas em testes de AME.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Concentrações químicas encontradas para a vinhaça a partir da cana-de-açúcar ..	22
Quadro 2 - População equivalente em termos de carga poluidora para cada volume de etanol	24
Quadro 3 - Abordagens tecnológicas para o tratamento da vinhaça (físico-químicas e biológicas) e processos oxidativos	28
Quadro 4 - Poder calorífico para diferentes fontes de energia	44
Quadro 5 - Equivalência energética entre 1 m ³ de biogás e outros energéticos	45
Quadro 6 - Cenário global de energia renovável em 2040	45

RESUMO

A vinhaça, água residuária do processo, apresenta em sua composição DQO de 20 a 100 g DQO.L⁻¹ e um ótimo potencial de produção de biogás por meio da digestão anaeróbia. Para avaliar a capacidade de produção de biogás, foram realizados experimentos sob o efeito gradual da carga orgânica volumétrica (COV) e da relação A/M, avaliando a etapa metanogênica. Como no processo de fabricação do etanol é adicionado ácido sulfúrico para evitar a contaminação bacteriana, foi avaliado a interferência da adição de diferentes concentrações de sulfetos no processo em valor de pH 7,0 e 7,5. O fermentador foi alimentado com Na₂S.9H₂O, variando a concentração do íon S²⁻ de 0 a 1000 mg.L⁻¹. Para obter uma boa eficiência na produção de metano, a etapa acidogênica também foi avaliada. Para isso, se manteve as mesmas concentrações de biomassa e substrato, porém, ajustando os valores de pH em 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5. Na etapa metanogênica uma satisfatória redução da elevada carga orgânica presente na vinhaça foi alcançada, com eficiência de remoção entre 82,0% e 90,3% em processo mesofílico. Um ajuste polinomial foi realizado para avaliar a produção específica de metano, que variou de 379 mL CH₄.h⁻¹ a 872 mL CH₄.h⁻¹ e atividade metanogênica de 0,33 mmol CH₄.gSVT⁻¹ h⁻¹ a 0,77 mmol CH₄.gSVT⁻¹ h⁻¹. Para a etapa da sulfetogênese, o pH afetou consideravelmente o desempenho das arqueas metanogênicas, ocorrendo inibição mais acentuada para o pH 7,5. Na concentração mais baixa testada, de 50 mg S²⁻.L⁻¹, foi observada inibição de 31,85% para pH 7,0 e de 67% para pH 7,5 e para a concentração mais elevada de 1000 mg S²⁻.L⁻¹ a inibição foi de 59,75% e de 94,07% respectivamente. Na última etapa da acidogênese, maiores concentrações de ácido propiônico e acético foram alcançadas em pH 5,0 e 5,5, com 1374,66 e 1477,23 mg C₃H₆O₂.L⁻¹ e 993,05 e 767,80 mg CH₃COOH.L⁻¹. Maiores taxas de produção de AGV ocorreram em pH 6,5, alcançando para o ácido propiônico 8,82 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ e 7,99 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ para ácido acético. A produção acumulada de metano nas primeiras 60 horas atingiu 2210 mL, 5300 mL, 7210 mL e 7620 mL CH₄, respectivamente para pH 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5.

Palavras-chave: vinhaça; digestão anaeróbia; biogás; metanogênese; acidogênese; sulfetogênese

ABSTRACT

The vinasse, wastewater of the process, presents in its composition a COD of 20 to 100 g COD.L⁻¹ and an excellent biogas production potential through anaerobic digestion. To evaluate the biogas production capacity, experiments were carried out under the gradual effect of organic volumetric load (OVL) and A/M ratio, evaluating the methanogenic step. Considering that sulfuric acid is added to the ethanol production process to prevent bacterial contamination, the interference of the addition of different sulfide concentrations in the process at pH 7.0 and 7.5 was evaluated. The fermenter was fed with Na₂S.9H₂O, varying the concentration of the S²⁻ ion from 0 to 1000 mg.L⁻¹. In order to obtain good efficiency in the production of methane, the acidogenic step was also evaluated. For this, the same concentrations of biomass and substrate were maintained, however, the pH was adjusted 5.0, 5.5, 6.0 and 6.5. In the methanogenic stage a satisfactory reduction of the organic load present in the vinasse was achieved, with removal efficiency in the range of 82.0% and 90.3% for mesophilic process. A polynomial fit was performed to evaluate the specific production of methane, ranging from 379 mL CH₄.h⁻¹ to 872 mL CH₄.h⁻¹ and a methanogenic activity of 0.33 mmol CH₄.gSVT⁻¹ h⁻¹ at 0.77 mmol CH₄.gSVT⁻¹ h⁻¹. For the sulfetogenic stage, the pH considerably affected the performance of the methanogenic archaea, with a more pronounced inhibition at pH 7.5. The lowest concentration tested, 50 mg S²⁻.L⁻¹, resulted in an inhibition of 31.85% inhibition pH 7.0 and 67% at pH 7.5. The highest concentration, 1000 mg S²⁻.L⁻¹, the inhibition was 59.75% and 94.07% respectively. Higher concentrations of propionic and acetic acid were reached at pH 5.0 and 5.5, with 1374.66 and 1477.23 mg C₃H₆O₂.L⁻¹ and 993.05 and 767.80 mg CH₃COOH.L⁻¹. Higher rates of VFA production occurred at pH 6.5, yielding 8.82 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ and 7.99 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ for acetic acid for propionic acid. Cumulative methane production in the first 60 hours increased 2210 mL, 5300 mL, 7210 mL and 7620 mL CH₄, respectively to pH 5.0, 5.5, 6.0 and 6.5.

Keywords: vinasse; anaerobic digestion; biogas; methanogenic; acidogenic; sulfetogenic

1. INTRODUÇÃO

Crises mundiais no fornecimento dos combustíveis fósseis e incentivos governamentais expandiram o setor sucroalcooleiro na economia brasileira. Em 1975, criou-se o Programa Nacional do Alcool – Proálcool, visando a segurança energética, fortalecendo a cultura de cana-de-açúcar e desenvolvimento das usinas de etanol. Neste setor, o Brasil ocupa a maior posição na produção mundial de cana-de-açúcar e de exportação do etanol (MAROUN; LA ROVERE, 2014).

A área total colhida pelo setor sucroalcooleiro de cana-de-açúcar na safra 2015/16, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (BRASIL, 2016), foi de 8,7 milhões de hectares, com uma pequena redução de 3,9% em relação à safra anterior.

Com 376 usinas de açúcar e etanol, o Brasil possui uma capacidade de moagem de 750 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. Para o ano de 2015, aproximadamente 660 milhões de toneladas de cana-de-açúcar foram processadas e 30 bilhões de litros de etanol produzidos (BRASIL, 2016).

A produção de etanol, independentemente do tipo de matéria-prima empregada, resulta na geração de grande quantidade de resíduos, como o bagaço, as cinzas, a vinhaça, e outros resíduos líquidos e emissões gasosas (VACCARI et al., 2005). Para cada litro de etanol produzido ocorre a geração de 12 a 15 litros de vinhaça (FERRAZ et al., 2016).

A vinhaça, atualmente tem como sua principal destinação os solos agrícolas, servindo como fertilizante para aproveitamento dos minerais. A aplicação continuada da vinhaça em excesso em uma mesma área, pode ocasionar alterações na composição química do solo, contaminação do lençol freático, o que resulta em impacto negativo (SILVA et al., 2014).

Pela elevada carga orgânica (DQO, DBO₅) da vinhaça, o seu tratamento por processo anaeróbio, antes da aplicação como fertilizante em cultivos de cana-de-açúcar, demonstra grande potencialidade de geração de energia. A vinhaça biodigerida apresenta em suas características uma redução de 80% a 90% da matéria orgânica e ainda com concentrações significativas de nutrientes. Já o biogás produzido pelo processo, quando purificado tem poder calorífico semelhante ao do gás natural (33-50 KJ/g) (SINGH, 2009), com a vantagem de ser um combustível renovável e facilmente disponível.

O tratamento anaeróbio envolve processos metabólicos complexos, que ocorrem em etapas sequenciais e que dependem da atividade de no mínimo três grupos de microrganismos

distintos, as bactérias acidogênicas, acetogênicas e arqueas metanogênicas. A maioria dos microrganismos acidogênicos fermentam açúcares, amino-ácidos e ácidos graxos resultantes da hidrólise da matéria orgânica complexa e produzem consequentemente ácidos orgânicos, dióxido de carbono e hidrogênio. Os microrganismos acetogênicos convertem compostos orgânicos intermediários, em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). Por fim, as arqueas metanogênicas acetoclásticas, consideradas de extrema importância no consórcio microbiano, convertem o acetato em gás metano. Se falharem, 72% dos resíduos não podem ser convertidos em metano. O restante do metano produzido no sistema é formado pela redução do dióxido de carbono, onde, o hidrogênio, que é removido de compostos orgânicos por enzimas, reduz o CO₂ para gás metano (McCARTY, 1964).

O processo anaeróbio deve fornecer condições favoráveis aos microrganismos envolvidos para que convertam a máxima carga orgânica em subprodutos desejáveis, neste caso em biogás. A relação A/M (relação alimento microrganismo) e consequentemente a carga orgânica volumétrica (COV), influencia diretamente as formas do metabolismo das populações microbianas, sendo um dos principais parâmetros a serem estabelecidos. Quando o crescimento das células é limitado pela fonte de substrato (caso de baixas relações A/M), a síntese e consumo de compostos armazenados é favorecido. Este comportamento leva a rendimentos de conversão de biomassa inferiores ao que podem ser observados quando se opera com relações altas de A/M, onde o processo de duplicação da biomassa é favorecido (LOBOS, 2008).

No processo de digestão anaeróbia, a acidogênese é fundamental no sistema, e o seu controle é necessário para se conseguir um elevado desempenho na fase metanogênica. Na acidogênese ocorre a influência de muitos parâmetros, como a temperatura, pH, carga orgânica, composição do substrato e inóculo (AARLE, 2015). Numerosas observações relacionadas à digestão anaeróbia de resíduos sugerem que a presença de, ou concentrações elevadas, de ácidos orgânicos voláteis têm uma correlação direta com o desempenho do digestor (PULLAMMANAPPALLIL, 2001).

Outra condição a ser observada em processos anaeróbios é a presença de sulfatos no resíduo a ser tratado. A vinhaça, além de apresentar uma elevada carga orgânica, é também rica em sulfato, devido ao processo de sulfatação utilizado na produção de açúcar bruto e na adição de ácido sulfúrico para evitar a contaminação bacteriana durante a fermentação alcoólica

(JANKE, 2016). Devido ao processo de redução de enxofre em condições anaeróbias, altos níveis de sulfeto de hidrogênio são obtidos (BARRERA et al., 2014).

Além do efeito inibitório do sulfeto, a presença de sulfato em altas concentrações causa uma variação na rotina metabólica da digestão anaeróbia, pois as bactérias redutoras de enxofre (BRS) irão competir pelo mesmo substrato com as arqueas metanogênicas. Os substratos incluem os compostos monoméricos como açúcar e aminoácidos. As BRS competem também com as bactérias acetogênicas por produtos intermediários da fermentação, como o propionato, butirato e etanol, bem como, com as bactérias homoacetogênicas pelo H_2 e com as arqueas metanogênicas pelos substratos diretos da metanogênese, o H_2 e acetato (COLLERAN 1994).

Diante da importância desses estudos para aperfeiçoar e controlar o tratamento anaeróbio, a presente pesquisa visa contribuir para um melhor conhecimento da influência das diferentes relações A/M e das cargas orgânicas volumétricas aplicadas na digestão anaeróbia. Para identificação das possíveis implicações de sulfetos nesse tratamento, são analisadas diferentes concentrações do íon S^{2-} mediante a adição de $Na_2S \cdot 9H_2O$. No que tange à acidogênese, diferentes valores de pH foram avaliados para identificar a faixa de valores que oferecem um melhor rendimento da etapa metanogênica no processo. A avaliação da cinética desses processos auxiliará em uma melhor identificação na produção de biogás, especificamente o metano, de um importante efluente, com grande potencial poluente e energético, a vinhaça da cana-de-açúcar.

2. OBJETIVOS

Os objetivos aqui mencionados possuem a finalidade de esclarecer as metas do projeto de pesquisa.

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar condições de processo fundamentais em reatores anaeróbios, para alcançar maior eficiência na produção de biogás, com ênfase na produção de metano, a partir da vinhaça da cana-de-açúcar.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos a serem alcançados para que o objetivo geral seja plenamente satisfeito, são:

- 1) avaliar as melhores condições de processo para a digestão anaeróbia, por meio de diferentes cargas orgânicas volumétricas e relações A/M;
- 2) obter parâmetros cinéticos de produção de metano no processo de digestão anaeróbia da vinhaça;
- 3) identificar e quantificar compostos intermediários da digestão anaeróbia da vinhaça;
- 4) avaliar o efeito inibitório por sulfetos, prejudiciais ao desempenho das arqueas metanogênicas e;
- 5) avaliar a etapa acidogênica, para garantir condições ideais a etapa da metanogênica.

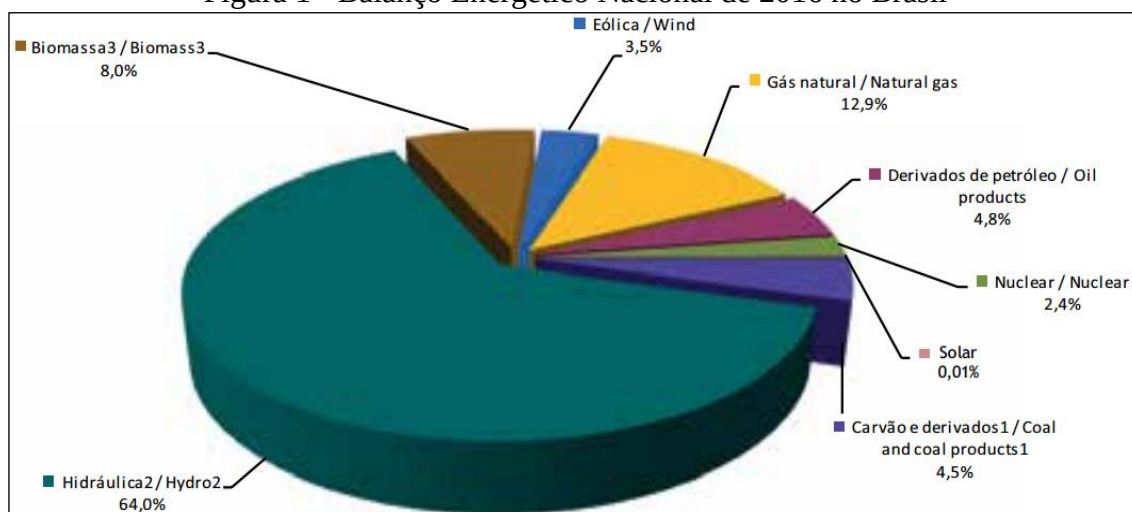
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

É analisado neste capítulo todo o embasamento teórico necessário para o desenvolvimento da pesquisa nas condições descritas nos objetivos.

3.1. PANORAMA ENERGÉTICO BRASILEIRO

O Balanço Energético de 2016 (BRASIL, 2016) representado pela Figura 1, destaca o percentual de cada setor responsável pela oferta de energia no Brasil. Em destaque, a energia hidráulica, responsável por 64% da demanda, em segundo a de gás natural, com 12,9%, e em terceiro a de biomassa, com 8% do total.

Figura 1 - Balanço Energético Nacional de 2016 no Brasil



Fonte: BRASIL (2016).

No âmbito das energias renováveis, o interesse na utilização de biomassa de baixo custo para a produção de combustíveis alternativos como o bioetanol, biogás e biometano, tem se tornado cada vez mais atrativo. A exploração destes combustíveis é uma área bastante promissora, pois possibilita o reaproveitamento de materiais residuais que de outro modo seriam desperdiçados, diminuindo a quantidade de subprodutos originados pela indústria (BICAKOVÁ; STRAKA, 2012). Seus usos são semelhantes aos de combustíveis fósseis convencionais. Entre eles cabe ressaltar (VÁVROVÁ; KNÁPEK; WEGER, 2016):

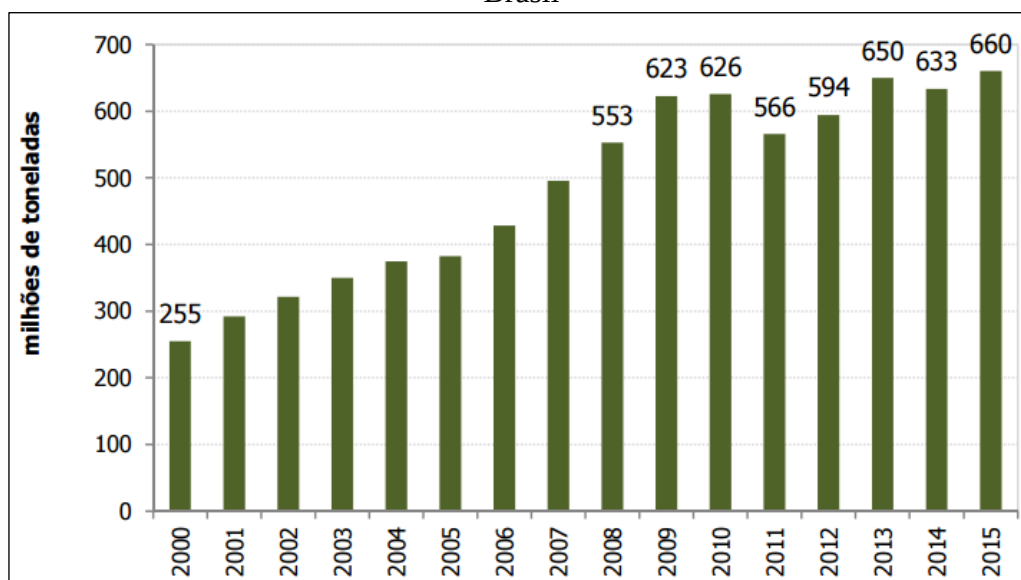
- a) a biomassa pode ser convertida em biocombustíveis e, assim, aumentar as possibilidades de sua utilização em termos de geração de eletricidade, produzir calor nas plantas industriais ou para consumidores finais;
- b) o potencial energético da biomassa em um determinado local pode ser utilizado com fonte adicional em caso de interrupções nas cadeias de combustíveis convencionais de fornecimento.

Biocombustíveis e energia são derivados a partir de uma ampla variedade de materiais de biomassa em diferentes fontes e qualidade. As cinco categorias básicas de materiais que podem ser citadas, incluem: madeira virgem, oleaginosas, resíduos agrícolas, resíduos de alimentos, industriais e co-produtos. As características da biomassa variam em termos de quantidade e tipo, com base em fatores climáticos, morfológicas, econômicas e sociais (AL-HAMAMRE et al., 2016).

3.2. CANA-DE-AÇÚCAR NO BRASIL

No Brasil, a produção de álcool é realizada principalmente a partir do processamento da cana-de-açúcar. A evolução na produção para o período de 2000 a 2015 pode ser observada na Figura 2. Considerando o período de 15 anos demonstrados na figura, o aumento foi de 255 para 660 milhões de toneladas, o que representa um aumento de 158% no período.

Figura 2 - Evolução no processamento da cana-de-açúcar no período de 2000 até 2015 no Brasil



Fonte: BRASIL (2016).

Considerando o cenário mundial, por meio do Anuário Estatístico da Agroenergia (BRASIL, 2016) a produção de cana-de-açúcar para o ano de 2012 no Brasil ficou em primeiro lugar com 39% da produção e logo abaixo a Índia com 23%.

Com relação à produção brasileira, a cana-de-açúcar tem crescido continuamente devido a modernização das usinas em operação no país com adoção de novas tecnologias em todo o ciclo de vida da cultura, desde o plantio até a produção de açúcar, do etanol e da bioeletricidade (BRASKEM, 2015).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2015), em se tratando de unidades de federação produtoras de cana-de-açúcar, o estado de São Paulo é o principal responsável com 52% da produção desta cultura. Em segundo lugar é citado o estado de Goiás com 10% e em terceiro o estado de Minas Gerais com 9%.

Durante a década 1990-2000, os países industrializados encorajaram suas indústrias nacionais de biocombustíveis para substituir gradualmente os combustíveis fósseis, visando a segurança energética e economia rural em desenvolvimento. Segundo Maroun e La Rovere (2014) tem-se uma preocupação com as mudanças climáticas e suas relações com a sustentabilidade dos sistemas naturais. Com o aumento do preço do petróleo e outros fatores geopolíticos, faz aquecer a demanda mundial por fontes de energia renováveis, sustentáveis e menos poluentes.

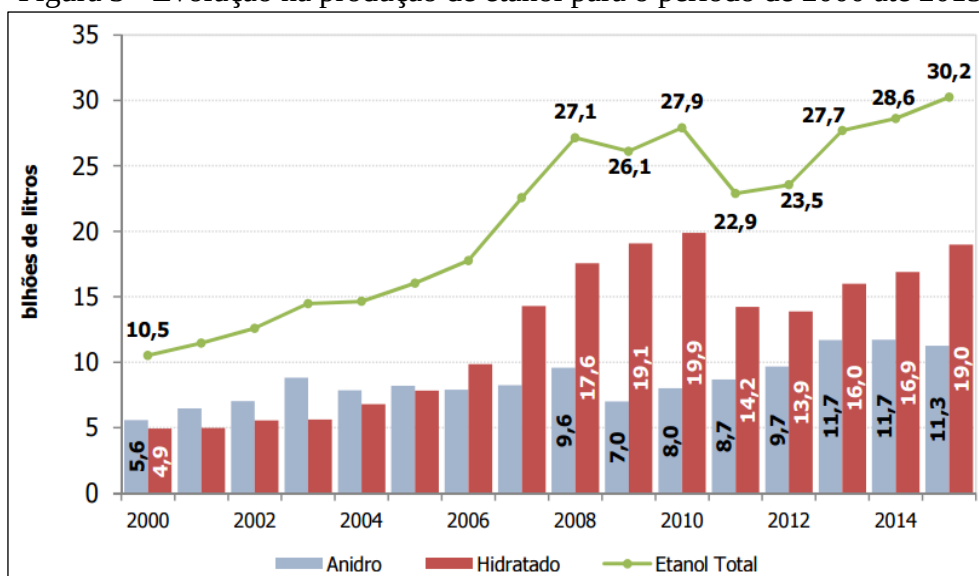
Nesse contexto, o etanol a partir da cana-de-açúcar representa uma das principais fontes de energia alternativas desenvolvidas na tentativa de reduzir a dependência dos combustíveis fósseis (PANT; ADHOLEYA, 2007).

3.3. PRODUÇÃO DE ETANOL

Durante a década de 70, com a crise mundial do petróleo, devido ao elevado valor do produto e ao grande peso nas importações do país, foi desenvolvido no ano de 1975 o Proálcool – Programa Nacional do Álcool - como iniciativa do governo para a produção de etanol, fornecendo incentivo aos produtores de cana-de-açúcar e as automobilísticas para que desenvolvessem carros movidos a álcool.

Esse incentivo se reflete no aumento anual na produção de etanol, como demonstrado por meio da Figura 3, para o etanol anidro e o etanol hidratado no período de 2000 a 2015 no país.

Figura 3 - Evolução na produção de etanol para o período de 2000 até 2015



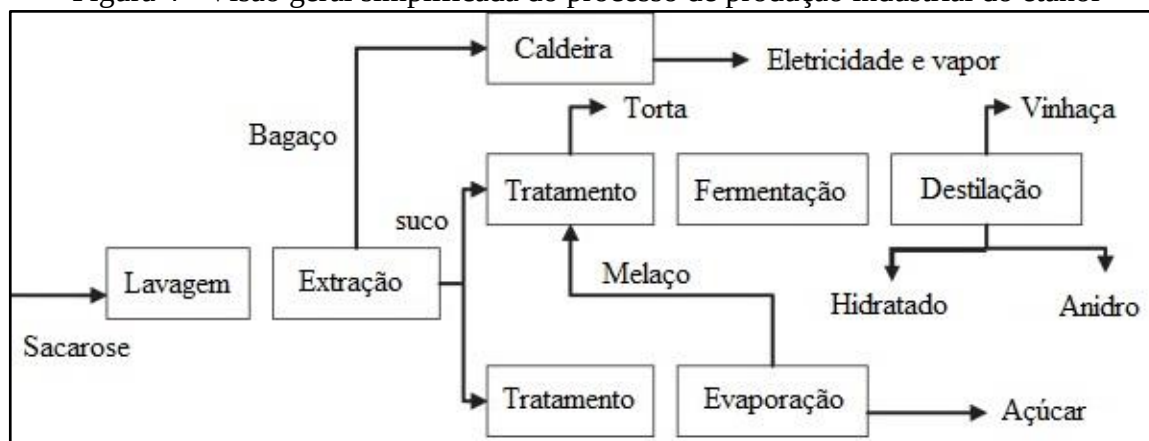
Fonte: Empresa de Pesquisa Energética (2016).

A produção de etanol a partir de matérias-primas vegetais pode apresentar diferentes rotas tecnológicas, cada uma com as suas vantagens e limitações. Mediante processos biológicos, qualquer tipo de biomassa que contenha teores significativos de amido e açúcares pode ser empregado para obtenção do etanol (BNDES, 2008). Entre as matérias-primas ricas em açúcares, utilizam-se a cana-de-açúcar e a beterraba.

Independentemente do tipo de matéria-prima empregada, as duas etapas principais são a fermentação da fonte de açúcares e a destilação da solução alcoólica produzida durante o processo fermentativo (DRIESSEN et al., 1994). A Figura 4 ilustra o processo de fabricação do etanol e do açúcar.

Percebe-se na Figura 4 que a produção do etanol consiste em cinco etapas principais, a lavagem e a extração, tratamento, fermentação e destilação. Na lavagem a cana-de-açúcar é lavada e quebrada em pedaços menores de 20-25 cm. Na extração esses pedaços passam por um conjunto de moinhos para a retirada da maior quantidade possível de sacarose da cana-de-açúcar. No tratamento ocorre a adição de cal e a pasteurização, para remoção de impurezas. No processo de fermentação, as leveduras transformam os açúcares em etanol. A destilação consiste em aquecer os produtos formados na fermentação, produzindo vapores que são condensados por resfriamento, resultando na concentração e purificação do etanol. Essa etapa também é responsável pela geração da vinhaça, resíduo líquido do processo (VAN DEN WALL BAKE et al., 2009).

Figura 4 - Visão geral simplificada do processo de produção industrial do etanol



Fonte: Adaptado de Van Den Wall Bake et al. (2009).

3.4. GERAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA VINHAÇA

Para Wilkie, Riedesel e Owens (2000) a produção e as características da vinhaça são altamente variáveis e dependem não somente da natureza e composição da matéria-prima utilizada como também do processo de produção de etanol, considerando-se a água utilizada para limpeza dos fermentadores, linhagem da levedura, tipo de destilador, método de destilação, entre outros. A água utilizada no resfriamento e na fervura pode também ser descartada juntamente com a vinhaça.

A vinhaça é um resíduo líquido de alta complexibilidade, de coloração marrom escuro, cujo conteúdo orgânico pode ser cem vezes mais elevado do que os encontrados no esgoto doméstico. Ela também apresenta características ácidas e corrosivas, assim como concentrações de macro e micronutrientes. Independentemente da matéria-prima utilizada, as usinas de etanol normalmente geram 8-15 L de vinhaça por litro de etanol produzido (MOHANA; ACHARYA; MADAMWAR, 2009; PANT; ADHOLEYA, 2007a).

Em média, 13 L de vinhaça são gerados para cada litro de etanol e quase toda esta vinhaça é aplicada ao solo como fertirrigação durante toda a fase agrícola da cana-de-açúcar. No entanto, a vinhaça pode ser uma importante fonte de emissões de GEE (Gases do Efeito Estufa) para a atmosfera (SOARES et al., 2009).

A composição química da vinhaça é variável e se tratando da carga poluidora presente na vinhaça, as concentrações geralmente encontradas também podem variar, conforme ilustrado por meio do Quadro 1.

