

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

LUMA SAYURI MAZINE KIYUNA

**INFLUÊNCIA DO SULFATO NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DA
VINHAÇA: EFEITOS SOBRE A REMOÇÃO DE MATÉRIA
ORGÂNICA E PRODUÇÃO DE METANO**

SÃO CARLOS

2015

LUMA SAYURI MAZINE KIYUNA

INFLUÊNCIA DO SULFATO NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DA VINHAÇA:
EFEITOS SOBRE A REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E PRODUÇÃO
DE METANO

Trabalho de Graduação apresentado à
Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo, para a obtenção
do título de Graduada em Engenharia
Ambiental.

Orientador: Prof. Assoc. Marcelo Zaiat

SÃO CARLOS

2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

K62i

Kiyuna, Luma Sayuri Mazine
Influência do sulfato na digestão anaeróbia da
vinhaça: efeitos sobre a remoção de matéria orgânica e
produção de metano / Luma Sayuri Mazine Kiyuna;
orientador Marcelo Zaiat; coorientador Lucas Tadeu
Fuess. São Carlos, 2015.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2015.

1. Vinhaça. 2. Potencial poluente. 3. Digestão
anaeróbia. 4. DQO/Sulfato. 5. Metano. 6. Parâmetros
cinéticos. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Luma Sayuri Mazine Kiyuna**

Data da Defesa: 09/11/2015

Comissão Julgadora:

Marcelo Zaiat (Orientador(a))

Lucas Tadeu Fuess

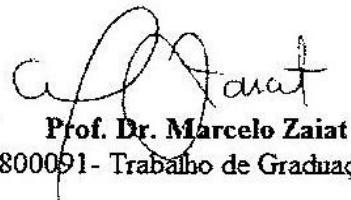
Bruna de Souza Moraes

Resultado:

Aprovado

Aprovada

Aprovada



Prof. Dr. Marcelo Zaiat
Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, em especial aos meus pais, Maria Angélica e Asaharu, por todo o carinho, amor e suporte dados ao longo da minha vida, e ao meu irmão, Pedro Seiti, pelo seu companheirismo, serenidade e bondade que eu tanto admiro.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ter me guiado, ao longo desses 22 anos, para o caminho do bem e da sabedoria.

Aos meus pais, Maria Angélica e Asaharu, e ao meu irmão, Pedro Seiti, que são os grandes responsáveis por tudo que já conquistei durante a minha vida, pelos conselhos, pela compreensão e paciência em todos os momentos, por todo amor e suporte dados e que foram essenciais para a minha formação pessoal e meu desenvolvimento profissional.

Ao meu namorado, Ricardo, por todo o amor, companheirismo, cumplicidade e apoio em todos os momentos. O melhor sentimento do mundo é ser apaixonada por alguém que corresponda ao seu amor e, mais além, saber que este amor é eterno e infinito.

Ao meu coorientador, M. Sc. Lucas Tadeu Fuess, o grande responsável por toda a realização deste trabalho, pela sua dedicação integral e apoio sempre que precisei (e quando não precisei também, rsrs), pelos momentos de descontração no laboratório (em especial aos sustos rotineiros) e por ser um grande exemplo de profissional.

Ao meu orientador, Prof. Marcelo Zaiat, pela atenção, competência, solicitude e, principalmente, pelo carinho e exemplo de profissional.

Às minhas amigas, Anadélia Rossi, Laís Romanello e Laura Xavier, por terem sido “mães” e “irmãs” durante os cinco anos em São Carlos, sempre cuidando de mim e me apoiando em todos os momentos, pelo companheirismo, amizade, pelos conselhos, abraços apertados e acolhedores sem razão. Obrigada pelas tantas “Hoje a noite é uma criança”, pelas madrugadas de estudo, com muito brigadeiro (e até beijinho improvisado, rsrs), pelos jantares deliciosos e fartos, pelos momentos de descontração. Foi uma experiência maravilhosa e a qual, certamente, contarei aos meus filhos o quanto ela foi enriquecedora. Apesar de termos trilhados caminhos distintos, agora cada uma vivendo novas experiências com novas pessoas, sempre me lembrei das Gatas do 703 com muito carinho e admiração. Desejo todo o sucesso do mundo e boa sorte nas novas jornadas.

Às minhas grandes amigas Marina Gomes (Má), Cristiane Arruda (Cris) e Larissa Matsui (Lari), pela convivência maravilhosa que tivemos durante os cinco anos de graduação, pela amizade e companheirismo nos momentos de diversão e de estudo, em especial aos

“intensivões” de estudo (ou seria de risadas e gordices?) que fazíamos na Matemática. Obrigada pelo carinho, paciência e apoio em todas as horas, pelos conselhos, aprendizagens e, principalmente, por terem tornado esta etapa da minha vida em algo inesquecível.

À turma 011 da Engenharia Ambiental, pela amizade, companheirismo (principalmente quando o assunto era entrega de trabalhos!), pelos momentos de descontração (palquinhos no CAASO, churrascos...), pelas aprendizagens, cada um com seu jeito/estilo, mas nunca faltando com respeito e generosidade. Obrigada por todo esse tempo de convivência. Desejo a todos da 011 todo o sucesso do mundo e espero reencontrá-los em breve.

À todos os amigos do LPB, principalmente, Carol Gil, Leandro Godoi, Guilherme Oliveira, Rachel Biancalana, Priscila Camilloti, Fabrício Motteran, Ana Flávia, Tania Pérez, Rodrigo Carneiro, Marcus Vinicius, Inês Tomita, Maritza, por terem me recebido tão bem no laboratório, pelos ensinamentos e conselhos, pelo carinho, apoio, paciência e, principalmente, por contribuírem fortemente para o meu desenvolvimento profissional.

À Janja, pela ajuda e colaboração nas análises cromatográficas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

E a todos que colaboraram de alguma maneira para a realização deste trabalho.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou
o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o
que era antes”.*

Martin Luther King (1929-1968)

RESUMO

KIYUNA, L. S. M. **Influência do sulfato na digestão anaeróbia da vinhaça: efeitos sobre a remoção de matéria orgânica e produção de metano.** 2015. 115 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso). – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2015.

O setor sucroalcooleiro vem se expandindo na economia brasileira após as sucessivas crises no fornecimento de combustíveis fósseis. No entanto, a produção de etanol é caracterizada pela geração de um volume significativo de vinhaça. Dentre as tecnologias para tratamento da água resíduária, destaca-se a digestão anaeróbia. Apesar da viabilidade tecnológica do processo biológico, estudos mostram que elevadas concentrações de sulfato (SO_4^{2-}) podem interferir negativamente. Neste contexto, a presente pesquisa objetivou analisar a influência da relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ na digestão anaeróbia da vinhaça, com relação à degradação da matéria orgânica e produção de metano. Foram estudadas três razões $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$, i.e. 12,0, 10,0 e 7,5, utilizando-se reatores em batelada (500 mL). A condição que apresentou maior produção volumétrica de metano foi a maior relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ estudada (12,0), com produção de 3,16 mL por mL de vinhaça. Enquanto que, para as razões de 10,0 e 7,5, a produção total foi de 2,8 mL por mL de vinhaça e 2,3 mL por mL de vinhaça, respectivamente. Esta diminuição no volume total produzido de metano, de acordo com a diminuição da razão $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$, é devida a uma provável interferência da sulfetogênese no processo. Apesar disso, as razões de 10,0 e 7,5 apresentaram maiores valores para a velocidade específica de produção, sendo 7,7 e 9,2 $\text{mL.d}^{-1}.\text{gSV}^{-1}$, respectivamente, devido ao acúmulo na concentração de acetato. Em termos de degradação da matéria orgânica, tanto a condição de 12,0 quanto a de 10,0, tiveram a mesma eficiência (85%). A condição de 10,0 apresentou maiores valores para os coeficientes cinéticos específicos de primeira ordem com residual ($0,106 \text{ d}^{-1}.\text{gSV}^{-1}$) em comparação com as relações de 7,5 e 12,0, cujos valores foram $0,062$ e $0,015 \text{ d}^{-1}.\text{gSV}^{-1}$, respectivamente. A interferência da sulfetogênese na metanogênese foi tanto negativa quanto positiva, uma vez que houve relação sintrófica entre as bactérias redutoras de sulfato (BRS) oxidadoras incompletas e as arqueias metanogênicas acetoclásticas. Para a condição de 7,5, o perfil de ácidos indicou que houve uma inibição no consumo de acetato pelas arqueias, provavelmente devido ao acúmulo de sulfeto no meio líquido.

Palavras-chave: Vinhaça. Potencial poluente. Digestão anaeróbia. $\text{DQO}/\text{sulfato}$. Metano. Parâmetros cinéticos.

ABSTRACT

KIYUNA, L.S.M. **Influence of sulfate on the anaerobic digestion of vinasse: effects on the organic matter removal and methane production.** 2015. 115 f. Dissertation.

Graduation Thesis – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2015.

The sugar and ethanol industry has been expanding in the Brazilian economy after the successive global crisis on the supply of fossil fuels. However, the ethanol production is characterized by the generation of a significant volume of vinasse. Among the technologies for the treatment of vinasse, anaerobic digestion (AD) should be highlighted. Despite the technological feasibility of this technology, studies show that high concentrations of sulfate may interfere negatively. The present project aimed to assess the influence of the COD/SO₄²⁻ ratio on the AD of vinasse, considering both the degradation of organic matter and the production of methane. Three COD/SO₄²⁻ ratios were studied, i.e., 12.0, 10.0 and 7.5, using batch reactors (500 mL). The condition that showed the highest volumetric production of methane was the highest COD/SO₄²⁻ ratio (12.0), with total production of 3.6 mL for 1 mL of vinasse, whereas for the ratios of 10.0 and 7.5 the total production accounted for 2.8 mL and 2.3 mL for 1 mL of vinasse, respectively. This decrease in total volume produced of methane, is due to probable sulfidogenesis interference in the process. Despite such values, the ratios of 10.0 and 7.5 presented higher values for the specific velocity of production with 7.7 and 9.2 mL.d⁻¹.gSV⁻¹, respectively, due the accumulation of acetate. In terms of organic matter degradation, both the condition of 12.0 and 10.0, had the same efficiency (85%). The condition of 10.0 presented the highest value for the specific first-order kinetic coefficient (0.106 d⁻¹. gSV⁻¹) compared to 7.5 and 12.0, which showed values of 0.062 and 0.015 d⁻¹. gSV⁻¹, respectively. The interference of sulfidogenesis on methanogenesis was both negative and positive, since there was syntrophic association between incomplete-oxidizing sulfate reducing bacteria (SRB) and acetoclastic methanogenic archaea. For the condition of 7.5, the acids profile indicated an inhibition in the acetate uptake by the archaea, most likely due to the accumulation of sulfide in the liquid phase.

Keywords: Vinasse. Polluting potential. Anaerobic digestion. COD/sulfate. Methane. Kinetic parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição do setor sucroalcooleiro no Brasil.....	20
Figura 2 – Os principais países produtores de cana-de-açúcar.....	21
Figura 3 – Evolução da produção de cana-de-açúcar no Brasil	22
Figura 4 – Distribuição da área plantada entre os estados brasileiros.....	22
Figura 5 – Evolução da produção brasileira de etanol.	23
Figura 6 – Rotas tecnológicas para a produção de etanol.	26
Figura 7 – Etapas da produção de etanol e de açúcar a partir da cana.	32
Figura 8 – Fluxograma da recirculação do fermento na Usina São Manoel.	37
Figura 9 – a) fluxograma da rota de degradação da matéria orgânica sem sulfato; b) fluxograma da rota de degradação da matéria orgânica na presença de sulfato (via sulfetogênica).	50
Figura 10 – Fases do crescimento bacteriano.....	57
Figura 11 – Gráfico das velocidades de crescimento microbiano.....	58
Figura 12 – Principais parâmetros cinéticos dos modelos tradicionais.....	58
Figura 13. Fluxograma simplificado das etapas da pesquisa.	62
Figura 14 – Etapa de borbulhamento do gás nitrogênio.....	67
Figura 15 – Sistema em batelada montado para o experimento.....	67
Figura 16 – Perfis de produção de metano (A) e de degradação da matéria orgânica (B) para relação DQO/SO ₄ ²⁻ igual a 12,0.....	73
Figura 17 – Resultados da análise de ácidos orgânicas voláteis para relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 12,0. A) Perfil temporal da concentração dos ácidos orgânicos; B) Proporção dos ácidos orgânicos.	76
Figura 18 – Perfis de produção de metano (A) e de degradação da matéria orgânica (B) para relação DQO/SO ₄ ²⁻ igual a 10,0.....	79
Figura 19 – Resultados da análise de ácidos orgânicas voláteis para relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 10,0. A) Perfil temporal da concentração dos ácidos orgânicos; B) Proporção dos ácidos orgânicos.	82
Figura 20 – Perfis de produção de metano (A) e de degradação da matéria orgânica (B) para relação DQO/SO ₄ ²⁻ igual a 7,5.....	83
Figura 21 – Resultados da análise de ácidos orgânicas voláteis para relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 7,5. A) Perfil temporal da concentração dos ácidos orgânicos; B) Proporção dos ácidos orgânicos.	86
Figura 22 – Perfis de degradação da matéria orgânica para as condições estudadas	87
Figura 23 – Perfis da produção acumulada de metano para as três condições estudadas	88
Figura 24 – Modelo matemático ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 12,0	90
Figura 25 – Modelo matemático ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 10,0	91
Figura 26 – Modelo matemático ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 7,5.....	91

Figura 27 – Modelo matemático para degradação da matéria orgânica ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 12,0	94
Figura 28 – Modelo matemático para degradação da matéria orgânica ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 10,0.	95
Figura 29 – Modelo matemático para degradação da matéria orgânica ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 7,5.	95
Figura 30 – Modelo matemático para decaimento da concentração de sulfato ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 12,0.	98
Figura 31 – Modelo matemático para decaimento da concentração de sulfato ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 10,0.	98
Figura 32 – Modelo matemático para decaimento da concentração de sulfato ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO ₄ ²⁻ de 7,5.	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estimativas de produção de etanol por matéria-prima	25
Tabela 2 – População equivalente em termos de carga poluidora para cada volume de etanol	40
Tabela 3 – Sumário da caracterização da vinhaça proveniente do xarope e melaço da cana, e do material lignocelulósico	41
Tabela 4 – Valores de DQO, sulfato e DQO/SO ₄ ²⁻ encontrados na literatura para vinhaça de cana-de-açúcar	55
Tabela 5 – Caracterização da vinhaça coletada.....	64
Tabela 6 – Condições de estudo analisadas durante o experimento.....	66
Tabela 7 – Porcentagem da matéria orgânica removida por via de degradação.....	72
Tabela 8 – Resultados de pH, alcalinidade parcial e sulfeto ionizado da vinhaça após o período de incubação.....	89
Tabela 9 – Resumo dos resultados obtidos para cada condição estudada.....	89
Tabela 10 – Parâmetros cinéticos para as condições estudadas.....	92
Tabela 11 – Parâmetros cinéticos de degradação da matéria orgânica para as condições estudadas.....	96
Tabela 12 – Parâmetros cinéticos de decaimento da concentração do sulfato	99

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	18
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
3.1. O setor sucroalcooleiro no Brasil	19
3.2. Etapa industrial da produção de etanol com base na cana-de-açúcar	24
3.2.1. Importância do ácido sulfúrico na produção de etanol	31
3.3. Vinhaça	38
3.3.1. Tecnologias de gerenciamento da vinhaça	41
3.4. Fundamentos da digestão anaeróbia por via metanogênica	45
3.5. Digestão anaeróbia na presença de sulfato.....	48
3.6. Interferência da sulfetogênese na metanogênese	51
3.7. Modelo cinético de Gompertz modificado	56
3.8. Modelo cinético de primeira ordem com residual	59
4 ETAPAS DA PESQUISA E MÉTODOS.....	61
4.1. Pesquisa Bibliográfica	61
4.2. Coleta e caracterização das amostras de vinhaça	63
4.3. Caracterização do lodo.....	64
4.4. Adição de sulfato de sódio	65
4.5. Montagem dos reatores em batelada	65
4.6. Coletas e análise da fase gasosa	68
4.7. Coletas e análise da fase líquida	69
4.8. Outras determinações analíticas	70
4.9. Análise dos resultados	70
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1. Remoção de matéria orgânica e produção de metano para DQO/SO₄²⁻ de 12,0...	73
5.2. Remoção de matéria orgânica e produção de metano para DQO/SO₄²⁻ de 10,0...	78
5.3. Remoção de matéria orgânica e produção de metano para DQO/SO₄²⁻ de 7,5....	83
5.4. Comparação entre as condições DQO/SO₄²⁻ estudadas	87
5.5. Modelos matemáticos ajustados	90
5.5.1. Modelo para a produção acumulada de metano	90
5.5.2. Modelo para a degradação da matéria orgânica.....	94

5.5.3. Modelo de decaimento da concentração do íon sulfato	97
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	101
7 CONCLUSÕES	103
8 SUGESTÕES	105
REFERÊNCIAS	106

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho, referente ao projeto intitulado “Influência do sulfato na digestão anaeróbia da vinhaça: efeitos sobre a remoção de matéria orgânica e produção de metano”, é apresentado à Comissão do Trabalho de Graduação do Curso de Engenharia Ambiental, do Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, pela aluna Luma Sayuri Mazine Kiyuna, sob orientação do Professor Associado Marcelo Zaiat, docente e pesquisador vinculado ao Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS), e sob a coorientação do doutorando Lucas Tadeu Fuess, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, ambos da mesma instituição da aluna. A pesquisa esteve vinculada ao projeto de Iniciação Científica intitulado “Influência do sulfato na digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar: efeitos sobre a remoção de matéria orgânica e produção de metano”, processo 2014/19091-9, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Para uma melhor compreensão da problemática que envolve a presente pesquisa, o trabalho abordará assuntos referentes aos seguintes temas: situação atual e previsão futura da produção de etanol no Brasil; aspectos gerais da produção de etanol e geração de vinhaça, com ênfase na cana-de-açúcar como matéria-prima; digestão anaeróbia com foco no tratamento de águas residuárias; influência do sulfato no processo de tratamento anaeróbio e no reaproveitamento energético da vinhaça.

A expansão do setor sucroalcooleiro na economia brasileira foi impulsionada pelas crises mundiais no fornecimento dos combustíveis fósseis, preocupações ambientais e incentivos governamentais, como o Programa Nacional do Álcool (Proálcool – 1975), criado para fortalecer a cultura de cana-de-açúcar e desenvolver as usinas. Diante deste cenário favorável, o Brasil tornou-se um dos maiores produtores e exportadores mundiais de etanol, segundo o Guia da Cana-de-Açúcar (CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA, 2009).

A produção de etanol, independentemente do tipo de matéria-prima empregada é caracterizada pela geração de um volume significativo de vinhaça, em média 13L para cada litro de etanol produzido (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008), sendo, o principal efluente resultante da fase industrial. A vinhaça contém elevada concentração de matéria orgânica – tanto em termos das demandas química (DQO) e

bioquímica (DBO) de oxigênio, além de teores consideráveis de sólidos em suspensão, macro e micronutrientes, e apresenta características ácidas e corrosivas. Devido ao seu potencial poluente, a vinhaça será o objeto de estudo da presente pesquisa.