Quadro 1 - Concentrações químicas encontradas para a vinhaça a partir da cana-de-açúcar

DBO (DQO) (g.L⁻¹)	N (mg.L⁻¹)	P (mg.L⁻¹)	K (mg.L⁻¹)	Total de S em SO₄ (mg.L⁻¹)	pH	Referências
17-50 (20-60)	300-800	100-500	2.000 – 3.000	n.d.	4 - 5	Baez-Smith, 2006
n.d.	0,83	18,3	n.d.	76	5,2	Costa et al., 1986
25,8 (48)	820	157	n.d.	n.d.	4,4	Menezes, 1989
36 (113,2)	n.d.	n.d.	n.d.	1.310	4,2	Hati et al., 2007
12 (21)	n.d.	n.d.	3.000	n.d.	4,4	Rolim et al., 2013
27 (88)	2.000	n.d.	n.d.	4.000	4,3-4,6	Shrihari; Tare, 1989
30 (120)	1.600	61	1.920	4.600	4,1	Harada et al., 1994
32 (n.d.)	205	6,8	n.d.	n.d.	4,6	Sahai et al., 1985
35,7 (77,7)	1.780	168	8.904	4.360	4,2	Sheehan; Greenfield, 1980
27.5 (64)	1.300	n.d.	n.d.	2.800	4,5–5,5	De Bazúa; Cabrero; Poggi, 1991
40 (n.d.)	345	38,8	n.d.	69,5	4,4	Srivastava; Sahai, 1987
60 (98)	1.200	1.500	1.200	5.000	3,8–4,4	Goyal; Seth; Handa, 1996
45 (113)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,8	Willington; Marten, 1982
4 (1,19)	230	n.d.	1.800	n.d.	n.d.	De Oliveira et al., 2013
45 – 60 (70 – 98)	n.d.	n.d.	5.000 - 12.000	n.d.	3,8–4,4	Rajeshwari et al., 2000
45-60 (70-98)	1.000-1.200	n.d.	2.500-12.000	2.000-5.000	3,8–4,4	Rais; Sheoran, 2015
39 (90)	1.229	187	5.124	3.478	4,46	Wilkie et al., 2000
11,3 (42)	70	200	2.300	1.300	3,9	Ferreira et al., 2011

n.d.: não determinado

3.5. POTENCIAL IMPACTO AMBIENTAL DA VINHAÇA

No Brasil, a maior parte da vinhaça está diretamente sendo utilizada para a fertirrigação. Este cenário é adequadamente representado pelas indústrias de etanol do Estado de São Paulo, que concentra 55% das usinas de etanol brasileiras e onde apenas oito das 165 destilarias empregam processos alternativos, como a digestão anaeróbia, para gerenciar a vinhaça (CRUZ, 2011).

Em termos globais, o volume de vinhaça eliminado anualmente no solo pode chegar a até 325 bilhões de litros no Brasil. Considerando a carga orgânica fornecida ao solo, cada hectare das lavouras de cana pode receber cerca de 4,2 toneladas de matéria orgânica (como DQO), com base em uma taxa média para a aplicação de vinhaça igual a $140 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$, com uma DQO média de $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ para a vinhaça (FUESS; GARCIA, 2014).

Considerando as características de composição de vinhaça, os principais efeitos adversos associados com a sua aplicação na agricultura é a entrada excessiva de matéria orgânica e nutrientes no solo. Além disso, altas concentrações de sais, tais como sulfatos, cloretos e nitratos, são encontrados na vinhaça.

Embora os efeitos da adubação líquida mudem de acordo com o tipo de solo, os seguintes impactos podem ser esperados a partir da aplicação contínua de vinhaça nos campos agrícolas (ESPANA-GAMBOA et al., 2011; WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000):

- a) salinização do solo, o que resulta na lixiviação dos sais para o lençol freático, instabilidade estrutural do solo e dificuldades na infiltração da água devido à obstrução dos macroporos;
- b) sobrecarga orgânica, obstruindo os poros do solo e promovendo a redução das concentrações de oxigênio dissolvido e a atividade microbiana, bem como estimulando a geração de odores desagradáveis devido à putrefação de compostos orgânicos;
- c) excesso de fertilização no solo, podendo acarretar em uma desestabilização da estrutura do solo, bem como a eutrofização de recursos hídricos por meio do escoamento superficial;
- d) a contaminação por íons específicos (por exemplo, nitrato e cloreto) e metais tóxicos (por exemplo, poluentes prioritários, como o chumbo, cobre e zinco);

- e) acidificação do solo e dos recursos hídricos, com base no fornecimento contínuo de íons H^+ e perdas de alcalinidade do solo;
- f) interferência no processo da fotossíntese realizada por plantas aquáticas, uma vez que a cor e a alta turbidez da vinhaça podem gerar uma barreira, dificultando a penetração de luz solar em corpos de água;
- g) a inibição da germinação de sementes, reduzindo a produção agrícola e geração de toxicidade em ambientes aquáticos;
- h) a proliferação da mosca do chifre (*Stomoxys calcitrans*), considerada grande praga de gado (DOMINGHETTI et al., 2015).

O potencial poluente da vinhaça também pode ser relacionado em termos de população equivalente. Os autores Willington e Marten (1982) expressaram o potencial poluente da vinhaça em termos de população equivalente, ou seja, relacionaram a produção de etanol (e indiretamente a produção da vinhaça) e a população equivalente que produziria a mesma carga poluidora por meio do esgoto doméstico. Por exemplo, uma destilaria que produz $150 \text{ m}^3.\text{dia}^{-1}$ de etanol, gera uma carga poluidora equivalente a uma população de 1,2 milhões de habitantes. Essas relações podem ser observadas no Quadro 2, que relaciona a população equivalente de vinhaça de uma destilaria de melaço de cana, assumindo uma produção diária de 75 g DBO por pessoa.

Quadro 2 - População equivalente em termos de carga poluidora para cada volume de etanol

Produção de etanol ($\text{m}^3.\text{dia}^{-1}$)	População equivalente
30	250.000
60	500.000
120	1.000.000
150	1.200.000
200	1.600.000
250	2.000.000

Fonte: Adaptado de Willington e Marten (1982).

3.6. TRATAMENTOS UTILIZADOS PARA A VINHAÇA

Apesar da diversidade de potenciais impactos adversos, a utilização da vinhaça em terras agrícolas, ainda apresenta possibilidades atraentes que devem ser destacadas, tais como a incorporação de nutrientes, a reutilização da água e o menor consumo de energia associada a uma diminuição da produção de fertilizantes sintéticos (FUESS; GARCIA, 2014).

No que diz respeito especificamente ao consumo de água nos canaviais, cerca de 150 m³ de água doce por hectare em cada aplicação deixam de ser utilizados (SILVA et al., 2014). Com base na área total da colheita de cana no Brasil ($8,7 \times 10^6$ ha, safra 2015/2016 (BRASIL, 2016)), esse número chega a aproximadamente 1,31 bilhões de litros de água.

Além disso, a fertirrigação também oferece vantagens econômicas em relação a outras tecnologias, incluindo o baixo investimento inicial e os custos de manutenção e de aplicação rápida (CRUZ, 2011; SANTANA; FERNANDES MACHADO, 2008). No entanto, os benefícios não devem ser utilizados como justificativa para o descarte indiscriminado de vinhaça em áreas agrícolas, de modo que esta prática pode ser uma alternativa paliativa fornecendo uma falsa impressão de resolver de forma eficiente a gestão de vinhaça (FUESS; GARCIA, 2014).

No Brasil, várias normativas abordam alternativas para o tratamento adequado das águas residuárias domésticas e do lodo proveniente do tratamento, enquanto para o tratamento da vinhaça e outros efluentes agro-industriais a literatura carece de referências. Como exemplos de referências, temos a NBR 12209 (ABNT, 1992), a NBR 7229 (ABNT, 1993), a NBR 13969 (ABNT, 1997) estabelecendo critérios de projeto, construção e operação. E a Resolução CONAMA 375 (BRASIL, 2006), orienta para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados nas estações.

Para os efluentes industriais, algumas regulamentações técnicas (exemplo a Licença de Operação) e legislações, como a CONSEMA 128 (BRASIL, 2006) no Rio Grande do Sul, definem limites admissíveis para o lançamento de efluentes nos sistemas de coleta de esgotos. No entanto, não são considerados critérios de projeto para as unidades de tratamento. Em se tratando das indústrias sucroalcooleiras, que ficam localizadas principalmente em áreas rurais, a descarga de vinhaça em sistemas de esgoto compreende uma prática economicamente inviável. Despesas com transporte dos efluentes e ampliações que seriam necessárias nas estações de tratamento, que receberiam essa descarga demonstram a não atratividade da prática (WILLINGTON; MARTEN, 1982).

Quanto à vinhaça, no Brasil, a sua descarga direta ou indireta nos corpos hídricos foi proibida pela Lei Federal Nº 323 (BRASIL, 1978). Atualmente, uma das poucas instruções reguladoras da eliminação da vinhaça é a Norma P4.231 (CETESB, 2006), que baseia-se no cálculo da dosagem no solo do teor de potássio apenas. No entanto, as elevadas concentrações de matéria orgânica, sulfatos e outros sais não são devidamente considerados.

Como exposto, não se tem critérios de projeto e nem parâmetros de lançamento para a vinhaça. Fuess e Garcia (2014) descreve que os tratamentos associados à vinhaça podem ser processos físicos-químicos, como a coagulação-floculação e adsorção, ou biológicos, como digestão anaeróbia e aeróbia. Segundo eles, a aplicabilidade destes processos são conhecidos e apresentam índices consideráveis de tratamento. Os estudos sobre a aplicação de fitorremediação (OLGUÍN et al., 2008; SOHSALAM; SIRIANUNTAPIBOON, 2008) e processos de oxidação (ASAITHAMBI et al., 2012; SANGAVE; GOGATE; PANDIT, 2007; YAVUZ, 2007) também indicam sua aptidão para tratar a vinhaça, no entanto, a maioria das abordagens está ainda numa fase experimental.

Os métodos físico-químicos, em relação especificamente à coagulação-floculação, compreendem tecnologias de tratamento robustos e consolidadas (RODRIGUES et al., 2013). Em tais processos ocorre uma variedade de sais metálicos, como o cloreto férrico, o cloreto de alumínio e o sulfato, que podem ser usados para promover a desestabilização das partículas coloidais na água residual, de modo a aumentar a sua remoção subsequente por sedimentação ou flotação (ESPANA-GAMBOA et al., 2011; LIANG et al., 2010). Como a vinhaça contém uma concentração elevada de material orgânico, a aplicação de coagulação-floculação no seu tratamento é economicamente inviável, com base na grande demanda de produtos químicos e de energia, bem como na necessidade de dispor de grandes volumes de lodo gerados no processo (MOHANA; ACHARYA; MADAMWAR, 2009).

Quanto aos processos biológicos à degradação aeróbia dos compostos orgânicos presentes na vinhaça pode ser realizada por diferentes microrganismos, tais como, fungos, bactérias e consórcios mistos (KRZYZWONOS et al., 2009; LUTOSLAWSKI et al., 2011; SINGH; DIKSHIT, 2010). Conforme o Quadro 3 que apresenta os desempenhos de tratamento de algumas tecnologias aplicadas à vinhaça, esse processo promove reduções de DQO e DBO de cerca de 70 e 90%. Os resíduos das destilarias com concentrações elevadas de carga orgânica, como no caso do processamento do melaço da cana-de-açúcar, o milho, a beterraba e mandioca, a geração de lodo pode alcançar valores superiores a 100 mil toneladas por ano. Assim, a digestão aeróbia, bem como da coagulação-floculação, compreendem opções eficientes, porém se consideradas como pós-tratamento, utilizando a digestão anaeróbia como o centro principal do tratamento (ESPANA-GAMBOA et al., 2011; MOHANA; ACHARYA; MADAMWAR, 2009).

Em suma, a digestão anaeróbia concentra importantes vantagens sobre as outras tecnologias, principalmente a respeito de seu potencial de geração de energia a partir do biogás (RAIS; SHEORAN, 2015). Conforme o Quadro 3, cerca de 80-90% da matéria orgânica encontrada na vinhaça pode ser convertida em metano sob ótimas condições de operação.

Considerando a conversão do volume total de vinhaça a partir da cana-de-açúcar (safra 2009/2010), o potencial de produção de energia a partir do biogás pode chegar a cerca de 7,5% ($6,9 \times 10^6$ MWh) da energia elétrica gerada a partir de usina hidrelétrica Itaipu (MORAES et al., 2014). No entanto, os efluentes de reatores anaeróbios tratando vinhaça ainda apresentam alto teor de matéria orgânica e de cor, de modo que a sua reutilização direta na agricultura também deve ser evitado (ESPANA-GAMBOA et al., 2011; MOHANA; ACHARYA; MADAMWAR, 2009).

Assim, embora a utilização de digestão anaeróbia como uma tecnologia de cunho principal para tratar a vinhaça, essa não pode ser utilizada como tratamento único, ou seja, nenhuma tecnologia de tratamento pode ser eficientemente aplicada sozinha para garantir um bom desempenho ambiental (MOHANA; ACHARYA; MADAMWAR, 2009).

3.7. DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia (DA) é um processo que ocorre na ausência de oxigênio e tem sido utilizada por seres humanos para o tratamento de resíduos desde os meados de 1800. Tem uma característica muito importante, a produção de biogás a partir da conversão da matéria orgânica (KYTHREOTOU; FLORIDES; TASSOU, 2014).

Geralmente, o desempenho da DA é expresso com a produção de metano, ou seja, a produção de metano volumétrico em condições padrão por unidade de material alimentado, que podem ser expressos na forma de sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e DQO. Neste sentido, um melhor desempenho da DA baseia-se no aumento da produção de metano operacional, a fim de chegar o mais perto possível da produção de metano potencial real do substrato à maior taxa de digestão viável (CARLSSON; LAGERKVIST; MORGAN-SAGASTUME, 2012).

Quadro 3 - Abordagens tecnológicas para o tratamento da vinhaça (físico-químicas e biológicas) e processos oxidativos

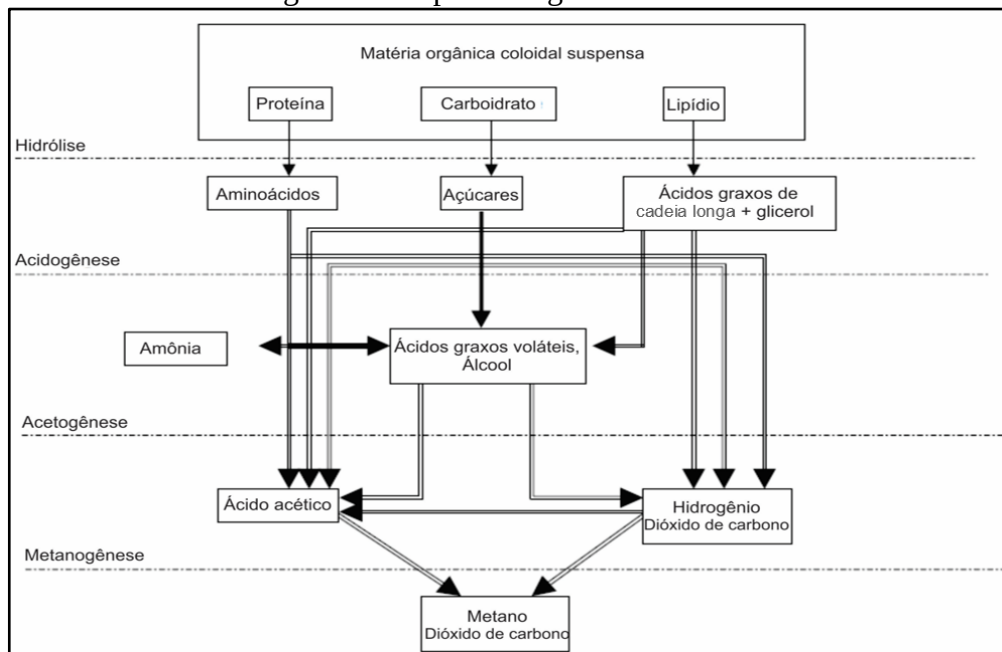
Processo de Tratamento	Eficiências de remoção	Referência
Digestão anaeróbia	DQO $\approx$ 80%	Acharya; Mohana; Madamwar, 2008
Digestão aeróbia	DQO = 70% e DBO = 95%	De Bazúa; Cabrero; Poggi, 1991
Digestão anaeróbia	DQO $\approx$ 90%	Agler et al., 2008
Digestão aeróbia	DQO = 76,7%	Cibis et al., 2002
A fitorremediação (microalgas seguidas por macrófitas)	DQO = 61%, NH_3 = 71,6% e P_{total} = 28%	Valderrama et al., 2002
Digestão aeróbia	DQO = 52,1 %	Jiménez; Borja; Martín, 2003
A fitorremediação (fluxo de subsuperfície wetland)	DQO $\approx$ 80%, DBO $\approx$ 87,3%	Olguín et al., 2008
A fitorremediação (escoamento superficial wetland)	DQO = 67%, DBO = 89%, P_{total} = 76%	Sohsalam; Sirianuntapiboon, 2008
Digestão aeróbia	DQO = 82,8% e DBO = 75,3%	Ferreira et al., 2011
Digestão aeróbia	DQO = 83,7 - 88,7% e DBO = 95,8 - 99,5%	Lutoslawski et al., 2011
A digestão anaeróbia + digestão aeróbia	DQO = 66%	Ghosh; Ganguli; Tripathi, 2002
Eletrocoagulação	DQO = 84,6% - 76,9%	Khandegar; Saroh, 2014
Ultra-som + digestão aeróbia	DQO = 60%	Sangave; Pandit, 2006
Ozonização + digestão aeróbia	DQO = 79%	Sangave; Gogate; Pandit, 2007
Eletrocoagulação + eletro-fenton	DQO = 92,6%,	Yavuz, 2007
A digestão anaeróbia + coagulação-floculação + oxidação eletroquímica	DQO > 95%	Zayas et al., 2007
A digestão anaeróbia + digestão aeróbia	DQO = 88 % e DBO = 77,4%	Tondee; Sirianuntapiboon; Ohmomo, 2008
Ozonização + eletrocoagulação	DQO = 83%	Asaithambi et al., 2012
Digestão anaeróbia + coagulação-floculação	DQO = 85%	Liang et al., 2010

Diante dos potenciais ganhos ambientais utilizando a DA, essa tecnologia recebe mais aplicabilidade se houvessem a inclusão de incentivos financeiros para instalações de energias renováveis, políticas governamentais sobre alterações climáticas, aterros sanitários e uma necessidade crescente de energia (KLAVON et al., 2013).

3.7.1. Etapas da digestão anaeróbia

A DA da matéria orgânica ocorre em quatro etapas, denominadas como a hidrólise, a acidogênese, a acetogênese e a metanogênese, conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 5 - Etapas da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado Wijffels, Barten e Reith (2003).

A matéria orgânica é encontrada em qualquer resíduo sob a forma de polímero, tais como os hidratos de carbono (celulose, hemicelulose, amido, etc.), os óleos, gorduras e proteínas. Em geral, os microrganismos não são capazes de absorver estes polímeros porque possuem uma molécula de tamanho grande, o que não pode penetrar na membrana celular dos microrganismos. Portanto, as bactérias acidogênicas produzem enzimas extracelulares, tais como celulase, xilanase, amilase, lipase, enzimas proteolíticas e outras, para hidrolisar estes polímeros. Dessa forma, os hidratos de carbono, proteínas e gorduras e óleos são hidrolisados

em açúcares monoméricos, aminoácidos e ácidos graxos, respectivamente (KOTHARI et al., 2014).

A atividade enzimática hidrolítica é influenciada por fatores ambientais tais como pH e temperatura, mas a velocidade e a extensão de hidrólise de um substrato específico está também relacionada com a composição química do substrato, ou seja, a biodegradabilidade do substrato, e a disponibilidade de compostos biodegradáveis para a atividade enzimática (LINDMARK et al., 2014).

Os compostos orgânicos hidrolisados são utilizados pelas bactérias acidogênicas para o seu crescimento e convertem em ácidos graxos voláteis, tais como ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácido valérico, além de etanol e metanol, juntamente com o dióxido de carbono, água e hidrogênio. Estas bactérias são de crescimento rápido com um tempo de duplicação de cerca de 30 minutos (KOTHARI et al., 2014).

Os ácidos graxos voláteis com exceção do ácido acético, tais como ácido propiônico, ácido butírico e ácido valérico e os álcoois são utilizados por bactérias acetogênicas para o seu crescimento e para formar ácido acético e hidrogênio. Estas bactérias crescem lentamente com um tempo de duplicação de 1,5 a 4 dias (KOTHARI et al., 2014).

Finalmente, a etapa que envolve o ácido acético, hidrogênio, dióxido de carbono e gás metano, é chamada metanogênese. As metanogênicas que utilizam ácido acético são conhecidas como metanogênicas acetotróficas, enquanto as que utilizam hidrogênio e dióxido de carbono são conhecidas como metanogênicas hidrogenotróficas. As metanogênicas também crescem lentamente com um tempo de duplicação de 2 a 4 dias (KOTHARI et al., 2014).

3.7.2. Microbiologia da digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia pode ser considerada como um ecossistema onde diversos grupos de microrganismos trabalham interativamente na conversão da matéria orgânica complexa em produtos e novas células bacterianas. Para Postgate (1984) os grupos de microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia compreendem as fermentativas, as bactérias acetogênicas produtoras de H_2 , as redutoras de enxofre e as arqueas metanogênicas

3.7.2.1. Bactérias fermentativas

Segundo Postgate (1984), o grupo das bactérias fermentativas é formado por um conjunto de espécies bacterianas. As análises feitas para este grupo demonstram que em quase toda a sua totalidade as bactérias presentes são estritamente anaeróbias, porém prevalecem também as anaeróbias facultativas. Espécies mesofílicas anaeróbias dos gêneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, e muitas outras são encontradas entre os organismos predominantes. As espécies termofílicas anaeróbias mais frequentemente isoladas, pertencem ao gênero *Clostridium*, que esporulam.

Como fontes de energia essas bactérias utilizam geralmente os carboidratos presentes no meio. Como fontes nutricionais requerem sais minerais, vitaminas B, hemina e menadiona, nitrogênio amoniacal, mistura de ácidos voláteis, metionina, cisteína, sulfeto e CO₂.

3.7.2.2. Bactérias acetogênicas produtoras de H₂

Quando as bactérias formadoras de acetato produzem acetato, hidrogênio também é produzido. Se o hidrogênio se acumula e a pressão de hidrogênio for significativa, como resultado ocorrerá a diminuição da atividade das bactérias formadoras de acetato e perda na sua produção. O acetato é utilizado como substrato pelas bactérias metanogênicas. No entanto, as bactérias formadoras de metano utilizam o hidrogênio para a produção de metano e com isso os valores de pressão parcial de hidrogênio que inibem o processo não ocorrem (GERARDI, 2003).

Bactérias formadoras de acetato são produtoras de hidrogênio obrigatoriamente e sobrevivem apenas em concentrações muito baixas de hidrogênio no ambiente. Elas podem sobreviver apenas dos seus resíduos metabólicos, se o hidrogênio for continuamente removido. Isto é realizado por meio da sua relação simbiótica com as bactérias formadoras de metano. Bactérias acetogênicas se reproduzem muito lentamente (GERARDI, 2003).

3.7.2.3. Arqueas metanogênicas

As arqueas formadoras de metano pertencem a um grupo diversificado de organismos que têm diversas formas morfológicas, padrões de crescimento e tamanhos. As bactérias podem

ser encontradas como hastes individuais, barras, espirais, curvas e cocos ou agrupadas como aglomerados irregulares de células, cadeias de células ou filamentos. A variedade de tamanhos das células individuais varia de 0,1-15 μm de diâmetro. Os filamentos podem ser de até 200 μm de comprimento (GERARDI, 2003).

Para Postgate (1984) essas espécies necessitam de um conjunto de condições ambientais favoráveis para a sua manutenção, como sais minerais, CO_2 (fonte de C), NH_4^+ (fonte de N) e sulfeto/cisteína (fonte de S). Utilizam alguns substratos específicos, como acetato, formiato, H_2 , CO_2 , CO, metanol e metilaminas.

Dos muitos gêneros metanogênicos, apenas dois são conhecidos por crescerem por meio de uma reação acetoclástica, produzindo metano a partir de acetato, as *Methanosaeta* e as *Methanosarcina*. A *Methanosaeta concilii* é apenas uma das bactérias acetoclásticas e é a única espécie mesofílica do seu gênero, outras espécies são termofílicas. A *Methanosarcina barkeri* é metabolicamente mais versátil de todas as bactérias metanogênicas mesofílicas isoladas em cultura pura, uma vez que podem formar metano a partir de H_2 , CO_2 , metanol, metilamina e a partir de acetato (ROCHELEAU et al., 1999).

O tempo de reprodução das bactérias formadoras de metano variam de 3 dias a 35°C e 50 dias a 10°C. Devido ao longo tempo para a geração, os tempos de retenção são necessariamente elevados em um digestor anaeróbio para garantir o crescimento de uma grande população de bactérias formadoras de metano para a degradação de compostos orgânicos. Pelo menos 12 dias são necessários para obter uma grande população de bactérias formadoras de metano (GERARDI, 2003).

3.7.2.4. Bactérias redutoras de enxofre

A produção de sulfetos é um processo no qual o sulfato e outros compostos a base de enxofre são utilizados como aceptores de elétrons durante a oxidação de compostos orgânicos.

O enxofre pode existir em diversos estados de oxidação. Em ambientes aeróbios o sulfato é termodinamicamente estável e em ambientes reduzidos o sulfeto é mais estável. No entanto a redução de enxofre a sulfeto não ocorre espontaneamente nas condições físicas da atmosfera, e requer uma mediação catalítica por atividade biológica. A redução biológica do enxofre pode ser por meio da redução assimilatória ou da redução dissimilatória (POSTGATE, 1984).

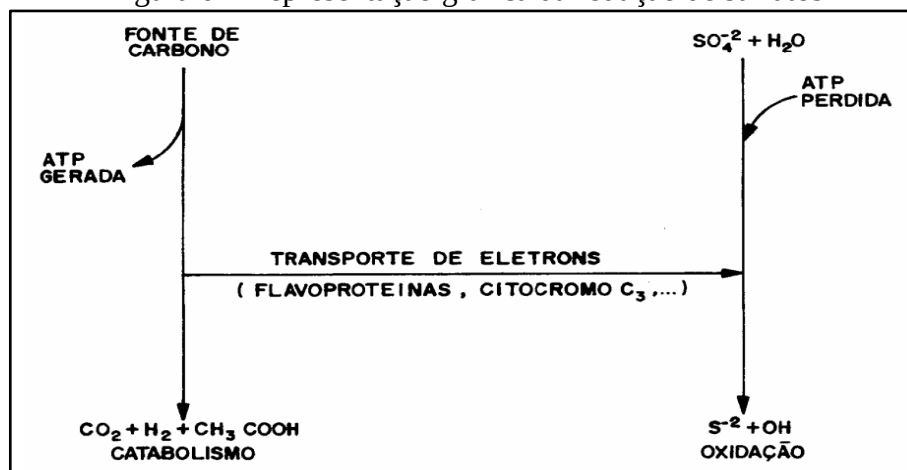
As bactérias redutoras de enxofre pertencem a um grupo diverso de procariotas que podem ser divididas em quatro subgrupos, bactérias gram-negativas mesofílicas, bactérias gram-positivas formadoras de esporos, bactérias termofílicas e arqueabactérias. Todos esses grupos se caracterizam por usar o enxofre comoceptor final de elétrons durante a respiração anaeróbia (CASTRO; WILLIAMS; OGRAM, 2000).

Todavia essas bactérias requerem certos ambientes específicos, como um ambiente anaeróbio com potencial redox abaixo de -100 mV e pH acima de 5,5 (CORTÉS, 2005). Elas são anaeróbias estritas, têm crescimento relativamente lento, comparado aos demais organismos presentes no solo e na água, mas podem sobreviver em ambientes terrestres e aquáticos. São compostas por espécies mesofílicas que crescem melhor em temperatura por volta de 30°C, mas tolerando até 42°C, e espécies termofílicas capazes de crescer em temperaturas entre 50°C e 70°C (POSTGATE, 1984).

Para Collieran (1994) em meio anaeróbio as bactérias redutoras de enxofre (BRS) produzem sulfeto por meio do seu metabolismo de desassimilação redutiva do S^{6+} . Além do efeito inibitório do sulfeto, a presença de sulfato em altas concentrações causa uma variação na rotina metabólica da digestão anaeróbia, pois as BRS irão competir pelo mesmo substrato com as bactérias anaeróbias envolvidas na metanogênese. Os substratos incluem os compostos monoméricos como açúcar e aminoácidos. Acontece também a competição com as bactérias acetogênicas por produtos intermediários da fermentação, como o propionato, butirato e etanol. Com as bactérias homoacetogênicas pelo H_2 e com as bactérias metanogênicas pelos substratos diretos da metanogênese, H_2 e acetato.

A redução de sulfato pode ser melhor compreendida conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6 – Representação gráfica da redução de sulfatos



Fonte: Postgate (1984).

3.7.3. Cinética da digestão anaeróbia

A cinética bioquímica de um determinado processo consiste em verificar as velocidades de crescimento dos microrganismos acompanhadas da utilização de substrato e da formação de produtos. As velocidades devem ser expressas em termos matemáticos por modelos que representem com clareza os resultados obtidos. O conhecimento de parâmetros cinéticos é de extrema importância para modelação de um processo bioquímico, permitindo-se avaliar as velocidades de utilização de substrato, de formação de produtos e de crescimento da biomassa nas condições estabelecidas (ZAIAT; FORESTI, 1997).

O crescimento de microrganismos acompanhado por um conjunto de reações bioquímicas em seus processos metabólicos é responsável pela síntese da biomassa microbiana e de suas atividades. Segundo Monod (1949), o perfil do crescimento de culturas de bactérias em bateladas é dividido em seis fases: 1) fase de adaptação ou “lag”, onde a taxa de crescimento é nula; 2) fase de aceleração, onde a taxa de crescimento aumenta; 3) fase exponencial, onde a taxa de crescimento é constante; 4) Fase de retardo, onde a taxa de crescimento diminui; 5) fase estacionária, onde a taxa de crescimento é nula; 6) fase de declínio, onde a taxa de crescimento é negativa.