Além da elevada DQO, esta água resíduária contém outros elementos químicos originários de processos e operações unitárias empregadas na fabricação do etanol, exercendo influência na qualidade da vinhaça (WILKIE et al., 2000; HUTNAN et al., 2003). Outro fator importante é o tipo de matéria-prima. No caso da cana-de-açúcar e da beterraba, que apresentam altos teores de açúcar, é comum a presença de elevadas concentrações do íon sulfato (SO_4^{2-}) na vinhaça devido à adição de ácido sulfúrico para correção do pH e controle microbiológico do mosto (solução açucarada a ser fermentada), principalmente nos casos em que se utiliza o melaço da cana como matéria-prima (FUESS, 2013).

O sulfato em elevadas concentrações interfere na viabilidade dos processos atualmente adotados para disposição e tratamento da vinhaça (WILKIE et al., 2000). Portanto, diante da importância de tais tecnologias para a minimização do potencial poluidor da vinhaça e, consequentemente, para a melhora nos índices de sustentabilidade da produção de etanol, a pesquisa dará foco para o sulfato.

Desta forma, devido às elevadas concentrações de compostos químicos das mais diversas naturezas presentes na vinhaça, o seu correto gerenciamento e disposição final são fatores decisivos na avaliação da sustentabilidade do biocombustível. A principal forma de reaproveitamento da vinhaça adotada na agroindústria brasileira é a fertirrigação das lavouras. Embora estudos mostrem que esta prática tende a beneficiar as culturas de cana-de-açúcar, o solo tende a não suportar as altas dosagens que são utilizadas, tendo em vista aplicações contínuas em longo prazo. Além disso, ocorrem emissões de Gases do Efeito Estufa (GEE) na aplicação de vinhaça no solo, bem como durante a sua distribuição em canais, conforme Oliveira (2010), sendo que os gases gerados - CH_4 , N_2O , CO_2 – correspondem aos principais tipos de GEE.

Devido às pressões de órgãos ambientais em relação à disposição da vinhaça no solo, a aplicação de algumas tecnologias de tratamento passou a ser estudada, especialmente no âmbito acadêmico. Dentre elas, destaca-se a digestão anaeróbia, por apresentar diversas vantagens nos âmbitos ambiental, econômico e energético. No entanto, apesar da sua viabilidade nas dimensões técnica, econômica e ambiental, como apresentada por Cruz et al (2013), alguns estudos mostram que determinados compostos, como o sulfato, presente nas

mais diversas águas residuárias industriais, dentre elas a vinhaça, podem interferir na digestão anaeróbia, quando em concentrações significativas, sendo conhecidos como substâncias interferentes (CHEN et al., 2007).

Diante da aparente escassez de estudos baseados na influência do sulfato na digestão anaeróbia, a presente pesquisa contribuirá para um melhor conhecimento da influência da relação DQO/SO₄²⁻ na cinética de produção do biogás, especificamente o metano, e de degradação da matéria orgânica a partir de uma água residuária bastante importante pelo seu potencial poluente e energético, a vinhaça de cana-de-açúcar. Para tanto, foram utilizados reatores anaeróbios em batelada, com diferentes relações iniciais DQO/SO₄²⁻, a fim de descrever os modelos cinéticos de produção de metano e de biodegradabilidade da matéria orgânica para cada condição. A análise, desta forma, consistiu em verificar se houve diferenças expressivas no desempenho da digestão anaeróbia para as relações estudadas, tendo em vista o potencial de interferência do sulfato.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do trabalho compreende em analisar a influência da relação DQO/SO₄²⁻ na digestão anaeróbia da vinhaça da cana-de-açúcar, com relação à degradação da matéria orgânica e produção de metano, a partir da utilização de reatores em batelada.

A partir do objetivo geral citado, elaborou-se os objetivos específicos do presente estudo:

- I. Identificar inicialmente, antes do tratamento dos dados obtidos, de que forma o sulfato interfere na digestão anaeróbia da vinhaça, isto é, favorecendo ou prejudicando a sulfetogênese.
- II. Descrever os modelos cinéticos de produção de metano para diferentes relações DQO/SO₄²⁻.
- III. Descrever os modelos cinéticos de biodegradabilidade da matéria orgânica para diferentes relações DQO/SO₄²⁻.
- IV. Descrever os modelos cinéticos de decaimento do sulfato para diferentes relações DQO/SO₄²⁻.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Tendo em vista a abrangência do tema central desta pesquisa, neste capítulo serão abordados determinados assuntos, pesquisados na literatura, dando-se preferência a materiais reconhecidos no meio acadêmico e científico. Os temas foram julgados relevantes para a contextualização da pesquisa, fundamentando a discussão dos resultados e formulação das conclusões, sendo eles:

- I. A importância do setor sucroalcooleiro para o Brasil e o cenário atual e previsão futura para a produção nacional de etanol.
- II. Os aspectos gerais da produção de etanol e geração da vinhaça, destacando-se o potencial poluidor e as alternativas tecnológicas para o tratamento desta água residuária.
- III. Os fundamentos básicos da digestão anaeróbia com ênfase nas fases metanogênica e sulfetogênica.
- IV. A influência do sulfato no processo de tratamento anaeróbio e no reaproveitamento energético da vinhaça, e os principais fatores que podem vir a controlar o seu efeito inibitório.

3.1. O setor sucroalcooleiro no Brasil

Atualmente, o país lidera o ranking mundial de produtores de cana-de-açúcar com produção de mais de 490 milhões de toneladas por ano, correspondente à safra 2011/2012, sendo que a região Centro-Sul concentra cerca de 90% de toda a produção brasileira, principalmente o Estado de São Paulo, responsável por 60% (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR, 2015). A Figura 1 apresenta a distribuição das plantações e usinas produtoras de açúcar, etanol e bioeletricidade no Brasil, segundo dados do IBGE, UNICAMP e do CTC (Centro de Tecnologia Canavieira) retirados no site da União Da Indústria De Cana-de-Açúcar. A expansão do setor é guiada pelo Zoneamento Agroecológico da Cana-de-Açúcar, lançada em 2009, pelo Governo Federal, a fim de proteger biomas sensíveis, como

Amazônia e Pantanal, e vegetação nativa. O zoneamento define uma área equivalente a 7,5% do território brasileiro como apta para o cultivo de cana (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR, 2015).

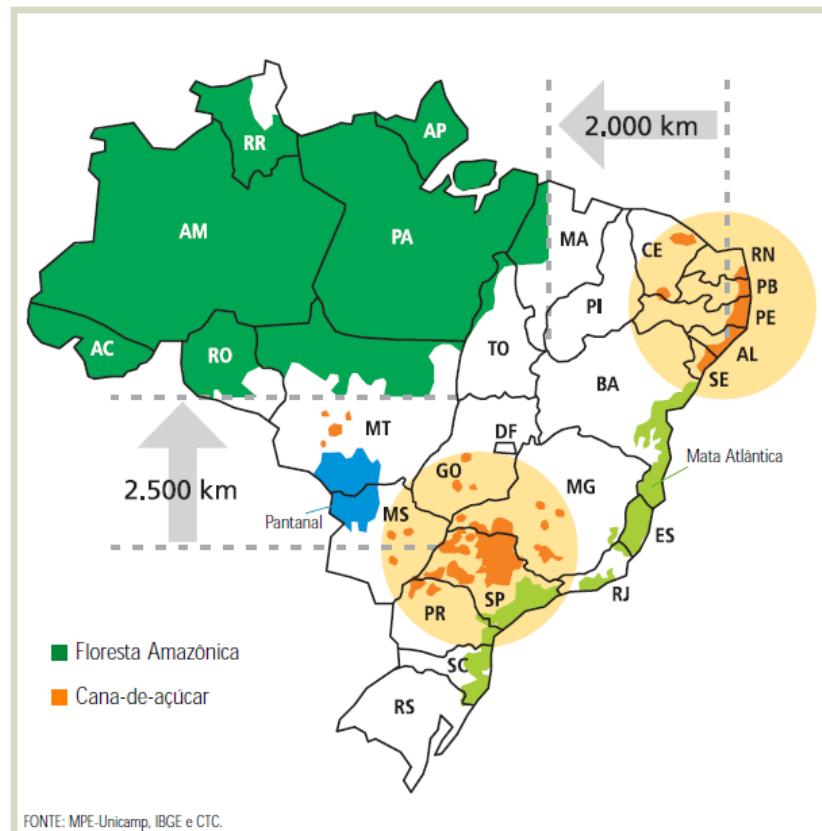


Figura 1 – Distribuição do setor sucroalcooleiro no Brasil.

Fonte: retirado do Guia Cana-de-Açúcar, 2009.

Com relação à produção mundial, a Figura 2 apresenta os principais países produtores de cana-de-açúcar e as suas respectivas contribuições na quantidade total produzida no mundo, em milhões de toneladas. Na safra de 2010, o Brasil respondeu por 37% da produção do mundo, enquanto que a Índia, segundo maior produtor, respondeu por apenas 16%, bem abaixo do primeiro.

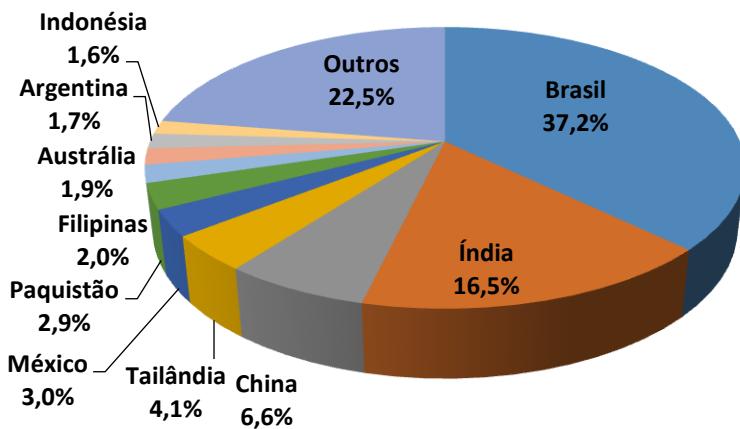


Figura 2 – Os principais países produtores de cana-de-açúcar. Fonte: criada pelo autor a partir dos dados do Anuário Estatístico da Agroenergia (BRASIL, 2012).

Com relação à produção brasileira, a Figura 3 mostra ainda a evolução desta cultura desde a safra de 1948/1949. De forma geral, a produção de cana-de-açúcar tem crescido continuamente devido à 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, etanol e bioeletricidade (BRASKEM, 2015). Segundo a NovaCana (2015), são 366 usinas em operação no Brasil de acordo com dados do Ministério da Agricultura.

Na safra 2013/2014, a cultura de cana-de-açúcar ocupou uma área total de 8,8 milhões de hectares, apresentando produtividade média de $74,8 \text{ t ha}^{-1}$, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento. O Estado de São Paulo permanece como maior produtor, com 51,3 % da área plantada (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2013), como apresentado na Figura 4.

Além da perspectiva de escassez no fornecimento de combustíveis fósseis, marcada pela primeira crise do Petróleo (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, 2013), outros fatores como o aumento no preço do barril e programas de redução nas emissões de gases de efeito estufa (GEEs), como o Protocolo de Kyoto, encadearam a busca mundial pelo desenvolvimento de fontes renováveis de energia, dentre elas os biocombustíveis líquidos.

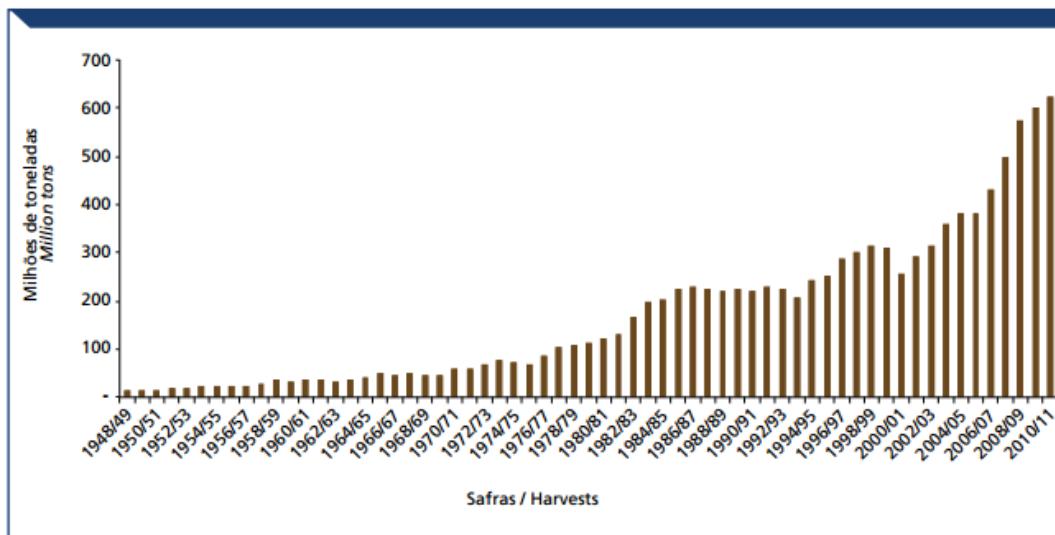


Figura 3 – Evolução da produção de cana-de-açúcar no Brasil. Fonte: Anuário Estatístico da Agroenergia (BRASIL, 2012).

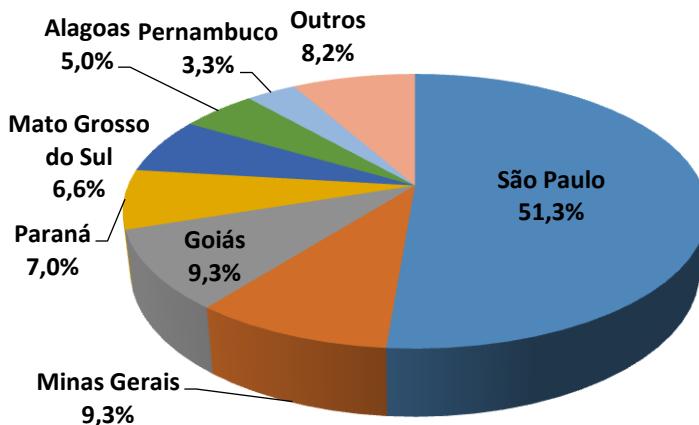


Figura 4 – Distribuição da área plantada entre os estados brasileiros. Fonte: criado pelo autor com base nos dados da COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2013.

Nesse contexto, o governo criou o Programa Nacional do Álcool (Proálcool), em 1975, com objetivo de estimular a produção de etanol para atender às demandas interna e externa e à política de combustíveis automotivos, de forma a substituir em larga escala os derivados de petróleo importados (NOVACANA, 2015).

Anos depois do início do Proálcool, o Brasil ainda mantém seus investimentos para o setor sucroalcooleiro, representados pela evolução da produção brasileira de etanol, em termos de volume, como mostra a Figura 5. De acordo com a Procana, o setor contribuiu para 31% do PIB da agricultura no país, em 2012, sendo o maior produtor e exportador de açúcar e

o segundo maior produtor de etanol do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos. Além da importância do etanol e do açúcar, a biomassa é a terceira fonte de energia mais importante da matriz energética brasileira, sendo que o bagaço de cana é responsável por cerca de 80% de toda a energia gerada por essa fonte, segundo dados da AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA (2014).

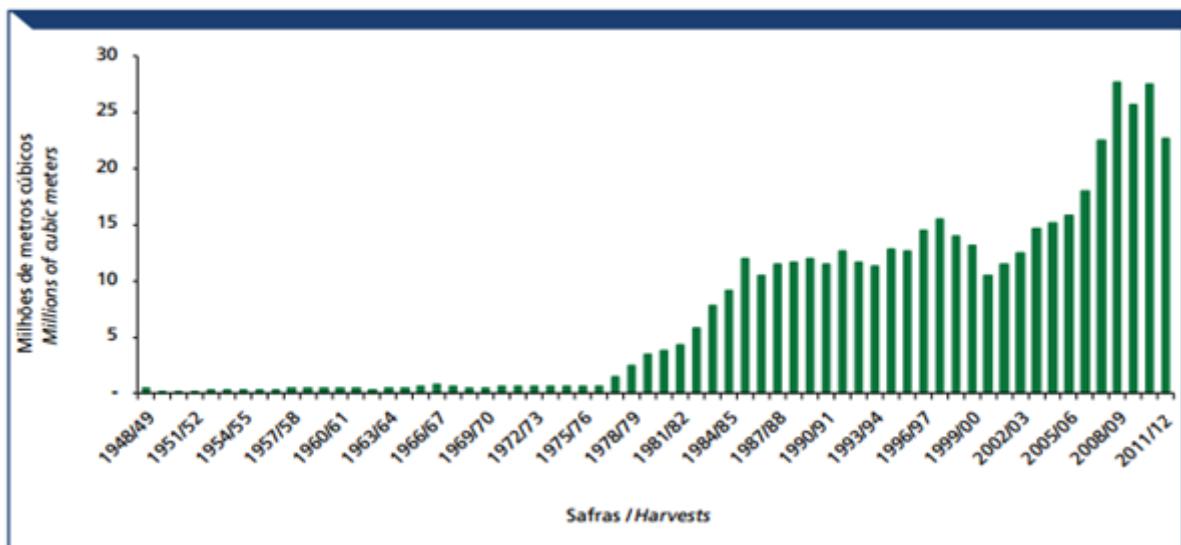


Figura 5 – Evolução da produção brasileira de etanol. Fonte: Anuário Estatístico da Agroenergia 2012 (BRASIL, 2012).

Segundo a COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (2013), a safra 2013/2014 foi responsável por uma produção total de etanol de, aproximadamente, 28 bilhões de litros. A região Centro-Sul produziu 26 bilhões de litros nesta safra (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR, 2015; COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2013), o que corresponde a 42,83 litros de etanol por tonelada de cana. Em comparação com a safra 2012/2013, foram observados crescimentos de 19,70% e 6,83%, respectivamente. A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - ANP registrou, no boletim etanol de Fevereiro/2014, a existência de 382 plantas produtoras de etanol autorizadas, sendo a capacidade total de produção de $309.234 \text{ m}^3 \cdot \text{dia}^{-1}$ de etanol. A matéria-prima utilizada em 97,6% das plantas de etanol autorizadas é a cana-de-açúcar.

As projeções para a produção de cana-de-açúcar e de etanol, no Brasil, devido à sua importância como combustível em todo o mundo, são positivas para as próximas décadas. A expectativa de crescimento está amparada no fato do Brasil possuir vantagens competitivas para este setor, dentre elas: [i] condições climáticas e de cultivo favoráveis e grandes

extensões de terra propícias para o cultivo de cana-de-açúcar, o que permite a prática desta cultura em todas as regiões do país; [ii] possibilidade de ampliação da área cultivada¹; [iii] baixo custo de produção e crescente índice de mecanização, o que aumenta a produtividade; [iv] crescentes avanços tecnológicos na produção de cana-de-açúcar para otimização da produção; [v] forte demanda interna, principalmente devido às regulamentações que determinam a mistura obrigatória de etanol à gasolina e ao lançamento de veículos *flexfuel*; [vi] crescente investimento governamental e programas de apoio a este setor, como o Prorenova e o PASS, ambos do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico E Social.

Levando-se em conta o cenário atual e as condições favoráveis para ampliação do setor sucroenergético, o aumento previsto na produção de etanol é da ordem de 100% para o ano de 2020, ou seja, o volume produzido pode chegar a aproximadamente 50 bilhões de litros, segundo dados do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008) e Fuess (2013).