Para Xie et al. (2016) alguns modelos cinéticos comuns que descrevem a cinética dos processos de digestão anaeróbia estão resumidos na

Tabela 1. Estas equações representam a estrutura fundamental para simular estes processos. Os quatro primeiros modelos descritos levam em consideração o crescimento microbiano, distinto dos últimos três modelos.

Tabela 1: Modelos cinéticos aplicados a digestão anaeróbia

Modelos	Expressões	Referência
Modelo cinético de primeira ordem	$\frac{dS}{dt} = -K_{s,max}S$ $M(t) = P [1 - \exp(-kt)]$ Onde: S = concentração de substrato (g.L⁻¹) K_{s,max} = é a taxa máxima de absorção de substrato específico (d⁻¹) K = é a constante de velocidade de primeira ordem (L.d⁻¹) t = refere-se ao tempo de digestão (d) M = é o rendimento de metano cumulativa (mL.g SV⁻¹) P = é o rendimento de metano final (mL.g SV⁻¹)	Dennehy et al., 2016 e Kafle; Chen, 2016

Modelo cinético de Monod	$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_m}{Y} \frac{SB}{K_S + S}$ Onde: B = concentração de microrganismos (g.L⁻¹) μ_m = é a taxa máxima de crescimento específico (h⁻¹) K_S = é o coeficiente de meia saturação (g.L⁻¹)	Lokshina et al., 2001
Modelo cinético de Contois	$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_m}{Y} \frac{SB}{K_X B + S}$ Onde: Y = é o coeficiente de rendimento de crescimento K_X = é constante cinética	Karim et al., 2007
Modelo cinético de Haldane	$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_m}{Y} \frac{SB}{K_S + S + S \left(\frac{S}{K_1} \right)^n}$ Onde: n = é o índice de Haldane ($n = 1$ ou 2) K_1 = é a constante de inibição (g.L⁻¹)	Carrera-Chapela et al., 2016 e Senthamarai kkanan et al., 2015
Modelo de Chen e Hashimoto	$M(t) = P \cdot \left(1 - \frac{K_{CH}}{HRT \cdot \mu_m + K_{CH} - 1} \right)$ Onde: HRT = é o tempo de retenção hidráulica (d) K_{CH} = é constante cinética	Ma et al., 2013
Modificada de Gompertz	$M(t) = P \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{max} \cdot e}{B_0} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$ Onde: R_{max} = é a taxa máxima de produção de metano (mL.g SV⁻¹.d⁻¹) λ = é a fase lag (d) e = é a constante 2,7183	Zhao et al., 2016 e Syaichurrozi et al., 2013
Modelo cinético de dupla primeira ordem	$M(t) = P \cdot [1 - \alpha \cdot \exp(-K_f T) - (1 - \alpha) \cdot \exp(-K_G T)]$ Onde: K_f = é a constante de velocidade para o substrato rapidamente degradável (d⁻¹) K_G = é a constante de velocidade para o substrato lentamente degradável (d⁻¹) α = é a proporção de substrato degradável para substrato rapidamente biodegradável total	Dennehy et al., 2016 e Rao et al., 2000

Fonte: Adaptado de Xie et al. (2016).

3.7.3.1. Teste de Atividade Metanogênica

A atividade metanogênica pode ser definida como a capacidade máxima de produção de metano por um consórcio de microrganismos anaeróbios, realizada em condições controladas de laboratório, para avaliar a atividade bioquímica máxima de conversão de substratos orgânicos a biogás (AQUINO et al., 2014). De grande importância quando se começa a operar um novo reator, a atividade metanogênica específica do lodo juntamente com o lodo

presente no reator, se estabelece a taxa de carga orgânica inicial tolerada. As alterações na atividade podem indicar a inibição ou a acumulação no leito de lodo de matéria orgânica, gradualmente degradável ou não, proveniente das águas residuais (DE ZEEUW, 1984).

Para Beal (2004) a atividade metanogênica caracteriza-se por ser um teste em batelada, onde é avaliada a capacidade máxima de produção de metano. À resposta da biomassa em condições padronizadas pode-se estabelecer diversos aspectos de cinética do processo e qualidade da própria biomassa em análise.

Em relação ao cálculo da atividade metanogênica, Beal (2004), comenta que existem diversos métodos e diferentes formas para expressar os resultados. Segundo ele, Monteggia utilizou médias móveis, já Penna utilizou faixas de valores para calcular a maior tangente na curva de produção acumulada de metano. Também é utilizada a taxa de produção instantânea, ou seja, o volume de metano produzido dividido pelo período de tempo para produzi-lo.

Para Beal (2004) a utilização de modelos pré-estabelecidos para modelar o resultado de um experimento é uma tentativa de representar o comportamento dentro da distribuição normal de Gauss. Assim, é preferencialmente utilizado o modelo linear ou a linearização dos resultados por meio de técnicas como, por exemplo, uso de logaritmos. Para o autor o uso de modelos polinomiais representa facilmente o comportamento dos resultados referentes a produção acumulada de metano, pois se ajustam na grande maioria dos casos simplesmente mudando a ordem do polinômio.

3.7.4. Fatores de influência na digestão anaeróbia

Em se tratando de um processo biológico, são diversos os fatores que influenciam o desempenho da DA, uma vez que o meio deve oferecer as condições requeridas pelos microrganismos para que estes realizem as reações de conversão da matéria orgânica.

3.7.4.1. Potencial redox

As arqueas metanogênicas são microrganismos estritamente anaeróbios. Em concentrações de $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido, em cultivos puros, inibem completamente o seu desenvolvimento. Este é o motivo do qual se é determinado os valores ótimos do potencial redox para a produção de metano, devendo oscilar entre os -300 e -330 mV. Porém, algumas

bactérias metanogênicas possuem uma certa tolerância à exposição ao oxigênio tanto em culturas puras como em culturas mistas (KATO, 1994). Por isso, valores superiores a estes (até 0 mV) podem ser registrados nos reatores sem que isso implique em uma diminuição no rendimento do processo (GONZÁLEZ et al., 2015). Essa tolerância deve-se ao consumo rápido de oxigênio pelas bactérias facultativas, propiciando a formação de micro-nichos no interior dos grânulos, onde as bactérias metanogênicas ficam bem protegidas contra o contato com o oxigênio (KATO, 1994). A formação do grânulo anaeróbio pode ser observada com a Figura 7.

A granulação resulta da auto-imobilização de vários tipos de bactérias associadas à fermentação metanogênica. As densidades das populações dessas bactérias nos grânulos variam amplamente, dependendo da composição química das águas residuais e das condições operacionais (FUKUZAKI, 1995). Esses grânulos formam agregados compactos de até 2-4 mm de diâmetro com alta velocidade de sedimentação e alta atividade metanogênica. Possuem estrutura complexa, onde ocorrem muitas interações tróficas entre as populações microbianas necessárias para transformar a matéria orgânica em biogás (CO_2 e CH_4) (SANZ, 2003).

Figura 7 - Imagem capturada de grânulo anaeróbio com aumento de 50X em microscópio



Fonte: LATAM (2015).

3.7.4.2. Temperatura

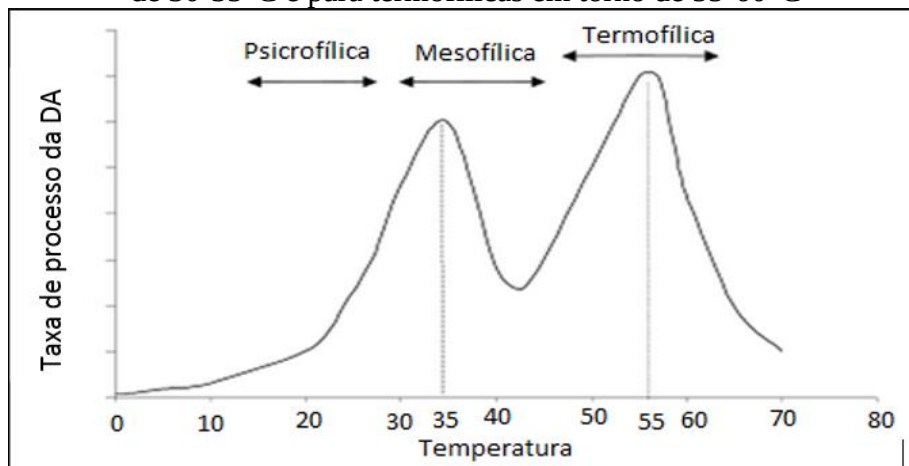
A temperatura influencia as reações anaeróbias, tanto a partir da cinética e também do ponto de vista termodinâmico. Segundo Kardos et al., (2011), a produção de gás metano começa acima de 0°C (faixa psicrófila que varia de 0-25°C) e com o aumento gradativo da temperatura o volume de gás se torna mais expressivo. As faixas de temperatura consideradas significativas

para a produção de gás é a mesofílica, numa faixa de 25 a 45°C e a termofílica na faixa de 45 a 60°C, com diminuição drástica da produção acima de 60°C.

Para Mata-Alvarez (2003) e Kardos et al., (2011), dois níveis ótimos de temperatura têm sido associados à digestão anaeróbia, um na faixa mesofílica, que varia de 30 a 35°C e o outro na faixa termofílica, na faixa de 50 a 55°C, conforme se apresenta na Figura 8.

Estudos consideram que os processos termofílicos têm maior eficiência na degradação de matéria orgânica quando comparados com os processos mesofílicos, pois é possível uma maior produção de biogás (BOUALLAGUI et al., 2009).

Figura 8 - Faixas de temperatura para a digestão anaeróbia. Ótima para mesofílicas em torno de 30-35°C e para termofílicas em torno de 55-60°C



Fonte: Adaptado de Mata-Alvarez (2003).

Em contrapartida, os processos termofílicos com alta carga orgânica geram maior quantidade de ácidos voláteis, o que pode provocar um desbalanceamento entre a produção e consumo de ácidos, seguido por distúrbios da população metanogênica, que cresce mais lentamente que as populações hidrolíticas e fermentativas (VAN LIER, 1996). Essas duas faixas de temperatura podem ser comparadas, conforme apresentado na Tabela 2, quanto as suas tolerâncias, condições e rendimentos no processo.

3.7.4.3. Influência do pH

De modo geral, a faixa de pH mais favorável para alcançar o rendimento máximo em biogás a partir da digestão anaeróbia é 6,8-7,2 (OGEJO et al., 2009; WARD et al., 2008).

Tabela 2 - Parâmetros de comparação entre a digestão mesofílica e termofílica

Parâmetros	Sistema mesofílico	Sistema termofílico
Temperatura ótima (°C)	35 - 40	55 - 60
pH	7,2 - 8,0	7,2 - 8,5
Flutuação de temperatura tolerada pelo sistema (°C)	3 - 5	1 - 2
Tempo de retenção hidráulica (d)	15 - 25	3 - 10
Redução máxima de DQO (%)	65 - 85	85 - 95
Redução máxima de DBO ₅ (%)	60 - 80	80 - 90
Redução máxima de material orgânico (%)	45 - 55	55 - 70
Produção de Biogás (Nm ³ /1000 kg material orgânico seco)	920 - 980	950 - 1000
Teor de gás metano no biogás (%)	60 - 70	70 - 85
Ácidos voláteis (mg CH ₃ COOH.dm ⁻³)	1500 - 2500	3000 - 4000
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .dm ⁻³)	4000 - 6000	3000 - 5000

Fonte: Adaptado Kardos et al. (2011).

Para McCarty (1964), o tratamento anaeróbico pode prosseguir bastante com pH alternando de cerca de 6,6 a 7,6, com uma faixa ótima de cerca de 7,0 a 7,2. As arqueas metanogênicas acetotróficas são extremamente sensíveis a flutuações de pH e de preferência um pH em torno de 7,0. A taxa de crescimento das arqueas metanogênicas é grandemente reduzida abaixo de pH 6,6 (OGEJO et al., 2009; WARD et al., 2008). Para McCarty (1964) a redução se inicia abaixo de pH 6,2. Com a formação de ácidos as bactérias se tornam menos sensíveis e toleram pH na faixa de 4,0-8,5, mas o pH ótimo para a hidrólise e acidogênese é entre 5,5 e 6,5. Portanto, muitos estudiosos preferem o isolamento dos processos de hidrólise e acidificação, dos processos de acetogênese e metanogênese em duas fases separadas. No início da fermentação, a acidogênese e a acetogênese produzem ácidos e CO₂, como consequência, o pH diminui. Em seguida, as bactérias produtoras de metano consomem os ácidos e o pH do digestor aumenta e estabiliza em seguida (OGEJO et al., 2009; WARD et al., 2008).

Os inibidores das arqueas metanogênicas tais como os ácidos graxos em excesso, o sulfeto de hidrogênio e amoníaco, são tóxicos apenas nas suas formas não-ionizadas. A proporção relativa das formas ionizadas e não ionizadas (e, por conseguinte, toxicidade) é dependente do pH. O Nitrogênio amoniacal é tóxico acima de pH 7, ácidos graxos voláteis e o sulfeto de hidrogênio são tóxicos abaixo de pH 7 (MATA-ALVAREZ, 2003).

3.7.4.4. Ácidos graxos

Os ácidos graxos de cadeia curta são intermediários chave no processo de digestão anaeróbia e também são capazes de inibir a metanogênese em concentrações elevadas. O ácido acético está presente geralmente em concentrações mais elevadas do que outros ácidos graxos durante a digestão anaeróbia, mas os ácidos propiônico e butírico são mais inibitórios para as metanogênicas (WARD et al., 2008). As concentrações de ácido propiônico maiores que 3000 mg.L⁻¹ tem demonstrado que provocam ações indesejadas nos digestores (BOONE; XUN, 1987), mas em outra pesquisa, descobriram que o ácido propiônico pode ser um efeito e não uma causa de inibição de processos anaeróbios (PULLAMMANAPPALLIL et al., 2001).

Os ácidos graxos, especialmente o butírico e o isobutírico, tem se demonstrado como indicadores de estabilidade do processo (AHRING; SANDBERG; ANGELIDAKI, 1995). Um aumento da concentração de ácidos graxos pode ser um indicativo de uma sobrecarga orgânica. Essencialmente, a razão é que as metanogênicas não são capazes de metabolizar o acetato produzido pelos organismos acetogênicos até que o número de organismos metanogênicos tenha aumentado suficientemente (WARD et al., 2008).

Ácidos graxos de cadeia longa também podem constituir inibição ao processo de digestão anaeróbia. Esses por sua vez, retardam a atividade bacteriana gram-positiva. A toxicidade desses ácidos resulta na adsorção da parede celular ou da membrana, fazendo com que ocorra a desorientação de grupos essenciais sobre a membrana celular e, assim, de transporte e problemas na função de proteção (CHEN et al., 2014; PARK; LI, 2012).

3.7.4.5. Metais pesados

Os metais pesados são muitas vezes presentes em efluentes industriais em significativas concentrações, os mais encontrados frequentemente são o cobre (Cu), o zinco (Zn), o chumbo (Pb), o mercúrio (Hg), o cromo (Cr), o cádmio (Cd), o ferro (Fe), o níquel (Ni), o cobalto (Co) e o molibdênio (Mo) (ALTAS, 2009). No entanto, muitos metais são necessários para a ativação ou para o funcionamento de diversas enzimas e coenzimas da digestão anaeróbia. Alguns metais pesados, tais como o Ni, Co e Mo, são necessários em concentrações baixas. Enquanto a ordem de composição de metais pesados nas células verificou-se ser de $Fe > Zn \geq Ni > Co = Mo > Cu$, numa análise de dez cepas metanogênicas. No entanto,

quantidades excessivas de metais pesados podem levar à inibição ou toxicidade (CHEN et al., 2014).

Ao contrário de muitas outras substâncias tóxicas discutido acima, os metais pesados não são biodegradáveis e podem acumular-se em concentrações potencialmente tóxicas (NAYONO, 2009). Os valores da metade da concentração máxima inibitória (IC_{50}) de diferentes metais pesados em sistemas de digestão anaeróbia encontram-se resumidos na Tabela 3 (GONZÁLEZ et al., 2015).

Cabe ressaltar neste tópico que estudos realizados por Ramalho e Amaral (2001), com amostras de solos de uma antiga lagoa de acúmulo de vinhaça e outras amostras de áreas fertirrigadas com esse material, em Campos dos Goytacazes (RJ), foram analisadas para teores totais de Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn e comparadas com áreas controle em 1995. Os resultados mostraram que a vinhaça só trouxe aumento significativo para os teores totais de Zn.

Tabela 3 - Concentrações benéficas e inibidoras de diversas espécies químicas

Espécie	Concentração benéfica (mg.L⁻¹)	Concentração inibitória (mg.L⁻¹)	A concentração de inibição após um período de aclimação (mg.L⁻¹)
Cu ²⁺	-	1	-
Zn ²⁺	-	1	-
Ni ²⁺	0,048	1	-
Pb ²⁺	-	1	-
Al ³⁺	-	1000	2500
Ca ²⁺	200	>2500 (moderada) >8000 (forte)	-
K ⁺	≤400	>5800	-
Na ⁺	≤350	3500-5500 (moderada) >8000 (forte)	<12000
S ²⁻	1-25 (S)	100-800 (S ²⁻) 50-400(H ₂ S)	1000 (H ₂ S)
NH ₄ OH	50-200	1500-2000 (moderada) >3000 (forte)	5000

Fonte: González et al. (2015).

3.7.4.6. Tempo de detenção

O tempo de detenção é definido como o tempo necessário para a degradação completa da matéria orgânica ou pode ser definido como o tempo médio que a matéria orgânica permaneça no digestor, definida pela Equação 1 (KOTHARI et al., 2014):

$$TR = \frac{\text{Volume do líquido}}{\text{Fluxo diário}} \quad (1)$$

O tempo de detenção das reações da DA varia de acordo com os parâmetros do processo, como temperatura e composição dos resíduos. Para a digestão da biomassa em condição mesofílica varia de 10 a 40 dias. No entanto, em condição termofílica é encontrado menor (KOTHARI et al., 2014).

Para Wijffels, Barten e Reith (2003) quando o tempo de detenção for muito curto, não ocorrerá a metanogênese e como resultado o reator vai acidificar. Um tempo de detenção de ao menos 15 dias é necessário para assegurar tanto a metanogênese, a hidrólise e a acidificação de lípidos a 25°C.

3.7.4.7. Relação carbono nitrogênio (C/N)

A relação C/N representa o relacionamento entre a faixa de quantidade de carbono e de nitrogênio presentes no material orgânico, sendo identificados os valores adequados. No caso de uma relação C/N elevada as metanogênicas consomem rapidamente o nitrogênio, o que resulta em menor rendimento de gás. Por outro lado, uma menor relação C/N causa acumulação de Nitrogênio amoniacal e os valores de pH se tornam superiores a 8,5, o que se torna tóxico para as arqueas metanogênicas (KOTHARI et al., 2014).

Uma relação C/N entre 20 e 30 é a melhor para o processo, proporcionando um rendimento elevado de gás com uma relação ótima de 25. No entanto, a relação ótima é em função do tipo de matéria-prima e varia com isso (KOTHARI et al., 2014). Para Khalid et al., (2013), a relação C/N também se encontra na faixa de 20-30. Para Bouallagui et al., 2009 a relação C/N varia de 22 a 25 e é a mais adequada para a digestão anaeróbia de frutas e resíduos vegetais.

Além da relação C/N, também desempenha um papel importante a relação C:N:P:S. A proporção deve apresentar uma oferta adequada de nutrientes para as bactérias em torno de 600:15:5:1 (WEILAND, 2010).

3.7.4.8. Nitrogênio Amoniacal

O nitrogênio em sua forma amoniacal é um nutriente essencial para o crescimento de microrganismos envolvidos na DA, bem como atuando como um inibidor em certas concentrações elevadas (KOSTER; LETTINGA, 1984). A fermentação de materiais contendo nitrogênio tais como ureia e proteínas, libera nitrogênio amoniacal, o qual existe em grande parte na forma ionizada (NH_4^+), mas este depende fortemente do pH. Com o aumento do pH, prevalece a forma não ionizada (NH_3), e essa por sua vez é tóxica para o processo (CHEN et al., 2014).

Amônia livre é mais tóxica para as arqueas metanogênicas do que na forma ionizada, porque ele se difunde mais rapidamente por meio da membrana celular, causando desequilíbrio nos prótons, e/ou de potássio, enquanto amônia ionizada pode apenas inibir a enzima sintetizadora de metano (CHEN et al., 2014).

3.8. BIOGÁS

Enquanto a demanda mundial crescente por energia tem de ser satisfeita, a concentração de gases de efeito estufa na atmosfera aumenta de forma constante devido às emissões provenientes de combustões de combustíveis fósseis. Assim, nas últimas décadas, a necessidade urgente para a produção de energia renovável tem sido bem conhecida (WEILAND, 2010).

O biogás pode substituir os combustíveis fósseis na produção de energia e calor, e também pode ser utilizado como combustível gasoso veicular. O biogás rico em metano (biometano) pode substituir o gás natural como matéria-prima para a produção de produtos químicos e materiais (WEILAND, 2010).

Sua composição típica é cerca de 60% de metano, 35% de dióxido de carbono e 5% de uma mistura de hidrogênio, nitrogênio, amônia, sulfeto de hidrogênio, monóxido de carbono, aminas voláteis e oxigênio. Alguns desses componentes são responsáveis por causar corrosão, bem como as incrustações do dispositivo térmico e gerar emissões perigosas. Portanto, a qualidade do biogás (pureza e composição) é muito importante, e a sua purificação representa um passo final crucial do processo global de produção, tendo em conta a sua aplicação final (CONVERTI et al., 2009).

O metano lançado na atmosfera tem potencial 21 vezes maior que o dióxido de carbono no que se refere ao efeito estufa, sendo que sua utilização na geração de energia leva a uma redução do potencial de poluição ambiental (ABREU, 2012). O biogás pode ser produzido a partir de várias fontes, tais como ervas daninhas, madeiras, folhas, frutas e vegetais, resíduos sólidos, esterco animal, algas, compostagem, esgoto, lodo agroalimentar e até mesmo a fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (CONVERTI et al., 2009).

Por meio da relação etanol/biogás (1 m^3 de etanol = 185 m^3 de biogás – 60% de metano), pode-se estimar o potencial de produção de metano a partir da vinhaça gerada pela produção brasileira de etanol proveniente da cana de açúcar (POMPERMAYER; JÚNIOR, 2003).

A produção brasileira de etanol no ano de 2015, a partir da cana de açúcar, segundo a Empresa de Pesquisa Energética (BRASIL, 2016) foi de 30 milhões de m^3 , o que corresponde a uma produção anual de cerca de 5,55 bilhões de m^3 de biogás e 3,33 bilhões de m^3 de metano.

A quantidade prevista de energia a partir do biogás é então obtida pela multiplicação da quantidade de biogás pelo percentual de metano e seu poder calorífico inferior, tipicamente $34,6 \text{ GJ.m}^{-3}$ (ANGELIS-DIMAKIS et al., 2011). Por meio do Quadro 4 estão apresentados os valores encontrados para o poder calorífico de diferentes fontes de energia.

Quadro 4 - Poder calorífico para diferentes fontes de energia

Combustível	Valor do Poder Calorífico Superior (a 25 °C e 1 atm)	Valor do Poder Calorífico Inferior (a 25 °C e 1 atm)
Hidrogênio (KJ.g^{-1})	141,86	119,93
Metano (KJ.g^{-1})	55,53	50,02
Propano (KJ.g^{-1})	50,36	45,6
Gasolina (KJ.g^{-1})	47,5	44,5
Gasóleo (KJ.g^{-1})	44,8	42,5
Metanol (KJ.g^{-1})	19,96	18,05

Fonte: Santos, F. M; Santos, F. A. (2005).

A equivalência energética do biogás em relação a outros energéticos é determinada levando em conta o poder calorífico e a eficiência média de combustão. O Quadro 5, abaixo, mostra a relação entre biogás e outros energéticos, em termos de equivalência energética, segundo duas fontes consultadas (POMPERMAYER; JÚNIOR, 2003).

Quadro 5 - Equivalência energética entre 1 m³ de biogás e outros energéticos

Energético	Nogueira (1986)	Ferraz; Marriel (1980)
Gasolina (L)	0,61	0,61
Querosene (L)	0,62	0,58
Óleo Diesel (L)	0,55	0,55
GLP (kg)	1,43	0,45
Álcool (L)	0,80	-
Carvão Mineral (kg)	0,74	-
Lenha (kg)	3,50	-
Eleticidade (kWh)	-	1,43

Fonte: Adaptado Pompermayer e Júnior (2003).

Para Panwar, Kaushik e Kothari (2011) a percentagem de fontes de energias renováveis deverão aumentar significativamente, cerca de 30-80% em 2100. O cenário global de energia renovável até 2040 é apresentado no Quadro 6.

Quadro 6 - Cenário global de energia renovável em 2040

	2001	2010	2020	2030	2040
Consumo total (milhões de toneladas equivalentes de petróleo)	10.038	10.549	11.425	12.352	13.310
Biomassa	1.080	1.313	1.791	2.483	3.271
Grandes centrais hidrelétricas	22,7	266	309	341	358
Geotérmica	43,2	86	186	333	493
Pequenas centrais hidrelétricas	9,5	19	49	106	189
Vento	4,7	44	266	542	688
Energia solar térmica	4,1	15	66	244	480
Fotovoltaica	0,1	2	24	221	784
Marinha (marés / ondas / oceano)	0,05	0,1	0,4	3	20
Total de RES	1.365,5	1.745,5	2.964,4	4.289	6.351
Contribuição das fontes de energias renováveis (%)	13,6	16,6	23,6	34,7	47,7

Fonte: Adaptado Panwar, Kaushik e Kothari (2011).

No Brasil, o aproveitamento do biogás ainda é incipiente, com apenas 42 MW de capacidade instalada e 20 MW em construção. Considerando a elevada concentração da população brasileira em grandes centros urbanos e a expressiva produção agropecuária e agroindustrial, é natural acreditar que o atual aproveitamento do biogás no Brasil encontra-se bastante inferior ao seu potencial (ZANETTE, 2009).

Além disso, a partir de um ponto de vista socioeconômico, o biogás não só reduz significativamente os custos de tratamento de resíduos, mas também tem um custo relativamente baixo de matéria-prima (MAO et al., 2015).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados reatores em batelada anaeróbios, em escala de bancada, no Laboratório de Tecnologia Ambiental – LATAM da Universidade de Caxias do Sul/RS.

Os procedimentos experimentais adotados em cada etapa do trabalho estão descritos neste capítulo, bem como toda a metodologia empregada. Serão descritas as metodologias utilizadas para caracterização da vinhaça, a configuração do reator, o inóculo utilizado, os procedimentos para adaptação do inóculo à vinhaça. Serão descritos também, os métodos para avaliar o desempenho do processo ressaltando-se a eficiência de remoção da matéria orgânica, a determinação dos parâmetros cinéticos, as produções de ácidos graxos voláteis, a composição dos gases produzidos e a quantificação do volume de biogás.

Para melhor compreensão dos ensaios realizados, foram desenvolvidos ensaios agrupados em três etapas. A **ETAPA 1** compreende a produção de biogás através da digestão anaeróbia da vinhaça com diferentes relações de A/M e carga orgânica volumétrica, etapa metanogênica. Já a **ETAPA 2** compreende o uso de diferentes concentrações de sulfetos para avaliar a inibição da atividade metanogênica na degradação da vinhaça da cana-de-açúcar, etapa sulfetogênica. E a **ETAPA 3** avalia diferentes valores de pH mantendo-se a mesma carga orgânica e relação A/M, etapa acidogênica.

4.1. ETAPA 1

4.1.1. Equipamentos

Os testes foram conduzidos em reator de bancada com volume total de 7,5 L da marca New Brunswick BioFlo/CelliGen 115 (Figura 9). O reator foi operado com volume de 5 L e a agitação foi fornecida por misturador mecânico. O reator contém um conjunto com quatro chicanas equidistantes, com 20 mm de largura cada uma.

As amostras de material ao longo dos ensaios foram realizadas por meio de um tubo de aço inoxidável, cuja extremidade situava-se próximo ao fundo da cuba, conectado a uma mangueira de silicone que, com auxílio de uma seringa foi possível a retirada de amostras.

A unidade de controle do equipamento permitiu a determinação e manutenção dos parâmetros, tais como pH, temperatura e ORP (Potencial de oxi-redução).

O eletrodo de pH foi calibrado com soluções tampão com valores de pH de 4,0 e 7,0, e o controle deste parâmetro foi feito automaticamente com a adição de NaOH (6 N) ou H₂SO₄ (1 N). A temperatura foi mantida em 35°C por meio da circulação da água da camisa da cuba do reator, proporcionada por uma bomba acoplada ao fermentador. O eletrodo de ORP foi calibrado com solução tampão de 229 mV.

O reator é controlado por um *software* (Biocommand), que possibilita o armazenamento de dados durante os ensaios.

Para a quantificação do gás produzido, reservatórios com capacidade de 8 a 10 L foram utilizados. A água presente nos reservatórios foi alcalinizada (pH 12), o que permitiu que todo o gás carbônico fosse solubilizado e o deslocamento de líquido ocorresse somente pelo metano. Para quantificação de metano, foram utilizado provetas de 1000 mL situadas abaixo do reservatório.

Figura 9 - Unidade experimental utilizada para realização dos ensaios



Fonte: A autora (2016).

4.1.2. Características do substrato

A vinhaça utilizada como substrato nos reatores anaeróbios foi obtida na etapa de destilação do álcool, proveniente da Usina de etanol Guarani (Unidade Industrial Andrade –

Pitangueiras/SP). Os lotes contendo vinhaça (recebidos em 23 de setembro de 2015) foram acondicionados em câmara fria, com temperatura máxima de 4 °C.

As análises químicas de caracterização da vinhaça estão descritas na Tabela 4. Todas as análises realizadas seguiram a metodologia estabelecida no APHA (1995).

Tabela 4 - Parâmetros analisados da vinhaça da cana-de-açúcar

Parâmetros analisados	Resultados
Cálcio total (mg Ca.L ⁻¹)	364,80
DBO (mg O ₂ .L ⁻¹)	15.637,5
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	22.726,4
Fósforo total (mg P.L ⁻¹)	58,8
pH	4,1
Magnésio total (mg Mg.L ⁻¹)	169,9
Nitrogênio Total Kjeldahl (mg NH ₃ -N.L ⁻¹)	394,7
Potássio (mg K.L ⁻¹)	2.537,7
Sódio (mg Na.L ⁻¹)	50,5
Sulfetos (mg S ²⁻ .L ⁻¹)	n.d.

n.d.: não determinado

4.1.3. Características do inóculo

O inóculo utilizado foi um lodo biológico granulado de um reator UASB, proveniente do tratamento das águas residuárias de uma indústria de alimentos e bebidas, localizada na cidade de Esteio/RS (coletado em 12 de maio de 2015). A concentração de SVT do lodo obtido foi de 67.540 mg.L⁻¹. A partir do balanço de massa foi fixado um volume de 740,30 mL para todos os ensaios. O inóculo não passou por nenhum processo de inativação.

O lodo apresenta boa capacidade de produção de metano (elevada Atividade Metanogênica Específica – AME), conclusão obtida por meio de experimentos prévios que foram realizados, conforme demonstrado na Figura 10.

4.1.3.1. Teste da Atividade Metanogênica Específica

Para o teste da Atividade Metanogênica Específica foram utilizados reatores anaeróbios em escala de bancada. Esses possuem capacidade para 3,2 L, sendo adotado um volume útil de 2,5 L.

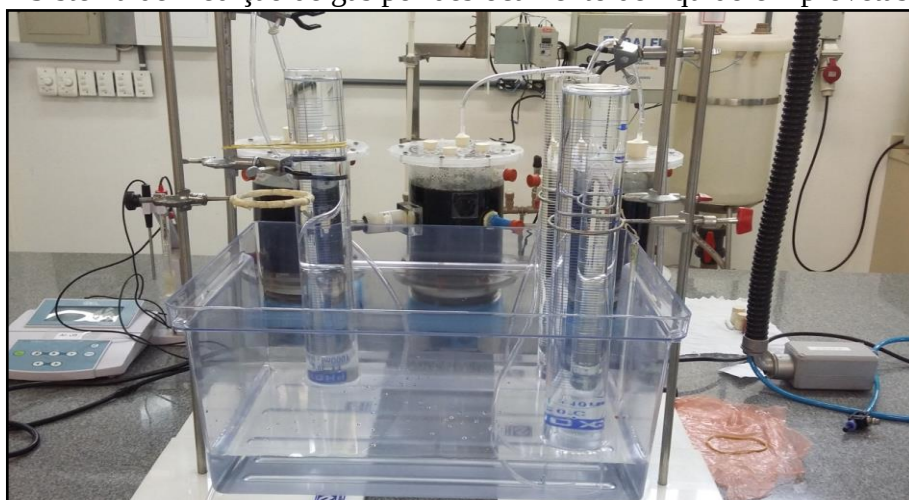
Figura 10 - Reatores de bancada utilizados para o teste da AME



Fonte: A autora (2016).

Foram utilizados agitadores magnéticos com placa de aquecimento para manter as condições ótimas de 37°C de temperatura e agitação de 6 rpm. O biogás produzido foi quantificado por deslocamento de líquido, em provetas invertidas (Figura 11). O líquido utilizado no sistema foi água com pH 12, para proporcionar a solubilização do gás carbônico e permitir somente o deslocamento do líquido pelo gás metano. Os reatores foram compostos de 73 mL de biomassa (lodo anaeróbio), 73,21 mL de substrato (acetato de sódio 10%) e completado com 2353,79 mL de solução nutritiva (composição para 2 L: 1 g NH_4Cl , 3 g KH_2PO_4 , 3 g K_2HPO_4 , 0,1 g $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ e 0,4 g extrato de levedura).

Figura 11 - Sistema de medição de gás por deslocamento de líquido em provetas invertidas



Fonte: A autora (2016).

4.1.4. Condições de operação

O reator foi alimentado com diferentes relações de A/M e diferentes cargas orgânicas volumétricas (COV). Os parâmetros operacionais aplicados ao fermentador anaeróbio podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros operacionais aplicados em cada etapa experimental

Experimentos	SVT (mg.L ⁻¹)	mDQO (mg O ₂)	Relação A/M inicial (kg DQO.kgSVT ⁻¹)	COV inicial (kg DQO.m ⁻³)
1	10.000	12.500	0,25	2,5
2	10.000	25.000	0,5	5,0
3	10.000	37.500	0,75	7,5
4	10.000	50.000	1,0	10,0
5	10.000	62.500	1,25	12,5
6	10.000	75.000	1,5	15,0
7	10.000	85.000	1,7	17,0

A biomassa foi mantida em ambientação por um período de 24 h e temperatura de 35°C. O volume útil do fermentador em todos os experimentos foi composto de biomassa (lodo anaeróbio), de substrato (vinhaça) e completado com água potável a 5 L. O volume do *headspace* foi 2,5 L, totalizando o volume total do fermentador de 7,5 L. O pH foi controlado, com *set-point* em 7.

4.1.5. Procedimentos de realização dos ensaios

Antes do início dos ensaios foi determinado o valor da concentração de sólidos voláteis totais (SVT) presentes no lodo. Em seguida foi adicionado o lodo no reator juntamente com a água potável. Foi realizada a substituição do ar atmosférico contido na “*headspace*” do reator por “*stripping*” utilizando gás nitrogênio. Com esses procedimentos iniciou-se a ambientação do consórcio microbiano às condições do experimento, por um período de 24 h. Após esse período, o reator foi alimentando com substrato (vinhaça) e ocorreu novamente, a substituição do ar atmosférico por nitrogênio. Com o início dos testes, foram realizadas coletas de amostras do biogás gerado, imediatamente após a adição do substrato e, periodicamente, até o fim do experimento. Amostras de DQO inicial e final foram coletadas e SVT no fim dos ensaios. Para o cálculo da atividade metanogênica foi utilizado o método da maior tangente. Para isso

modelou-se a curva de produção de metano (volume de metano (mL) por tempo (h)), utilizando uma função polinomial mais adequada. A partir da derivada desta função obtém-se os valores dos pontos tangentes à curva polinomial obtida e o maior valor da tangente foi utilizado (taxa máxima de produção de metano) (Eq. 5). Divide-se este valor pela concentração de biomassa contida no digestor. A velocidade máxima específica de produção de metano então foi expressada pela Equação 6.

$$\frac{\Delta P_{CH_4}}{\Delta t} = P'(CH_4) = f(t) \quad (5)$$

Onde:

ΔP_{CH_4} : produção acumulada de CH_4 (mL)

Δt : intervalo de tempo (h)

$$AM = \frac{\Delta P_{CH_4}}{\Delta t \cdot SVT} \quad (6)$$

Onde:

AM: atividade metanogênica (mL CH_4 .mg SVT.h⁻¹)

SVT: sólidos voláteis totais (mg.L⁻¹)

4.2. ETAPA 2

4.2.1. Equipamentos

Esse item segue as mesmas condições descritas do item 4.1.1, porém foram utilizados dois reatores para os testes de inibição por sulfetos, conforme demonstrado por meio da Figura 12.

4.2.2. Características do substrato

Foi utilizado como substrato em todos os ensaios, acetato de sódio a 10%, com um volume fixo de 105,4 mL. Também foi composto de solução nutritiva, conforme composição descrita na Tabela 6, variando o volume conforme a quantidade de solução de sulfetos.

Figura 12 - Unidade experimental utilizada para realização dos ensaios



Fonte: A autora (2016).

Tabela 6 - Composição da solução estoque nutritiva

Reagente	Concentração
Cloreto de amônio (NH_4Cl)	$0,5 \text{ g.L}^{-1}$
Fosfato dihidrogênio de potássio (KH_2PO_4)	$1,5 \text{ g.L}^{-1}$
Hidrogenofosfato dipotássio (K_2HPO_4)	$1,5 \text{ g.L}^{-1}$
Sulfeto de sódio nonohidratado ($\text{Na}_2\text{S.9H}_2\text{O}$)	$0,05 \text{ g.L}^{-1}$
Extrato de Levedura	$0,2 \text{ g.L}^{-1}$

Fonte: Adaptado Beal (2004).

4.2.3. Características do inóculo

O lodo granular anaeróbio é o mesmo descrito no item 4.1.3, porém esse pertence a um lote mais novo (coletado em 29 de outubro de 2015). O inóculo apresentou concentração de SVT de 90.300 mg.L^{-1} . A partir do balanço de massa foi fixado um volume de 166,11 mL para todos os ensaios. O inóculo não passou por nenhum processo de inativação.

4.2.4. Condições de operação

Foram avaliadas duas condições de pH diferentes: Experimento A1 - pH foi mantido constante a 7,0 e Experimento B1 - pH foi mantido constante a 7,5.

O fermentador foi alimentado com $\text{Na}_2\text{S.9H}_2\text{O}$, variando a concentração do íon S^{2-} de 50 a 1000 mg.L^{-1} (50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1.000 mg.L^{-1}). Antes de iniciar os ensaios com adição de sulfetos, foi avaliada a atividade metanogênica sem concentrações do

mesmo, a título de comparação com os demais ensaios.

A descrição das quantidades de soluções que preenchem o volume útil dos reatores, podem ser observadas por meio da Tabela 7.

O volume útil do fermentador em todos os experimentos foi composto de biomassa (lodo anaeróbio), de substrato (acetato de sódio), sulfeto e completado com solução nutritiva a 5 L. O volume do *headspace* foi 2,5 L, totalizando o volume do fermentador de 7,5 L.

Tabela 7 - Volumes adicionados para compor cada experimento em pH 7,0 e pH 7,5

Teste	[S ²⁻] (mg.L ⁻¹)	Volume de S ²⁻ (mL)	Volume de biomassa (mL)	Volume de substrato (acetato de sódio 10%) (mL)	Volume de substrato (sol. nutritiva) (mL)
AM	0	0	166,11	105,4	4.728,49
1	50	28,57	166,11	105,4	4.699,92
2	75	42,86	166,11	105,4	4.685,63
3	100	57,14	166,11	105,4	4.671,35
4	150	85,71	166,11	105,4	4.642,78
5	200	114,29	166,11	105,4	4.614,20
6	300	171,43	166,11	105,4	4.557,06
7	400	121,21	166,11	105,4	4.607,28
8	500	151,52	166,11	105,4	4.576,97
9	750	227,27	166,11	105,4	4.501,22
10	1000	303,03	166,11	105,4	4.425,46

4.2.5. Procedimentos de realização dos ensaios

Antes do início dos ensaios foi determinado os sólidos voláteis totais (SVT) presentes no lodo. Em seguida é adicionado o lodo no reator juntamente com a solução nutritiva. É realizada a substituição do ar atmosférico contido na “headspace” do reator por “stripping” utilizando gás nitrogênio. Com esses procedimentos inicia-se a ambientação do consórcio microbiano às condições do experimento, por um período de 24 h. Após esse período, o reator é alimentando com substrato (acetato de sódio) e também ocorre a adição da concentração do íon S²⁻. Novamente ocorre a substituição do ar atmosférico por nitrogênio. Após isso, segue conforme já descrito no item 4.1.5.

4.3. ETAPA 3

4.3.1. Equipamentos

Esse capítulo segue as mesmas condições descritas do item 4.1.1, utilizando-se de dois reatores para avaliação da acidogênese.

4.3.2. Características do substrato

As características do substrato seguem as mesmas descritas no capítulo 4.1.2.

4.3.3. Características do inóculo

O inóculo utilizado e volume utilizado nos reatores, seguem conforme descrito no capítulo 4.1.3.

4.3.4. Condições de operação

Foram avaliadas quatro condições de pH diferentes, 5, 5,5, 6,0 e 6,5. O pH foi controlado pela adição de NaOH 6 N e H₂SO₄ 1 N com uma variação de 0,5 unidades de pH.

O volume útil do fermentador em todos os experimentos foi composto de biomassa (lodo anaeróbio), de substrato (vinhaça da cana-de-açúcar) e completado com água potável a 5 L. O volume do *headspace* foi 2,5 L, totalizando o volume do fermentador de 7,5 L.

A biomassa juntamente com a água potável foi mantida em ambientação por um período de 24 h e temperatura de 35 °C.

O fermentador foi alimentado com uma relação A/M de 1 kg DQO.kgSVT⁻¹ e uma carga orgânica volumétrica de 10 kg DQO.m⁻³.

Os parâmetros operacionais aplicados aos fermentadores anaeróbios podem ser observados na Tabela 8. Foi mantida as mesmas condições em todos, porém alterando o pH.

Tabela 8 - Parâmetros operacionais aplicados em cada etapa experimental

Experimentos	SVT (mg.L⁻¹)	mDQO (mg O₂)	Relação A/M (kg DQO.kgSVT⁻¹)	COV (kg DQO.m⁻³)
pH 5,0	10.000	50.000	1,0	10,0
pH 5,5	10.000	50.000	1,0	10,0
pH 6,0	10.000	50.000	1,0	10,0
pH 6,5	10.000	50.000	1,0	10,0

4.3.5. Procedimentos de realização dos ensaios

Os procedimentos seguem conforme descrito no capítulo 4.1.5, porém sem cálculo da atividade metanogênica.

4.4. MÉTODOS ANALÍTICOS

Para avaliar o desempenho do fermentador, amostras do afluente e efluente foram tomadas periodicamente, bem como, análises do pH, da demanda química de oxigênio (DQO), do potencial de oxi-redução (ORP) e dos sólidos suspensos voláteis (SVT).

Para determinação do teor de sólidos totais as amostras foram filtradas com filtro de fibra de vidro com tamanho de poro igual a 1,2 μ , após a amostra foi transferida para estufa a 105°C até que seu peso se mantivesse constante e o peso final obtido após 1 hora em mufla à temperatura de 550°C.

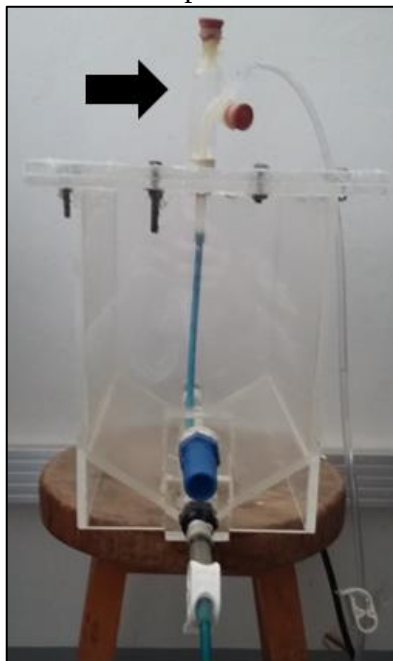
As análises de DQO foram realizadas por meio do método de refluxo fechado por titrimetria.

Os ácidos graxos voláteis (ácido acético, propiônico, isobutírico, butírico, valérico e isovalérico), foram analisadas por meio de cromatografia em fase gasosa (Shimadzu GC 2010 plus) equipado com um detector FID DANI DN-FFAP 11448.

O biogás produzido foi medido pelo método de deslocamento de líquido como também tem sido utilizado por outros autores (BUDIYONO et al., 2010; SYAICHURROZI et al., 2013; YUSUF, IFY, 2011), sendo utilizada água alcalinizada para absorção do gás carbônico, permitindo somente o deslocamento da água por metano. O reservatório utilizado permite que amostras do gás no seu interior fosse retirado através do septo de borracha instalado, afim de verificar a composição e poder perceber se o CO₂ estava sendo dissolvido no meio líquido

(Figura 13). Após, o volume de metano produzido foi normalizado utilizando a lei dos gases ideais para temperatura de 20°C e pressão de 1 atm.

Figura 13 - Reservatório utilizado com água alcalinizada para quantificação do metano produzido e septo de borracha para a retirada de amostras de gás



Fonte: A autora (2016).

A produção de metano também foi acompanhada por cromatografia gasosa, onde amostras de gás foram retiradas diretamente do reator, por meio do septo de borracha instalado, com seringa de 250 µl com trava. O cromatógrafo utilizado foi o DaniMaster AS, com coluna CarboxenTM 1006 PLOT Capillary Column (30 m x 0,53 mm), com detector de condutividade térmica (TCD-*Thermal Conductivity Detector*), tendo gás hélio como gás de arraste.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. ETAPA 1

Os resultados da Atividade Metanogênica Específica – AME, inicialmente realizadas com o lodo anaeróbico foi de 2,2891 e 2,5464 mmolCH₄.gSVT⁻¹.h⁻¹ (3,5161 gDQO_{CH4}.gSVT⁻¹.d⁻¹ e 3,9158 gDQO_{CH4}.gSVT⁻¹.d⁻¹). Com os volumes utilizados nos reatores de biomassa de 1,97 gSVT.L⁻¹ e de acetato de 1,2 gDQO.L⁻¹, pode-se comparar os resultados com os encontrados por Rocha (2003) representados na Tabela 9.

Tabela 9 - Atividade metanogênica específica, concentração de SSV e de substrato usadas em testes de AME

	Lodo	Biomassa (gSSV.L ⁻¹)	Substrato (gDQO.L ⁻¹)	AME (gDQO.gSSV ⁻¹ .d ⁻¹)
1	Lodo Granular (lodo de cervejaria)	0,25 a 4,5	Acetato (4,0)	0,24 a 1,26
2	Lodo Granular (lodo de cervejaria)	2,5 a 12,5	Acetato (0,6 e 1,20)	0,6
3	Lodo Granular (amido de trigo)	1,55 a 2,20	Acetato (1,00)	0,17
4	Lodo Granular (amido de milho)	0,25	Acetato (4,00)	0,8 a 1,20
5	Lodo Granular (indústria farmacêutica)	2,00	Acetato (0,5 a 2,00)	0,15 a 0,18
6	Lodo Floculento (UASB)	0,57 a 1,90	Acetato (2,00)	0,08 a 0,21

Fonte: Adaptado Rocha (2003).

Se analisados os resultados obtidos nos ensaios com Rocha (2003) é possível verificar que a atividade metanogênica específica do lodo é bastante superior ao encontrado pelo autor. Os resultados 3 e 5, por exemplo, da Tabela 9, apresenta condições de biomassa e substrato bem próximas aos valores utilizados nos ensaios, mas com uma AME de 0,17 e 0,18 gDQO.g SSV⁻¹.d⁻¹, cerca de 95% inferior aos resultados encontrados.

Os demais resultados para a Etapa 1, podem ser conferidos por meio do Artigo aceito no The XII DAAL - Symposium and Workshop Latin American Anaerobic Digestion (Comprovante de aceite na imagem a baixo).



Cusco, August 13th 2016

Dear Ms/Mr **Lademir Beal**,

Thank you for your contribution to the XII Latin American Workshop and Symposium on Anaerobic Digestion.

After careful review by the Scientific Committee, we are pleased to inform you that your extended abstract entitled "**Influence of different F/M ratios and organic volumetric load on anaerobic digestion of vinasse**" has been accepted as **ORAL** presentation.

Please confirm your participation in the XII DAAL using this e-mail address: daal2016peru@gmail.com. The due date will be informed before 30th August 2016. Do not forget to consider the comments of the reviewers to your extended abstract included below this paragraph. In case corrections are demanded, you will have to resubmit the reviewed extended abstract before 30th August 2016 as well. Otherwise your work will not be accepted.

COMMENTS: "*Without Comments.*"

In case you will be unable to attend the conference for any reason, please inform us as soon as possible so we can offer your slot to another colleague.

Remember that early bird registration is until 30th August 2016.

To keep updated with the last information, please visit the XII DAAL website: <http://daalperu.com/>

Sincerely Yours

Rosemary Vela Cardich
Organising Committee XII DAAL

Influence of different F/M ratios and organic volumetric load on anaerobic digestion of vinasse

V. V. Peruzzo^{*}, L. L. Beal^{*}, F. H. Sachet^{*}, A. P. R. Torres^{**} and M. P. de Souza^{**}

^{*}Environmental Technology Laboratory, Postgraduate Program in Engineering and Environmental Sciences, University of Caxias do Sul, BR
(E-mail: vanessa.eng@hotmail.com; llbeal@ucs.br)

^{**}Research and Development Center Leopoldo Américo Miguez de Mello, Petrobras, BR
(E-mail: aptorres@petrobras.com.br; mpsouza@petrobras.com.br)

Abstract

Liters of liquid waste are generated annually in sugar and alcohol industry with power to be exploited as raw material for production of biogas. Understanding the influence of environmental and technical parameters in the development of anaerobic digestion process for biogas obtainment is important for the prediction and prevention of failures in the process. The investigation provides experimental evidence of anaerobic digestion of vinasse of sugarcane under the effect of gradual volumetric organic load (OLR) and F/M ratio, with quantification of methane produced. The dynamics of methanogenic community was evaluated by the composition of volatile organic acids by methanogenic activity, the specific rate of methane production and removal efficiency of COD. A satisfactory reduction of the high organic load present in the vinasse has been achieved, removal efficiency between 80.0% and 90.3% in mesophilic process. A polynomial fit was conducted to evaluate the specific production of methane, which ranged from 379 mL CH₄.h⁻¹ to 872 mL CH₄.h⁻¹ and a methanogenic activity of 0.33 mmol CH₄.g TVS h⁻¹ to 0.77 mmol CH₄.g TVS h⁻¹. The maximum values found were proportional to the increase of the OLR and ratio of F/M of 17 kg COD.m⁻³ and 1.7 kg COD.kg TVS⁻¹, respectively.

Keywords

Anaerobic digestion; sugarcane; vinasse; biogas

INTRODUCTION

Nowadays, due to the need to expand the use of renewable energy sources the production of biofuel is increasing worldwide. In this scenario, Brazil stands out due to the excellent technology developed which allows to obtain the ethanol from the processing of the sugarcane. This technology has been responsible for developing a huge industrial park focused mainly on exploring the sugar cane chain, where the main products are ethanol and sugar.

Currently, there are 382 industrial plants of ethanol operating in Brazil, with a nominal production capacity installed of 119.102 million cubic meters. In 2015 the production was 31.8 million cubic meters of alcohol obtained from the processing of sugar cane (ANP, 2016). Despite the fact that ethanol is a renewable fuel, there is the generation of wastes as ashes, vinasse, gas emissions and others. One of the main wastes that can be exploited as an energy source is the vinasse due to the high concentration of organic compounds from which it is possible to obtain methane. According to Ferraz et al. (2016) 12 to 15 liters of vinasse are generated per liter of ethanol produced. Usually it is applied to the soil as fertigation throughout the agricultural phase of sugarcane for the recovery of minerals. On the other hand, this technique has shown potential to cause changes in the chemical composition of the soil, groundwater recharge and changes in the properties of groundwater (Christofolletti et al., 2013).

The high organic load (COD, BOD₅) of the vinasse and its biodegradability make it possible the use of anaerobic processes to treat such wastewater, producing biogas at same time that the organic load is reduced. The biodigested vinasse features a reduction of 80% to 90% of organic matter and yet with significant concentrations of nutrients. The biogas produced by anaerobic process, when purified has a calorific value similar to natural gas (33-50 kJ.g⁻¹) (Singh, 2009), with the advantage of being a renewable fuel and readily available.

The anaerobic process occurs in several steps. The hydrolysis, the acidogenesis and the methanogenesis stages can be highlighted. The hydrolysis is an extracellular process, mediated by the enzymes secreted by the bacteria, where the organic compounds are processed from complex chains, enzymatically, to smaller complex and so are metabolized. This metabolism carried out by the acidogenic bacteria uses the organic material for synthesis of new cells and part is transformed into organic compounds of lower carbon chain. These in turn, are biologically oxidized and converted to organic acids, for facultative and strict anaerobic bacteria. On the methanogenic acetotrophic step, particularly the acetate is converted to

methane and carbon dioxide. On the methanogenic hydrogenotrophic step, hydrogen and carbon dioxide are converted to methane.

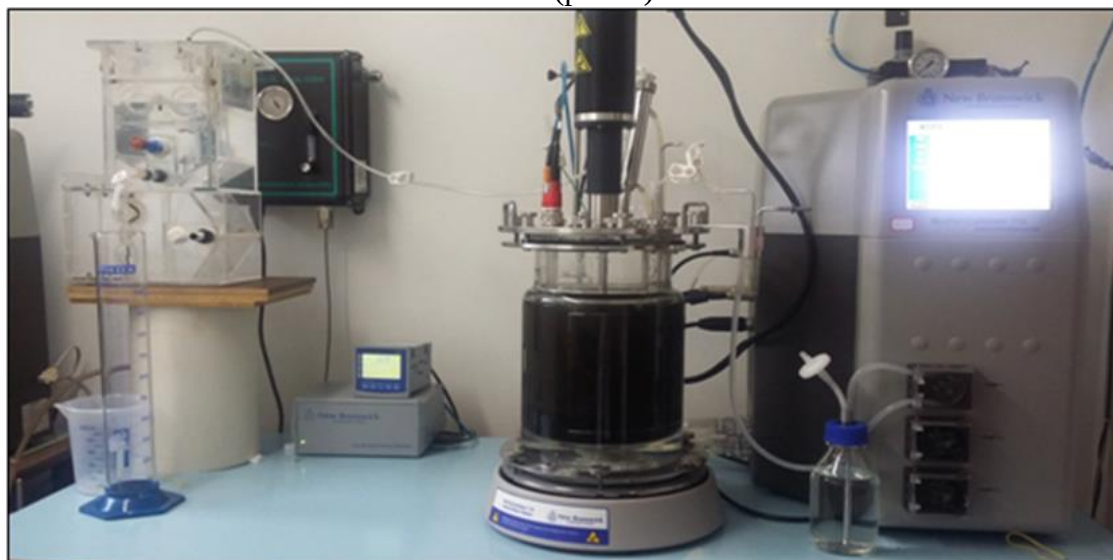
In this context, this paper aims to study the performance of an anaerobic process for the treatment of vinasse from sugar cane with different ratios of F/M and different volumetric organic load values in a fermenter batch in order to optimize the process and ensure maximum production of biogas.

MATERIAL AND METHODS

Fermenter used in the experimental stage

The experiments were carried out in the Environmental Technology Laboratory – LATAM, at University de Caxias do Sul, using a fermenter of 7.5 L. The figure 1 illustrates the set up used for this experiment.

Figure 1 - Experimental unit used: fermenter, switchboard, control and tank with alkaline water (pH 12)



Biomass

An anaerobic granular sludge with good capacity for production of methane (high Specific Methanogenic Activity – SMA) was used as inoculum in the fermenter. This sludge

was obtained in an UASB reactor used for the wastewater treatment in a food and beverage industry. The concentration of TVS in the sludge was 67,540 mg.L⁻¹.

Substrate (vinasse)

The vinasse used as substrate was obtained from the alcohol distillation step, coming from the ethanol plant Guarani – Pitangueiras - Brazil. It was stored in a cold chamber with maximum temperature of 4 °C. The physiochemical characterization of vinasse is described in table 1.

Table 1 - Analyzed parameters of vinasse from sugarcane

Analyzed parameters	Results
Total calcium (mg Ca.L ⁻¹)	364.80
BOD (mg O ₂ .L ⁻¹)	15,637.5
COD (mg O ₂ .L ⁻¹)	22,726.4
Total phosphor (mg P.L ⁻¹)	58.8
Total magnesium (mg Mg.L ⁻¹)	169.9
Total nitrogen Kjeldahl (mg NH ₃ -N.L ⁻¹)	394.7
Potassium (mg K.L ⁻¹)	2,537.7
Sodium (mg Na.L ⁻¹)	50.5
Sulfides (mg S ₂ .L ⁻¹)	n.d.

n.d.: not determined

Operation of the fermenter for methane production

The fermenter was fed with different ratios F/M and different volumetric organic loads (VOL). The operational parameters used in each test are shown in table 2.