3.2. Etapa industrial da produção de etanol com base na cana-de-açúcar

A produção de bioetanol a partir de matérias-primas vegetais pode apresentar diferentes rotas tecnológicas, cada uma com suas vantagens e limitações. Mediante processos biológicos, qualquer tipo de biomassa que contenha teores significativos de amido e açúcares pode ser empregado para a obtenção de etanol (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008). Dentre as matérias-primas amiláceas, ricas em amido, destacam-se o milho, trigo e outros cereais e grãos (aveia, cevada e sorgo), além da mandioca. Já entre as matérias-primas ricas em açúcares, utilizam-se a cana-de-açúcar e a beterraba.

A Tabela 1 apresenta as diferentes matérias-primas e suas respectivas rentabilidades em termos da produção de etanol. Segundo o Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008), atualmente, em escala mundial, os materiais amiláceos são predominantes nas usinas de bioetanol em relação aos ricos em açúcares, representando em torno de 53% da quantidade total das fontes de carboidrato empregadas na produção.

¹De acordo com o guia da Cana, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a cana terá um aumento de 34% em relação à 2012, na safra 2018/2019.

Tabela 1 – Estimativas de produção de etanol por matéria-prima

Matéria-prima	Litros/ tonelada	Litros por hectare
Mandioca	180	2160
Sorgo sacarino	55	1925
Batata-doce	125	1250
Milho	385	580
Babaçu	80	200
Cana	67	3015

Fonte: Modificado de MENEZES, 1980.

A produção do etanol difere para os dois tipos de matéria-prima apenas na etapa anterior à fermentação. No caso da cana-de-açúcar e da beterraba, por exemplo, o processo de produção é mais simples, pois os açúcares já estão prontamente disponíveis na biomassa, o que as tornam diretamente fermentáveis. Já no caso dos cereais e grãos, a fermentação não ocorre de forma direta, sendo necessária uma etapa anterior de transformação do amido em açúcares. Portanto, os materiais amiláceos são indiretamente fermentáveis (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008; MENEZES, 1980). Atualmente, a produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos, como o excedente de bagaço e palha de cana-de-açúcar, está em desenvolvimento a fim de se maximizar a produtividade da cana. Os materiais lignocelulósicos se enquadram como indiretamente fermentáveis, assim como os amiláceos, sendo necessário o processamento da celulose para obtenção dos açúcares. O etanol produzido a partir desta matéria-prima é chamado de etanol de segunda geração.

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 6 mostra as rotas tecnológicas mais empregadas na produção de etanol.

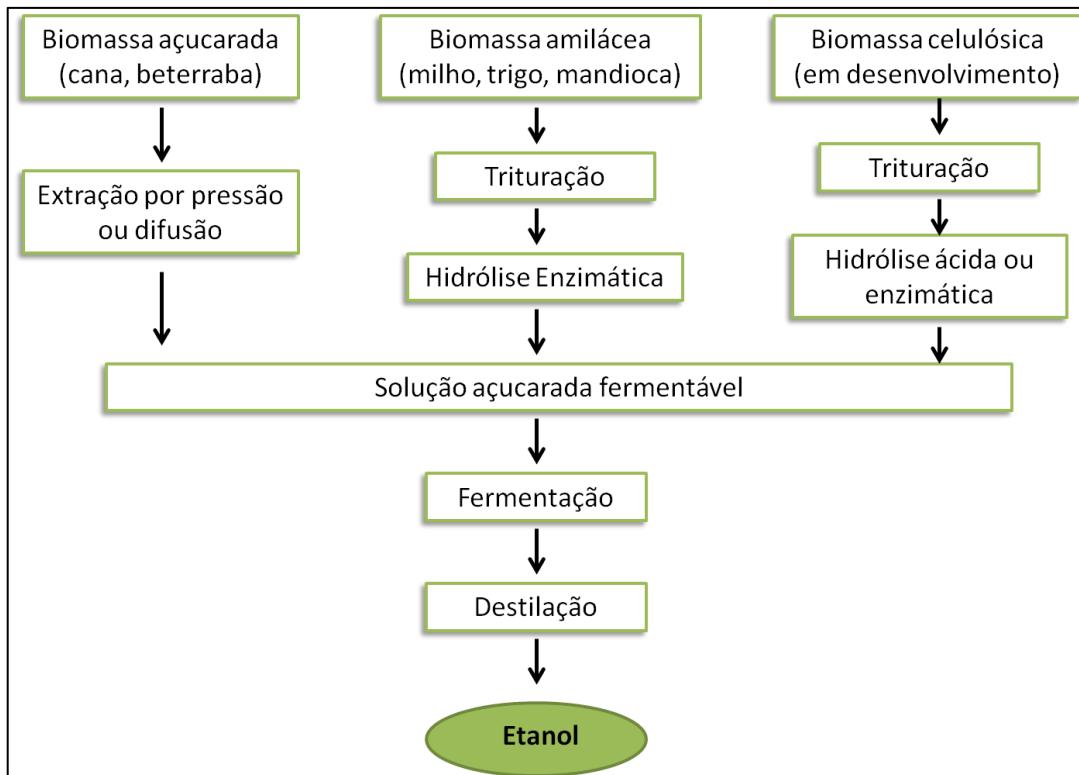


Figura 6 – Rotas tecnológicas para a produção de etanol. Fonte: Adaptado de (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008).

Considerando que a cana-de-açúcar é a matéria-prima empregada na indústria sucroalcooleira em todo o Brasil, ela será usada como exemplo na descrição das etapas de produção completa do etanol, já na fase industrial, a partir de biomassa açucarada.

Primeiramente, a cana em sua forma pura é colocada numa esteira rolante para receber a lavagem. Nesta etapa, retiram-se poeira, areia, terra e outros tipos de impurezas. Em seguida, a cana é picada e encaminhada para um eletroímã, onde são extraídos possíveis materiais metálicos presentes no produto (NOVACANA, 2012).

Após a lavagem, a cana segue para a moagem, que consiste na extração de um líquido chamado melado. Nesta etapa, um conjunto de rolos, montados numa sequência de quatro a sete ternos de moenda, exerce pressão sobre a matéria-prima para a retirada do caldo (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008; NOVACANA, 2012). Ainda segundo NovaCana (2012), cerca de 70% da cana bruta se transforma no caldo, enquanto os 30% da parte sólida corresponde ao bagaço. O melado, então, segue para as etapas seguintes, pois é ele que contém a maior parte dos açúcares da

cana, enquanto o bagaço pode ser utilizado na própria usina para geração de energia em plantas de cogeração ou empregado na produção de etanol de segunda geração.

Outra tecnologia que vem sendo implantada nas novas usinas brasileiras é a extração por difusão, com expectativas de vantagens energéticas em relação aos rolos. Os açúcares são extraídos por meio de sucessivas lavagens da cana com água quente e o caldo resultante segue para a fermentação (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008).

Na etapa seguinte à moagem, o caldo passa por um peneiramento para a retirada de impurezas, como bagaço da cana, areia, entre outras. Em seguida, ele é encaminhado para o processo de caleação (ALCARDE, 2009). Este tratamento consiste na adição de leite de cal, que exerce a função de floculador, favorecendo a sedimentação das impurezas (etapa seguinte), além de neutralizar a acidez do caldo para proteger os equipamentos da corrosão. O pH a ser atingido nesta etapa não é definido, sendo determinante o pH do caldo decantado. No entanto, Alcarde (2009), menciona as desvantagens de um pH acima de 7,0, em que ocorre maior remoção de nutrientes do caldo e bem como afeta-se o crescimento das leveduras devido ao excesso de cal.

Após o primeiro tratamento químico, o caldo é aquecido a temperaturas elevadas, entre 103° e 105° Celsius (ALCARDE, 2009), a fim de eliminar os microrganismos presentes (ALCARDE, 2009; NOVACANA, 2012; BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008). No entanto, segundo Alcarde (2009), o tempo em que o caldo permanece em aquecimento é insuficiente para reduzir a contaminação microbiana.

O caldo, então, segue para a última etapa antes da sua transformação em mosto, na qual é encaminhado para um tanque, onde permanece em repouso para a sedimentação das impurezas que não foram removidas nas etapas anteriores. O melado puro é, então, extraído e recebe o nome de caldo clarificado (NOVACANA, 2012; ALCARDE, 2009; BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008). Uma vez clarificado, o caldo é evaporado com o objetivo de se elevar o teor de açúcar total na solução e, consequentemente, elevar o teor alcoólico na solução fermentada. Deste ajuste, origina-se o mosto. Usualmente, para a produção de etanol, atinge-se o grau Brix entre 50 a 55 (valor do teor de sólidos solúveis contidos no mosto) (ALCARDE, 2009).

Por fim, o mosto é levado para a etapa mais importante, devido aos cuidados que devem ser tomados antes e durante a transformação, se necessário, para que se tenha um máximo rendimento. A fermentação, portanto, é o processo responsável pela transformação da matéria-prima, no caso o açúcar em álcool, o produto final, através da atividade dos microrganismos. Este tipo de fermentação é chamado de fermentação alcoólica, em que comumente se empregam as leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (ALCARDE, 2009; NOVACANA, 2012; BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008).

Os cuidados nesta etapa são essenciais para que sejam atingidas e mantidas condições ambientais ótimas à atividade do fermento. No geral, as condições adversas afetam a membrana celular e modificam macromoléculas, como lipídios, proteínas, entre outras, que acabam por perder suas funções (SOUZA, 2009). Portanto, a correção do mosto envolve parâmetros, estando alguns descritos a seguir (ALCARDE, 2009; LIMA, BASSO e AMORIM², 2001 apud PACHECO, 2010):

- i. Concentração de açúcares totais;
- ii. Temperatura;
- iii. pH;
- iv. Contaminação microbiana.

[i] Concentração de açúcares totais

Segundo Souza (2009), as leveduras utilizadas na maioria dos processos industriais apresentam osmotolerância limitada. Portanto, as fermentações alcoólicas são conduzidas em concentração de açúcares totais geralmente menor ou igual a 20% (m/v).

Uma alternativa para minimizar os efeitos da pressão osmótica durante a fermentação alcoólica é a adição gradual de açúcar no meio conforme sugerido por Melle-Boinot

² LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. **Biotecnologia Industrial:** processos fermentativos e enzimáticos. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p.1-43. (Biotecnologia Industrial; v.3).

(SCHIMIDELL; FACCIOOTTI³, 2001 apud SOUZA, 2009). Além disso, com a adição parcial, é possível realizar a manutenção de baixas concentrações de açúcar na dorna.

[ii] Temperatura

A temperatura pode influenciar no rendimento da fermentação alcoólica a partir do momento em que ela exerce efeitos sobre a ecologia microbiana e as reações bioquímicas das leveduras (TORIJA et al., 2003; PACHECO, 2010).

Com relação à atividade microbiana, temperaturas inferiores ao limite recomendado afetam o crescimento e o metabolismo das leveduras, o que acarretam no retardamento do processo fermentativo. Já em temperaturas superiores, pode haver a evaporação do etanol e favorecimento de contaminação microbiana (SOUZA, 2009; PACHECO, 2010).

A faixa recomendada para a fermentação alcoólica é de 25° - 36°C (SOUZA, 2009; MENEZES, 1980). No entanto, a temperatura ótima varia entre as leveduras, que podem ser mesofílicas (25° – 36°C), geralmente utilizadas na produção de etanol em destilarias, e termofílicas, cuja temperatura ótima de crescimento é acima de 40°C (WALKER⁴, 1998 apud SOUZA, 2009).

[iii] pH

O pH é um parâmetro significativo para as fermentações industriais, devido a sua influência no controle da contaminação bacteriana e ao seu efeito sobre as leveduras, no que diz respeito ao crescimento, taxa de fermentação e formação de subprodutos (AMORIM⁵ et al., 1996 apud STECKELBERG, 2001).

Normalmente, o pH do caldo de cana varia entre 5,2 a 6,8 (VIÉGAS, 2011) sendo então corrigido, nos mostos industriais, para um valor de pH na faixa de 4,5 – 5,5 com boa capacidade tampão (THOMAS et al.,⁶ 2002 apud SOUZA, 2009; STECKELBERG, 2001; PACHECO, 2010), embora o pH ótimo para as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* situa-se na faixa de 4,0 a 5,0 (SOUZA, 2009 ; MENEZES, 1980). O meio fermentativo pode

³ SCHIMIDELL, E.; FACCIOOTTI, M. C. R. Biorreatores e processos fermentativos. In: SCHIMIDELL, W. et al. (Ed.). **Biotecnologia industrial:** engenharia bioquímica. 6. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. P. 179-192.

⁴ WALKER M. W. Yeast Growth. In: WALKER M. W. (Ed.). Yeast physiology and biotechnoloy. Chichester: John Wiley & sonS, 1998. P. 101-202.

⁵ AMORIM, H.V.; OLIVEIRA, A.J.; GALLO, C.R.; ALCARDE, V.E.; GODOY, A. Métodos para o controle microbiológico na produção de álcool e açúcar. FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP. Piracicaba, 1996.

⁶ THOMAS, K.C.; HYNES, S.H.; INGLEDEW, W.M. Influence of medium buffering capacity on inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* growth by acetic and lactic acids. Appl. Environ.Microbiol.,v.68, n.4, p. 1616-1623,2002.

apresentar baixo pH devido a uma propriedade bastante interessante das leveduras utilizadas na fermentação alcoólica que é a capacidade de manter as condições, no seu interior, favoráveis a sua sobrevivência, chamada de homeostase (STECKELBERG, 2001; SOUZA, 2009). Portanto, independente do valor do pH extracelular, desde que esteja na faixa de 2,0 a 7,0 , as leveduras conseguem manter seu pH interno na faixa de 5,8 a 6,9 (SOUZA, 2009). Vale ressaltar que baixos valores de pH não são recomendados, pois o meio torna-se mais agressivo e as leveduras necessitam de mais energia para controlar o pH interno. Além disso, afetam as proteínas de transporte da membrana plasmática que ficam expostas ao meio externo e a velocidade de crescimento das leveduras.

Devido à homeostase, as leveduras toleram o tratamento ácido, processo geralmente adotado em fermentações industriais, a fim de se controlar a contaminação bacteriana. A partir do tratamento ácido verifica-se a redução significativa no número de bactérias contaminantes, bem como se acelera a primeira fase do processo fermentativo, conhecida como pré-fermentação, em que ocorre a multiplicação das leveduras. Esta técnica de controle do crescimento é chamada de processo Melle-Boinot, bastante utilizada na indústria do etanol, que será detalhada mais adiante.

[iv] Contaminação bacteriana

A contaminação bacteriana é um dos agentes estressantes que aparecem com frequência na fermentação, sendo considerada a principal causa da redução na produção de etanol a partir de mosto de cana (CHERUBIN, 2003). Isso ocorre devido aos inúmeros microrganismos que chegam ao processo produtivo por meio da matéria-prima. Segundo o Boletim Técnico Copersucar (1983), citado por Steckelberg (2001), apesar da assepsia dos equipamentos, ocorre sempre a existência de focos de crescimento de microrganismos.

A interação entre os microrganismos contaminantes, como bactérias e outras espécies de levedura, e a *Saccharomyces cereviseae* depende da intensidade da contaminação. Vale ressaltar que níveis elevados de contaminação resultam em aumento na quantidade de ácido utilizado no tratamento de fermento e elevação do tempo de fermentação (CHERUBIN, 2003).

Embora a contaminação seja algo comum nas dornas, existem substâncias antimicrobianas bastante utilizadas no controle das bactérias, como é o caso do ácido sulfúrico e o ácido succínico (STECKELBERG, 2001; CHERUBIN, 2003).

Após a etapa de fermentação, as leveduras são separadas do vinho fermentado e este é encaminhado para as colunas de destilação, com a finalidade de separar o bioetanol da mistura. O processo de separação dos componentes do vinho é feito de forma convencional, ou seja, o líquido é aquecido até ocorrer a sua evaporação. Em seguida, na coluna de destilação, as frações, como apresentam diferentes pontos de ebulação, são separadas através da condensação. Ao final do processo, são extraídos: o bioetanol inicialmente na sua forma hidratada, utilizada como combustível, teor alcoólico em cerca de 96% ; álcoois de segunda e óleo fúsel. O líquido residual do processo, chamado de vinhaça ou vinhoto, é gerado a uma proporção de 10 a 13 litros por litro de bioetanol hidratado produzido (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008; ALCARDE, 2009).

Por fim, o álcool hidratado pode ser armazenado como produto final ou ainda ser desidratado para formar o álcool anidro. Como se trata de uma mistura azeotrópica, a destilação convencional é insuficiente. A técnica mais utilizada no Brasil é a desidratação pela adição do cicloexano, formando uma mistura azeotrópica ternária, cicloexano-água-álcool, com ponto de ebulação inferior ao do álcool anidro. Na coluna de desidratação, o cicloexano é adicionado no topo e, portanto, o álcool anidro é retirado no fundo da coluna com teor alcoólico em cerca de 99,7% e utilizado como aditivo à gasolina (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008; ALCARDE, 2009).

A Figura 7 apresenta o diagrama com todas as etapas, incluindo os resíduos e insumos, da produção de etanol e de açúcar. Vale ressaltar que o bagaço também pode entrar como insumo para a produção de etanol de segunda geração, além de ser utilizado como fonte energética em sistemas de cogeração.

3.2.1. Importância do ácido sulfúrico na produção de etanol

O ácido sulfúrico (H_2SO_4) é adicionado durante a fase industrial do processo produtivo, mais especificamente na etapa de tratamento do mosto para a fermentação. A sua preferência entre as usinas é explicada pelo baixo custo do produto no mercado (MOREIRA

et al., 2009), sendo este empregado no controle das condições do meio em que são colocadas as leveduras.

Assim, o ácido exerce três funções importantes na otimização da produção de etanol, sendo elas: [i] controle do pH do mosto (MOREIRA et al., 2009; MENEZES, 1980); [ii] tratamento ácido para controle de bactérias contaminantes (MOREIRA et al., 2009); [iii] hidrólise ácida para extração de açúcares fermentáveis, no caso da matéria-prima ser o bagaço de cana (MILLER et al., 2012; MOREIRA et al., 2009; WILKIE et al., 2000).