The biomass was kept under a temperature of 35 °C for a minimum of 24 h to metabolize some organic compounds that could be present in the medium prior to the addition of vinasse. After this period of time, the addition of vinasse was put into the reactor and the test time started. The fermenter volume in all the experiments was composed of biomass (anaerobic sludge), vinasse and the volume was completed up to 5 L with tap water. The headspace volume was 2.5 L total of 7.5 L. The pH was maintained at 7 by addition of 6N NaOH, with a change of 0.5 pH units.

Table 2 - Operational parameters applied in each of the experimental steps

Experiment	TVS (mg.L ⁻¹)	mCOD (mg O ₂)	Ratio F/M (kg COD.kg TVS ⁻¹)	VOL (kg COD.m ⁻³)
1	10,000	12,500	0.25	2.5
2	10,000	25,000	0.50	5.0
3	10,000	37,500	0.75	7.5
4	10,000	50,000	1.00	10.0
5	10,000	62,500	1.25	12.5
6	10,000	75,000	1.50	15.0
7	10,000	85,000	1.70	17.0

The biogas produced was measured by liquid displacement, using alkaline water to absorb carbon dioxide. This technique allows the measurement of methane only. Then the methane volume was standardized to 1 atm and 20 °C temperature.

Determination methane production kinetics

To estimate the kinetics of methane production it was plotted the accumulated volume of methane (ml) over time (h), and it was used a polynomial function for modeling the behavior of the methane production in the test time (equation 1 and 2). After, a derivative function of the polynomial model was obtained and its maximum value was considered the maximum rate of methane production (equation 3). To calculate the specific methanogenic activity (SMA), the maximum value was divided by the TVS (equation 4).

$$y = f(x) \quad (1)$$

$$P(CH_4) = f(t) \quad (2)$$

$$\frac{dP(CH_4)}{dt} = P(CH_4) = f(t) \quad (3)$$

$$AME = \frac{dP(CH_4)}{dt} \cdot \frac{1}{TVS} \quad (4)$$

Analytical methods

The analytical methods used for the analysis of initial parameters and the experiments results are presented in table 3. All analyses of the parameters were performed according to the methodology established in APHA (2012).

Table 3 - Methodology of essays used

Parameters	Methodology / Equipment
Total solids	SMEWW-Method 3030-E/3111-B
COD	SMEWW- titrimetric method with closed reflux 5520C
Redox potential	Combined platinum electrode Pt4805-SC-DPAS-K8S of Mettler-Toledo
pH	Combined platinum electrode 405-DPAS-SC-K8 of Mettler-Toledo
Volume of CH ₄ produced	Adaptation of Boyle-Mariotte law, displacement of liquids
Volatile acids	Gas chromatography, Shimadzu GC 2010 plus with column FID DANI DN-FFAP 11448
Composition of biogas	Gas chromatography, DaniMaster AS with column Carboxen TM 1006 PLOT Capillary Column (30 m x 0,53 mm), with a thermal conductivity detector (TCD), using nitrogen gas ultra pure as carrier gas

*SMEWW: Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2012), 22nd Edition.

RESULTS AND DISCUSSION

The results for the seven experiments are summarized on table 4. The table shows the time of each experiment, the methanogenic activity, the methane production rate, the results of COD influent, effluent and removal efficiency.

Regarding the COD removal efficiency, all the experiments have demonstrated satisfactory results for an anaerobic system treating vinasse. The COD removal efficiency values in all the experiments were between 82.0% and 90.3%, which is consistent with the range reported by Acharya, Mohana and Madamwar (2008) of 80%, treating vinasse in an anaerobic upflow reactor with fixed film and of 90% observed by Agler et al. (2008) in thermophilic batch reactors. It is noteworthy that, with regard to the experiment 5, treating vinasse with a ratio F/M of 1.25, it was obtained a higher removal efficiency (90.3%) when it is compared with others.

Table 4 - Results evaluated of the seven experiments, relating the time, SMA, the specific production rate and COD

Exp	Time	Methanogenic activity	Methane production rate	COD influent	COD effluent	Removal efficiency of COD
	(h)	(mmol CH ₄ .g TVS h ⁻¹)	(mL CH ₄ .h ⁻¹)	(mg O ₂ .L ⁻¹)	(mg O ₂ .L ⁻¹)	(%)
1	48.5	0.3384	378.98	2,500	392.59	84.3
2	95.25	0.4971	556.74	5,000	837.26	83.25
3	97.02	0.5467	612.25	7,500	1,054.95	85.93
4	268.95	0.6950	778.36	10,000	1,265.76	87.34
5	230.67	0.6073	680.15	12,500	1,214.52	90.28
6	239.75	0.6110	684.31	15,000	2,342.43	84.38
7	243.77	0.7786	872.02	17,000	3,064.68	81.97

When it is analyzed the time of each experiment, it is possible to notice that with smaller F/M ratios the conversion of organic matter to methane was faster. This behavior can be related with the fact that smaller the F/M ratios are, the smaller is the amount of food available for the microorganisms. But, as methane production is directly related to the available organic compound, then the lower the amount of available organic compound, the lower the production of methane. It can be observed that in the experiment 7, which was operated with higher ratios F/M, it was obtained a higher specific methanogenic activity (0.78 mmolCH₄.gTVS h⁻¹) and higher methane production of 33,351 mL (table 5). The methane production rate in this experiment, which is of 872.02 mL CH₄.h⁻¹, was also the higheest of all experiments.

It should be noted that the duration of maximum methane production (table 5) is always a factor to be analyzed, because it is at this point in time that the maximum conversion of the substrate (vinasse) into product (methane) occurs. It is observed that during the maximum production period, the percentage of methane produced ranged from 70.3% to 87.1% for all experiments. That is, if the experiment 6 is analyzed, it is possible to verify that this has a higher percentage, even if the total experiment time was 239.75 h, with a total production volume of 25,529 mL. Operating under these operational parameters, at 79.12 h it had already produced a volume of 22,226 mL which represents 87% of the total volume for this experiment.

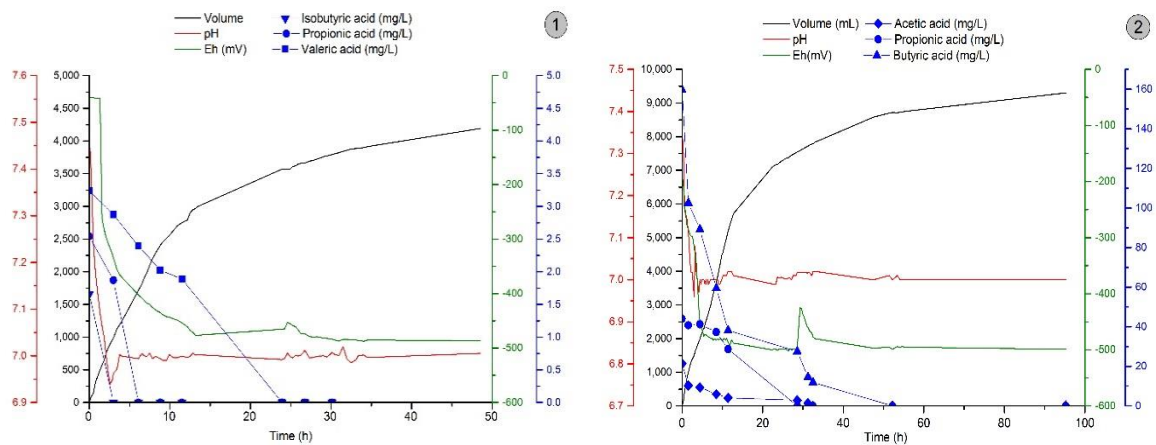
The values of redox potential (Eh) measured during all the experiment demonstrates that the process remains in anaerobic conditions. According Harper and Poland (1986), values

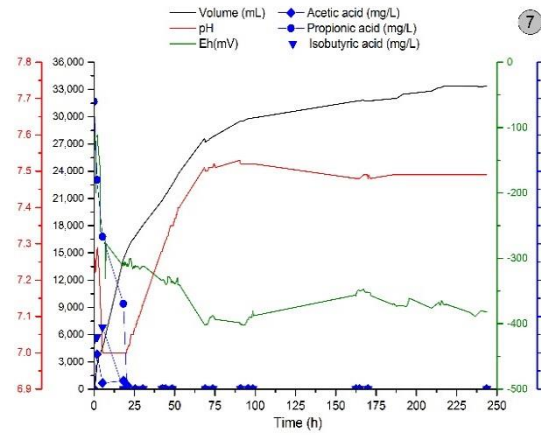
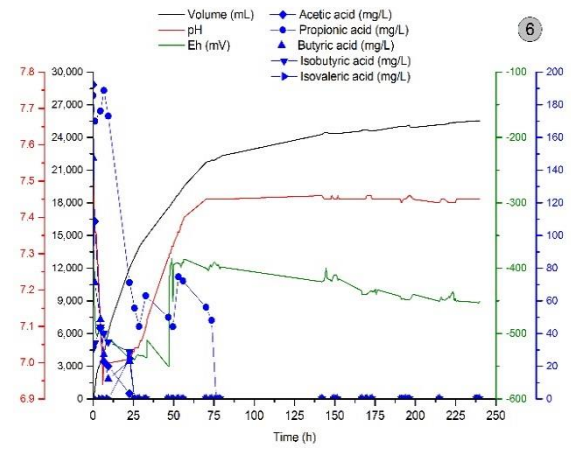
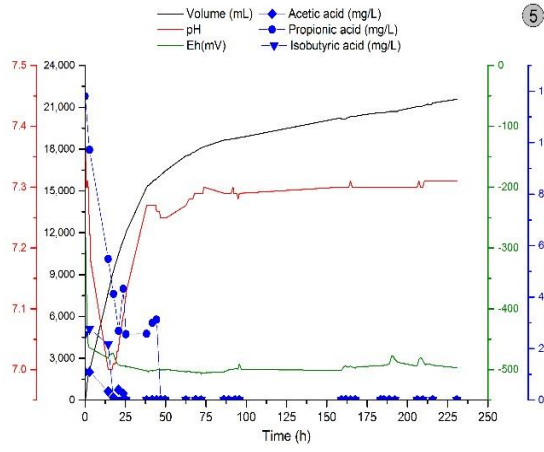
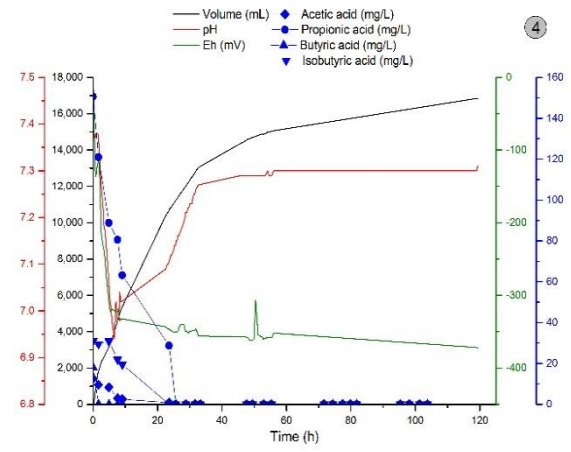
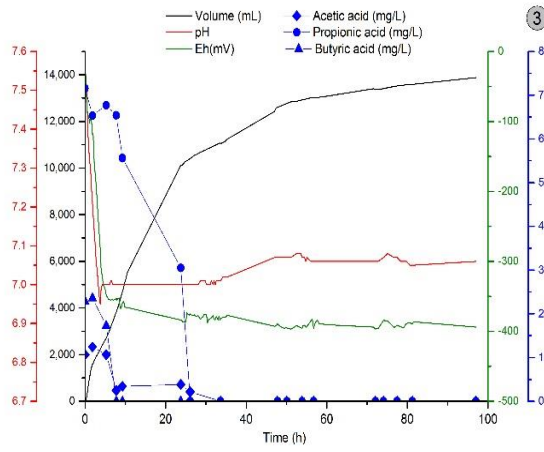
lower than -370 mV indicate that the oxygen was completely removed from the system. Arumugam et al. (2010) found values ranging from -350 mV to -452 mV in the anaerobic digestion of solid wastes. These information are shown in figures 2 to 8.

Table 5 - Volumetric production, duration of maximum methane production, the volume and percentage in this period

Experiment	Volumetric methane production	Period of time of maximum methane production	Methane volume at period of maximum production	Percentage of methane produced on maximum production
	(mL)	(h)	(mL)	(%)
1	4,192	12.83	2,950	70.3
2	9,300	23.25	7,167	77.1
3	13,883	24.00	10,113	72.8
4	16,837	32.72	13,040	77.4
5	21,559	39.25	15,378	71.3
6	25,529	79.12	22,226	87.1
7	33,351	68.38	27,607	82.8

Figures 2 to 8 - Volume of methane produced in comparison to the Eh, pH and organic acids measured for the seven experiments





In the figures from 2 to 8 it is possible to notice the profile of volumetric methane production over the time on the seven experiments. It is worth mentioning that was not observed any significant lag period in the experiments, because the high biodegradability of the substrate.

In the same figures the curves of pH are represented, not having any significant changes along the time due to the control with NaOH 6 N, allowing to maintain the pH around 7, within the optimum range for an anaerobic process which ranges from 6.8 to 7.5. In preliminary studies (not discussed in here), it was observed that in the process with no control of the pH the acidogenesis is the main condition reducing dramatically the pH to values fewer than 6, which increases the inhibition to the methanogenic archaea. For each experiment it was observed a decrease of pH between from 5 h to 25 h, possibly due to higher concentrations of these volatile acids in the medium during this period. After this period, in the experiments 1 to 3 the pH was maintained at 7.0 to 7.1, due the low methane production, which influences the production of alkalinity in the medium. In the experiment 4, there is a proportional increase in methane production with increased pH, because of alkalinity production, which is directly related to the methane production, that is more significant causing an increase in the pH to 7.3 and to 7.5 for the experiment 7.

Through the analysis of volatile fatty acids (VFA) performed using gas chromatography (figures 2 to 8), it was possible to observe the initial concentrations and to identify the fatty acids present in the medium. High concentrations of VFA are responsible for the inhibition of the methanogenesis (Yang et al., 2015), and also prevents the removal of hydrogen and volatile organic acids as fast as the are produced (Siegert et al., 2005). The results show initial concentrations of valeric, acetic, butyric, isobutyric, isovaleric and propionic acid, all being consumed after a period that changed from 20 h to 75 h of the process.

Before being reduced into methane, all VFA are primarily reduced to acetic acid, is observed in almost all graphics concentrations of this acid, and conversion rates vary in the order of ethanol, butyric acid and propionic acid. Lactic acid, which has the potential to be converted into propionic acid, is an undesirable product of fermentation. Therefore, the propionic acid accumulation always results in failure of methanogenesis (Wang et al., 2009). In none of the tests was observed that acid accumulation. For the same author in the study, when acetic acid and butyric acid concentrations were 2,400 and 1,800 mg.L⁻¹, respectively, there was no significant inhibition of the activity of methanogenic bacteria. However, when the propionic acid concentration was 900 mg.L⁻¹ there was a significant inhibition. The highest

concentrations found in the experiments were 192 mg.L⁻¹ for acetic acid, 159 mg.L⁻¹ butyric acid and 185 mg.L⁻¹ for the propionic acid.

According to Hill and Bolte (1989) concentrations below 5 mg.L⁻¹ of isobutyric acid and isovaleric suggest a good anaerobic digestion. Levels between 5 and 15 mg.L⁻¹ indicate problems and impending failures, while a level exceeding 15 mg.L⁻¹ show failures, requiring the system recovery. Only one experiment showed a concentration of isovaleric acid of 25 mg.L⁻¹. But the isobutyric acid was further observed, with a maximum concentration of 31 mg.L⁻¹. Even with concentrations greater than 15 mg.L⁻¹, which according to the author indicates a strong inhibition of the process, for the trials were not observed failures of methanogenic activity.

The failure to observe accumulations of acids in the process indicates that a balance has been established between the different groups of microorganisms and complete conversion of methane to acids.

CONCLUSION

One of the conclusions of this paper is that the mesophilic anaerobic digestion (35 °C) of vinasse was effective in reducing the organic load present and in the production of biogas, reaching an efficiency ranging from 82.0% to 90.3% that is the same reported to termophilic conditions.

It was observed that with a F/M ratio of 1.7, it was possible to achieve an efficiency of COD reduction of 82% and a methanogenic activity of 0.78 mmol CH₄.g SVT h⁻¹.

In the duration of the maximum production of methane achieved was a stillage to methane conversion between 70.3% and 87.1%.

There was no accumulation of acid in the experiments, indicating a good balance between species and its total consumption, which shows that the pH control option yielded excellent results.

References

- Acharya, B. K.; Mohana, S.; Madamwar, D. (2008) Anaerobic treatment of distillery spent wash - A study on upflow anaerobic fixed film bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4621–4626.
- Agler, M. T. et al. (2008) Thermophilic anaerobic digestion to increase the net energy balance of corn grain ethanol. **Environmental science & technology**, v. 42, n. 17, p. 6723–6729.
- ANP. (2016) Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Boletim do Etanol Nº 06/2016. Available in: <www.anp.gov.br/?pg=79694&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&142185944140>. Rio de Janeiro: ANP.
- APHA. (2012) Standard methods for the examination of water and wastewater. Anais...Washington: American Public Health Association.
- Christofolletti, C. A. et al. (2013) Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, p. 2752-2761.
- Ferraz, A. D. N. J.; Koyama, M. H.; Júnior, M. M. de A.; Zaiat, M. (2016) Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy**, v. 89, p. 245-252.
- Harper, S. R.; Pohland, F. G. (1986) Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 28, p. 585-602.
- Hill, D. T.; Bolte, J. P. (1989) Digester Stress as Related to Iso-butyric and Iso-valeric Acids. **Biological Wastes**, v. 28, p. 33-37.
- Siegert, I.; Banks, C. (2005) The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 3412-3418.
- Singh, S. (2009) Longman Science Physics10. India: Pearson Education, 177 p.
- Wang, Y.; Zhang, Y.; Wang, J.; Meng, L. (2009) Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. **Biomass & Bioenergy**, v. 33, p. 848-853.
- Yang, Y.; Chen, Q.; Guo, J.; Hu, Z. (2015) Kinetics and methane gas yields of selected C1 to C5 organic acids in anaerobic digestion. **Water Research**, v. 87, p. 112-118.

5.2. ETAPA 2

Para a ETAPA 2, que avalia o uso de diferentes concentrações de sulfetos para verificar a inibição da atividade metanogênica em condições de pH diferentes, o artigo foi submetido (conforme comprovante abaixo) para os Anais da Academia Brasileira de Ciências.

Submission Confirmation

Thank you for your submission

Submitted to	Anais da Academia Brasileira de Ciências
Manuscript ID	AABC-2017-0278
Title	Influence of sulfides on the evaluation of methane production through the degradation of sugarcane vinasse
Authors	Peruzzo, Vanessa Beal, Lademir Sachet, Felipe Torres, Ana Souza, Maria
Date Submitted	16-Apr-2017

Influência de sulfetos na avaliação da produção de metano através da degradação da vinhaça da cana-de-açúcar

Vanessa V. Peruzzo*, Felipe H. Sachet*, Ana Paula R. Torres** and M. P. de Souza** Lademir L. Beal*,

* Laboratório de Tecnologias Ambientais, Universidade de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, BR
(E-mail: vanessa.eng@hotmail.com, llbeal@ucs.br)

**Research and Development Center Leopoldo Américo Miguez de Mello, Petrobras, BR
(E-mail: aptorres@petrobras.com.br, mpsouza@petrobras.com.br)

Resumo

A digestão anaeróbia é uma prática de tratamento de efluentes e resíduos orgânicos bastante utilizada, na qual é possível minimizar e controlar problemas ambientais, associando a redução de impactos ambientais com recuperação de energia. Baixa produção de metano e instabilidade do processo são frequentemente encontrados na digestão anaeróbia, impedindo que esta técnica seja amplamente aplicada. Substâncias inibitórias como sulfetos, oriundo da conversão de sulfato pelas bactérias redutoras de enxofre, são uma das causas de inibição ou falha do digestor anaeróbio, uma vez que esteja presente no efluente a ser tratado. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito do sulfeto em dois valores diferentes de pH (7,0 e 7,5), utilizando concentrações de sulfeto de 0 a 1.000 mg S²⁻.L⁻¹. Todos os ensaios ocorreram em batelada, operando em condições mesofílicas. Inibições da atividade metanogênica para valor de pH 7,0 foram da ordem de 38,5 % a 59,8% e para valor de pH 7,5 foi de 67% a 94%, resultados para concentrações de 50 mg S²⁻.L⁻¹ e 1000 mg S²⁻.L⁻¹, respectivamente. Para o ensaio em pH 7,0, a remoção de DQO na condição sem adição de nenhuma concentração de S²⁻ foi de 93,3%, alcançando uma remoção de 49,14% com concentrações de 1000 mg S²⁻.L⁻¹. Para pH 7,5 nas mesmas condições as remoções de DQO foram 80,7% e 9,6%. As concentrações de 50, 75 e 100 mg S²⁻.L⁻¹ de S²⁻ testadas inicialmente, para os dois valores de pH avaliados promoveram o maior incremento de redução da AME. Quando observados em pH 7,0 as reduções foram de 37,96%, 41,70% e 46,06% respectivamente para as concentrações mencionadas. Em pH 7,5 as reduções representam 67,01%, 82,47% e 81,81%.

Palavras-chave

Digestão anaeróbia; inibição da atividade metanogênica; sulfetos; vinhaça

1. INTRODUÇÃO

A digestão anaeróbia envolve a degradação e estabilização de materiais biológicos em condições livre de oxigênio e com potencial redox negativo, conduzindo à formação de biogás (uma mistura principalmente formada por metano e dióxido de carbono) de uma fonte de energia renovável.

A digestão é uma opção viável para o processamento de efluentes líquidos, como a vinhaça da cana-de-açúcar. Esse efluente é proveniente da fabricação do etanol e com uma geração bastante significativa. No ano de 2015 alcançou-se uma produção de 31,8 milhões de metros cúbicos de etanol (ANP, 2016), o que representa em média a uma produção de 429,3 milhões de metros cúbicos de vinhaça.

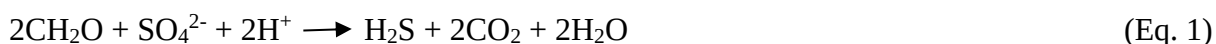
A atual prática de destinação desse efluente líquido é a irrigação do solo agrícola, onde a cana-de-açúcar é cultivada. Fator esse que contribui para a contaminação do solo e recursos hídricos, devido a elevada carga orgânica (DQO), do pH ácido presente na vinhaça e também pela frequência em que ocorre as aplicações. O tratamento da vinhaça, através de processos anaeróbios, permite a recuperação de energia como a produção de metano, sem interferir na sua qualidade como bio-fertilizantes (FERRAZ, 2016).

Além de ser um substrato líquido que apresenta uma elevada DQO é também rico em sulfato, devido ao processo de sulfatação utilizado na produção de açúcar bruto e na adição de ácido sulfúrico para evitar a contaminação bacteriana durante a fermentação alcoólica (JANKE, 2016). Devido ao processo de redução de sulfato em condições anaeróbias, altos níveis de sulfeto de hidrogênio são obtidos (BARRERA et al, 2014).

O sulfeto em elevadas concentrações interfere na viabilidade dos processos para o tratamento da vinhaça, inibindo a atividade das arqueas metanogênicas, responsáveis pela conversão da matéria orgânica em biogás. Para Colleran (1994) em meio anaeróbio as bactérias redutoras de enxofre (BRS) produzem sulfeto através do seu metabolismo de desassimilação redutiva do íon S^{6+} . Além do efeito inibitório do sulfeto e sulfeto de hidrogênio não ionizado (YUAN; ZHU, 2016; HARADA et al., 1994), a presença de sulfato em altas concentrações causa uma variação na rotina metabólica da digestão anaeróbia, pois as BRS irão competir pelo mesmo substrato com as bactérias anaeróbias envolvidas na metanogênese. Os substratos incluem os compostos monoméricos como açúcar e aminoácidos. Acontece também a competição com as bactérias acetogênicas por produtos intermediários da fermentação, como o propionato, butirato e etanol. E com as bactérias homoacetogênicas pelo H_2 e com as bactérias metanogênicas pelos substratos diretos da metanogênese, H_2 e acetato.

A Tabela 1 compara as informações de autores referente as concentrações inibidoras encontradas de sulfeto na digestão anaeróbia.

A vinhaça da cana-de-açúcar apresenta concentrações de sulfato que variam entre 1300 a 5000 mg $SO_4^{2-}.L^{-1}$ (HATI et al., 2007; HARADA et al., 1994; GOYAL; SETH; HANDA, 1996; RAIS; SHEORAN, 2015; FERREIRA et al. 2011). Através do processo de redução global do enxofre, representado pela equação 1 (GIBERT et al., 2002), onde CH_2O representa um composto orgânico, pode-se obter a conversão de sulfatos a sulfeto na digestão anaeróbia.



Na digestão anaeróbia o pH também é um parâmetro levado em consideração. Para Budiyono (2013) a alteração do pH influencia a atividade das bactérias no processo de fermentação. A toxicidade por sulfeto parece estar correlacionada com a concentração de sulfeto de hidrogênio livre na faixa de pH 6,4-7,2 e total inibição com concentrações superiores a pH 7,2 (YUAN; ZHU, 2016; O'FLAHERTY et al., 1998). Para Visser et. al (1993) estudando a inibição da atividade metanogênica por sulfetos em processos termofílicos encontrou melhores resultados com pH em torno de 7. Em pH superior a 7,25 e 7,5 a atividade metanogênica foi relativamente baixa.

Tabela 1. Concentrações inibidoras de sulfeto por diversos autores

Concentração de sulfeto inibidora (mg S²⁻.L⁻¹)	Considerações do autor	Referência
290	Com exceção dos sulfatos, todos os demais compostos de enxofre inibem a digestão anaeróbia nessa concentração.	Khan; Trottier, 1978
50 a 100 (tolerável com pouca ou nenhuma aclimação) até 200 (tolerável com aclimação) acima de 200 (bastante tóxico)	As concentrações demonstradas são relacionadas aos sulfetos solúveis. Quanto aos sulfetos insolúveis não exerceram efeitos tóxicos na digestão anaeróbia.	Souza, 1984
100 a 800	Concentrações por sulfeto solúvel ou aproximadamente de 50 a 400 mg.L ⁻¹ de H ₂ S não dissociado.	Parkin et al., 1990
50	Concentração encontrada que já causa inibição significativa.	Rinzema; Lettinga, 1988
340	Concentração que inibiu completamente a produção de metano.	Winifrey; Zeikus, 1977
100 a 150	Concentrações que conduziram a uma inibição grave a um pH de 6,8.	Parkin; Speece, 1983
250	Concentração de sulfeto de hidrogênio que levou a uma inibição de 50% na faixa de pH 6,4 a 7,2.	Koster et al., 1986

Sabendo que a vinhaça apresenta em sua composição sulfato e da importância do pH no processo, essa pesquisa procura evidenciar quais concentrações de sulfetos e o valor de pH que são mais favoráveis a causar inibições ou falhas no digestor. Sendo assim, reatores em batelada sob condições mesofílicas e em duas condições de pH diferentes, 7,0 e 7,5, foram utilizados para determinar a ocorrência de inibições da atividade metanogênica por sulfetos. Concentrações de 0 a 1.000 mg S²⁻.L⁻¹ foram avaliadas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Equipamentos

Os testes foram conduzidos em reator de bancada com volume total de 7,5 L da marca New Brunswick BioFlo/CelliGen 115 (Figura 9). O reator foi operado a um volume útil de 5 L e a agitação foi fornecida por seis pás planas. O reator contém um conjunto com quatro chicanas equidistantes, com 20 mm de largura cada uma.

A unidade de controle do equipamento permitiu a determinação e manutenção dos parâmetros, tais como pH, temperatura e ORP (potencial de oxi-redução).

Para a quantificação do gás produzido, reservatórios com capacidade de 8 a 10 L foram utilizados. O deslocamento de líquido produzido pelo metano foi quantificado por provetas de 1.000 mL, situadas abaixo dos reservatórios.

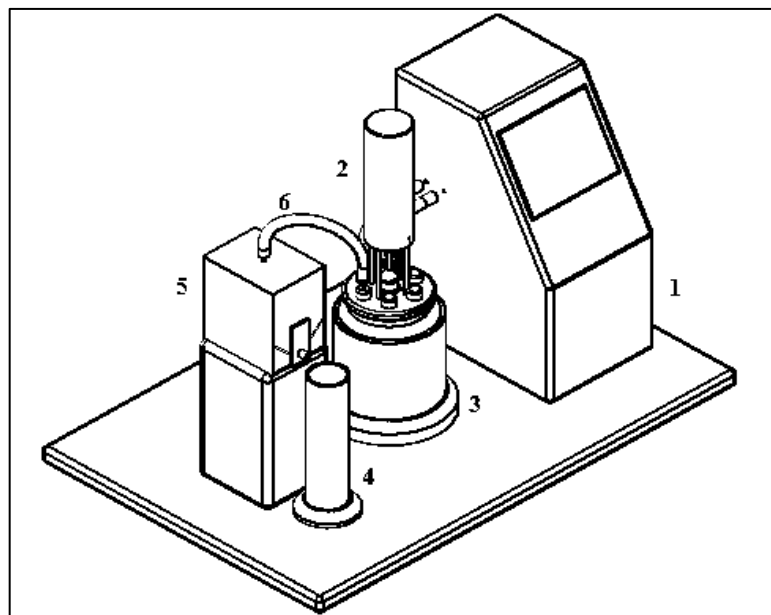


Figura 1. Unidade experimental utilizada para realização dos ensaios, composta por fermentador, painel de comando e controle e reservatório com água alcalina (pH 12). (1) painel de controle de entrada e saída de dados; (2) agitador mecânico; (3) fermentador em batelada; (4) proveta para quantificação do volume de gás produzido; (5) reservatório de água; (6) mangueira de passagem do gás.