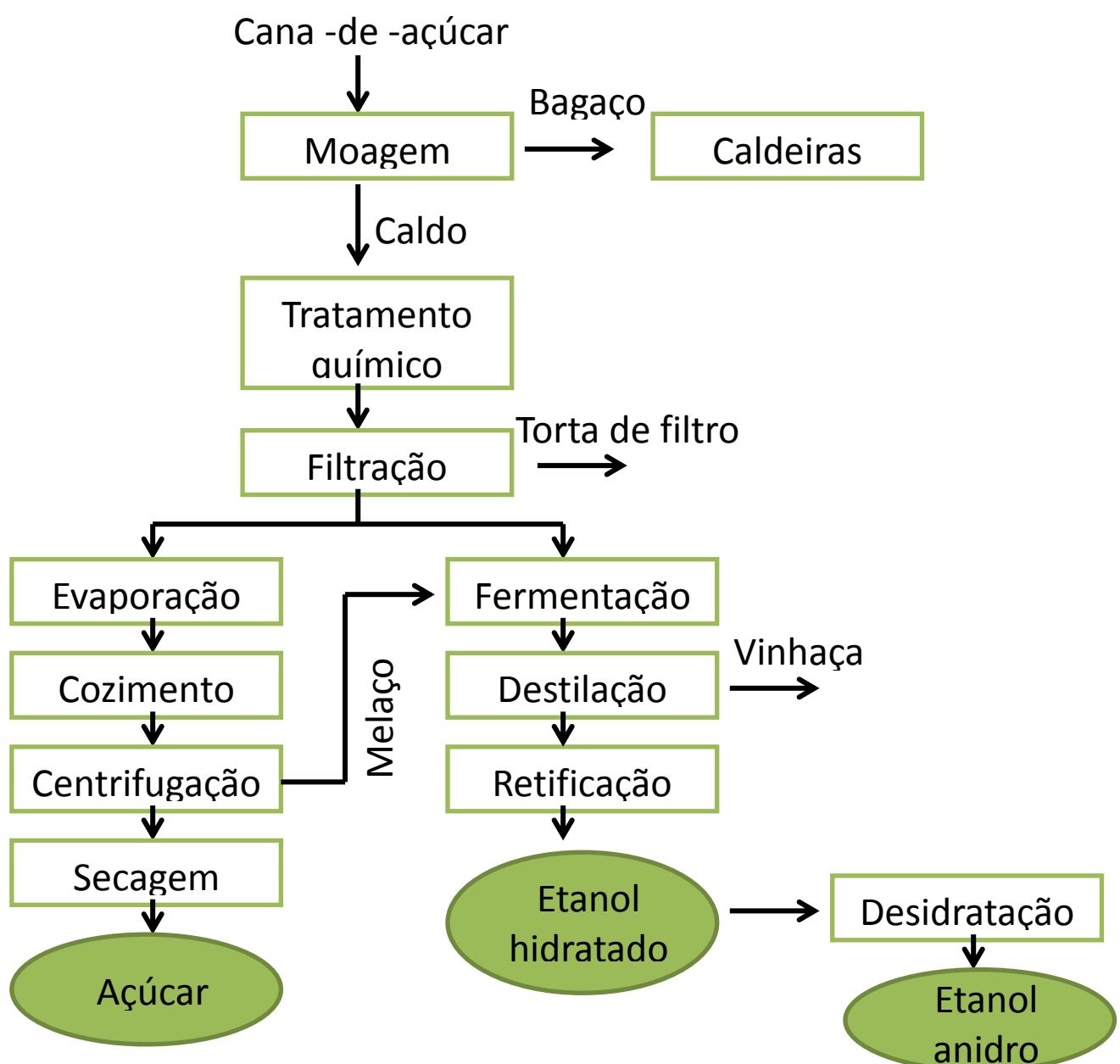


Figura 7 – Etapas da produção de etanol e de açúcar a partir da cana. Fonte: Adaptado de Seabra (2008) (apud BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008).

Conforme apresentado no subcapítulo 2.2, o controle do pH durante o processo de fermentação é necessário para se manter as condições ótimas de crescimento e de rendimento das leveduras, resultando em maior rentabilidade da cana-de-açúcar em termos da produção de etanol. De forma resumida, o caldo, logo após ser extraído da cana pura, apresenta pH em torno de 5,2 a 6,8. Na etapa de caleação, adiciona-se leite de cal para floculação das impurezas, resultando na elevação do pH do caldo, em torno de 7,0. Este pH, então, é corrigido com ácido para diminuí-lo até a faixa de 4,5 a 5,5, ideal para as fermentações industriais.

Além de influenciar a atividade das células fermentativas, o pH tem grande importância no controle da contaminação microbiana, que é destaque entre os fatores que afetam a fermentação alcoólica por ser a causa de perdas importantes na produtividade das destilarias (SCHENBERG, 2010). No Brasil, as destilarias não incluem a esterilização do mosto na produção, de modo que a presença de populações microbianas naturais, tanto de bactérias quanto de leveduras de outras espécies, que competem com as *Saccharomyces cerevisiae* pelo substrato, está se tornando cada vez mais comum.

Segundo Yokoya⁷ (1989 apud Gallo 1989), com a adoção de práticas adequadas de limpeza dos equipamentos e aplicação correta de antimicrobianos tem-se conseguido reduzir em 17-35 % das perdas de sacarose por contaminação microbiana. Ainda segundo Yokoya⁷ (1989 apud Gallo 1989), a perda de sacarose pode variar de 1,0 kg de sacarose/tonelada de cana, em condições higiênicas e operacionais satisfatórias, a 2,5 kg de sacarose/tonelada de cana, quando as condições são adversas. Apesar da pequena eficiência dos antimicrobianos, devido à variedade de espécies presentes na cana e em seus derivados, a sua aplicação é essencial para maximizar a produção de etanol.

Os mostos podem receber tratamento térmico ou antissépticos para assegurar uma fermentação alcoólica pura, com reduzida competição entre microrganismos. O ácido sulfúrico é o antisséptico mais utilizado nas destilarias brasileiras, já que também exerce a função de corrigir o pH do mosto (MOREIRA et al., 2009). Segundo Vasconcelos (2011), na literatura são citados valores entre 2,5 a 3,0 g de ácido sulfúrico por litro de mosto a ser corrigido, não devendo ultrapassar 5,0 g por litro.

⁷ YOKOYA, F. Micribiologia de processos: fermentação. In: EGUCHI, S. Y. et AL. Pontos críticos microbiológicos em usinas de açúcar e álcool. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia “André Tosello”, 1989.

As informações a respeito da quantidade de ácido sulfúrico adicionada para reduzir a contaminação do mosto são escassas na literatura. No entanto, a dosagem do produto químico vai depender da intensidade da contaminação, que pode estar ligada, entre outros fatores, aos tipos de operações industriais.

Existem quatro tipos de operações fermentativas industriais: processo descontínuo, semicontínuo, contínuo e descontínuo alimentado (KEIM⁸, 1983 apud SOUZA, 2009). Os processos são classificados de acordo com a maneira em que as dornas de fermentação são alimentadas com substrato e fermento, e em que a solução fermentada é retirada (DARÉ, 2008).

Na fermentação em processo descontínuo (ou batelada), o substrato juntamente com as células de leveduras é adicionado ao biorreator e, ao término do processo, descarrega-se a dorna e o meio fermentado segue para os tratamentos finais (KEIM⁸, 1983 apud SOUZA, 2009; DARÉ, 2008). A dorna é, então, lavada e esterilizada para receber novamente o mosto e o inóculo.

No que se refere à assepsia, o processo em batelada é considerado o mais seguro, com menor risco de contaminação microbiana, pois, ao final de cada ciclo, as dornas são esterilizadas juntamente com um novo meio de cultura, que deve ser submetido a todos os controles necessários para que se tenham apenas os microrganismos responsáveis pela fermentação (SCHIMIDELL; FACCIOTTI⁹, 2001 apud PACHECO, 2010).

Nos processos semicontínuos, uma porção da solução fermentada é coletada em intervalos de tempos e o meio fresco é adicionado ao sistema (SOUZA, 2009; DARÉ, 2008). Segundo Souza (2009), este método apresenta vantagens em relação à operação em batelada e a contínua, como não desperdício de tempo para limpeza e esterilização das dornas e não é requerido muito controle. Apesar disso, existe alto risco de contaminação e mutação devido aos longos períodos de cultivos e as operações manuais.

Em relação ao processo contínuo de fermentação, o substrato, contendo a fonte de carbono e outros nutrientes, é bombeado continuamente para o reator, o qual contém microrganismos ativos, e a solução fermentada é retirada do sistema com a mesma vazão de

⁸ KEIM, C. R. Technology and economics of fermentation alcohol: na update. **Enzyme Microbial. Technol.**, v. 5, n. 2, p. 103-114, 1983.

⁹ SCHIMIDELL, E.; FACCIOTTI, M. C. R. Biorreatores e processos fermentativos. In: SCHIMIDELL, W. et al. (Ed.). **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. P. 179-192.

alimentação (DARÉ, 2008; SOUZA, 2009). O modelo contínuo tem como característica principal a sua operação em estado estacionário, no qual as variáveis de estado (concentração de células, de substrato limitante e de produto) são mantidas constantes ao longo do tempo de operação do sistema, sendo atingido através da manutenção do volume de líquido no reator que deve ser constante (FACCIOTTI¹⁰, 2001 apud SOUZA, 2009).

Apesar das suas principais vantagens, em relação ao descontínuo, serem determinantes para a otimização da produção de etanol, em virtude da redução do tempo de crescimento das leveduras ou tempo morto e da possibilidade de associação com outras operações contínuas de linha de produção, o processo contínuo apresenta problemas práticos que limitam o seu emprego em alguns tipos de fermentações industriais (FACCIOTTI¹⁰, 2001 apud SOUZA, 2009).

Dentre as principais desvantagens desse tipo de operação, destacam-se: a possibilidade de ocorrência de mutações genéticas espontâneas, resultando na seleção de microrganismos menos produtivos; maiores riscos de contaminações por se tratar de um sistema aberto, necessitando de manutenção das condições de assepsia nos sistemas de alimentação e retirada de meio; entre outras (FACCIOTTI¹⁰, 2001 apud SOUZA, 2009; CYSEWSKI; WILKIE¹¹, 1978 apud PACHECO, 2010).

E, por fim, o processo descontínuo alimentado ou batelada alimentada, que será mais bem detalhado por ser amplamente empregado nas usinas sucroalcooleiras do Brasil. De acordo com Andrietta, Steckelberg e Andrietta (2006), citado por Pacheco (2010), cerca de 70% das destilarias instaladas no Brasil utilizam este tipo de processo.

O processo descontínuo alimentado surgiu a partir de uma modificação do processo descontínuo tradicional com o objetivo de otimizar a produção, de modo a atender as exigências das industriais. A batelada alimentada é bastante eficiente e versátil na grande maioria dos processos fermentativos, principalmente na fermentação alcoólica (PACHECO, 2010).

Também conhecido como “Melle-Boinot”, o processo inicia-se com a alimentação do biorreator sob condições controladas até este atingir a sua capacidade total. Tal processo

¹⁰ FACCIOTTI, M. c. R. Fermentação contínua. In: SCHMIDELL, w.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (Ed.). Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica. 6. Ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. P. 223-246.

¹¹ CYSEWSKI, G. R.; WILKIE, C. W. Process design and economic studies of fermentation methods for the production of ethanol. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 20, p. 1421-130, 1970

permite que a vazão de alimentação seja contínua ou variável com o tempo e a adição de mosto, de forma contínua ou intermitente. Desta forma, com a flexibilidade na vazão de alimentação, é possível controlar a concentração do substrato no fermentador, de modo a reduzir eventuais inibições das células fermentativas devido à elevação repentina do teor alcoólico na solução fermentada, e deslocar as reações bioquímicas para uma determinada via metabólica, levando ao acúmulo de um produto específico (CARVALHO; SATO¹², 2001 apud PACHECO, 2010). Além disso, a alimentação de forma intermitente possibilita que se trabalhe com altas concentrações de substrato, resultando num acréscimo da produtividade do etanol e numa diminuição do volume do reator e da quantidade de vinhaça produzida (IMPE VAN¹³ et al., 1994 apud PACHECO, 2010).

Outro fator que torna o processo Melle-Boinot mais vantajoso em relação aos outros tipos é a recirculação das células fermentativas. O reaproveitamento do fermento, que antes era enviado para a coluna de destilação junto com o vinho (AMORIM, 2005), trouxe benefícios para a fermentação alcoólica, entre eles: elevado rendimento na produção de etanol, pois se reduz a quantidade de açúcar destinada ao crescimento celular e as leveduras recicladas já estão adaptadas ao meio; eliminação dos microrganismos contaminantes por centrifugação do meio fermentado e por utilização do tratamento ácido; e eliminação do preparo de cultura pura devido ao reciclo do fermento (ANDRIETTA¹⁴, 1994 apud DARÉ, 2008).

No processo de reciclo, a vazão de saída do reator passa por um processo de separação, sendo que o mais utilizado nas usinas brasileiras é a centrifugação. Nesta etapa, o vinho é separado das leveduras, que serão reenviadas para o reator, enquanto que o vinho gerado é encaminhado para as colunas de destilação, passo final da produção de etanol. O fermento retirado da centrífuga passa por um tratamento ácido antes de retornar ao processo fermentativo. O tratamento consiste na diluição do fermento e adição de ácido sulfúrico até que o pH fique em torno de 2,5 ou 2,0, em casos de haver contaminação bacteriana. Esta suspensão de fermento diluído e acidificado, conhecido como pé-de-cuba, permanece em

¹² CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Fermentação descontínua alimentada. In: SCHMIDELL, W. et AL. (Coord.) Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica. São Paulo: Egard Blücher, 2001. P. 205-222. (Biotecnologia Industrial, v.2).

¹³ IMPE VAN, J.F.; NICOLAY, B.M.; VANROLLEGHM, P.A.; SPRIET, J.A.; MOOR, B.D.; VANDEWALLE, J. Optimal control of the penicillin G. fed-batch fermentation: an analysis of the model of Heijnen et al. **Optimal Control Appl. & Methods**, 15, p. 13-34, 1994.

¹⁴ ANDRIETTA,S.R.: Modelagem, Simulação e Controle de Fermentação Alcoólica Contínua em Escala Industrial – Universidade de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1994. 163 p. Tese (Doutorado).

agitação por período de uma a três horas antes de retornar à dorna de fermentação (FURTADO; SCANDIFFIO, 2006; SOUZA, 2009). De acordo com Daré (2008), o tempo de fermentação de 6 a 10 horas permite que a levedura seja reciclada em até três vezes por dia, durante 200 dias de safra.

As condições nas quais as leveduras são submetidas proporcionam a eliminação de contaminantes, bem como de células que já se apresentam em fase de degeneração (CARVALHO e SATO, 2001). A Figura 8 apresenta o fluxograma do processo de recirculação do fermento na Usina São Manoel, localizada em São Manuel (SP). Vale ressaltar que pode haver uma recentrifugação e, em seguida, um segundo tratamento ácido, para reduzir ainda mais os riscos de contaminação, como é o caso desta usina.

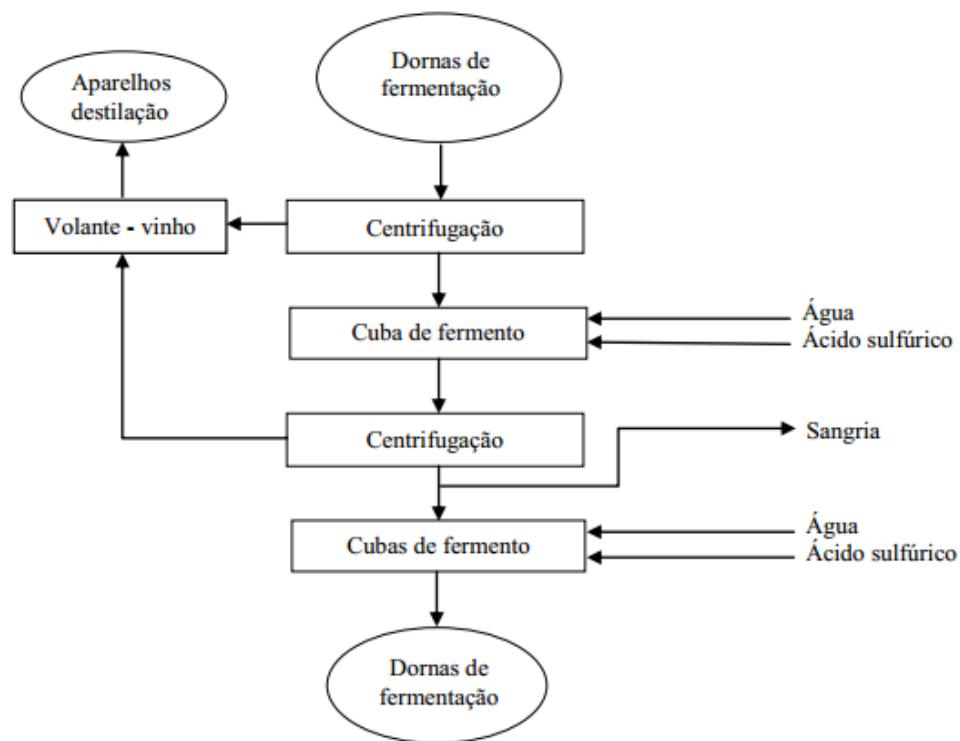


Figura 8 – Fluxograma da recirculação do fermento na Usina São Manoel. Fonte: Henrique (2013).

O terceiro e último uso do ácido sulfúrico na produção de etanol está inserido no processo produtivo dos biocombustíveis (etanol) a partir de materiais lignocelulósicos, principalmente o bagaço da cana-de-açúcar. Como a tecnologia ainda está em estudo no Brasil, não será dado enfoque às etapas de sua produção.

A cana-de-açúcar é constituída de 75 a 82% de água, 18 a 25% de sólidos solúveis e de 10 a 16% de fibra. A fibra é composta de celulose, hemicelulose e lignina (PANDEY¹⁵, 2000 apud MILLER et al., 2012), as quais podem ser processadas para a produção do etanol de segunda geração.

Para que haja a extração dos açúcares simples contidos na fibra do bagaço de cana, o processo de hidrólise ácida juntamente com tratamento térmico é o mais estudado. O ácido mais utilizado é o sulfúrico, podendo ser utilizados também o ácido clorídrico, nítrico, fluorídrico, fosfórico, entre outros (RODRIGHEZ-CHONG et al., 2004; AGUILAR et al., 2002; MARTÍNEZ¹⁶ et al., 2002 apud MILLER et al., 2012).

Apesar da sua grande importância para a produção, as informações a respeito da dosagem total de ácido sulfúrico adotada nas usinas de etanol são escassas na literatura. Segundo o site NovaCana, para o caso de uma destilaria autônoma, utilizam-se aproximadamente 5 kg de ácido sulfúrico (98% em concentração) por m³ de etanol produzido.

Além disso, segundo Fuess e Garcia (2014), as concentrações de ácido sulfúrico tendem a aumentar no final da safra da cana-de-açúcar devido à aplicação contínua do ácido nas dornas de fermentação.

3.3. Vinhaça

A vinhaça, também chamada de vinhoto, caracteriza-se como a principal água residuária gerada na fase industrial da produção de etanol, especificamente durante a etapa de destilação da mistura alcoólica, seguinte à fermentação dos carboidratos. Independente do tipo de biomassa empregada geram-se elevados volumes de vinhaça, a qual exibe um potencial poluidor considerável (WILKIE et al., 2000).

Além da vinhaça, outros dois efluentes são verificados na planta produtiva do biocombustível, como a água de limpeza e água de resfriamento para controle da temperatura após a destilação, mas ambas apresentam baixo grau de importância em relação à vinhaça. As

¹⁵ PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, v.74, p.69-80, 2000.

¹⁶ MARTÍNEZ, E.A.; VILLARREAL, M.L.M.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; SOLENZAL, A.I.N.; CANILLHA, L.; MUSSAMATO, S.I. Uso de diferentes material primas para la producción biotecnológica de xilitol. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, v.3,n.5,295-301, 2002.

preocupações que envolvem a forma como este efluente é disposto no ambiente são devidas às suas características físico-químicas. A vinhaça contém elevadas concentrações de matéria orgânica, além de teores consideráveis de sólidos em suspensão macro e micronutrientes, e propriedades ácidas e corrosivas, resultantes da adição de produtos químicos na etapa de tratamento da matéria-prima para a fermentação, dentre eles o ácido sulfúrico (FUESS, 2013; CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA, 2009; WILLINGTON; MARTEN, 1982).

Willington e Marten (1982) e Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008), descrevem que para cada litro etanol de produzido são gerados, em média, 13L de vinhaça. No entanto, esse valor pode chegar a 20L, dependendo do tipo de matéria-prima e do nível da tecnologia empregada (WILKIE et al., 2000). De acordo com Fuess e Garcia (2014), uma única destilaria de larga escala, que chega a produzir cerca de 365.000 m³ por ano ou 1.000 m³ por dia de etanol, poderia gerar em torno de 4,7 bilhões de litros de vinhaça anualmente. Se todas as usinas brasileiras autorizadas produzissem etanol na sua capacidade máxima instalada, cujo valor é de 309.234 m³. dia⁻¹ de etanol, como apresentado na seção 2.1, e adotando-se a proporção de 13L de vinhaça por litro de etanol produzido, a geração total de vinhaça, no Brasil, seria de 4 bilhões de litros por dia.

Entretanto, é importante ressaltar que o problema da vinhaça não é devido exclusivamente ao volume gerado da mesma, mas também ao seu potencial poluente, associado às características previamente mencionadas, com foco na concentração de matéria-orgânica. 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 geração de vinhaça) e a população equivalente que produziria a mesma carga poluidora através do esgoto doméstico. A Tabela 2 mostra as relações para diferentes valores de etanol produzido. Por exemplo, uma destilaria que produz 250 m³. dia⁻¹ de etanol, gera uma carga poluidora equivalente a uma população de 2 milhões de habitantes. Além disso, a DQO da vinhaça pode chegar a 90 g.L⁻¹, quando a matéria-prima é o melão de cana, correspondendo a um valor muito superior que o encontrado em esgotos domésticos (WILLINGTON; MARTEN, 1982; WILKIE et al., 2000).

Baseando-se nos valores considerados no estudo de Willington e Marten (1982) – DBO da vinhaça igual a 45 kg/m³, uma única destilaria brasileira de grande escala (produção anual de 365.000 m³ de etanol) tende a gerar uma carga poluidora equivalente a uma cidade

de 8 milhões de habitantes, acima da população da cidade do Rio de Janeiro, segundo dados de 2014 lançados pelo IBGE.

Além da elevada DQO, resultante da matéria orgânica que não foi consumida durante a fermentação, a vinhaça contém outros elementos químicos, em teores consideráveis, que constituem os resíduos originários de processos e operações unitárias empregadas na fabricação do etanol, exercendo influência na quantidade e qualidade da vinhaça (WILKIE et al., 2000; HUTNAN¹⁷ et al., 2003 apud FUESS, 2013). Outro fator importante é o tipo de matéria-prima. No caso da cana-de-açúcar e da beterraba, que apresentam altos teores de açúcar, é comum a presença de elevadas concentrações do íon sulfato na vinhaça devido à correção do pH do mosto (solução açucarada a ser fermentada) com adição de ácido sulfúrico (principalmente nos casos em que se utiliza o melaço da cana como matéria-prima) (FUESS, 2013). Os valores médios para DQO, nutrientes, enxofre e pH foram obtidos por Wilkie et al. (2000), sendo apresentados na Tabela 3.

Tabela 2 – População equivalente em termos de carga poluidora para cada volume de etanol¹⁸.

Produção de etanol (m³. dia⁻¹)	População equivalente (hab.)
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).

¹⁷ HUTNAN, M.; HORNAK, M.; BODIK, I.; HLAVACKA, V. Anaerobic treatment of wheat stillage. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, v.17, n.3, p.233-241, 2003.

¹⁸Para o estudo das populações equivalentes, considerou-se que a DBO per capita do esgoto doméstico é de 75g. hab⁻¹.dia⁻¹. E a taxa de geração de vinhaça considerada foi de 13,33 L por litro de etanol produzido a partir do melaço da cana-de-açúcar.

Tabela 3 – Sumário da caracterização da vinhaça proveniente do xarope e melaço da cana, e do material lignocelulósico.

Matéria-prima	Vinhaça produzida (L)/ L de etanol	DQO (g.L ⁻¹)	N _{total} (g.L ⁻¹)	P _{total} (g.L ⁻¹)	S-SO ₄ (g.L ⁻¹)	pH
Xarope da cana (n)*	16,3 ± 5,3 (2)	30,4 ± 8,2 (6)	0,63± 0,32 (6)	0,13±0,11 (6)	1,36 ± 1,4 (5)	4,0 ± 0,5 (7)
Melaço da cana (n)*	14,0 ± 3,3 (7)	89,4±30,6 (22)	1,23±0,64 (20)	0,19±0,3 (17)	3,48±2,52 (16)	4,5±0,3 (7)
Material celulósico (n)*	11,1±4,14 (4)	61,3±40,0 (15)	2,79±0,45 (8)	28±30 (5)	0,65±0,12 (6)	5,3±0,5 (7)

*(n) = n° de valores da literatura utilizados. Fonte: Wilkie et al.(2000)

Pode-se notar que, em se tratando da vinhaça produzida a partir da cana-de-açúcar, principalmente do melaço, as concentrações de sulfato são significativas comparando-se com o nitrogênio e fósforo. De acordo com outros dados obtidos por Wilkie et al. (2000) a respeito da vinhaça da cana, o sulfato é o terceiro componente com maior concentração, estando abaixo apenas da DQO e do potássio. Com relação aos nutrientes, principalmente o potássio em elevadas concentrações, conferem à vinhaça um significativo potencial fertilizante. Já o sulfato em elevadas concentrações, como será visto adiante, é um fator preocupante devido a sua interferência na viabilidade da aplicação da digestão anaeróbia ao tratamento da vinhaça (WILKIE et al., 2000).

3.3.1. Tecnologias de gerenciamento da vinhaça

Os incentivos às fontes renováveis de energia no Brasil, especialmente na década de 1970, foram decisivos para tornar o país menos dependente dos combustíveis fósseis que, naquela época, já alarmavam a sua finitude e os seus problemas ambientais. Diante do contexto, surgiram os biocombustíveis como alternativas renováveis e limpas principalmente para o combustível veicular.

No entanto, a classificação de uma tecnologia como sustentável, depende, dentre diversos fatores, da minimização/eliminação dos impactos ambientais adversos potencialmente associados a mesma. Assim, a questão do tratamento e disposição da vinhaça merece destaque ao se considerar a sustentabilidade da cadeia produtiva do etanol (WILKIE et al., 2000). De acordo com Willington e Marten (1982) e Sheehan e Greenfield (1980), existem várias alternativas em que a vinhaça pode ser empregada, sendo classificadas como de utilização e de tratamento.

Dentre as alternativas de utilização da vinhaça, destacam-se: [i] aplicação direta no solo; [ii] produção de biomassa e de bioquímicos; e [iii] produção de suplementação alimentar para animais. Com relação às alternativas de tratamento, estas podem ser por meio de processo físico-químico ou, então, por meio de processos biológicos, sendo que nesta categoria, destacam-se: [i] digestão anaeróbia; [ii] digestão aeróbia; e [iii] coagulação-flocação (SHEEHAN; GREENFIELD, 1980).

No início do Proálcool, a vinhaça era lançada diretamente nos rios. No entanto, segundo Willington e Marten (1982), os impactos ambientais causados por tal lançamento são inúmeros, como a depleção do oxigênio dissolvido (OD) na água, o surgimento de odores, eutrofização, salinização, acidificação, aumento na temperatura da água e alterações na composição das espécies da flora e fauna aquáticas, o que levou ao surgimento de leis e normas que restringissem o descarte da vinhaça em qualquer ecossistema (OLIVEIRA E SOUZA, 2010).

Passados três anos da criação do Programa, entrou em vigor a Portaria do Ministério nº 323, de 29/11/1978 (BRASIL, 1978), a qual proibiu o lançamento direto e indireto de vinhaça em qualquer coleção hídrica, em vista dos seus efeitos danosos sobre a qualidade das águas, que se agravaram em decorrência do aumento da produção das destilarias de álcool. O recomendado na Portaria correspondeu à adoção de medidas que resguardassem o equilíbrio ecológico e o meio ambiente, a partir da implantação de um sistema de tratamento e/ou utilização da vinhaça, visando o controle a poluição hídrica.

Atualmente, a forma mais comum de se reaproveitar a vinhaça na indústria sucroalcooleira brasileira é a sua aplicação direta no solo, conhecida como fertirrigação (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008). Nesta técnica, os nutrientes são disponibilizados na água utilizada na irrigação, de modo a se

aproveitar o potencial fertilizante e o elevado conteúdo de água (superior a 90%) presente na vinhaça.

Embora tal prática apresente benefícios, como reduções no uso de água e fertilizantes químicos (MACEDO, 2005; SMEETS¹⁹ et al., 2008 apud FUESS; GARCIA, 2014; BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008), melhora das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, como a elevação do pH, aumento da capacidade de troca catiônica e da disponibilidade de certos nutrientes, estruturação do solo e desenvolvimento da microflora e microfauna no solo (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008), a aplicação direta da vinhaça pode ser problemática para o solo quando superdosada, especialmente em aplicações contínuas.

Diante deste contexto, o Estado de São Paulo, que concentra grande parte das usinas de etanol, apresentou, em conjunto com a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB, uma norma específica para regulamentação da fertirrigação com vinhaça, intitulada norma P4.231 “ Vinhaça – critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola”. Esta norma é importante no que diz respeito à legislação referente ao assunto, pois determina os critérios e procedimentos para armazenamento, transporte e aplicação da vinhaça no solo, de forma a direcionar as usinas para o descarte adequado do efluente, minimizando seus impactos ao meio ambiente. Vale ressaltar que a dosagem de vinhaça para aplicação no solo é determinada apenas pelo seu teor de potássio, negligenciando outras características, tais como as elevadas concentrações de matéria orgânica, sulfato e sais diversos.

Segundo o Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008), a área dos canaviais atingida pela fertirrigação depende das condições topográficas e da distribuição de terras da usina. No entanto, há usinas que aplicam todo o volume de vinhaça gerado em 70% da sua área de cultivo, enquanto outras destinam uma área bem menor para a fertirrigação. Considerando a carga orgânica fornecida ao solo, cada hectare pode receber cerca de 4,2 toneladas de matéria orgânica como demanda química de oxigênio (DQO) em culturas de cana (FUESS; GARCIA, 2014).

¹⁹ SMEETS, E.; JUNGINGER, M.; FAAIJ, A.; WALTER, A.; DOLZAN, P.; TURKENBURG, W.; 2008. The sustainability of Brazilian ethanol: an assessment of the possibilities of certified production. Biomass Energy 32, 781-813.

De fato, a fertirrigação pode ser benéfica para a produtividade da cultura a curto prazo. No entanto, o que se observa nas usinas e destilarias são aplicações excessivas e sucessivas de vinhaça nos próprios canaviais, sem critérios mais abrangentes de dosagem e planejamento dos sistemas de irrigação (FUESS; GARCIA, 2014), tornando a técnica insustentável ambientalmente. De forma geral, a fertirrigação leva à deterioração das características físico-químicas do solo, principalmente no que diz respeito ao seu potencial agrícola, e, ainda, resultando em impactos negativos aos corpos hídricos superficiais e subterrâneos (FUESS; GARCIA, 2014), bem como acarreta a emissão de gases de efeito estufa (GEE), principalmente $N_2O_{(g)}$ e $CH_4_{(g)}$, devido às características químicas da vinhaça e a ação de bactérias específicas responsáveis pelos processos de decomposição de compostos (PAREDES, 2011).

Os efeitos adversos resultantes do reuso da vinhaça na agricultura estão diretamente relacionados com as quantidades excessivas de matéria orgânica e nutrientes dispostos no solo, além das altas concentrações de sais, como sulfatos, cloretos e nitratos (FUESS; GARCIA, 2014). De acordo com diversos autores, citados por Fuess e Garcia (2014), os impactos ambientais mais significativos decorrentes da prática de fertirrigação são: [i] salinização do solo e sodificação, 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; [ii] sobrecarga orgânica, levando a reduções do oxigênio dissolvido e da atividade microbiana e geração de odores desagradáveis devido à putrefação (digestão anaeróbia) dos carbonos orgânicos disponíveis; [iii] superfertilização do solo, cujos efeitos são a desestabilização da estrutura do solo, bem como a eutrofização de corpos d'água por escoamentos ricos em nutrientes; [iv] contaminação por íons específicos, como nitrato e cloreto, e metais tóxicos; [v] acidificação dos recursos hídricos, baseada no contínuo fornecimento de íons H^+ e perdas na alcalinidade do solo; [vi] interferência no processo fotossintético realizado pelas plantas aquáticas, devido à cor e elevada turbidez da vinhaça que impedem a penetração da luz solar em corpos d'água; e [vii] inibição da germinação das sementes, redução no rendimento das culturas e geração de toxicidade em ambientes aquáticos.

Devido às pressões de órgãos ambientais em relação à disposição da vinhaça no solo, diversas tecnologias de tratamento foram estudadas visando a aplicação, de forma a reduzir a carga orgânica presente, porém mantendo seu potencial para reuso nas culturas de cana. Dentre elas, destaca-se o tratamento anaeróbico, o qual se utiliza de diversas populações

microbianas que transformam a matéria orgânica em subprodutos desejáveis. A digestão anaeróbia apresenta diversas vantagens no âmbito ambiental, econômico e energético, tais como: [i] degradação de frações orgânicas das águas residuárias e redução do seu poder poluente; [ii] geração de energia alternativa a partir do biogás (mistura gasosa que contém significativas concentrações de metano); [iii] conservação do potencial fertilizante da água residuária, ou seja, praticamente todos os nutrientes inicialmente presentes na vinhaça são mantidos no efluente tratado. Por ser uma tecnologia de baixo custo econômico, fácil operação e ganhos tanto econômicos quanto ambientais, há fortes tendências de avanço nos estudos referentes a este assunto.

3.4. Fundamentos da digestão anaeróbia por via metanogênica

A digestão (ou biotransformação) anaeróbia caracteriza-se como um processo biológico que ocorre na ausência de oxigênio livre (O_2), no qual há a conversão da matéria orgânica em biogás, nutrientes e material celular adicional a partir da atividade de uma mistura complexa de microrganismos simbióticos (WILKIE, 2008). Tal processo biológico está apresentado na Figura 9.a. O biogás consiste em uma mistura gasosa composta, principalmente, por gás metano (CH_4), cerca de 65-70%, segundo Wheatley²⁰ (1990 apud SILES et al., 2010) e dióxido de carbono (CO_2), bem como pequenas quantidades de gás hidrogênio (H_2), nitrogênio (N_2) e sulfeto de hidrogênio (H_2S), apresentando grande potencial energético devido às elevadas concentrações de metano (FUESS, 2013).

A importância da digestão anaeróbia como tecnologia de tratamento deve-se a sua capacidade de estabilização de águas residuárias contendo altas concentrações de matéria orgânica, principalmente as industriais, resultando na remoção de grande parte da carga poluidora do efluente, além de produzir energia sustentável. Outra vantagem do tratamento anaeróbico é que ele pode ser usado como pré-tratamento seguido de um sistema aeróbio para polimento da água residuária, atingindo uma conversão máxima de matéria orgânica com menor consumo de energia e geração de lodo, usando-se como referência a aplicação de processos aeróbios como única tecnologia de tratamento.

²⁰ WHEATLEY, A.; 1990. Anaerobic Digestion: A Waste Treatment Technology. Elsevier, London.

A digestão anaeróbia pode ser dividida em quatro etapas principais, de acordo com as transformações às quais os compostos orgânicos estão submetidos: [i] hidrólise; [ii] acidogênese; [iii] acetogênese; e [iv] metanogênese. Nas etapas de hidrólise e acidogênese, as bactérias hidrolíticas e fermentativas são responsáveis por converter os compostos orgânicos complexos, de cadeia longa, como os carboidratos, lipídeos e proteínas, em compostos de cadeia curta.

Tais compostos, que podem ser facilmente absorvidos através da parede celular, constituem os ácidos graxos voláteis, alcoóis, gás carbônico, gás hidrogênio e acetato. Os produtos da acidogênese são utilizados como substrato para a etapa seguinte, a acetogênese. Nesta etapa, as bactérias acetogênicas transformam os ácidos graxos e álcoois em ácido acético, gás hidrogênio e gás carbônico.

Por fim, a última etapa corresponde ao processo em que o ácido acético e o gás hidrogênio são convertidos em gás metano pelas arqueias metanogênicas (metanogênese). Existem dois grupos de arqueias metanogênicas: as hidrogenotróficas, as quais combinam o hidrogênio com o gás carbônico, gerando metano, e as acetoclásticas, que convertem o acetato em metano e dióxido de carbono.

De acordo com McCarty (1964), aproximadamente 70% do metano total produzido na digestão anaeróbia provêm da atividade das metanogênicas acetoclásticas. No entanto, segundo vários autores, citados por Fuess (2013), as acetoclásticas são mais sensíveis às condições de estresse, como altas concentrações de amônia, havendo a inibição destas.

Quando isso ocorre, a digestão anaeróbia pode apresentar dois cenários distintos. O primeiro cenário seria a acidificação do sistema anaeróbio devido ao aumento das concentrações de ácido acético, já que este deixaria de ser consumido (LEITÃO et al., 2006). E o segundo cenário seria a conversão do ácido acético em hidrogênio e gás carbônico pelas bactérias oxidadoras de acetato e, consequentemente, haveria a geração de metano pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (SHIGEMATSU et al., 2004).

Vale ressaltar que a reação global de conversão de alguns compostos, como propionato e butirato (produtos da etapa da acidogênese) em metano é termodinamicamente favorável (energia livre de Gibbs negativa) com ΔG° igual a -62,22 kJ e -88,73kJ, respectivamente, bem como as atividades das arqueias metanogênicas. No entanto, as conversões de propionato e butirato em acetato e hidrogênio (etapa da acetogênese) são

desfavoráveis termodinamicamente, apresentando energia livre de Gibbs positiva. Isto significa que para a reação se tornar favorável, isto é, deslocar a reação para formação dos produtos (acetato e hidrogênio), é fundamental que estes sejam consumidos, de forma a manter as suas concentrações reduzidas (McCARTY; SMITH, 1986).

Pode-se concluir, portanto, que a acetogênese somente acontece de forma espontânea devido à atividade das metanogênicas, que também dependem dos produtos da etapa anterior, caracterizando a digestão anaeróbia como um processo de relações sintróficas (McCARTY; SMITH, 1986).

Apesar da digestão anaeróbia ser bastante eficiente no tratamento de águas residuárias concentradas e diluídas, os avanços nas configurações dos reatores permitiram o aumento do tempo de retenção da biomassa responsável pela degradação da matéria orgânica.

A importância do tempo de retenção celular para tratamento de águas residuárias com alta carga orgânica deve-se à baixa velocidade de crescimento dos microrganismos metanogênicos, um dos principais fatores limitantes do sistema anaeróbio (METCALF E EDDY, 2003). Segundo Metcalf e Eddy (2003), Aquino e Chernicharo (2005), Gujer e Zehnder (1983), a baixa velocidade de crescimento ocorre devido às pequenas quantidades de energia livre, liberadas pelas reações metabólicas, que são utilizadas para a multiplicação celular.

Outro fator que têm apresentado grande importância nos estudos acerca da viabilidade do tratamento anaeróbio, principalmente no que diz respeito à recuperação energética, é a presença de compostos considerados inibitórios para a degradação da matéria orgânica a partir da rota metanogênica. Os principais compostos reportados na literatura sobre digestão anaeróbia e que também foram citados por Chen et al.(2007) são das mais variadas naturezas. Dentre eles destacam-se: [i] Amônia; [ii] Sulfato; [iii] Íons de metais leves (sódio, potássio, magnésio, cálcio e alumínio); [iv] Metais pesados (cromo, ferro, zinco, cádmio, níquel, entre outros); e, [v] Compostos orgânicos (fenol, aminas, surfactantes, entre outros).