2.2 Características do inóculo

Um lodo granular anaeróbico com boa capacidade de produção de metano (elevada Atividade Metanogênica Específica - AME), obtido de um reator UASB de tratamento de efluentes de uma indústria de alimentos e bebidas localizada na cidade de Esteio/RS foi utilizado como inóculo no fermentador. A concentração de SVT do lodo obtido foi de 90.300 mg.L⁻¹. Para obter uma concentração de SVT igual a 3.000 mg.L⁻¹, foi adicionado, em todos os ensaios, um volume de lodo de 166,11 mL.

2.3 Características do substrato

Foi utilizado como substrato em todos os ensaios, solução de acetato de sódio trihidratado para que a DQO nos ensaios fosse de 2.000 mg O₂.L⁻¹. Para propiciar uma condição equilibrada de nutriente e garantir um potencial redox redutor foi elaborada uma solução nutritiva contendo, 0,5 g.L⁻¹ de cloreto de amônio, 1,5 g.L⁻¹ de fosfato dibásico de potássio, 1,5 g.L⁻¹ de fosfato monobásico de potássio, 0,05 g.L⁻¹ de sulfeto de sódio nonohidratado e 0,2 g.L⁻¹ de extrato de levedura, variando o volume conforme a quantidade de solução de sulfetos.

2.4 Condições de operação

O fermentador foi alimentado com Na₂S.9H₂O, variando a concentração do íon S⁻² de 50 a 1000 mg.L⁻¹ (50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1.000 mg.L⁻¹). O efeito dessas concentrações sobre a atividade metanogênica foi estudado em pH 7,0 e pH 7,5. O pH foi controlado pela adição de NaOH 6 N e H₂SO₄ 1 N com uma variação de 0,5 unidades de pH. Antes de iniciar os ensaios com adição de sulfetos, foi avaliado a atividade metanogênica sem concentrações do mesmo, a título de comparação com os demais ensaios.

O volume útil do fermentador em todos os experimentos foi composto de biomassa (lodo anaeróbico), de substrato (acetato de sódio trihidratado), de sulfeto de sódio nonohidratado e

completado com solução nutritiva a 5 L. O volume do *headspace* foi 2,5 L, totalizando o volume do fermentador de 7,5 L.

A biomassa juntamente com a solução nutritiva foi mantida em ambientação por um período de 24 h e temperatura de 35 °C, para que ocorresse o esgotamento da matéria orgânica presente no meio antes da adição das concentrações de sulfeto e acetato de sódio 10%.

2.5 Atividade metanogênica específica

Para o cálculo da atividade metanogênica específica (AME) foi utilizado o método da maior tangente. Esse método consiste na modelagem da curva de produção de metano (volume de metano (mL) por tempo (h)), utilizando uma função polinomial mais adequada. A partir da derivada desta função obtém-se os valores dos pontos tangentes à curva polinomial obtida e o maior valor da tangente é utilizado (taxa máxima de produção de metano). Divide-se este valor pela concentração de biomassa contida no digestor. A velocidade específica de produção de metano então é expressada pela Equação 1.

$$AME = \frac{\Delta P_{CH_4}}{\Delta t \cdot SVT} \quad (1)$$

onde AME é a atividade metanogênica específica (mLCH₄.mgSVT⁻¹.h⁻¹), SVT é sólidos voláteis totais (mg SVT), ΔP_{CH_4} é a produção acumulada de CH₄ (mL) e Δt é o intervalo de tempo (h).

2.6 Métodos analíticos

Os métodos analíticos usados para as análises dos parâmetros iniciais e os resultados dos experimentos são apresentados na Tabela 2. Todas as análises estão de acordo com a metodologia estabelecidas no APHA (1995).

Tabela 2. Metodologias e ensaios utilizados

Parâmetros	Metodologias / Equipamentos
Sólidos totais	SMEWW-Method 3030-E/3111-B
DQO	SMEWW- titrimetric method with closed reflux 5520C
Potencial de oxi-redução	Combined platinum electrode Pt4805-SC-DPAS-K8S of Mettler-Toledo
pH	Combined platinum electrode 405-DPAS-SC-K8 of Mettler-Toledo
Ácidos voláteis	Gas chromatography, Shimadzu GC 2010 plus with column FID DANI DN-FFAP 11448
Composição do biogás	Gas chromatography, DaniMaster AS with column CarboxenTM 1006 PLOT Capillary Column (30 m x 0,53 mm), with a thermal conductivity detector (TCD), using nitrogen gas ultra pure as carrier gas

*SMEWW: Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2012), 22ND Edition.

O biogás produzido foi medido pelo método de deslocamento de líquido, o qual também tem sido utilizado por outros autores (BUDIYONO et al., 2010a; SYAICHURROZI et al., 2013; YUSUF, IFY, 2011). Água alcalinizada foi utilizada para absorção do gás carbônico, o que permite somente o deslocamento da água por metano. Após, o volume de metano produzido foi normalizado para temperatura de 20°C e pressão de 1 atm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade Metanogênica Específica

Os testes de atividade metanogênica específica (AME) com diferentes concentrações de sulfeto indicaram que os valores de AME são declinantes com o aumento da concentração do íon S^{2-} . O aumento da concentração de sulfeto afetou consideravelmente o desempenho das arqueas metanogênicas em ambos os valores de pH estudados. A maior inibição foi observada nos ensaios realizados em pH igual a 7,5, como pode ser analisado nos resultados obtidos e apresentados na Figura 1.

Com concentração de 50 $mg\ S^{2-}\cdot L^{-1}$ de sulfeto houve uma inibição da AME de 37,8% para pH 7,0 e de 67,01% para pH de 7,5. Estes resultados estão de acordo com aqueles referenciados por Rinzena e Lettinga (1988), onde com concentração de 50 $mg\ S^{2-}\cdot L^{-1}$ foi observada uma inibição significativa. Nos estudos de Souza (1984), as concentrações entre 50 a 100 $mg\ S^{2-}\cdot L^{-1}$ foram consideradas toleráveis.

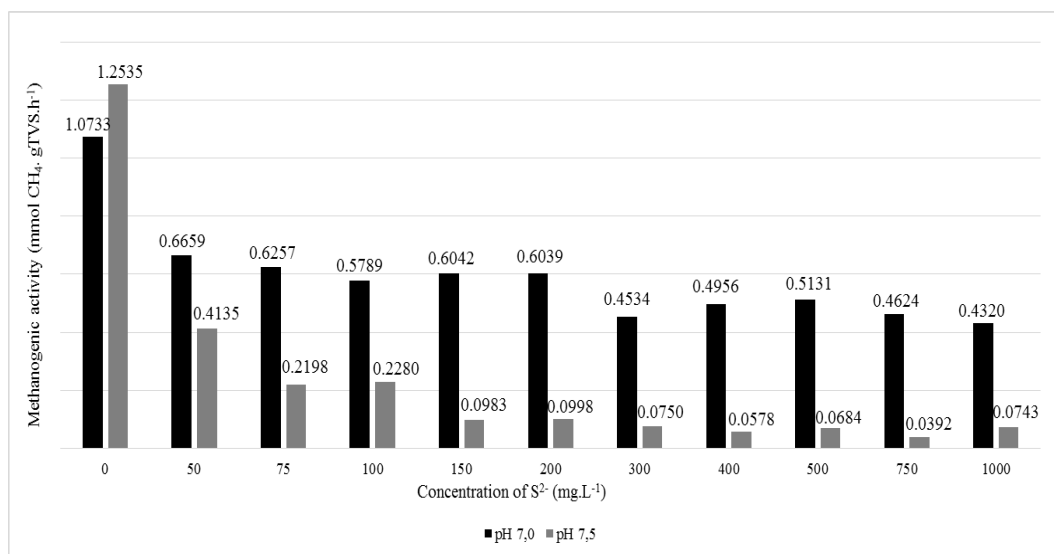


Figura 2. Resultados obtidos de atividade metanogênica específica para os ensaios com pH 7,0 e 7,5, em concentrações do íon S^{2-} entre 0 a 1000 $mg\ S^{2-}\cdot L^{-1}$

Para Winifrey e Zeikus (1977) uma concentração de 340 $mg\ S^{2-}\cdot L^{-1}$ inibiu completamente a produção de metano. Já, os resultados obtidos neste artigo, a uma concentração de 300 $mg\ S^{2-}\cdot L^{-1}$, a inibição foi de 57,8% a pH 7,0 e de 94% a pH 7,5. Estes resultados demonstram a influência do valor de pH no comportamento de compostos tóxicos, visto que para pH de 7,5 a inibição foi praticamente total o que está praticamente de acordo com os resultados encontrados por Winifrey e Zeikus (1977). Resultados similares foram encontrados por Khan e Trottier (1978), onde relatam que uma concentração de 290 $mg\ S^{2-}\cdot L^{-1}$ inibe a digestão anaeróbia.

Koster et al. (1986), encontrou em seus estudos uma inibição de 50% com concentração de 250 mg $S^{2-} \cdot L^{-1}$. Neste trabalho, as concentrações de sulfeto mais próximas a este valor testadas foram de 200 mg. L^{-1} e de 300 mg. L^{-1} para pH igual, com inibições de 43,7% e 57,8% respectivamente. Através de interpolação, pode-se avaliar que para uma concentração de 250 mg. L^{-1} , os resultados são muito similares, alcançando uma redução da AME de 50,7%.

Como observado por Parkin e Speece (1983), concentrações de 100 a 150 mg $S^{2-} \cdot L^{-1}$ conduziram a uma grave inibição em pH 6,8, como também constatado nos ensaios. Inibições nessas mesmas faixas de concentração, representaram 46,1% e 43,7% de redução da atividade metanogênica em pH 7,0. Para os autores Parkin et al. (1990), ocorreram inibições em concentrações de 100 a 800 mg. L^{-1} por sulfeto solúvel. Quando comparado com os resultados avaliados em valor de pH 7,0, em uma concentração de 50 mg $S^{2-} \cdot L^{-1}$ já se teve uma inibição de 37,8% da AME.

Kroiss e Plahl-Wabnegg (1983), descrevem em seu artigo que em pH 7,0 a concentração de H_2S e de HS^- é de 50%, já para pH 7,5 é de 75% de HS^- e 25% como H_2S . Isso pode explicar a maior toxicidade para os ensaios com o pH 7,5. O sulfeto de hidrogênio na forma de gás, 50% dele, acaba sendo arrastado juntamente com o biogás formado no reator em pH 7,0, o que o torna menor inibidor no processo. Para o pH 7,5 onde se tem 75% de HS^- e esse por sua vez não acaba sendo arrastado para fora do reator, permanecendo dissolvido no líquido, ocasiona a maior toxicidade na digestão anaeróbia. O pH 7,5 se afasta da condição ótima para acidogênese (5,5 a 6,5) e com o aumento de HS^- no meio, se torna tóxico para o processo e inibe o crescimento das arqueas metanogênicas.

3.2 Remoção da carga orgânica

A inibição por sulfetos também implica na remoção da carga orgânica no processo. Para pH 7,0 a remoção de DQO para a condição sem adição de nenhuma concentração de S^{2-} foi de 93,3%, alcançando uma remoção de 49,14% com concentrações de 1000 mg $S^{2-} \cdot L^{-1}$. Com pH 7,5 a remoção da DQO se aproxima quase a zero, obtendo uma remoção de DQO de 80,7% sem concentrações de S^{2-} até uma remoção de 9,6% com concentração de 1000 mg $S^{2-} \cdot L^{-1}$. A tendência mostrada na Figura 3 é de um decaimento acentuado para os dois valores de pH avaliados. Em pH 7,0 e 7,5 ocorre uma variação até concentração de 400 mg $S^{2-} \cdot L^{-1}$, nesse período o processo se demonstra mais instável sem representar uma uniformidade nos resultados. O que não ocorre em concentrações superiores de 400 mg $S^{2-} \cdot L^{-1}$, apresentando resultados constantes de redução de DQO. Os resultados de remoção de DQO estão inversamente correlacionados estatisticamente com o aumento da relação de S^{2-} . Em pH 7,0 o índice de correlação é de -0,84 e para pH 7,5 de -0,88.

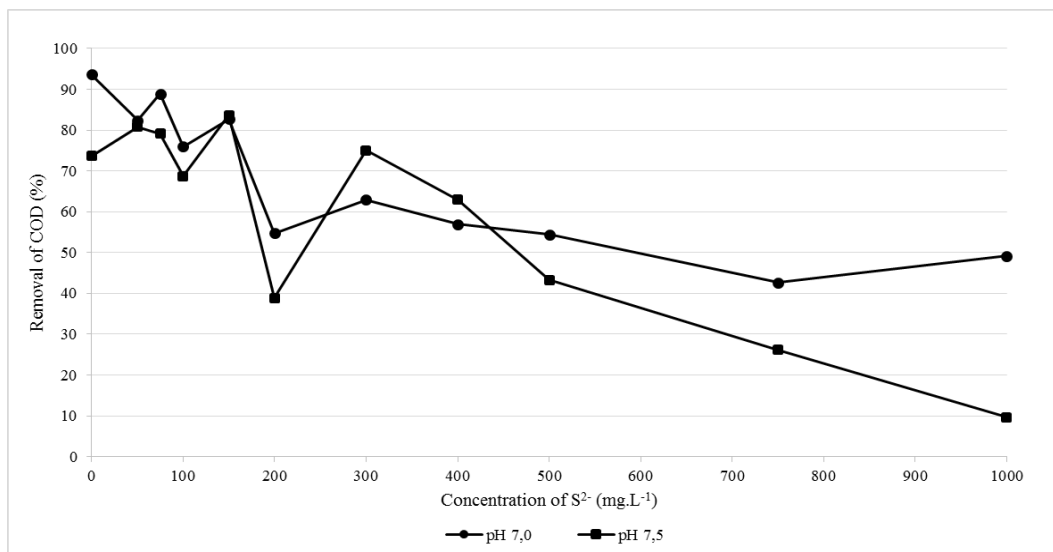


Figura 3. Remoção de DQO para cada concentração testada de S²⁻ e valores de pH 7,0 e 7,5

3.3 Redução da Atividade Metanogênica Específica

O comportamento da redução da AME, Figura 4, com o aumento da concentração de sulfeto é semelhante em ambos os valores de pH estudados. Porém, em pH 7,5 ocorre reduções mais elevadas. As concentrações de 50, 75 e 100 mg S²⁻.L⁻¹ de S²⁻ testadas inicialmente, para os dois valores de pH avaliados promoveram o maior incremento de redução da AME. Quando observados em pH 7,0 as reduções foram de 37,96%, 41,70% e 46,06% respectivamente para as concentrações mencionadas. Em pH 7,5 as reduções representam 67,01%, 82,47% e 81,81% respectivamente para as mesmas concentrações. A partir da concentração de 150 mg S²⁻.L⁻¹ para pH 7,0 o incremento da redução da redução da AME é mínima, tendendo a um valor médio de 52,56%, obtendo em concentração de 1000 mg S²⁻.L⁻¹ uma redução de 59,75%.

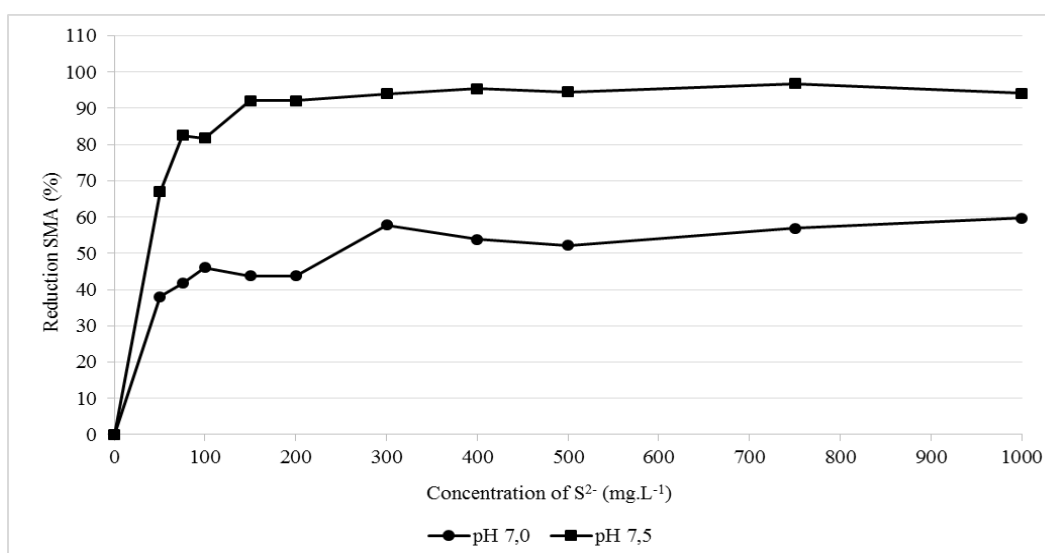


Figura 4. Redução da AME para cada concentração testada de S²⁻ e para os valores de pH 7,0 e 7,5

Para o valor de pH de 7,5, as reduções a partir da concentração de $150 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ já demonstram um efeito constante em relação a redução da AME. A redução da AME a partir desta concentração de sulfeto variou muito pouco, no entorno de 94,15 %, alcançando em concentração de $1000 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ uma redução de 94,07%, demonstrando que praticamente não ocorre atividade metanogênica nessa concentração.

3.4 Inibição na digestão anaeróbia da vinhaça

Com as concentrações encontradas na literatura para sulfatos na vinhaça (1300 a $5000 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) e da equação do processo de redução global do enxofre (Equação 1), é possível saber a máxima e a mínima concentração de sulfeto que pode estar presente na digestão anaeróbia da vinhaça, e assim, através dos resultados obtidos neste artigo, verificar a inibição esperada do processo. Se tratando da menor concentração encontrada na literatura de $1300 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, a conversão a sulfetos é na ordem de $430 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, sendo esperando mediante os resultados obtidos por interpolação, uma inibição de 51,1% da atividade metanogênica. Se considerado a concentração mais alta na literatura de $5000 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, a concentração esperada de sulfetos corresponderia a $1667 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, o que pode resultar em uma inibição de 71,02% da atividade metanogênica. A remoção da carga orgânica no processo nessas concentrações corresponderiam a 56,7% para a concentração de $430 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e de 9,7% para a concentração de $1667 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Resultados avaliados levando em consideração os obtidos nos ensaios em valor de pH 7,0.

4. CONCLUSÕES

Todas as concentrações de sulfeto avaliadas neste artigo demonstram inibições para a atividade metanogênica. Inibições da AME para valor de pH 7,0 foram na ordem de 38,5 % a 59,8% e para valor de pH 7,5 de 67% a 94%, resultados para a menor concentração avaliada de $50 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e para a maior de $1000 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. O pH é outro fator a ser monitorado nesses sistemas, em pH 7,5 se tem maiores concentrações de HS^- dissolvido, promovendo toxicidade ao meio e inibindo o crescimento das arqueas metanogênicas. Outra constatação indesejável é a baixa remoção de DQO tratando efluentes ricos em sulfatos. Para o ensaio em valor de pH 7,0, a remoção de DQO na condição sem adição de nenhuma concentração de S^{2-} foi de 93,3%, alcançando uma remoção de 49,14% com concentrações de $1000 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. O que demonstra que sulfatos devem ser removidos de processos de digestão anaeróbia, quando se busca maiores rendimentos na produção de metano.

5. REFERÊNCIAS

1. ANP. (2016) Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Boletim do Etanol N° 06/2016. Available in: <www.anp.gov.br/?pg=79694&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&142185944140>. Rio de Janeiro: ANP.
2. BARRERA, E. L. et al. Characterization of the sulfate reduction process in the anaerobic digestion of a very high strength and sulfate rich vinasse. **Chemical Engineering Journal**, v. 248, p. 383-393, 2014.
3. BUDIYONO; SYAICHURROZII.; SUMARDIONO, S. Biogas production from bioethanol waste: the effect of pH and urea addition to biogas production rate. **Waste Tech.**, v. 1, p. 1-5, 2013.
4. BUDIYONO, I. N.; WIDIASA, S. J.; SUNARSO. The kinetic of biogas production rate from cattle manure in batch mode. **International Journal of Chemical and Biological Engineering**, v. 3, n. 1, p. 39-44, 2010.
5. COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 67, p. 29–46, 1995.
6. DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Anaerobic degradation of Synthetic wastewaters at

- different levels of sulfate and COD/Sulfate ratios in horizontal-flow anaerobic reactors (HAIB). **Environmental Engineering Science**, v. 24, n. 3, 2007.
7. FERRAZ, A. D. N. J.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. Mesophilic hydrogen production in acidogenic packed-bed reactors (APBR) using raw sugarcane vinasse as substrate: Influence of support materials. **Anaerobe**, v. 34, n. 94-105, 2015.
 8. FERREIRA, L. F. R. et al. Evaluation of sugar-cane vinasse treated with *Pleurotus sajor-caju* utilizing aquatic organisms as toxicological indicators. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 1, p. 132–137, 2011.
 9. GIBERT, O.; PABLO, J.; CORTINA, J. L.; AYORA, C. Treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria using permeable reactive barriers: A review from laboratory to full-scale experiments. **Environmental Science & Bio/Technology**, v. 1, p. 327–333, 2002.
 10. GOYAL, S. K.; SETH, R.; HANDA, B. K. Diphasic fixed-film biomethanation of distillery spentwash. **Bioresource Technology**, v. 56, n. 2-3, p. 239–244, 1996.
 11. HARADA, H.; UEMURA, S.; MONOMOI, K. Interactions between sulphate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulphate. **Water Res.**, v. 28, p. 355–367, 1994.
 12. HATI, K. M. et al. Soil properties and crop yields on a vertisol in India with application of distillery effluent. **Soil and Tillage Research**, v. 92, n. 1-2, p. 60–68, 2007.
 13. JANKE, L. et al. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresource Technology**, v. 217, p. 10-20, 2016.
 14. KHAN, A. W.; TROTTIER, T. M. Effect of sulfur-containing compounds on anaerobic degradation of cellulose to methane by mixed cultures obtained from sewage sludge. **Environmental Microbiology**, n. 6, v. 35, p. 1027-1034, 1978.
 15. KOSTER, I. W. et al. Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH levels. **Water Res.**, v. 20, p. 1561–1567, 1986.
 16. KROISS, H.; PLAHL-WABNEG, F. Sulfide Toxicity with anaerobic waste water treatment. Anaerobic waste water treatment - Proceedings of the European Symposium, 1983.
 17. LIAMLEAM, W.; ANNACHATRE, A. P. Electron donors for biological sulfate reduction. **Biotechnology Advances**, n. 25, p. 452-463, 2007.
 18. O'FLAHERTY, V.; MAHONY, T.; O'KENNEDY, R.; COLLERAN, E. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. **Process Biochem**, v. 33, p. 555-569, 1998.
 19. PARKIN, G. F.; SPEECE, R. E. Attached versus suspended growth anaerobic reactors: response to toxic substances. **Water Sci Technol**, v. 15, p. 261–289, 1983.
 20. PARKIN, G. F. et al. Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate. **Res. J. Water Pollut. Control Fed.**, v. 62, p. 780–788, 1990.
 21. RAIS, M.; SHEORAN, A. Treatment of Sugarcane Technology issues Effluents : Major Producing States in India. v. 5, n. 1, p. 11–19, 2015.
 22. RINZEMA, A.; LETTINGA, G. (1988). The Effect of Sulfide on The Anaerobic Degradation of Propionate. **Environ. Technol. Lett**, v. 9, p. 83, 1988.
 23. SOUZA, M. E. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. **Revista DAE**, n. 137, v. 44, p. 88-94, 1984.
 24. SYAICHURROZI, I.; BUDIYONO; SUMARDIONO, S. Predicting kinetic model of biogas production and biodegradability organic materials: Biogas production from vinasse at variation of COD/N ratio. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 390-397, 2013.
 25. WINIFREY, M. R.; ZEIKUS, J. G. Effect of sulfate on carbon and electron flow during microbial methanogenesis in fresh water sediments. **Env. Microbiology**, v. 33, p. 275-281, 1977.
 26. YUAN, H; ZHU, N. Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 429-438, 2016.
 27. YUSUF, M. O. L.; IFY, N. L. The effect of waste paper on the kinetics of biogas yield from the co-digestion of cow dung and water hyacinth. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 1345-1351, 2011.

5.3. ETAPA 3

Para a ETAPA 3, que avalia melhores condições de processo da acidogênese em condições de valores de pH diferentes, segue artigo.

Desempenho comparativo da acidogênese para diferentes valores de pH na digestão anaeróbia da vinhaça

Vanessa V. Peruzzo*, Ana Paula R. Torres** and M. P. de Souza** Lademir L. Beal*

* Laboratório de Tecnologias Ambientais, Universidade de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, BR
(E-mail: vanessa.eng@hotmail.com, llbeal@ucs.br)

**Research and Development Center Leopoldo Américo Miguez de Mello, Petrobras, BR
(E-mail: aptorres@petrobras.com.br, mpsouza@petrobras.com.br)

Resumo

Os resíduos agroindustriais são ótimas opções para a produção de energia. Um resíduo que se destaca é a vinhaça, pela elevada DQO em sua composição e com grande potencial de produção de metano. O objetivo deste estudo foi investigar o pH ótimo para a fermentação acidogênica da vinhaça, para posterior processo metanogênico com alto rendimento. Foram avaliadas quatro condições de pH diferentes, 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5, em reatores em batelada anaeróbios. Os resultados mostram que o ácido propiônico aparece em maiores concentrações, alcançando 1477,23 mg $C_3H_6O_2.L^{-1}$ em pH 5,5. As maiores taxas de produções de AGV foram para pH 6,5, obtendo-se 8,82 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ e 7,99 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ para ácido propiônico e acético respectivamente. A metanogênese esteve presente em todos os experimentos avaliados, com um volume de produção de 2210 mL CH₄ a 7620 mL CH₄. A máxima conversão de DQO em ácidos sempre ocorreu no tempo em que houve a maior produção de ácidos graxos voláteis. Em valor de pH 5,0, ocorre a maior conversão de 3229,87 mg O₂.L⁻¹ em 56,33 h do início do processo. As ordens de conversões para os demais valores de pH avaliados foram de 2085,21 mg O₂.L⁻¹ em 31,18 h de processo, de 1469,51 mg O₂.L⁻¹ em 28,58 h e de 1688,307 mg O₂.L⁻¹ em 2,17 h, respectivamente para os valores de pH 5,5, 6,0 e 6,5.

Palavras-chave

acidogenic; digestion anaerobic; acidic composition; acidic production; vinasse; methane

1. INTRODUÇÃO

A ANP (2016), diante de seu levantamento realizado em 2015, aponta uma produção média de 429,3 milhões de metros cúbicos de vinhaça. Esse resíduo é proveniente da fabricação do etanol e para o mesmo ano foi alcançado uma produtividade de 31,8 milhões de metros cúbicos desse álcool. A digestão anaeróbia é uma opção viável para o processamento de resíduos líquidos, como a vinhaça, que através de seu tratamento é possível a obtenção de uma fonte de energia renovável, o biogás.

Na digestão anaeróbia, a hidrólise é responsável pelo processo extracelular, mediado pelas enzimas excretadas pelas bactérias, onde os compostos orgânicos de cadeias complexas são

transformados, via enzimática, a complexos menores e assim então são metabolizados. Este metabolismo, realizado pelas bactérias acidogênicas, utiliza parte da matéria orgânica para síntese de novas células e outra parte é transformada em compostos orgânicos de cadeia carbonada menor. Estes por sua vez, são biologicamente oxidados e convertidos em ácidos orgânicos, por bactérias anaeróbias facultativas e estrictas. Essas substâncias são os principais substratos para a última fase, da metanogênese, onde o metano é formado.

No processo de digestão anaeróbia, incluindo a acidogênese, ocorre a influência de muitos parâmetros. Estes parâmetros são, entre outros, a temperatura, pH, carga orgânica, composição do substrato e inóculo (AARLE, 2015). O pH pode afetar o tipo de AGV que são produzidos a partir da fermentação acidogênica, em particular ácido acético, propiônico e butírico. Isto pode ser causado pela mudança nas populações microbianas dominantes. Lee et al. (2014) sugerem que o pH ideal para a produção de um AGV específico é altamente dependente do tipo de resíduos utilizados. Numerosas observações relacionadas à digestão anaeróbia de resíduos sugerem que a presença de, ou concentrações elevadas, de ácidos orgânicos voláteis têm uma correlação direta com o desempenho do digestor. Para diversos autores, níveis de ácido propiônico aumentam as falhas em digestores anaeróbios (PULLAMMANAPPALLIL, 2001).