Tais compostos podem inibir ou desviar o fluxo de elétrons da rota metanogênica para formação de outros produtos, o que leva à perda de eficiência de tratamento e/ou perda da recuperação energética dos efluentes. Como o sulfato é um constituinte bastante comum de

águares residuárias industriais (COLLERAN et al., 1994; O'FLAHERTY²¹ et al., 1998 apud CHEN et al., 2007), principalmente da vinhaça, podendo levar ao comprometimento do sistema de tratamento anaeróbio aplicado para este tipo de efluente, serão estudados apenas os processos e interferências na digestão anaeróbia devido à presença do íon em questão.

3.5. Digestão anaeróbia na presença de sulfato

Além das usinas produtoras de etanol, indústrias no ramo petroquímico, de papel e celulose, óleo comestível, entre outras, estão entre aquelas que geram efluentes com alta concentração de íons sulfato (acima de 40 g por litro) e de matéria orgânica (PAULA JR; FORESTI, 2009). A degradação anaeróbia da matéria orgânica também pode ocorrer por outra rota metabólica, diferente da rota metanogênica, como acontece em meios que possuem concentrações significativas de íon sulfato.

A presença deste íon favorece o crescimento das bactérias redutoras de sulfato (BRS), as quais convertem sulfato, entre outros compostos a base de enxofre, em sulfeto (S^{2-} ; HS^- ; $H_2S_{(aq)}$; $H_2S_{(g)}$) (FUESS, 2013). O processo, conhecido como sulfetogênese, ocorre devido à capacidade das BRS de utilizarem os compostos sulfurosos como aceptores finais dos elétrons obtidos da oxidação da matéria orgânica e do hidrogênio.

Desta forma, em sistemas anaeróbios de tratamento de águas residuárias ricas em matéria orgânica e sulfato, pode haver a coexistência das bactérias redutoras de sulfato (BRS), das bactérias acetogênicas (BA) e das arqueias metanogênicas (AM). No entanto, as redutoras de sulfato geralmente apresentam vantagens termodinâmicas e cinéticas na competição com os outros dois grupos microbianos pelos substratos orgânicos disponíveis, como acetato, hidrogênio e outros ácidos graxos de cadeia curta (OMIL et al., 1996; DAMIANOVIC e FORESTI, 2007).

As BRS são capazes de degradar uma ampla variedade de substâncias, como formiato, acetato, hidrogênio, propionato, butirato, ácidos graxos de cadeia longa, álcoois, entre outras. Enquanto que as arqueias metanogênicas (AM) apresentam limitações quanto ao substrato

²¹ O' FLAHERTY, V.; MAHONY, T.; O'KENNEDY, R.; COLLERAN, E.; 1998. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. Process Biochem. 33 (5), 555-569.

utilizado, podendo usar somente acetato, gás carbônico, hidrogênio, formiato, metanol, metilaminas, entre outros, o que aumentam as vantagens das BRS sobre as AM em relação ao crescimento celular (COLLERAN et al., 1995).

De acordo com Vilela (2012), os organismos redutores de sulfato podem ser encontrados nas comunidades microbianas de diversos ambientes (solo, sedimentos, águas resíduárias industriais, entre outros), devido a sua versatilidade nas rotas de degradação. No entanto, segundo Siles et al. (2013) e Omil et al. (1996), o processo de sulfetogênese durante o tratamento anaeróbio de águas resíduárias é considerado indesejável devido ao menor rendimento de metano e à geração do gás sulfeto de hidrogênio (H_2S).

Embora a sulfetogênese seja considerada, de forma geral, um fator negativo para a recuperação energética dos compostos orgânicos, diversos estudos têm mostrado um efeito sinérgico no tratamento combinado de águas resíduárias complexas, como o aumento da biodegradabilidade, graças à coexistência das BRS e das AM (ESPOSITO²² et al., 2012 apud VILELA, 2012). Portanto, conclui-se que a sulfetogênese pode vir a otimizar a degradação anaeróbia de águas resíduárias contendo matéria orgânica e sulfato, tendo em vista a atividade de BRS incompletas.

Este efeito sinérgico entre os dois grupos de microrganismos ocorre devido à versatilidade das redutoras de sulfato em utilizar variados substratos, entre eles os ácidos orgânicos, tais como o lactato, propionato e butirato. Tipicamente, as arqueias metanogênicas, na presença destes compostos, necessitam de manutenção de baixa pressão parcial de hidrogênio para a conversão em acetato, enquanto que as redutoras de sulfato podem utilizá-los diretamente, formando sulfeto de hidrogênio ou acetato, o qual pode ser utilizado pelas arqueias acetoclásticas (VILELA, 2012).

No caso das bactérias redutoras de sulfato incompletas, há a degradação parcial da matéria orgânica, o que leva à geração de ácido acético ao invés de CO_2 e H_2O . O ácido acético é, então, prontamente assimilável pelas arqueias acetoclásticas. A Figura 9 apresenta o fluxograma das vias metanogênica e sulfetogênica e a interação entre elas.

²² ESPOSITO,G.; FRUNZO, L.; LIOTTAL, F.; PANICO, A.; PIROZZI, F. (2012) **Bio-Methane potential tests to measure the biogas production from the digestion and co-digestion of complex organic substrates**. The open Environmental Engineering Journal, vol.5, 1-8p.

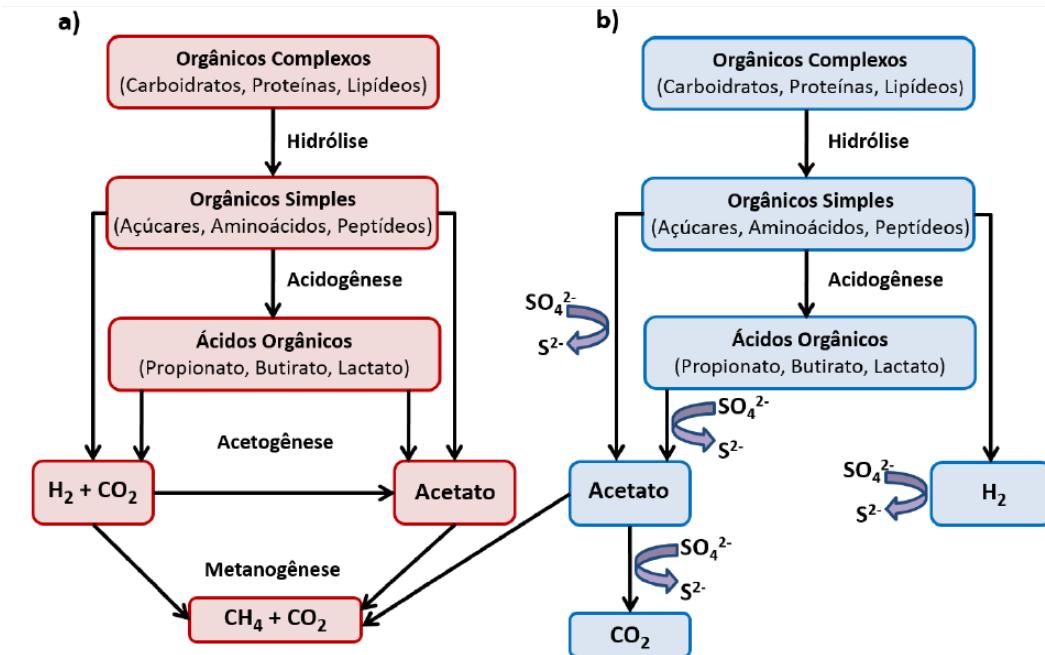


Figura 9 – a) fluxograma da rota de degradação da matéria orgânica sem sulfato; b) fluxograma da rota de degradação da matéria orgânica na presença de sulfato (via sulfetogênica).

Fonte: Godoi, 2014 (adaptado de Muyzer&Stams,2008).

A degradação da matéria orgânica pela via sulfetogênica pode ser realizada por dois tipos de BRS. O primeiro tipo consiste nas bactérias redutoras de sulfato oxidadoras completas, as quais apresentam dióxido de carbono, sulfeto e água como produtos finais. Já o segundo tipo são as bactérias redutoras de sulfato oxidadoras incompletas, cujo produto final é o acetato (HANSEN, 1994, DAR²³ et al., 2008 apud GODOI,2014). As equações químicas 1 e 2, correspondentes à conversão do hidrogênio e do acetato, respectivamente, são realizadas pelas oxidadoras completas. Enquanto que a terceira reação (conversão do propionato) é devido à atividade das oxidadoras incompletas. Suas respectivas energias livres de Gibbs também são apresentadas a seguir (VILELA, 2012).

1. $4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow 4\text{H}_2\text{O} + \text{HS}^-$ $\Delta G^\circ = -152 \text{ kJ.mol}^{-1}$
2. $\text{CH}_3\text{COO}^- + 3\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$ $\Delta G^\circ = -48 \text{ kJ.mol}^{-1}$
3. $4\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 4\text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ $\Delta G^\circ = -151 \text{ kJ.mol}^{-1}$

²³ DAR, S.A.; KLEEREBEZEM, R.; STAMS, A.J.M.; KUENEN, J.G.; MUYZER, G. (2008) Competition and coexistence of sulphate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulphate ratio. Applied Microbiology Biotechnology, n.78, p.1045-1055.

A partir das energias livres de Gibbs, conclui-se que a conversão do hidrogênio pelas BRS (reação 1) e a conversão do propionato pelas BRS oxidadoras incompletas (reação 3) acontecem mais espontaneamente comparando-se com a reação 2, cuja energia livre é de -48 kJ.mol⁻¹. Tal fato resulta em maior afinidade deste grupo pelo hidrogênio. Em seguida, vem a conversão do propionato em acetato, demonstrando certa tendência em gerar este substrato para as arqueias metanogênicas acetoclásticas.

No entanto, de acordo com Damianovic e Foresti (2007), a relação entre as arqueias metanogênicas e as bactérias redutoras de sulfato é bastante complexa, necessitando, ainda, de estudos aprofundados a respeito das condições necessárias para manter a sinergia entre as duas rotas metabólicas para tratamento de águas residuárias ricas em matéria orgânica e sulfato. Enquanto o controle sobre os dois grupos microbianos ainda não é efetivo nos sistemas de tratamento para a remoção simultânea, a sulfetogênese continua sendo preocupante para a digestão anaeróbia quando objetiva-se a máxima produção de metano e estabilidade do sistema.

3.6. Interferência da sulfetogênese na metanogênese

Segundo Chen et al. (2007), a presença de íons sulfato nos afluentes dos sistemas de tratamento anaeróbio pode levar à uma mudança adversa na população microbiológica, formadora da biomassa, ou inibir o crescimento das bactérias desejáveis. Estes efeitos caracterizam as substâncias inibitórias. Tal efeito é notado pela diminuição na velocidade de produção de gás metano e acumulação de ácidos orgânicos (KROEKER²⁴ et al., 1979 apud CHEN et al., 2007). E ainda, o sulfato é frequentemente considerado a causa principal de perturbações e falhas nos reatores anaeróbios, podendo levar ao colapso do sistema de tratamento da vinhaça.

Recentemente, alguns autores, como Wilkie et al. (2000), Vela et al. (2002) e Chen et al. (2007), descreveram os possíveis efeitos do sulfato na digestão anaeróbia e, ainda, mencionaram que os níveis elevados deste íon em águas residuárias tem recebido uma

²⁴ KROEKER, E.J., SCHULTE, D.D., SPARLING, A.B., LAPP, H.M., 1979. Anaerobic treatment process stability. J. Water Pollut. Control Fed. 51, 718– 727.

considerável atenção. O processo de conversão do sulfato em sulfeto pode ocasionar dois estágios de inibição. Primeiramente, a inibição ocorre devido à competição entre as BRS e os microrganismos envolvidos na rota metanogênica por substratos orgânicos e inorgânicos comuns, o que suprime a produção de metano. Segundo, há a inibição pela toxicidade do sulfeto aos vários grupos de bactérias (Chen et al., 2007).

Além disso, o sulfeto de hidrogênio (H_2S) pode estar presente em solução aquosa ou em fase gasosa, causando sérios problemas químicos, como corrosão, odor, aumento da DQO no efluente do reator, que podem afetar o processo de tratamento da água residuária. Outro efeito negativo é o comprometimento da qualidade do biogás, o qual poderá ter uso restrito em alguns aparelhos pelo fato de conter gás sulfídrico, que é corrosivo. Nestes casos, o tratamento do biogás é obrigatório para remoção do H_2S .

Devido à variedade de compostos que podem ser oxidados completamente ou parcialmente pelas BRS, este grupo de microrganismos compete com as arqueias metenogênicas, tanto as acetoclásticas como as hidrogenotróficas, e as bactérias acetogênicas. De acordo com Laanbroek²⁵ et al. (1984 apud CHEN et al., 2007), a ordem crescente de afinidade das BRS pelos substratos reduzidos é: $H_2 >$ propionato $>$ outros doadores orgânicos de elétron. A concentração total de sulfeto num sistema anaeróbio é determinada pelo resultado da competição entre as BRS e os outros microrganismos anaeróbios. Devido ao sulfeto ser tóxico tanto para as metanogênicas quanto para as redutoras de sulfato, um dos fatores que influenciam na competição é a suscetibilidade de cada grupo frente ao sulfeto.

Com relação às redutoras de sulfato e as bactérias hidrolíticas e acidogênicas, responsáveis pela primeira etapa da digestão, não existe competição pelo substrato. Isso porque as BRS não são capazes de degradar biopolímeros naturais, tais como amido, glicogênio, proteínas ou lipídeos. Portanto, o crescimento das BRS na etapa de acidogênese não é comum (HANSEN²⁶, 1993 apud CHEN et al., 2007), sendo limitado em condições de pH inferiores a 6,0.

O crescimento das BRS se inicia na etapa da acetogênese, principalmente devido à presença do propionato, produto intermediário da digestão anaeróbia. De acordo com Omil et

²⁵ LAANBROEK, J.H., GEERLINGS, H., SITJTSMA, L., VELDKAMP, H., 1984. Competition for sulphate and ethanol among *Desulfobacter* *Desulfobulbus* and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 128, 329–334.

²⁶ HANSEN, T.A., 1993. Carbon metabolism of sulfate-reducing bacteria. In: Odom, J.M., Rivers-Singleton, J.R. (Eds.), *The Sulfate-reducing Bacteria: Contemporary Perspectives*. Springer-Verlag, NY, pp. 21–40.

al. (1996), as redutoras de sulfato possuem maior afinidade por este substrato e maiores velocidades de crescimento do que as espécies sintróficas consumidoras de propionato. Assim, a sulfetogênese torna-se favorecida na degradação deste (COLLERAN et al., 1995). Já com relação ao butirato e ao etanol, ocorre a competição entre as BRS e as espécies sintróficas, confirmando uma baixa afinidade das BRS por tais compostos (LAANBROEK et al., 1984, OVERMEIRE²⁷ et al., 1994 apud CHEN et al., 2007).

Entre as redutoras de sulfato e as arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (AMH), levando-se em consideração a termodinâmica e a afinidade pelo substrato, deveria haver competição entre elas sob as condições predominantes nos sistemas anaeróbios (ZINDER²⁸, 1993 apud CHEN et al., 2007). De fato, dados da literatura mostram que, em reatores tratando águas residuárias contendo sulfato, a oxidação do hidrogênio foi quase que exclusivamente catalisada pelas BRS (OMIL et al., 1996; COLLERAN et al., 1998). A sua predominância sobre as hidrogenotróficas é explicada pelos parâmetros cinéticos favoráveis, devido à capacidade das BRS de obterem maior quantidade de energia nas reações de conversão do hidrogênio molecular que as AMH e apresentarem maior afinidade pelo hidrogênio, havendo, portanto, maior crescimento celular (HULSHOFF POL²⁹ et al., 1998 apud GODOI, 2014).

Segundo vários autores, citados por Chen et al. (2007), a literatura é bastante contraditória no que diz respeito à dominância das BRS e das acetoclásticas sobre a conversão do acetato. Alguns relatam o êxito das primeiras sobre as segundas, enquanto outros reportam o contrário. Com relação aos fatores que influenciam o mecanismo da competição entre estes dois grupos, ainda existem incertezas na literatura sobre o assunto. Do ponto de vista cinético e termodinâmico, as BRS que utilizam o acetato podem levar vantagem sobre as acetoclásticas, uma vez que os ganhos energéticos obtidos das reações de conversão são maiores que os das metanogênicas. No entanto, autores afirmam que essa vantagem não é tão declarada (GODOI, 2014).

As arqueias metanogênicas acetoclásticas (AMA), por apresentarem velocidades de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e de consumo de acetato (k) maiores que as BRS acetotróficas, podem vencer a competição em meios contendo elevada concentração de acetato. Já para o caso em

²⁷ OVERMEIRE, A.; LENS, P.; VERSTRAETE, W.; 1994. Mass transfer limitation of sulphate in methanogenic aggregates. *Biotechnol. Bioeng.* 44, 387–391.

²⁸ ZINDER, S.H. 1993. Physiological ecology of methanogens. In: Ferry, J.G. (Ed.), *Methanogens: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics*. Chapman and Hall, London/New York, pp. 128–206.

²⁹ HULSHOFF POL, L.W.; LENS, P.N.L; STAMS, A.J.M.; LETTINGA, G. (1998) Anerobic Treatment of sulphate-rich wastewaters. *Biodegradation*, n.9, p.213-224.

que a concentração de acetato é limitante, as redutoras de sulfato podem apresentar certas vantagens sobre as metanogênicas, visto à sua maior afinidade por tal substrato (YODA³⁰ et al., 1987 apud GODOI, 2014).

Diversos mecanismos têm sido propostos para explicar a discrepância entre os autores acerca da predominância das BRS ou das AMA, ou seja, os fatores que influenciam os resultados da competição (CHEN et al., 2007; VILELA, 2012; OMIL et al., 1998). Os principais fatores citados por estes autores são: [i] velocidade de crescimento; [ii] propriedades de imobilização dos microrganismos; [iii] afinidade pelo substrato; [iv] condições ambientais, tais como a concentração de sulfeto, temperatura, pH, entre outras; [v] razão entre a concentração de matéria orgânica e a concentração de íon sulfato, i.e., razão DQO/SO₄²⁻; [vi] sensibilidade dos microrganismos à toxicidade do sulfeto. No entanto, a dominância das BRS sobre as AMA foi atribuída às vantagens cinéticas por diversos autores citados por Chen et al. (2007).

Segundo Vela et al. (2002), Chen et al. (2007) e Lens et al. (1998), os principais problemas relacionados à presença de altas concentrações de sulfato no afluente dos reatores anaeróbios são: [i] possibilidade de haver predominância da sulfetogênese pela via de oxidação completa, prejudicando, assim, a metanogênese; [ii] sensibilidade das AM ao sulfeto, levando à inibição da metanogênese quando a concentração deste ultrapassa certos limites; [iii] precipitação de metais traços, causando deficiências nutricionais no reator.

Da mesma forma que há condições que controlam a competição, existem fatores que tornam o sulfeto tóxico ou não para os grupos envolvidos. De acordo com Tursman e Cork³¹ (1988 apud CHEN et al., 2007), o sulfeto de hidrogênio consiste na forma tóxica do sulfeto desde que ocorra a difusão para membrana celular. Ao entrar no citoplasma, o sulfeto de hidrogênio pode ser inibitório, desnaturando as proteínas nativas das células.