O processo acidogênico é o passo determinante da velocidade num sistema de digestão, e o seu controle é necessário para se conseguir um elevado desempenho na fase metanogênica.

Estudos apontam que a faixa ótima para a acidogênese é na faixa de pH entre 5,5 e 6,5 (OH; PARK; HAN, 2017; OGEJO et al., 2009; WARD et al., 2008). Este estudo tem como objetivo analisar o processo acidogênico para que ocorra um incremento da metanogênese e uma maior produção de metano por meio da vinhaça da cana-de-açúcar. Para isso, reatores em batelada mesofílicos foram utilizados em quatro diferentes experimentos. Foram avaliados os valores de pH de 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5, com controle da temperatura, de pH e de ORP.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Equipamentos

Os testes foram conduzidos em reator de bancada com volume total de 7,5 L da marca New Brunswick BioFlo/CelliGen 115 (Figura 9). O reator foi operado a um volume útil de 5 L e a agitação foi fornecida por seis pás planas. O reator contém um conjunto com quatro chicanas equidistantes, com 20 mm de largura cada uma.

A unidade de controle do equipamento permitiu a determinação e manutenção dos parâmetros, tais como pH, temperatura e ORP (potencial de oxi-redução).

Para a quantificação do gás produzido, reservatórios com capacidade de 8 a 10 L foram utilizados. E para o metano produzido, foi utilizado provetas de 1000 mL situadas abaixo do reservatório.

2.2 Características do inóculo

Um lodo granular anaeróbio com boa capacidade de produção de metano (elevada Atividade Metanogênica Específica - AME), obtido de um reator UASB de tratamento de efluentes de uma indústria de alimentos e bebidas localizada na cidade de Esteio/RS foi utilizado como inóculo no fermentador. A concentração de SVT do lodo obtido foi de 90.300 mg.L⁻¹. A partir do balanço de massa foi fixado um volume de 740,30 mL para todos os ensaios.

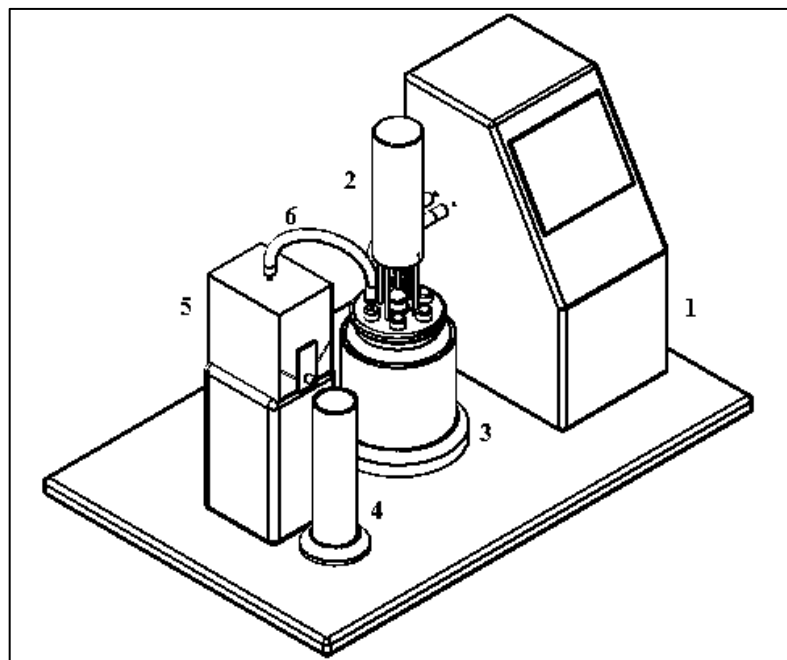


Figura 1. Unidade experimental utilizada para realização dos ensaios, composta por fermentador, painel de comando e controle e reservatório com água alcalina (pH 12). (1) painel de controle de entrada e saída de dados; (2) agitador mecânico; (3) fermentador em batelada; (4) proveta para quantificação do volume de gás produzido; (5) reservatório de água; (6) mangueira de passagem do gás.

2.3 Características do substrato

A vinhaça utilizada como substrato foi obtida na etapa de destilação do álcool, proveniente da Usina de etanol Guarani (Unidade Industrial Andrade – Pitangueiras/SP). Os lotes contendo vinhaça foram acondicionados em câmara fria, com temperatura máxima de 4 °C.

As análises físico-químicas de caracterização da vinhaça estão descritas na Tabela 1. Todas as análises realizadas seguiram a metodologia estabelecida no APHA (2012).

Tabela 1. Parâmetros analisados da vinhaça da cana-de-açúcar

Parâmetros analisados	Resultados
Cálcio total (mg Ca.L ⁻¹)	364,80
DBO (mg O.L ⁻¹)	15.637,5
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	22.726,4
Fósforo total (mg P.L ⁻¹)	58,8
pH	4,1
Magnésio total (mg Mg.L ⁻¹)	169,9
Nitrogênio Total Kjeldahl (mg NH ₃ -N.L ⁻¹)	394,7
Potássio (mg K.L ⁻¹)	2.537,7
Sódio (mg Na.L ⁻¹)	50,5
Sulfetos (mg S ₂ .L ⁻¹)	n.d.

n.d.: não determinado

2.4 Condições de operação

Foram avaliadas quatro condições de pH diferentes, 5, 5,5, 6,0 e 6,5. O pH foi controlado pela adição de NaOH 6 N e H₂SO₄ 1 N com uma variação de 0,5 unidades de pH.

O volume útil do fermentador em todos os experimentos foi composto de biomassa (lodo anaeróbio), de substrato (vinhaça da cana-de-açúcar) e completado com água potável a 5 L. O volume do *headspace* foi 2,5 L, totalizando o volume do fermentador de 7,5 L.

A biomassa juntamente com a água potável foi mantida em ambientação por um período de 24 h e temperatura de 35 °C, para que ocorresse o esgotamento da matéria orgânica presente no meio antes da adição da vinhaça.

O fermentador foi alimentado com uma relação A/M de 1 kg DQO.kgSVT⁻¹ e uma concentração inicial de DQO de 10 kg DQO.m⁻³.

2.5 Métodos analíticos

Os métodos analíticos usados para as análises dos parâmetros iniciais e os resultados dos experimentos são apresentados na Tabela 2. Todas as análises estão de acordo com a metodologia estabelecidas no APHA (2012).

Tabela 2. Metodologias e ensaios utilizados

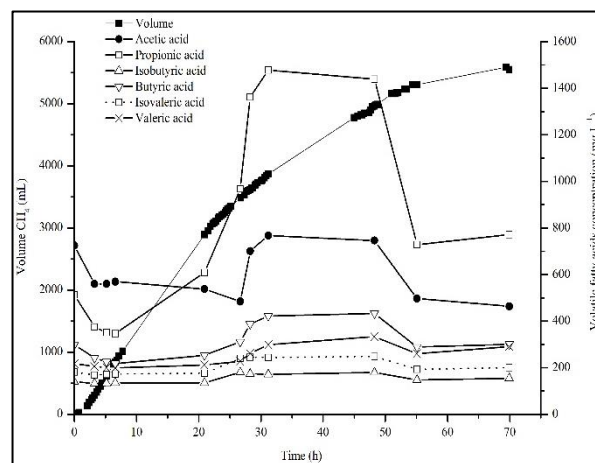
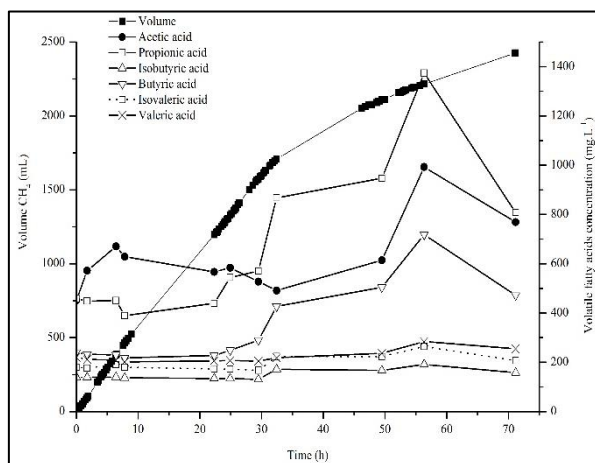
Parâmetros	Metodologias / Equipamentos
Sólidos totais	SMEWW-Method 3030-E/3111-B
DQO	SMEWW- titrimetric method with closed reflux 5520C
Potencial de oxi-redução	Combined platinum electrode Pt4805-SC-DPAS-K8S of Mettler-Toledo
pH	Combined platinum electrode 405-DPAS-SC-K8 of Mettler-Toledo
Ácidos voláteis	Gas chromatography, Shimadzu GC 2010 plus with column FID DANI DN-FFAP 11448
Composição do biogás	Gas chromatography, DaniMaster AS with column Carboxen TM 1006 PLOT Capillary Column (30 m x 0,53 mm), with a thermal conductivity detector (TCD), using nitrogen gas ultra pure as carrier gas

*SMEWW: Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2012), 22nd Edition.

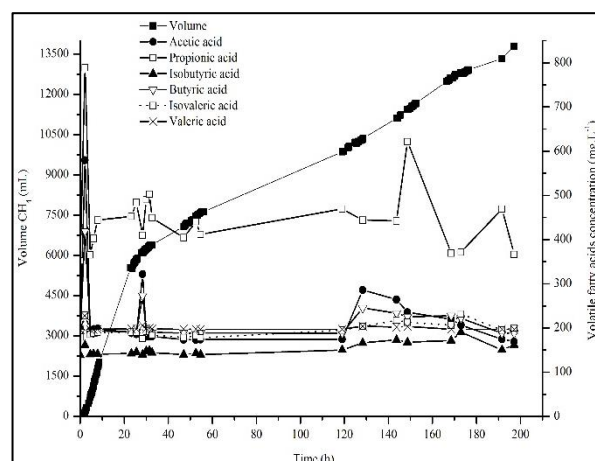
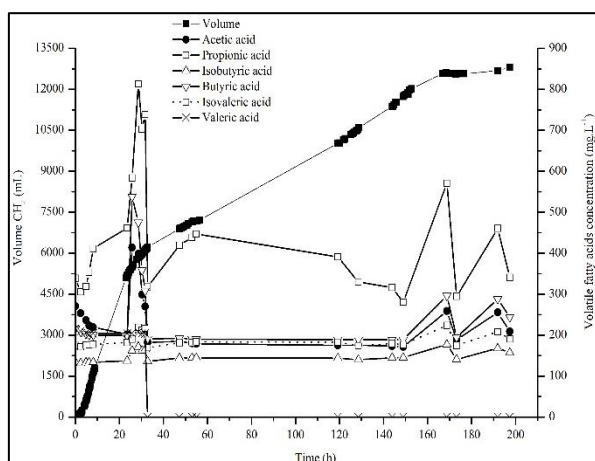
O biogás produzido foi medido pelo método de deslocamento de líquido o qual também tem sido utilizado por outros autores (BUDIYONO et al., 2010a; SYAICHURROZI et al., 2013; YUSUF, IFY, 2011), sendo utilizada água alcalinizada para absorção do gás carbônico, o que permite somente o deslocamento da água por metano. Após, o volume de metano produzido foi normalizado para temperatura de 20°C e pressão de 1 atm.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Concentrações de ácidos graxos voláteis



Figuras 2 e 3. Concentrações de ácidos graxos voláteis em relação ao tempo para o experimento com pH 5,0 e 5,5



Figuras 4 e 5. Concentrações de ácidos graxos voláteis em relação ao tempo para o experimento com pH 6,0 e 6,5

Para as quatro condições de pH estudadas, Figuras 2 a 5, é possível observar que para todos os casos o ácido que sempre se encontra em maiores concentrações é o ácido propiônico. Em pH 5,0 e 5,5, suas concentrações alcançaram 1.374,66 e 1.477,23 mg.L^{-1} respectivamente. Já para valores de pH 6,0 e 6,5, suas concentrações foram mais baixas, com concentrações de 813,20 e 788,63 mg.L^{-1} . Esses valores encontrados podem ser comparados com Chen et al. (2015). Em seus estudos, no tratamento de resíduos alimentares e palha de arroz, regulando a ORP do processo, encontraram uma concentração de 1000 mg.L^{-1} . E quando, no mesmo estudo, passaram a regular o pH do processo entre 3,5 a 6,0, as concentrações se aproximaram de zero para ácido propiônico.

O segundo ácido que aparece em maiores concentrações é o ácido acético para todos os valores de pH estudados. Concentrações de 993,05 e 767,80 mg.L^{-1} em pH 5,0 e 5,5 respectivamente.

Para pH superiores de 6,0 e 6,5 foi encontrado concentrações menores de 413,77 e 579,26 mg.L⁻¹.

As concentrações de AGV também podem ser comparadas com as obtidas por Ferraz et al. (2015). Em suas pesquisas, trabalharam com produção de hidrogênio em reatores acidogênicos mesofílicos, tratando a vinhaça. O pH avaliado no estudo foi inferior a 6,5, alcançando concentrações máximas de 1480 mg.L⁻¹ para ácido propiônico e de 1790 mg.L⁻¹ para ácido acético. Valores esses que se assemelham com o do ácido propiônico analisado neste artigo, com concentração máxima de 1.477,23 mg.L⁻¹. E já para o ácido acético, uma concentração máxima de 993,05 mg.L⁻¹ foi encontrada, sendo um resultado inferior quando comparado.

Pullammanappallil et al. (2001), estudaram sobre desempenho da digestão anaeróbia na presença de uma elevada concentração de ácido propiônico. Relatam, através da citação de outros autores, que a proporção de ácido propiônico para ácido acético pode ser utilizada como um indicador do desequilíbrio do digestor. Uma relação superior a 1,4 indica uma falha iminente e a presença de isoácidos são bons indicadores do início da instabilidade do digestor. Quando analisado essas considerações com o presente estudo realizado neste artigo, a relação estabelecida no tempo em que ocorreu a máxima produção dos ácidos acético e propiônico foi de 1,38 para pH 5,0, de 1,92 para pH 5,5, de 1,97 para pH 6,0 e de 1,36 para pH 6,5. Isso demonstra que a relação limite esteve bem próxima de ser alcançada e bem superior em pH 5,5 e 6,0. A presença de isoácidos como observadas nas Figuras 2 a 5, também demonstram uma indesejável constatação. As relações encontradas pelos autores Pullammanappallil et al. (2001), entre ácido propiônico e ácido acético foi superior ao limite e detectou uma concentração máxima de ácido propiônico de 2750 mg.L⁻¹ em pH inferior a 6,5 sem prejudicar o processo anaeróbio. Aborda ainda, que para outros autores até 8000 mg.L⁻¹ de ácido propiônico podem ser tolerados.

Quando comparados os quatro experimentos avaliados e visando o processo metanogênico, o processo acidogênico em valor de pH 5,5 demonstra ser mais atrativo. Atingiu em 31 horas de processo a maior concentração de ácido propiônico de 1.477,23 mg.L⁻¹ e em segundo para ácido acético de 767,80 mg.L⁻¹. Antes de ser degradados em metano, todos os AGV são primeiramente degradados a ácido acético, e suas taxas de conversão variam na ordem de etanol, ácido butírico e ácido propiônico.

Como observado nas Figuras de 2 a 5 é possível perceber que desde o início do processo de fermentação a metanogênese esteve presente. Para nenhum pH avaliado a acidogênese ocorreu isoladamente. Uma boa acidificação teria limitado o consumo metanogênico de AGV e DQO (item 3.3) como resultado de condições ácidas desfavoráveis para populações metanogênicas, resultando em maiores rendimentos líquidos de AGV. Para Aarle et al. (2015) vários fatores poderiam ser responsáveis por isso, como, o pH regulado em 5, 5,5, 6,0 e 6,5 não foi tão ácido o suficiente para inibir completamente a atividade metanogênica, uma carga orgânica

relativamente baixa e o uso de inóculo que era muito rico em metanógenos e não pré-tratados contra a sua atividade.

3.2 Produção de AGV

Wang, Zhou e Li (2006), trataram águas residuais orgânicas de uma refinaria de açúcar de beterraba em reatores acidogênicos, encontraram uma produção máxima de ácido propiônico de $1407,4 \text{ mg.L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em pH 5,5. Para o presente estudo, também em pH 5,5, é obtido uma produção de $1136,33 \text{ mg.L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, o que representa um resultado de 81% quando comparado com o valor encontrado pelos autores.

A taxa de produção específica de ácidos graxos voláteis também foi obtida (Equação 1), o que gerou um gráfico, representado através da Figura 6.

$$TPE = \frac{[\text{ácido}]}{t \cdot m_{SVT}} \quad (1)$$

onde, TPE é taxa de produção específica de ácidos graxos voláteis ($\text{mmol.d}^{-1} \text{ gSVT}^{-1}$); [ácido] é a concentração do ácido (mmol); t é o tempo (d) e mSVT é a massa de sólidos voláteis totais (gSVT).

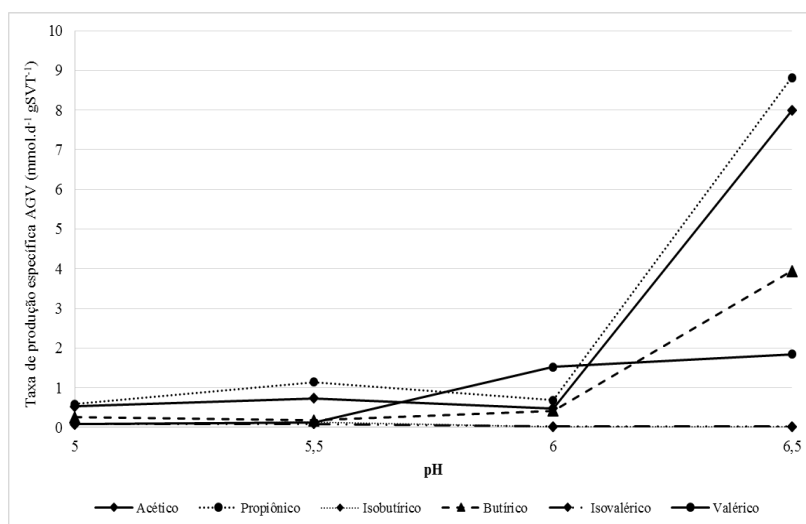


Figura 6. Taxa de produção específica de ácidos graxos voláteis para os experimentos com pH 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5

Com a Figura 6 é possível observar que as maiores taxas de produção foram em pH 6,5, alcançando para o ácido propiônico $8,82 \text{ mmol.d}^{-1} \text{ gSVT}^{-1}$ e $7,99 \text{ mmol.d}^{-1} \text{ gSVT}^{-1}$ para ácido acético. Esses valores representam 86,98% para propiônico e 90,79% para ácido acético quando comparados com o pH 5,5. Maiores concentrações desses ácidos foram encontradas em pH 5,0 e 5,5, porém se analisarmos em produção, o pH 6,5 se destaca.

3.3 Produção de metano e conversão de DQO

Com as Figuras 2 a 5 é possível ainda analisar a produção de metano ao longo de cada experimento avaliado. Se avaliadas as primeiras 60 horas iniciais dos quatro experimentos é possível notar que a produção acumulada de metano aumenta na ordem de 2210 mL, 5300 mL,

7210 mL e 7620 mL CH₄, respectivamente para pH 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5. O que demonstra que mesmo não sendo a faixa ótima de pH para as arqueas metanogênicas, ocorre a produção de metano. Para todos os valores de pH avaliados, ocorrem nas primeiras horas a máxima produção de metano, devido ao fato de que a vinhaça possui compostos rapidamente biodegradáveis, assim esses compostos são aqueles primeiramente convertidos a metano. Esse comportamento é corroborado pelo consumo de ácidos graxos voláteis observado nas Figuras de 2 a 5. Para os experimentos em pH 5,0 e 5,5, a máxima produção de metano ocorre nas primeiras 32 e 25 horas do início dos ensaios, já para pH 6,0 e 6,5 nas primeiras 24 e 23 horas. Nesses períodos também ocorrem o consumo dos ácidos graxos voláteis dissolvidos no meio e a maior produção de ácidos após esses tempos de experimentos. Em pH 6,5, por se aproximar bastante das condições ótimas da metanogênese, ocorre ao contrário, apresentando as maiores concentrações juntamente com a máxima produção de metano. Com a Figura 7, outra relação pode ser avaliada, a conversão de DQO para formação de ácidos em cada valor de pH avaliado.

A máxima conversão de DQO em ácidos sempre ocorreu no tempo em que houve a maior produção de ácidos graxos voláteis. Observando os valores da Figura 7 é possível concluir que em valor de pH 5,0 ocorre uma conversão total de DQO de 3229,87 mg O₂.L⁻¹ para a formação de ácidos. Essa conversão foi possível em 56,33 h do início do processo. Para o valor de pH 5,5, uma conversão de 2085,21 mg O₂.L⁻¹ ocorreu em 31,18 h de processo. O ensaio em valor de pH 6,0, a conversão de 1469,51 mg O₂.L⁻¹ foi possível em 28,58 h do início do processo. Já para o valor de pH 6,5 em 2,17 h uma conversão de 1688,307 mg O₂.L⁻¹ foi alcançada.

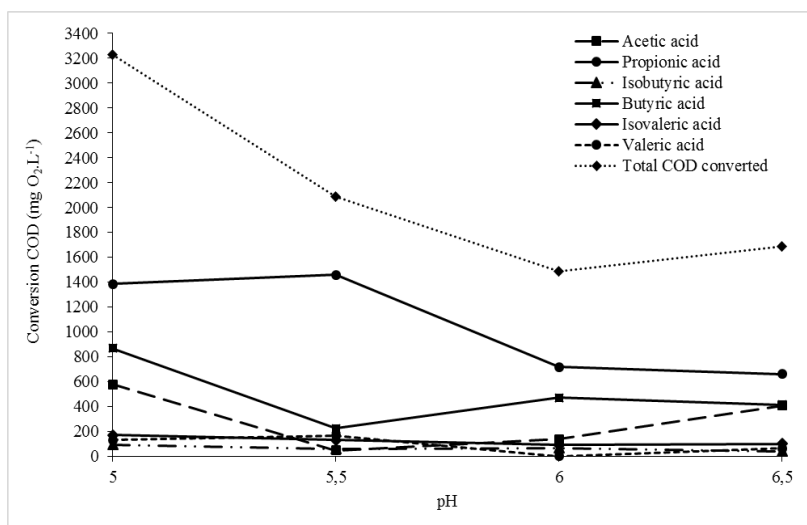


Figura 7. Conversão de DQO em ácidos para os experimentos com valores de pH 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5

É possível identificar através da Figura 7 a conversão de DQO para cada ácido identificado nas amostras. Em todos os valores de pH avaliados as maiores conversões de DQO observadas foi para síntese de ácido propiônico. Em segundo aparece o ácido butírico e em terceiro o ácido acético. Para os valores de pH mais próximos da faixa ótima da metanogênese a produção de ácidos não foi tão observada quando para os valores de pH inferiores.

4. CONCLUSÃO

O estudo da acidogênese avaliando diferentes valores de pH em processo mesofílico, remete para resultados de concentração de ácido propiônico de 1477,23 mg $C_3H_6O_2 \cdot L^{-1}$ em pH 5,5, maior concentração encontrada nos ensaios. Quando avaliadas as maiores produções de AGV, em valor de pH 6,5 obteve-se melhores resultados, com 8,82 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ e 7,99 mmol.d⁻¹ gSVT⁻¹ para ácido propiônico e acético respectivamente. A metanogênese esteve presente em todos os experimentos avaliados, o que demonstra que nenhum dos valores de pH inibiu as arqueas metanogênicas. Uma máxima produção de metano foi possível em pH 6,5 com 7620 mL CH₄. Maiores conversões de DQO em ácido ocorre em pH 5,0, porém são necessárias 56,33 h de processo, ao passo que esse tempo se reduz significativamente para os demais valores de pH. A inativação das arqueas metanogênicas antes do processo acidogênico, se esses ocorrerem em processos separados, seria uma alternativa para melhores rendimentos da acidogênese.

Referências

1. ANP. (2016) Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Boletim do Etanol N° 06/2016. Available in: <www.anp.gov.br/?pg=79694&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&142185944140>. Rio de Janeiro: ANP.
2. AARLE, I. M. V. et al. Mixed inoculum origin and lignocellulosic substrate type both influence the production of volatile fatty acids during acidogenic fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 103, p. 242-249, 2015.
3. BUDIYONO, I. N.; WIDIASA, S. J.; SUNARSO. The kinetic of biogas production rate from cattle manure in batch mode. **International Journal of Chemical and Biological Engineering**, v. 3, n. 1, p. 39-44, 2010.
4. CHEN, X. et al. Improving biomethane yield by controlling fermentation type of acidogenic phase in two-phase anaerobic co-digestion of food waste and rice straw. **Chemical Engineering Journal**, v. 273, p. 254-260, 2015.
5. FERRAZ, A. D. N. J.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. Mesophilic hydrogen production in acidogenic packed-bed reactors (APBR) using raw sugarcane vinasse as substrate: Influence of support materials. **Anaerobe**, v. 34, p. 94-105, 2015.
6. LEE, W. S. et al. A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. **Chemical Engineering Journal**, v. 235, p. 83-99, 2014.
7. OGEJO, J. A. et al. Biomethane Technology. **Virginia Cooperative Extension**, n. Publication 442-881, p. 1-11, 2009.
8. OH, Y. K.; PARK, C. H.; HAN, G. B. Enhancement of anaerobic co-digestion in acidogenic (ACIDO-DR) and methanogenic (METHA-DR) digester system. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 72, p. 149-156, 2017.
9. PULLAMMANAPPALLIL, P. C. et al. Stable performance of anaerobic digestion in the presence of a high concentration of propionic acid. **Bioresource Technology**, v. 78, p. 165-169, 2001.
10. SYAICHURROZI, I.; BUDIYONO, S.S. Predicting kinetic model of biogas production and biodegradability organic materials: Biogas production from vinasse at variation of COD/N ratio. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 390-397, 2013.
11. WARD, A. J. et al. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 7928-7940, 2008.
12. WANG, L.; ZHOU, Q.; LI, F. T. Avoiding propionic acid accumulation in the anaerobic process for biohydrogen production. **Biomass and Bioenergy**, v. 30, p. 177-182, 2006.
13. YUSUF, M. O. L.; IFY, N. L. The effect of waste paper on the kinetics of biogas yield from the co-digestion of cow dung and water hyacinth. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 1345 - 1351, 2011.

6. CONCLUSÕES

Com os ensaios realizados para a ETAPA 1, foi possível determinar que a digestão anaeróbia mesofílica (35°C) em batelada da vinhaça se mostrou eficaz na redução da carga orgânica presente e na produção de biogás, alcançando uma eficiência de 82,0% a 90,3%.

Trabalhando com uma relação de A/M de 1,7, foi possível alcançar eficiência de redução da DQO de 82% e atividade metanogênica de 0,78 mmol CH₄.gSVT⁻¹.h⁻¹.

No período de duração da máxima produção de metano, alcançou-se uma conversão de vinhaça a metano de 70,3% a 87,1%.

Não houve acúmulo de ácidos nos experimentos, indicando equilíbrio e total consumo destes, o que representa que a opção de controle de pH apresentou ótimo resultado.

Para a ETAPA 2, já foi notável a redução da atividade metanogênica com a menor concentração utilizada de 50 mg S²⁻.L⁻¹, representando reduções de 38,5% para pH 7,0 e de 67% para pH 7,5. Em maior concentração utilizada, de 1000 mg S²⁻.L⁻¹, as reduções foram superiores, representando 59,8% e 94%, para pH 7,0 e 7,5 respectivamente.

Para valor de pH 7,0 a remoção de DQO para a condição sem adição de S²⁻ foi de 93,3%, alcançando uma remoção de 49,14% com concentrações de 1000 mg S²⁻.L⁻¹.

Em valor de pH 7,5 as remoções da DQO são mais significativas, obtendo remoção de 80,7% sem concentrações de S²⁻ e remoção de 9,6% com concentração de 1000 mg S²⁻.L⁻¹.

As concentrações de 50, 75 e 100 mg S²⁻.L⁻¹ de S²⁻ testadas inicialmente, para os dois valores de pH avaliados promoveram o maior incremento de redução da AME. Em concentrações superiores esses incrementos em valor de pH 7,0 tendem a 59,75% de redução e em pH 7,5 uma redução de 94,07 %.

Com as concentrações encontradas na literatura para sulfatos na vinhaça se espera inibições de 51,1% a 71,02% da AME.

Para digestão anaeróbia da vinhaça, pH 7,0 é mais seguro para um melhor andamento do processo. Em pH 7,5 onde se tem 75% de HS⁻ e esse por sua vez não acaba sendo arrastado para fora do reator, permanecendo dissolvido no líquido, ocasiona a maior toxicidade na digestão anaeróbia.

Na última etapa, ETAPA 3, o ácido em maiores concentrações acumuladas foi o ácido propiônico, alcançando em pH 5,0 e 5,5, 1374,66 e 1477,23 mg C₃H₆O₂.L⁻¹ respectivamente.

O ácido acético aparece em concentrações de 993,05 e 767,80 mg $\text{CH}_3\text{COOH.L}^{-1}$ em pH 5,0 e 5,5. Para pH superiores de 6,0 e 6,5 foi encontrado concentrações de 413,77 e 579,26 mg $\text{CH}_3\text{COOH.L}^{-1}$.

Maiores taxas de produção de AGV foram em valor de pH 6,5. Para o ácido propiônico foi de 8,82 $\text{mmol.d}^{-1} \text{ gSVT}^{-1}$ e 7,99 $\text{mmol.d}^{-1} \text{ gSVT}^{-1}$ para ácido acético.

A produção acumulada de metano nas primeiras 60 horas foi de 2210 mL, 5300 mL, 7210 mL e 7620 mL CH_4 , respectivamente para pH 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5.

A produção de metano ocorreu em todos os valores de pH avaliados, mesmo não sendo a faixa de pH ótimo para as arqueas metanogênicas.

As conversões de DQO em AGV foram decrescendo ao longo dos ensaios e o tempo para a realização da máxima conversão também. Em valor de pH 5,0 ocorre a conversão total de DQO de 3229,87 mg $\text{O}_2.\text{L}^{-1}$ em 56,33 h de processo. Para o valor de pH 5,5, a conversão foi de 2085,21 mg $\text{O}_2.\text{L}^{-1}$ em 31,18 h. O ensaio em valor de pH 6,0, a conversão foi de 1469,51 mg $\text{O}_2.\text{L}^{-1}$ em 28,58 h. E para o valor de pH 6,5 em 2,17 h a conversão foi de 1688,307 mg $\text{O}_2.\text{L}^{-1}$.

7. RECOMENDAÇÕES

Continuar o estudo na etapa metanogênica com maiores cargas orgânicas volumétricas e relações A/M. Tendo em vista, que o melhor resultado obtido foi com a relação A/M e COV de 1,7 kg DQO. kgSVT^{-1} e 17 kg DQO. m^{-3} respectivamente.

Para alcançar melhores rendimentos na produção de metano através da digestão anaeróbia da vinhaça, meios de remoção de sulfeto devem ser avaliados. Avaliar quais seriam esses meios e garantir que não ocorra a inibição da metanogênese como o estudo demonstra.

Para garantir as melhores condições ambientais exigidas para a etapa acidogênica e para a metanogênica, testes em reatores separados (um acidogênico e outro metanogênico) devem ser avaliados.

A inativação das arqueas metanogênicas para o processo acidogênico também demonstra uma alternativa para melhores rendimentos dessa etapa. Uma biomassa com características mais ácidas, já que a biomassa utilizada nesta pesquisa era de um reator anaeróbio, também seria uma proposta.

REFERÊNCIAS

- AARLE, I. M. V. et al. Mixed inoculum origin and lignocellulosic substrate type both influence the production of volatile fatty acids during acidogenic fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 103, p. 242-249, 2015.
- ABREU, F. C.; COELHO, S. T.; VELÁSQUEZ, S. M. S. G; SILVA, O. C.; PECORA, V. Geração de energia elétrica a partir de biogás proveniente do tratamento de esgoto utilizando microturbina a gás. Instituto de Eletrotécnica e Energia - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- ACHARYA, B. K.; MOHANA, S.; MADAMWAR, D. Anaerobic treatment of distillery spent wash - A study on upflow anaerobic fixed film bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4621–4626, 2008.
- AGLER, M. T. et al. Thermophilic anaerobic digestion to increase the net energy balance of corn grain ethanol. **Environmental science & technology**, v. 42, n. 17, p. 6723–6729, 2008.
- AHRING, B. K.; SANDBERG, M.; ANGELIDAKI, I. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 559–565, 1995.
- ALTAS, L. Inhibitory effect of heavy metals on methane-producing anaerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 1551–1556, 2009.
- AL-HAMAMRE, Z. et al. Wastes and biomass materials as sustainable-renewable energy resources for Jordan. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 67, p. 295–314, 2016.
- ANGELIS-DIMAKIS, A. et al. Methods and tools to evaluate the availability of renewable energy sources. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 2, p. 1182–1200, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12209: Projeto de estações de tratamento de esgoto sanitário**. Rio de Janeiro: ABNT, 1992.
- _____. **NBR 7229: Projeto, construção e operação de sistemas de tanques sépticos**. Rio de Janeiro: ABNT, 1993.
- _____. **NBR 13969: Tanques sépticos - Unidades de tratamento complementar e disposição final dos efluentes líquidos - Projeto , construção e operação**. Rio de Janeiro: ABNT, 1997.
- APHA, 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Ed.: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Washington, DC.
- AQUINO, A F.; BIDÔ, É. S.; OLIVEIRA, M. L. M. G. V. N. O etanol da cana de açúcar: possibilidades energéticas da região de Ceará-Mirim-RN. v. 01, p. 105–125, 2014.

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

ASAITHAMBI, P. et al. Ozone assisted electrocoagulation for the treatment of distillery effluent. **Desalination**, v. 297, p. 1–7, 2012.

BAEZ-SMITH, C. Anaerobic Digestion of Vinasse for the Production Of Methane in the Sugar Cane Distillery. **SPRI Conference on Sugar Processing**, p. 268–287, 2006.

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL – BNDES. Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. 1 ed. Rio de Janeiro: BNDES, 2008.

BARRERA, E. et al. Characterization of the sulfate reduction process in the anaerobic digestion of a very high strength and sulfate rich vinasse. **Chemical Engineering Journal**, n. 248, p. 383-393, 2014.

BEAL, L. L. **Tratamento anaeróbio de efluente de curtume de acabamento associado à membranas de micro e ultrafiltração**. 2004. 313 f. Tese (Doutorado Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul 2004.

BIČÁKOVÁ, O.; STRAKA, P. Production of hydrogen from renewable resources and its effectiveness. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 16, p. 11563–11578 2012.

BOONE, D. R.; XUN, L. Effects of pH, Temperature, and Nutrients on Propionate Degradation by a Methanogenic Enrichment Culture. **Applied and environmental microbiology**, v. 53, n. 7, p. 1589–1592, 1987.

BOUALLAGUI, H. et al. Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co-substrates addition. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 5, p. 1844–1849, 2009.

BRASIL. Anuário Estatístico da Agroenergia 2014. Brasília, 2015. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/anuario_agroenergia_WEB_small.pdf. Acesso em: 21 set. 2016.

_____. Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis 2015. Empresa de Pesquisa Energética - EPE, Brasília, 2016. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/Petroleo/Documents/An%C3%A1lise%20de%20Conjuntura%20dos%20Biocombust%C3%ADveis%20%20boletins%20peri%C3%B3dicos/An%C3%A1lise%20de%20Conjuntura%20dos%20Biocombust%C3%ADveis1%20-%20Ano%202015.pdf>>. Acesso em: 15 set. 2016.

_____. Acompanhamento da Safra Brasileira. SAFRA 2015/16. Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB, 2015. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_12_17_09_03_29_boletim_cana_portugues_-_3o_lev_-_15-16.pdf. Acesso em: 03 out. 2016

_____. **Portaria/GM nº 323**, de 29 de novembro de 1978. Regula os efeitos danosos da vinhaça. 1978. Disponível em: <http://faolex.fao.org/docs/pdf/bra14330.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2015.

_____. **Resolução CONAMA Nº 375**, de 29 de agosto de 2006. Dispõe sobre critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. In: MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Brasília, 2006. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conam/res/res06/res37506.pdf>. Acesso em: 17 set. 2014.

BRASKEM. A cana-de-açúcar. Disponível em: <http://www.braskem.com.br/site.aspx/Cana-de-Acucar>. Acesso em: 03 out. 2016.

BUDIYONO, I. N.; WIDIASA, S. J.; SUNARSO. The kinetic of biogas production rate from cattle manure in batch mode. **International Journal of Chemical and Biological Engineering**, v. 3, n. 1, p. 39-44, 2010.

BUDIYONO; SYAICHURROZI I.; SUMARDIONO, S. Biogas production from bioethanol waste: the effect of pH and urea addition to biogas production rate. **Waste Tech.**, v. 1, p. 1-5, 2013.

CARLSSON, M.; LAGERKVIST, A.; MORGAN-SAGASTUME, F. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review. **Waste Management**, v. 32, n. 9, p. 1634–1650, 2012.

CASTRO, H. F.; WILLIAMS, N. H.; OGRAM, A. Phylogeny of sulfate-reducing bacteria 1. v. 31, 2000.

CARRERA-CHAPELA, F. et al. Development, identification and validation of a mathematical model of anaerobic digestion of sewage sludge focusing on H₂S formation and transfer. **Biochem. Eng. J.**, v. 112, p. 13–19, 2016.

CETESB. **Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola.** Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. São Paulo. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/Tecnologia/camaras/P4_231.pdf. Acesso em: 14 mar. 2015.

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

CHRISTOFOLETTI, C. A. et al. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, p. 2752-2761, 2013.

CIBIS, E. et al. Biodegradation of potato slops from a rural distillery by thermophilic aerobic bacteria. **Bioresource Technology**, v. 85, n. 1, p. 57–61, 2002.

COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. Anaerobic treatment of sulphatecontaining waste streams. Department of Microbiology, University College, Galway, Republic of Ireland, Ireland, v. 67, p. 29-46, 1994.

CONVERTI, A. et al. Biogas production and valorization by means of a two-step biological process. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5771–5776, 2009.

CORTÉS, O. E. J. **Avaliação Técnica Da Utilização De H₂S No Tratamento De Efluentes Líquidos Ácidos Contendo Metais Pesados**. [s.l.] Universidade Federal da Bahia, 2005.

COSTA, F. J. C. B. et al. Utilization of vinasse effluents from an anaerobic reactor. **Water Science and Technology**, p. 135–141, 1986.

CRUZ, L. F. L. S. **Viabilidade técnica/econômica/ambiental das atuais formas de aproveitamento da vinhaça para o Setor Sucroenergético do Estado de São Paulo**. [s.l.] Universidade de São Carlos, 2011.

DENNEHY, C.; LAWLOR, P. G.; CROIZE, T.; JIANG, Y.; MORRISON, L.; GARDINER, G. E.; ZHAN, X. Synergism and effect of high initial volatile fatty acid concentrations during food waste and pig manure anaerobic co-digestion. **Waste Manage.**, v. 56, p. 173–180, 2016.

DE BAZÚA, C. D.; CABRERO, M. A.; POGGI, H. M. Vinasses biological treatment by anaerobic and aerobic processes: Laboratory and pilot-plant tests. **Bioresource Technology**, v. 35, n. 1, p. 87–93, 1991.

DE OLIVEIRA, B. G. et al. Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. **Geoderma**, v. 200-201, p. 77–84, 2013.

DE ZEEUW, W. Acclimation of Anaerobic Sludge for UASB Reactor Start-up. Ph.D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands, 1984.

DOMINGHETTI, T. F. S. et al. Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) outbreaks: current situation and future outlook with emphasis on Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 24, n. 4, 2015.

DRIESSEN, W. J. B. M.; TIELBAARD, M. H; VEREIJKEN, T. L. F. M. Experience on anaerobic treatment of distillery effluent with the UASB process. **Water Science and Technology**, v. 30, n.12, p. 193-201, 1994.

ESPANA-GAMBOA, E. et al. Vinasses: characterization and treatments. **Waste Management & Research**, v. 29, n. 12, p. 1235–1250, 2011.

FERRAZ, A. D. N. J.; Koyama, M. H.; Júnior, M. M. de A.; Zaiat, M. Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy**, v. 89, p. 245-252, 2016.

FERREIRA, L. F. R. et al. Evaluation of sugar-cane vinasse treated with Pleurotus sajor-caju utilizing aquatic organisms as toxicological indicators. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 1, p. 132–137, 2011.

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Implications of stillage land disposal: A critical review on the impacts of fertigation. **Journal of Environmental Management**, v. 145, p. 210–229, 2014.

FUKUZAKI, S.; NISHIO, N.; NAGAI, S. High Rate Performance and Characterization of Granular Methanogenic Sludges in Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors Fed with Various Defined Substrates. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 79, n. 4, p. 354–359, 1995.

GERARDI, M. H. The microbiology of anaerobic digesters. New Jersey, EUA: John Wiley & Sons, 2013. 175 p.

GHOSH, M.; GANGULI, A.; TRIPATHI, A. K. Treatment of anaerobically digested distillery spentwash in a two-stage bioreactor using *Pseudomonas putida* and *Aeromonas* sp. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 8, p. 857–862, 2002.

GONZÁLEZ, J. F. et al. Tecnologías para el uso y transformación de biomasa energética. 3ª. ed. Madrid, ES: Mundi-Prensa, 2015. 456 p.

GOYAL, S. K.; SETH, R.; HANDA, B. K. Diphasic fixed-film biomethanation of distillery spentwash. **Bioresource Technology**, v. 56, n. 2-3, p. 239–244, 1996.

HARADA, H.; UEMURA, S.; MONOMOI, K. Interactions between sulphate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulphate. **Water Res**, v. 28, p. 355–367, 1994.

HATI, K. M. et al. Soil properties and crop yields on a vertisol in India with application of distillery effluent. **Soil and Tillage Research**, v. 92, n. 1-2, p. 60–68, 2007.

MONOD, J. The growth of bacterial cultures. **Microbiology**, v. 3, n. XI, p. 371–394, 1949.

JANKE, L.; LEITE, A. F.; BATISTA, K.; SILVA, W.; NIKOLAUSZ, M.; NELLES, M.; STINNER, W. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresource Technology**, v. 217, p. 10-20, 2016.

JIMÉNEZ, A. M.; BORJA, R.; MARTÍN, A. Aerobic-anaerobic biodegradation of beet molasses alcoholic fermentation wastewater. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 9, p. 1275–1284, 2003.

KAFLE, G. K.; CHEN, L. Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (BMP) using different statistical models. **Waste Manage.**, v. 48, p. 492–502, 2016.

KARDOS, L. et al. Comparing of mesophilic and thermophilic anaerobic fermented sewage sludge based on chemical and biochemical tests. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 9, n. 3, p. 293–302, 2011.

KARIM, K. et al. Mesophilic digestion kinetics of manure slurry. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, n. 142, v. 3, p. 231–242, 2007.

KHALID, A. et al. Table of Contents The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v. 31, n. 8, p. 1737–1744, 2013.

KHAN, A. W.; TROTTIER, T. M. Effect of sulfur-containing compounds on anaerobic degradation of cellulose to methane by mixed cultures obtained from sewage sludge. **Environmental Microbiology**, n. 6, v. 35, p. 1027-1034, 1978.

KHANDEGAR, V.; SAROH, A. K. Treatment of Distillery Spentwash by Electrocoagulation. **Journal of Clean Energy Technologies**, v. 2, n. 3, p. 244–247, 2014.

KLAVON, K. H.; LANSING, S. A.; MULBRY, W.; MOSS, A. R.; FELTON, G. Análise econômica de digestores agrícolas de pequena escala nos Estados Unidos. **Biomass Bioenergy**, v. 54, p. 36-45, 2013.

KOSTER, I. W.; LETTINGA, G. The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. **Agricultural Wastes**, v. 9, n. 3, p. 205–216, 1984.

KOSTER, I. W. et al. Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH levels. **Water Res.**, v. 20, p. 1561–1567, 1986.

KOTHARI, R. et al. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 174–195, 2014.

KROISS, H.; PLAHL-WABNEGG, F. Sulfide Toxicity with anaerobic waste water treatment. Anaerobic waste water treatment - Proceedings of the European Symposium, 1983.

KRZYWONOS, M. et al. Thermo- and mesophilic aerobic batch biodegradation of high-strength distillery wastewater (potato stillage) - Utilisation of main carbon sources. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 9, p. 2507–2514, 2009.

KYTHREOTOU, N.; FLORIDES, G.; TASSOU, S. A. A review of simple to scientific models for anaerobic digestion. **Renewable Energy**, v. 71, p. 701–714, 2014.

LIANG, Z. et al. Stoichiometric relationship in the coagulation of melanoidins-dominated molasses wastewater. **Desalination**, v. 250, n. 1, p. 42–48, 2010.

LINDMARK, J. et al. Effects of mixing on the result of anaerobic digestion: Review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 40, p. 1030–1047, 2014.

LOBOS, J.; WISNIEWSKI, C.; HERAN, M.; GRASMICK, A. Sequencing versus continuous membrane bioreactors: Effect of substrate to biomass ratio (F/M) on process performance. **Journal of Membrane Science**, v. 317, p. 71–77, 2008.

LOKSHINA, L. Y.; VAVILIN, V. A.; KETTUNEN, R. H.; RINTALA, J. A.; HOLLIGER, C.; NOZHEVNIKOVA, A. N. Evaluation of kinetic coefficients using integrated monod and haldane models for low-temperature acetoclastic methanogenesis. **Water Res.**, n. 35, v. 12, p. 2913–2922, 2001.

LUTOSLAWSKI, K. et al. Biodegradation of beet molasses vinasse by a mixed culture of micro organisms: Effect of aeration conditions and pH control. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 11, p. 1823–1830, 2011.

MA, J.; ZHAO, Q.-B.; LAURENS, L.L.; JARVIS, E. E.; NAGLE, N. J.; CHEN, S.; FREAR, C. S. Mechanism, kinetics and microbiology of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion of algal biomass. **Biotechnol. Biofuels**, n. 8, v. 1, p. 1, 2015.

MAO, C. et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540–555, 2015.

MAROUN, M. R.; LA ROVERE, E. L. Ethanol and food production by family smallholdings in rural Brazil: Economic and socio-environmental analysis of micro distilleries in the State of Rio Grande do Sul. **Biomass and Bioenergy**, v. 63, p. 140–155, 2014.

MATA-ALVAREZ, J. **Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes**, 2003. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=BBxRYaSa_apQC&pg=PA180&lpg=PA180&dq=Biomethanization+of+the+organic+fraction+of+municipal+solid+wastes&source=bl&ots=785DmLdgP7&sig=TD4ZgAYRxxam0LiyYPv00d4SBao&hl=ptBR&sa=X&ved=0CD0Q6AEwA2oVChMI2abczKfYxgIViByQCh2FRA4P>. Acesso em: 14 jun . 2015.

MCCARTY, P. L. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals - Part one - Chemistry and Microbiology, v. 95, p. 107-112, 1964.

MCCARTY, P. L. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals - Part two - Environmental Requirements and Control, v. 95, p. 123-126, 1964.

MENEZES, T. J. B. DE. The treatment and utilization of alcohol stillage. **International Biosystems**, p. 1–14, 1989.

MOHANA, S.; ACHARYA, B. K.; MADAMWAR, D. Distillery spent wash: Treatment technologies and potential applications. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 1, p. 12–25, 2009.

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.

NAYONO, S. E. **Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production**. 2009. 152 f. Dissertation (Fakultät für Bauingenieur, Geo und Umweltwissenschaften) - Universität Fridericiana zu Karlsruhe (TH), 2009.

RAMALHO, J. F. G. P.; AMARAL, N. M. B. S. Metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso de resíduos agroindustriais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 120–129, 2001.

OGEJO, J. A. et al. Biomethane Technology. **Virginia Cooperative Extension**, n. Publication 442-881, p. 1–11, 2009.

OLGUÍN, E. J. et al. Constructed wetland mesocosms for the treatment of diluted sugarcane molasses stillage from ethanol production using *Pontederia sagittata*. **Water Research**, v. 42, n. 14, p. 3659–3666, 2008.

O'FLAHERTY, V.; LENS, P.; LEAKY, B.; COLLERAN, E. Long term competition between sulphate reducing and methane-producing bacteria during full-scale anaerobic treatment of citric acid production wastewater. **Water Res**, v. 32, p. 815–825, 1998.

PANT, D.; ADHOLEYA, A. Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 12, p. 2321–2334, 2007a.

PANT, D.; ADHOLEYA, A. Biological approaches for treatment of distillery wastewater: a review. **Bioresource technology**, v. 98, n. 12, p. 2321–34, set. 2007.

PANWAR, N. L.; KAUSHIK, S. C.; KOTHARI, S. Role of renewable energy sources in environmental protection: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 3, p. 1513–1524, 2011.

PARK, S.; LI, Y. Evaluation of methane production and macronutrient degradation in the anaerobic co-digestion of algae biomass residue and lipid waste. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 42–48, 2012.

PARKIN, G. F.; SPEECE, R. E. Attached versus suspended growth anaerobic reactors: response to toxic substances. **Water Sci Technol**, v. 15, p. 261–289, 1983.

PARKIN et al., 1990. Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate. **Res. J. Water Pollut. Control Fed.**, v. 62, p. 780–788, 1990.

POMPERMAYER, R. D. S.; JÚNIOR, D. R. D. P. Estimativa do potencial brasileiro de produção de biogás através da vinhaça e comparação com outros energéticos. **3 Encontro Energia Meio Rural**, p. 1–6, 2003.

POSTGATE, J. R. **The Sulphate-Reducing Bacteria**. 2^a. ed. London, 1984.

PULLAMMANAPPALLIL, P. C. et al. Stable performance of anaerobic digestion in the presence of a high concentration of propionic acid. **Bioresource Technology**, v. 78, n. 2, p. 165–169, 2001.

RAIS, M.; SHEORAN, A. Treatment of Sugarcane Technology issues Effluents: Major Producing States in India. v. 5, n. 1, p. 11–19, 2015.

RAJESHWARI, K. . et al. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 4, n. 2, p. 135–156, 2000.

RAO, M.S.; SINGH, S. P.; SINGH, A. K.; SODHA, M. S. Bioenergy conversion studies of the organic fraction of MSW: assessment of ultimate bioenergy production potential of municipal garbage. **Appl. Energy**, n. 66, v. 1, p. 75–87, 2000.

RIO GRANDE DO SUL. **CONSEMA n° 128**, de 07 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. In: **CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE**. Porto Alegre, 2006. Disponível em: <https://www.univates.br/umianalises/media/imagens/Anexo_IV_61957_3.pdf>. Acesso em: 17 set. 2016.

RINZEMA, A.; LETTINGA, G. (1988). The Effect of Sulfide on The Anaerobic Degradation of Propionate. **Environ. Technol. Lett**, v. 9, p. 83, 1988.

ROCHA, M. **Estudos da atividade metanogênica de lodos e da biogradabilidade anaeróbica de efluentes de indústrias de bebidas**. Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2003.

ROCHELEAU, S. et al. Differentiation of *Methanosaeta concilii* and *Methanosarcina barkeri* in anaerobic mesophilic granular sludge by fluorescent in situ hybridization and confocal scanning laser microscopy. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 5, p. 2222–2229, 1999.

RODRIGUES, I. J. et al. Coagulation–flocculation of anaerobically treated sugarcane stillage. **Desalination and Water Treatment**, p. 1–11, 2013.

ROLIM, M. M. et al. Influência de uma lagoa de distribuição de vinhaça na qualidade da água. **Revista Ambiente & Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 8, n. 1, p. 155–171, 2013.

SAHAI, R. et al. Pollution effect of distillery waste on the growth behaviour of *Phaseolus radiatus* L. **Environmental Pollution Series A: Ecological and Biological**, v. 37, n. 3, p. 245–253, 1985.

SANGAVE, P. C.; GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. Combination of ozonation with conventional aerobic oxidation for distillery wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 68, n. 1, p. 32–41, 2007.

SANGAVE, P. C.; PANDIT, A. B. Ultrasound and enzyme assisted biodegradation of distillery wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 80, n. 1, p. 36–46, 2006.

SANTANA, V. S.; FERNANDES MACHADO, N. R. C. Photocatalytic degradation of the vinasse under solar radiation. **Catalysis Today**, v. 133-135, n. 1-4, p. 606–610, 2008.

SANTOS, F. M. S. M.; SANTOS, F. A. C. M. O combustível “Hidrogênio”. **Millenium**, p. 252–270, 2005.

SANZ, J. L.; DÍAZ, E.; AMILS, R. Molecular ecology of anaerobic granular sludge grown at different conditions. **Water Sci Technol.**, n. 48, p. 57-64, 2003.

SENTHAMARAIKKANNAN, G.; BUDWILL, K.; GATES, I.; MITRA, S. K.; PRASAD, V. Kinetic modeling of the biogenic production of coalbed methane. **Energy Fuels**, 2015.

SHEEHAN, G. J.; GREENFIELD, P. F. **Utilisation, treatment and disposal of distillery wastewater** **Water Research**, 1980.

SHRIHARI, S.; TARE, V. Anaerobic-aerobic treatment of distillery wastes. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 43, n. 1-2, p. 95–108, 1989.

SINGH, S. S.; DIKSHIT, A. K. Optimization of the parameters for decolourization by *Aspergillus niger* of anaerobically digested distillery spentwash pretreated with polyaluminium chloride. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, n. 1-3, p. 864–869, 2010.

SILVA, W. P. et al. Monitoramento da salinidade de águas subterrâneas em várzea cultivada com cana-de-açúcar fertirrigada com vinhaça. p. 394–401, 2014.

SINGH, S. Longman Science Physics10. India: Pearson Education, 2009. 177 p.

SOARES, L. H. B.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Mitigação das emissões de gases efeito estufa pelo uso de etanol da cana-de-açúcar produzido no Brasil. Circular Técnica Embrapa. Seropédica: Rio de Janeiro, 2009.

SOHSALAM, P.; SIRIANUNTAPIBOON, S. Feasibility of using constructed wetland treatment for molasses wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5610–5616, 2008.

SOUZA, M. E. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. **Revista DAE**, n. 137, v. 44, p. 88-94, 1984.

SRIVASTAVA, N.; SAHAI, R. Effects of distillery waste on the performance of *cicer arietinum* L. **Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 43, n. 2, p. 91–102, 1987.

SYAICHURROZI, I.; BUDIYONO, S.S. Predicting kinetic model of biogas production and biodegradability organic materials: Biogas production from vinasse at variation of COD/N ratio. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 390-397, 2013.

TONDEE, T.; SIRIANUNTAPIBOON, S.; OHMOMO, S. Decolorization of molasses wastewater by yeast strain, *Issatchenkia orientalis* No. SF9-246. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5511–5519, 2008.

TURSMAN, J. F.; CORK, D. J. Influence of sulfate and sulfate-reducing bacteria on anaerobic digestion technology. **Biological Waste Treatment**, 1988.

VACCARI, G. et al. Overview of the environmental problems in beet sugar processing: Possible solutions. **Journal of Cleaner Production**, v. 13, n. 5 SPEC. ISS., p. 499–507, 2005.

VALDERRAMA, L. T. et al. Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric acid production using the microalga *Chlorella vulgaris* and the macrophyte *Lemna minuscula*. **Water Research**, v. 36, n. 17, p. 4185–4192, 2002.

VAN LIER, J. B. Limitations of thermophilic anaerobic wastewater treatment and the consequences for process design. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 69, n. 1, p. 1–14, 1996.

VAN DEN WALL BAKE, J. D.; JUNGINGER, M.; FAALJ, A.; POOT, T.; WALTER, A. Explaining the experience curve: Cost reductions of Brazilian ethanol from sugarcane. **Biomass and Bioenergy**, n. 4, v. 33, p. 644–658, 2009.

VÁVROVÁ, K.; KNÁPEK, J.; WEGER, J. Short-term boosting of biomass energy sources – Determination of biomass potential for prevention of regional crisis situations. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, n. 67, p. 426–436, 2016.

WARD, A. J. et al. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 7928–7940, 2008.

WEILAND, P. Biogas production: Current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 4, p. 849–860, 2010.

WIJFFELS, R. H.; BARTEN, H.; REITH, R. H. **Bio_methane & Bio-hydrogen**. Holanda, 2003.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, n. 2, p. 63–102, 2000.

WILLINGTON, I. P.; MARTEN, G. G. Options for handling stillage waste from sugar-based fuel ethanol production. **Resources and Conservation**, v. 8, n. 2, p. 111–129, 1982.

WINIFREY, M. R.; ZEIKUS, J. G. Effect of sulfate on carbon and electron flow during microbial methanogenesis in fresh water sediments. **Env. Microbiology**, v. 33, p. 275–281, 1977.

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

YAVUZ, Y. EC and EF processes for the treatment of alcohol distillery wastewater. **Separation and Purification Technology**, v. 53, n. 1, p. 135–140, 2007.

YUAN, H.; ZHU, N. Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 429–438, 2016.

YUSUF, M. O. L.; IFY, N. L. The effect of waste paper on the kinetics of biogas yield from the co-digestion of cow dung and water hyacinth. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 1345 - 1351, 2011.

ZAIAT, M.; FORESTI, E. Method for estimating the kinetics of substrate degradation in horizontal-flow anaerobic immobilized sludge reactors. v. 11, n. 5, p. 315–318, 1997.

ZANETTE, A. L. **Potencial De Aproveitamento Energético Do Biogás No Brasil**. 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

ZHAO, C. et al. Bio-energy conversion performance, biodegradability, and kinetic analysis of different fruit residues during discontinuous anaerobic digestion. **Waste Manage.**, 2016.

ZAYAS, T. et al. Applicability of coagulation/flocculation and electrochemical processes to the purification of biologically treated vinasse effluent. **Separation and Purification Technology**, v. 57, n. 2, p. 270–276, 2007.