Além disso, McCartney e Oleszkiewicz³² (1991 apud CHEN et al., 2007), observaram que a toxicidade do sulfeto aumentou conforme o aumento do pH. Com relação à sensibilidade dos microrganismos, tem-se que as bactérias fermentativas apresentam maior resistência à toxicidade do sulfeto em comparação com as BRS e as AM (McCARTNEY;

³⁰ YODA, M.; KITAGAWA, M.; MIYAJI, Y. (1987) Long term competition between sulfate-reducing and methane-producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm. Water research , v.21, n.12, p.1547-1556.

³¹ TURSMAN, J.F.; CORK, D.J., 1988. Influence of sulfate and sulfate-reducing bacteria on anaerobic digestion technology. In: Mizradi, A., van Wezel, A. (Eds.), Biological Waste Treatment. Alan R. Liss, Inc.

³² MCCARTNEY, D.M., OLESZKIEWICZ, J.A., 1991. Sulfide inhibition of anaerobic degradation of lactate and acetate. Water Res. 25 (2), 203–209.

OLESZKIEWICZ³², 1991 apud CHEN et al., 2007). Já as acetogênicas e as redutoras de sulfato apresentam o mesmo limiar de toxicidade, enquanto que as AM são as mais suscetíveis ao sulfeto (O' FLAHERTY²¹ et al., 1998 apud CHEN et al., 2007).

Apesar de se ter o conhecimento de quais são os possíveis fatores que influenciam os mecanismos de inibição, Chen et al. (2007) afirma que a literatura em digestão anaeróbia de águas residuárias contendo sulfato é altamente complexa e frequentemente contraditória. Além disso, significativas variações na relação DQO/SO₄²⁻ são comumente observadas em vinhaças de cana-de-açúcar, como apresentado na Tabela 4, além da discrepância com respeito aos níveis de sulfeto que podem causar inibição e de que forma o sistema microbiano se comporta diante de alterações na concentração de sulfato na água residuária.

Tabela 4 – Valores de DQO, sulfato e DQO/SO₄²⁻ encontrados na literatura para vinhaça de cana-de-açúcar.

Referência	DQO (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	DQO/SO ₄ ²⁻
Sheehan e Greenfield (1980)	77700	4360	17,8
Borieset al. (1988)	51200	3500	14,6
Costa et al. (1986)	33000	760	43,4
	65000	6400	10,1
	45000	3730	12,1
Souza et al. (1992)	31500	420	75
Driessens et al. (1994)	22000	400	55
Ferreira et al. (2011)	42000	1300	32,3
Ferraz Jr (2013)	25000	1400	17,9
Prada et al.(1998)	15000-33000	600-700	21,4-55
Fuess (2013)	22930	2300	10
	24630	3701	6,6
	32130	7000	4,6

O estudo das relações DQO/SO₄²⁻ presentes nas águas residuárias a serem tratadas por sistemas anaeróbios é de grande importância, visto que este parâmetro é responsável por influenciar diretamente no estabelecimento da rota principal de degradação da matéria

orgânica, a qual poderá ser metanogênica, sulfetogênica ou ambas (LENS et al., 1998). Portanto, a previsão dos processos envolvidos está associada a esta relação (GODOI, 2014).

Segundo Damianovic e Foresti (2007), a literatura considera que a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 0,67 é o limite dado pela estequiometria das reações realizadas pelas redutoras de sulfato oxidadoras completas. Para relações DQO/SO₄²⁻ acima de 0,67, a completa remoção da matéria orgânica somente pode ser alcançada se, além da sulfetogênese, também ocorrer a metanogênese (LENS et al., 1998).

3.7. Modelo cinético de Gompertz modificado

O modelo cinético de Gompertz, assim como outros modelos sigmoidais encontrados na literatura (Richards, Schnute, Boltzmann, dentre outros), é bastante utilizado para descrever o crescimento de microrganismos, bem como o comportamento destes sob diferentes condições ambientais específicas, podendo ser alterações de natureza física ou química (ZWIETERING et al., 1990; FAKRUDDIN et al., 2011).

Os modelos cinéticos, como o que será usado na análise de dados da presente pesquisa, representam as taxas de resposta dos microrganismos, que podem ser crescentes, caracterizando o seu crescimento, ou decrescentes, indicando a morte celular no meio operacional. Portanto, este tipo de modelo é empregado apenas quando se tem a finalidade de determinar o número de microrganismos ou detectar de que forma um determinado parâmetro afeta o seu crescimento, e não inclui, portanto, o quanto de substrato foi consumido pela biomassa, como no caso da equação de Monod (ZWIETERING et al., 1990).

A resposta dada pelos microrganismos em função do tempo pode ser obtida por meio de medidas diretas ou indiretas, ou seja, da densidade da população microbiológica ou dos produtos do metabolismo microbiológico, respectivamente (FAKRUDDIN et al., 2011). Quando tais dados são plotados em um gráfico, observa-se que a curva tem o formato de “S” com certa tendência à estabilização (BUZOLIN, 2005). Daí a utilização da curva sigmoidal para a descrição do crescimento bacteriano.

Segundo Zwietering et al. (1990) e Robazza et al. (2010), o crescimento bacteriano ocorre em três fases. Primeiramente, a curva inicia-se na coordenada (0,0), indicando que não há presença de microrganismos no meio. Após um período de tempo de adaptação, indicado

por uma baixa taxa de aumento no número de microrganismos, atinge-se a fase exponencial. Nesta etapa, a velocidade de crescimento é elevada, atingindo um valor máximo, definido pelo parâmetro cinético $\mu_{\text{máximo}}$, em um curto período de tempo. A fase de adaptação, que pode ser extensa ou não dependendo do estado fisiológico da cultura e as condições de crescimento, resulta na fase lag, definida pelo parâmetro λ .

Em seguida ao crescimento acelerado dos microrganismos, as condições ambientais tornam-se insuficientes para novas multiplicações celulares e, portanto, ocorre a fase estacionária, ou seja, não há aumento no número de microrganismos. Tal fase é definida pela assíntota (A) da curva de crescimento bacteriano. A Figura 10 apresenta a curva de crescimento bacteriano dividido em 4 fases e a Figura 11 mostra o gráfico da variação das velocidades de crescimento. Vale ressaltar que o período de cada fase varia entre cada situação, dependendo da cultura e das condições do meio. Como a curva do modelo cinético de Gompertz modificado, que será utilizado na presente pesquisa, representa apenas a produção de metano acumulada, então a fase de declínio não será observada.

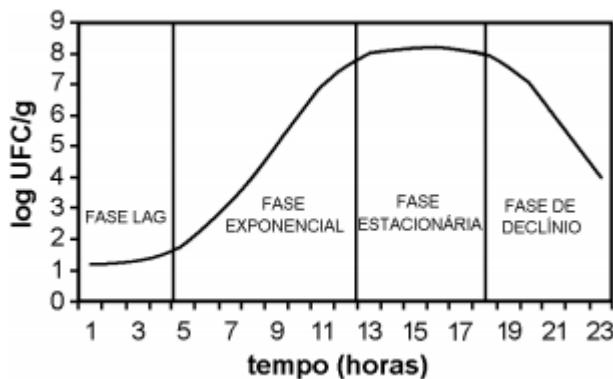


Figura 10 – Fases do crescimento bacteriano.

Fonte: Robazza et al. (2010).

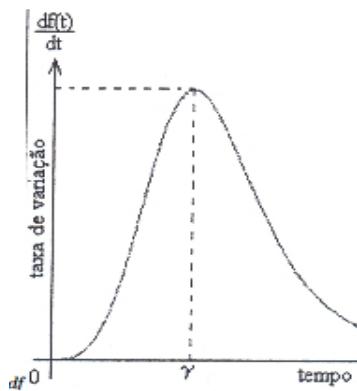


Figura 11 – Gráfico das velocidades de crescimento microbiano.
Fonte: Buzolin, 2005.

Os principais parâmetros cinéticos (Figura 12) que descrevem o comportamento dos microrganismos sob as condições do meio são três: [i] $\mu_{\text{máximo}}$, que matematicamente é definido como a tangente do ponto de inflexão, e cineticamente corresponde à máxima velocidade de crescimento dos microrganismos; [ii] λ , que matematicamente é definida como a interseção no eixo x da tangente; e [iii] assíntota (A), que matematicamente corresponde à reta em que há estabilização do crescimento, e cineticamente é definida pelo máximo valor atingido no número de microrganismos (ZWIETERING et al., 1990). Segundo Robazza et al. (2010), algumas das equações tradicionais para tratamento de dados cinéticos microbiano, como o modelo de Gompertz e a equação logística, não consideram a fase lag, mas apenas o crescimento exponencial.

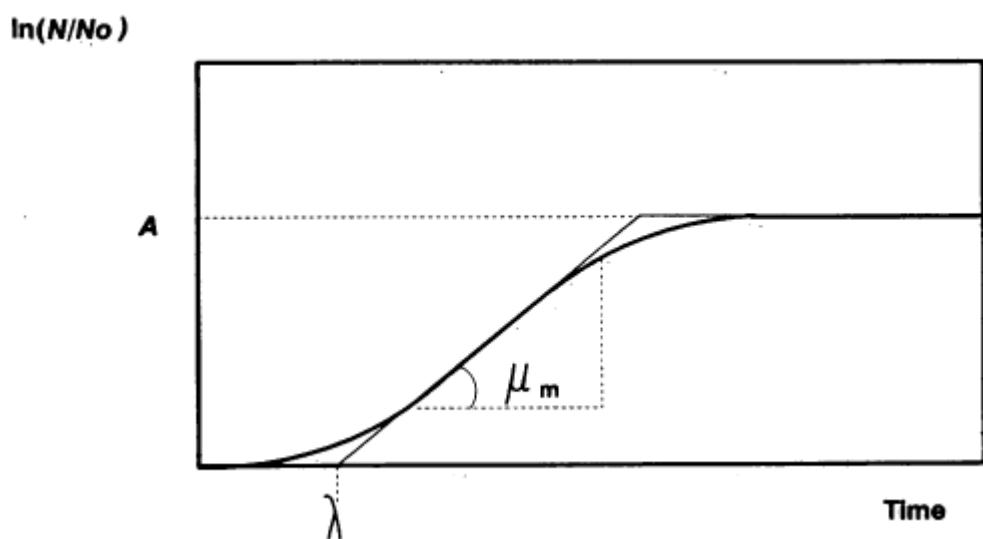


Figura 12 – Principais parâmetros cinéticos dos modelos tradicionais.
Fonte: Zwietering et al. (1990).

O modelo de Gompertz modificado, descrito por Zwietering et al. (1990), é dado pela Equação 1:

$$y = A * \exp \left\{ -\exp \left\{ \frac{\mu_{max} * e}{A} (\lambda - t) + 1 \right\} \right\} \quad (1)$$

Onde o y é dado pelo logaritmo da população relativa (razão entre o número de microrganismos no tempo (t) considerado e o número inicial de microrganismos), e o ‘e’ corresponde ao valor de Euler.

Atualmente, diversos autores têm usado o modelo de Gompertz modificado para prever o potencial de produção de biogás dos sistemas biológicos sob determinadas condições ambientais (BUDIYONO et al., 2010; PATIL et al., 2012; FERNANDES et al., 2010; PEIXOTO et al., 2012; SYAICHURROZI et al., 2013). O modelo cinético de produção do biogás, que corresponde ao produto do metabolismo microbiológico monitorado na presente pesquisa, foi desenvolvido com base no modelo cinético de Gompertz modificado. Para isso, assumiu-se que a cinética de produção de biogás corresponde à velocidade de crescimento específico das bactérias metanogênicas no reator (BUDIYONO et al., 2010; PATIL et al., 2012).

3.8. Modelo cinético de primeira ordem com residual

O modelo cinético de primeira ordem com residual, segundo Srividhya e Schnell (2006), descreve a cinética de digestão de proteínas e vários produtos intermediários, cujo perfil corresponde as curvas de decaimento simples com aparente comportamento de primeira ordem. Além disso, este padrão pode ser descrito, muitas vezes, por um único decaimento exponencial, segundo Baderschnider et al. (2002), Garrett et al. (2004), Herman and Scherer (2003), Herman et al.(2005), Noda et al.(1994), citados por Srividhya e Schnell (2006). Quando se observa um padrão de decaimento multifásico, a fase terminal tem sido observada como a fase mais lenta em relação à fase inicial (ANSON³³, 1938 apud SRIVIDHYA e SCHNELL, 2006).

³³ ANSON, M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with haemoglobin. J. Gen. Physiol. 22, 79–89.

O modelo de primeira ordem com residual foi derivado do modelo cinético de Monod e assume-se a existência de uma concentração residual, na qual a taxa de reação é nula. No caso de sistemas contínuos, o modelo também assume que o bioreator esteja sendo operado em estado estacionário a uma temperatura constante e que o padrão de fluxo se comporta da mesma forma que o fluxo em pistão (MOCKAITIS et al., 2013).

A sua equação é dada pela Equação 3.

$$C(t) = C_r + (C_0 - C_r) * \exp(-k_i * t) \quad (3)$$

Na equação acima, $C(t)$ corresponde a concentração do composto a ser analisado, em $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$; C_0 é a concentração inicial com $t=0$ d, em $\text{mgO}_2\text{. L}^{-1}$; t é o tempo de incubação relativo ao $C(t)$, em dias (h); k é o coeficiente cinético de primeira-ordem aparente, em d^{-1} ; e C_r é a concentração residual, em $\text{mgO}_2\text{. L}^{-1}$.

O coeficiente cinético de primeira-ordem aparente (k) pode ser reescrito em termos dos parâmetros cinéticos do modelo de Monod, como mostra a Equação 4:

$$k = \frac{C_x \times \mu_{máx}}{Y_{x/s} \times k_s} \quad (4)$$

Onde: C_x : concentração de biomassa no reator (mg SVT. L^{-1});

$\mu_{máx}$: máxima velocidade de crescimento específico da biomassa (h^{-1});

$Y_{(x/s)}$: fator de rendimento de substrato a células;

k_s : aplicado em sistemas com baixa concentração de substrato, sendo dado pela somatória da concentração de substrato ($\sim 0 \text{ mgO}_2\text{. L}^{-1}$) e K_s , constante de saturação ($\text{mgO}_2\text{. L}^{-1}$).

4 ETAPAS DA PESQUISA E MÉTODOS

A execução do presente trabalho pode ser dividida em duas etapas básicas, sendo a primeira conceitual, baseada no levantamento de informações relevantes para os temas de interesse e esclarecimento de alguns fundamentos teóricos, e a segunda estruturada principalmente em procedimentos experimentais, a partir da operação dos reatores biológicos em batelada e da análise dos dados obtidos. A Figura 13 corresponde ao fluxograma geral do procedimento metodológico e das etapas de trabalho adotadas na presente pesquisa, de modo que nas próximas seções apresenta-se uma descrição detalhada destas etapas.

4.1. Pesquisa Bibliográfica

A pesquisa bibliográfica compreendeu basicamente o levantamento de informações referentes aos seguintes temas: [i] importância do setor sucroalcooleiro para o Brasil e o cenário atual e futuro para a produção de etanol; [ii] aspectos gerais da produção de etanol e geração da vinhaça, destacando-se o potencial poluidor e as alternativas tecnológicas para o tratamento desta água residuária; [iii] fundamentos básicos da digestão anaeróbia, enfatizando-se a metanogênese e a sulfetogênese; [iv] influência do sulfato no processo de tratamento anaeróbio; e [v] os fatores que podem vir a controlar a inibição da metanogênese. Nesta etapa, além da fundamentação teórica pertinente ao tema central da pesquisa, foram selecionados os procedimentos para caracterização de amostras de vinhaça, para monitoramento dos reatores anaeróbios propostos no trabalho, dentre outros aspectos. Para embasamento do referencial teórico, foram consultados livros e estudos publicados preferencialmente em periódicos de relevância no meio científico, bem como a utilização de outras fontes, tais como revistas, jornais e boletins técnicos.

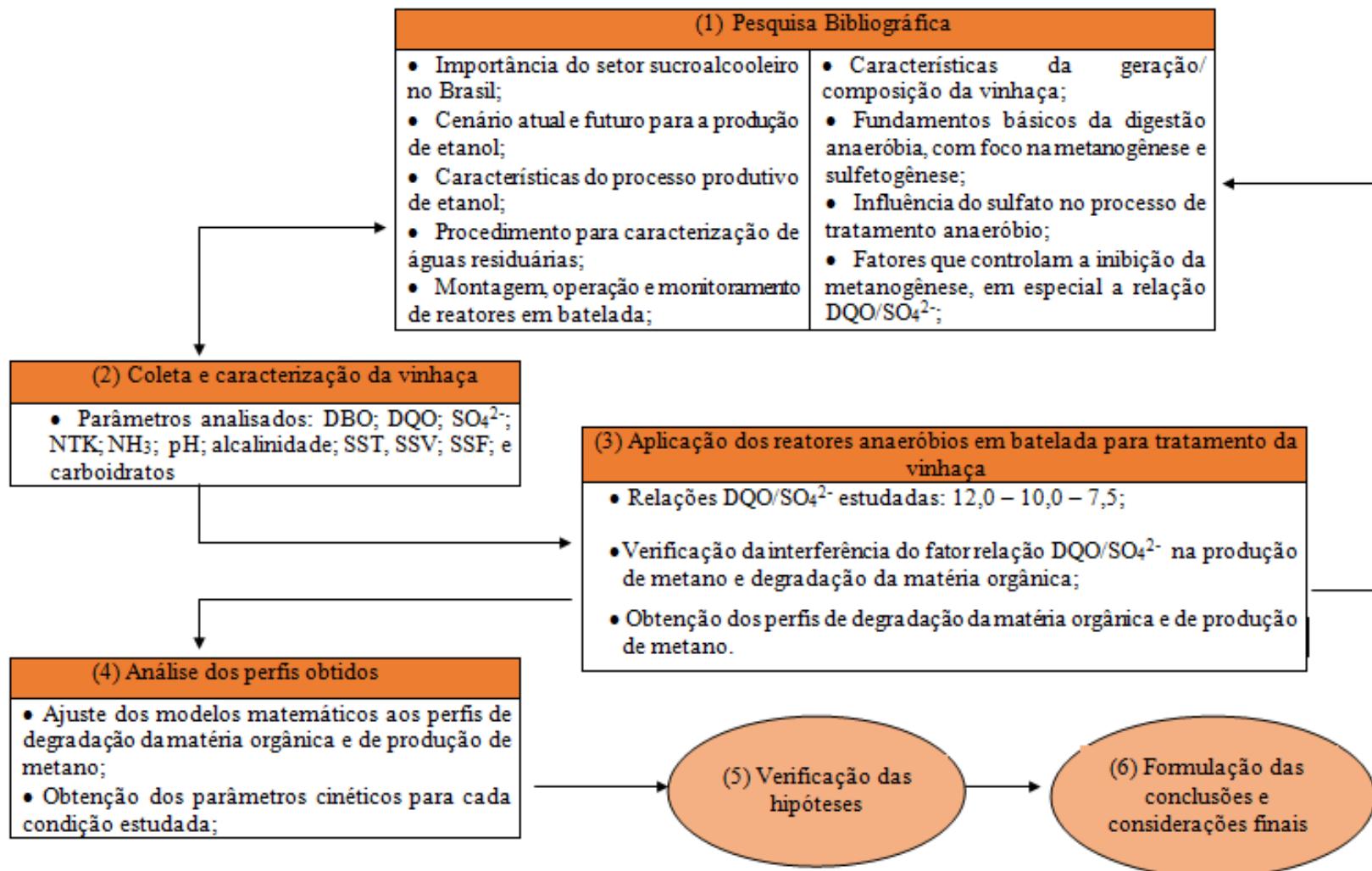


Figura 13. Fluxograma simplificado das etapas da pesquisa.

4.2. Coleta e caracterização das amostras de vinhaça

As amostras de vinhaça utilizada nos experimentos foram coletadas junto a Usina São Martinho, localizada no Município de Pradópolis, Estado de São Paulo. O Grupo São Martinho, um dos maiores grupos sucroenergéticos do Brasil, possui quatro usinas em operação, sendo a Usina São Martinho considerada a maior processadora de cana-de-açúcar no mundo, com capacidade de moagem de cerca de 10,5 milhões de toneladas por safra para produção de açúcar e etanol (anidro, hidratado e industrial), respondendo por mais de 50% da capacidade de moagem da companhia, estimada em 20 milhões de toneladas na safra 2014/2015 (GRUPO SÃO MARTINHO, 2014).

A coleta foi feita no início da safra 2014/2015 da cana-de-açúcar, utilizando-se recipientes de plástico com capacidade volumétrica de 20L. Após a coleta, estes foram congelados a temperatura de -20°C, a fim de se manter as características físico-químicas da vinhaça preservadas. Uma vez que há previsão de crescimento das concentrações de sulfato ao longo da safra, optou-se por utilizar a vinhaça de início da safra com o objetivo de obter uma alta relação DQO/SO₄²⁻, a ser utilizada no reator de controle. Uma alíquota da água resíduária foi reservada para a caracterização físico-química, conforme será apresentado a seguir, sendo o restante congelado e armazenado até a realização dos ensaios no Laboratório de Processos Biológicos (LPB), localizado no Centro de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Engenharia Ambiental da EESC/USP.

Para a caracterização da vinhaça, adotaram-se as metodologias de análise descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2005). As análises foram realizadas no Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso de Águas (LATAR), do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos–USP. Os seguintes parâmetros foram determinados: Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO); Demanda Química de Oxigênio (DQO) total e solúvel; Concentração de Sulfato (SO₄²⁻); Nitrogênio Total Kjeldahl (NKjeldahl); Nitrogênio Ammoniacal (NH₄⁺/NH₃); Fósforo Total (Ptotal); Potássio (K); pH; Alcalinidade Total; Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) e Sólidos Suspensos Fixos (SSF); e Carboidratos. Tais parâmetros foram também utilizados por Fuess (2013) e Fernandes et al. (2010) para caracterização de amostras de vinhaça. A caracterização da vinhaça está apresentada na Tabela 5. Vale ressaltar que o valor de DQO total, no presente trabalho, corresponde à concentração da matéria orgânica aferida nas

amostras de vinhaça filtradas em papel qualitativo 3 µm, enquanto que a DQO solúvel corresponde à concentração da matéria orgânica aferida em amostras de vinhaça filtradas em membrana de 0,45 µm.

Tabela 5 – Caracterização da vinhaça coletada.

Parâmetros analisados	Amostra de vinhaça: Usina São Martinho
matéria-prima para produção de etanol	Caldo + melaço de cana
DQO _t (g.L ⁻¹)	24,2
DQO _s (g.L ⁻¹)	21,64
DBO(g.L ⁻¹)	19,2
P _{total} (mg.L ⁻¹)	147,0
NH ₃ (mg.L ⁻¹)	110,0
NTK (mg.L ⁻¹)	774,0
SSV (mg.L ⁻¹)	940,0
SO ₄ ²⁻ (mg. L ⁻¹)	2004,4
K (mg.L ⁻¹)	4175,0
pH	4,6

Previamente à montagem do sistema em batelada, a vinhaça foi filtrada em papel qualitativo de porosidade igual a 3 µm (Nalgan, 80 g.m⁻²), com a finalidade de reduzir a concentração de sólidos suspensos afluente aos reatores. Em seguida, adicionaram-se as quantidades de sulfato de sódio na vinhaça filtrada, conforme o procedimento descrito na seção 3.5, para ajuste das relações DQO/SO₄²⁻que determinam as diferentes condições de estudo no experimento. E, por fim, o pH da vinhaça foi elevado utilizando-se bicarbonato de sódio (NaHCO₃).

4.3. Caracterização do lodo

O lodo usado no experimento foi retirado do reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB) em escala real, operado sob condições termofílicas (55°C), com aplicação no tratamento de vinhaça na própria Usina São Martinho. Trabalhos desenvolvidos no âmbito do LPB, em especial o de Ferraz Jr. (2013), indicam viabilidade associada à utilização deste inóculo em experimentos conduzidos em escala de bancada.

A caracterização foi feita com base na quantificação dos Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Fixos (STF) e Sólidos Totais Voláteis (STV) presentes no lodo. As análises foram realizadas no Laboratório de Processos Biológicos (LPB), com base na metodologia

apresentada pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2005).

Desta forma, obtiveram-se para cada 1 (um) grama de lodo úmido as seguintes quantidades de sólidos: 0,251 g de ST; 0,186 g de SVT; e 0,065 g de SFT. A análise do lodo teve como objetivo principal a determinação da concentração mássica de Sólidos Voláteis Totais (SVT) no lodo úmido. A partir desta concentração e adotando-se o valor de 0,3 g SVT para cada 1 grama de substrato (DQO solúvel) no afluente, foi possível calcular a massa inicial de lodo úmido a ser colocado nos reatores, a partir da Equação 5.

$$I = \frac{\alpha * S_{afl}}{C_{SVT}} \quad (5)$$

Onde: I: massa inicial de inoculo (g);

α : relação Massa de SVT/ Massa de substrato afluente;

S_{afl} : massa de substrato no afluente (g);

C_{SVT} : concentração mássica de SVT no lodo úmido (g SVT/ g Lodo Úmido);

4.4. Adição de sulfato de sódio

Para o ajuste das duas relações DQO/ SO_4^{2-} , estudadas na presente pesquisa, sendo elas 10,0 e 7,5, adicionou-se sulfato de sódio a vinhaça bruta, utilizada como substrato na condição de controle, cuja relação DQO/ SO_4^{2-} é igual a 12,0.

A determinação das quantidades, em massa, de sulfato de sódio (Na_2SO_4) que foram adicionadas nos reatores em batelada teve como base os valores da DQO (Demanda Química de Oxigênio) solúvel e da concentração do íon sulfato na vinhaça.

4.5. Montagem dos reatores em batelada

Os reatores em batelada consistiram em frascos de vidro com capacidade de 500 mL (frascos de laboratório Duran®). Para efeito de cálculo, mediu-se o volume útil total do frasco, sendo este preenchido com água e, então, transferida para uma proveta, resultando em um volume de 610 mL. Assim, cada frasco constituiu-se por 300 mL de volume líquido (inoculo e afluente) e 310 mL de headspace.

Devido ao volume reduzido da fase líquida nos reatores e como foram previstas coletas tanto de líquido quanto de gás, decidiu-se por separar os frascos para análise da DQO

e para análise do biogás. Além disso, cada condição de DQO/SO₄²⁻ foi estudada em triplicata. Desta forma, o sistema em batelada, na presente pesquisa, contou com 18 frascos Duran ® no total.

Primeiramente, uma determinada quantidade de vinhaça bruta, suficiente para preencher os 18 frascos, foi filtrada em papel qualitativo de porosidade igual a 3 µm. Além disso, adicionou-se bicarbonato de sódio para a correção do pH da vinhaça, sendo necessário aumentar de 4,72 para 7,0. A quantidade adicionada foi de 11,37 g de bicarbonato para cada 1L de vinhaça filtrada. Em seguida, o lodo úmido foi adicionado em cada reator seguindo os cálculos apresentados na seção 3.4, para a quantificação da massa de lodo. As pesagens foram realizadas em balança semi-analítica.

Após a adição do lodo úmido, os frascos foram preenchidos com vinhaça filtrada utilizando-se proveta até atingir o volume de 300 mL. Com os frascos devidamente identificados, adicionaram-se as respectivas quantidades de sulfato de sódio para se obter as relações DQO/SO₄²⁻ de 10,0 e 7,5. Enquanto que para a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, não foi necessário sulfato adicional, uma vez que esta corresponde à condição de controle, ou seja, a vinhaça bruta. A Tabela 6 resume as condições de estudo que foram analisadas.

Tabela 6 – Condições de estudo analisadas durante o experimento

Identificação do frasco	DQO solúvel inicial (g/L)	Concentração de íon sulfato inicial (g/L)	Relação DQO/SO ₄ ²⁻
F	21,64	1,80	12,0
E	21,64	2,16	10,0
D	21,64	2,88	7,5

E, por fim, em cada frasco foi borbulhado gás nitrogênio (N₂) puro durante 5 minutos para estabelecimento de um ambiente anaeróbio (Figura 14). Os frascos foram, então, tampados com septo de borracha, assegurando sua completa vedação, e incubados em um agitador a 55°C e a 110 rpm. A temperatura foi mantida em 55°C, uma vez que esta se mostrou promissora para a aplicação da digestão anaeróbia ao tratamento de vinhaça (FERRAZ JÚNIOR, 2013). A biodigestão termofílica da vinhaça é possível, já que essa corrente líquida sai da coluna de destilação a altas temperaturas, entre 80°C e 90°C. A Figura 15 mostra os frascos utilizados no experimento sob o agitador.



Figura 14 – Etapa de borbulhamento do gás nitrogênio.



Figura 15 – Sistema em batelada montado para o experimento.

4.6. Coletas e análise da fase gasosa

A análise da composição do biogás no *headspace*, em termos de concentração de metano, foi feita utilizando-se a cromatografia gasosa. Para isso, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL de cada frasco com auxílio de uma seringa com válvula de trava durante um período de 120 dias. Com a intenção de se evitar uma alta pressão no interior dos frascos, optou-se por despressurizá-los posteriormente a cada coleta.

O cromatógrafo gasoso utilizado foi o modelo GC-2014 (Shimadzu Scientific Instruments ®), equipado com detector de condutividade térmica (TCD) e uma coluna HP-PLOT/Q (30 m x 0,53 mm x 40 μ m). As temperaturas do injetor e do detector foram de 160°C e 170°C, respectivamente. A rampa de aquecimento da coluna foi de 35°C a 170°C, a 60°C min⁻¹. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste (ADORNO et al., 2014).

A periodicidade das coletas do biogás foi sendo definida ao longo do experimento, de acordo com a curva que ia se obtendo da produção acumulada de metano a fim de detectar os pontos de interesse para a posterior análise da cinética de produção. Durante essa etapa experimental, nas duas primeiras semanas de operação, a coleta e injeção foram feitas em todos os dias úteis da semana, com frequência de 2x ao dia. Nos dias restantes de operação, a periodicidade foi reduzida para 3 dias por semana e 1x ao dia.

Vale ressaltar que o tempo de incubação dos reatores ultrapassou o tempo previsto por autores como Budiyono³⁴ et al. (2010) apud Syaichurrozi et al (2013) e Patil³⁵ et al. (2012) apud Syaichurrozi et al (2013) que, segundo eles, os dados experimentais obtidos em 60 dias foram suficientes para descrever o modelo de produção do biogás. O período da presente pesquisa durou até o momento em que a curva de produção acumulada de metano atingiu um patamar de estabilidade, sendo aqui definido o valor de até 10% de diferença entre os três últimos pontos da curva.

³⁴ BUDIYONO, WIDIASA, I.N., JOHARI, S., SUNARSO, 2010. The kinetic of biogas production rate from cattle manure in batch mode. Int. J. Chem. Biol. Eng. 3 (1), 39–44.

³⁵ PATIL, I. J.H., RAJ, M.A., MURALIDHARA, P.L., DESAI, S.M., RAJU, G.K.M., 2012. Kinetics of anaerobic digestion of water hyacinth using poultry litter as inoculum. Int. J. Environ. Sci. Dev. 3 (2), 94–98.

4.7. Coletas e análise da fase líquida

A análise da fase líquida consistiu na determinação de cinco parâmetros, DQO, ácidos orgânicos voláteis, sulfato, sulfeto e alcalinidade, considerados essenciais para o entendimento das rotas metabólicas que podem estar ocorrendo em cada reator, bem como das relações de sintrofia entre os microrganismos. As análises de DQO, tanto a total quanto a solúvel, foram realizadas de acordo com os protocolos descritos no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2005). Vale ressaltar que a análise da DQO foi feita de duas formas: com e sem a interferência do sulfeto dissolvido. No entanto, como um dos objetivos da presente pesquisa é verificar a remoção da matéria orgânica, ajustou-se o modelo cinético apenas para as análises sem a interferência do sulfeto.

Para isso, as amostras de líquido para análise da DQO receberam concentração em excesso de sulfato de zinco ($ZnSO_4$) e foram agitadas. Formou-se, então, o sulfeto de zinco (ZnS), sob a forma de precipitado, o qual foi separado da fase líquida revertendo-se o frasco com cuidado.

Já as análises dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs), sendo eles o ácido acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico e caprônico, e dos solventes, como o metanol, etanol e n-butanol, foram realizadas em cromatógrafo gasoso modelo GC 2010 (Shimadzu®), equipado com detector de ionização de chama e coluna HP-INNOWAX (comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,25 μm). Especificidades do preparo das amostras e das condições cromatográficas podem ser obtidas em Adorno et al. (2014).

A concentração do íon sulfato nas amostras coletadas foi determinada utilizando-se o cromatógrafo de íons (DIONEX 5000), equipado com detector de condutividade e coluna IonPac® AS11HC Anion-Exchange Column operando a uma temperatura de 30°C. A fase móvel utilizada foi solução de carbonato de cálcio (4,5 mM) e bicarbonato de cálcio (0,8 mM) com fluxo de 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Assim como ocorreu com o biogás, a periodicidade das coletas de líquido foi sendo definida ao longo do experimento, objetivando traçar a melhor curva para a queda da DQO efluente. Contudo, para a fase líquida, adotou-se a metodologia descrita pelos autores Peixoto et al.(2012) e Fernandes et al. (2010), segundo a qual há um limite de volume que pode ser

coletado durante todo o experimento, sendo este de 10% do volume total da fase líquida. Desta forma, definiu-se um volume de 1 mL para cada coleta, a fim de se obter uma quantidade suficiente de pontos amostrais, até 30 coletas, para análise da degradação da matéria orgânica. Anteriormente à coleta do líquido, os frascos eram despressurizados para se evitar perdas de líquido, devido à pressão interna.

Além da DQO total e da DQO solúvel, realizaram-se as análises de ácidos orgânicos voláteis e íons com o restante do líquido que foi coletado. Vale ressaltar a importância de se planejar as análises, bem como suas diluições, uma vez que um mau planejamento pode vir a interferir nos resultados.

4.8. Outras determinações analíticas

Ao final do tempo de incubação dos reatores, realizaram-se algumas análises com o efluente final, dentre elas: sulfeto e alcalinidades (parcial e intermediária). As análises de sólidos e de sulfeto seguiram as metodologias descritas nos itens anteriores. Para a determinação das alcalinidades parcial e intermediária, seguiu-se o protocolo descrito em Ripley et al. (1986).

As análises de tais parâmetros foram feitas somente ao final do experimento, uma vez que o monitoramento ao longo do tempo de incubação era inviável, principalmente devido ao pequeno volume da alíquota coletada. Além disso, a caracterização do efluente final deu um maior embasamento à interpretação dos resultados obtidos.

4.9. Análise dos resultados

Os resultados obtidos das análises do biogás produzido e da DQO efluente foram, primeiramente, dispostos em planilhas para melhor organização dos dados, bem como tratamento destes para obtenção de variáveis – respostas, como o volume acumulado de metano. Após o tratamento dos dados, plotaram-se gráficos para o monitoramento dos reatores, com o uso do programa Microsoft Excel.

Posteriormente, os dados foram tratados no programa MicroCal OriginLab, um software de análise de dados e gráficos científicos amplamente utilizado no meio acadêmico.

Com o uso do programa, obtiveram-se os gráficos do volume de metano gerado acumulativo em função dos tempos de reação, sendo feitos para cada relação DQO/SO₄²⁻ analisada. E em relação à matéria orgânica, foram obtidos gráficos da DQO total no efluente em função dos tempos de reação, sendo também feitos para cada relação DQO/SO₄²⁻.

O OriginLab também foi utilizado para a obtenção dos parâmetros cinéticos de degradação da matéria orgânica e dos parâmetros cinéticos de produção de metano, com o uso da regressão não-linear nos gráficos mencionados anteriormente. No caso da produção de metano, ajustou-se o modelo modificado de Gompertz, comumente empregado para a avaliação da produção de biogás em sistemas biológicos (FERNANDES et al., 2010; PEIXOTO et al., 2012; SYAICHURROZI et al., 2013). A Equação 6 descreve o modelo a ser ajustado, bem como os parâmetros a serem obtidos.

$$V_{CH_4}(t) = P_{CH_4} \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m \cdot e}{P_{CH_4}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (6)$$

Na Equação (1), V_{CH₄} é a produção ou volume acumulado de metano, em mL; λ é o tempo da fase de adaptação (equivalente à fase lag na curva de crescimento microbiano), em dias (d); P_{CH₄} é o potencial de produção de metano, em mL; R_m é a velocidade de produção de metano, em mL d⁻¹; t é o tempo de incubação, em d e e é o número de Euler (2,71828). Os parâmetros cinéticos de interesse correspondem à fase de adaptação, o potencial de produção de metano e a velocidade de produção.

Com relação à degradação da matéria orgânica, ajustou-se o modelo de 1^a ordem com residual – Equação (7), devido ao perfil observado para a remoção ao longo do período de incubação, sendo também comumente ajustado para dados obtidos em sistemas biológicos.

$$C(t) = C_r + (C_0 - C_r) * \exp(-k * t) \quad (7)$$

Na Equação (7), C (t) corresponde a concentração de matéria orgânica (DQO), em mg.L⁻¹; C₀ é a concentração de matéria orgânica inicial com t=0 d, em mg L⁻¹; t é o tempo de incubação relativo ao C(t), em dias (h); k é o coeficiente cinético de primeira-ordem aparente, em d⁻¹; e C_r é a concentração de matéria orgânica residual, em mg.L⁻¹.

Além disso, foi feita uma análise das vias de remoção da matéria orgânica envolvidas no processo de tratamento, bem como a interferência entre as rotas sulfetogênica e

metanogênica. Para tanto, foram propostos cálculos simplificados para a determinação das porcentagens de matéria orgânica consumida pelas rotas metanogênica e sulfetogênica, indicando o fluxo de elétrons do substrato e a predominância entre os processos. Foram utilizadas as equações simplificadas apresentadas por Godoi (2014), as quais desconsideraram a fração de matéria orgânica utilizada para o crescimento celular dos microrganismos envolvidos. As equações estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Porcentagem da matéria orgânica removida por via de degradação.

Substrato Removido	Equações
DQO total removida (%)	DQOremovida(%) = $\left(1 - \frac{DQO_{afl}}{DQO_{efl}}\right) \times 100$
DQO removida via sulfetogênese (%)	DQO _{SO4} (%) = $0,67 \times \frac{(SO_{4afl} - SO_{4efl})}{DQO_{removida}} \times 100$
DQO removida via metanogênese (%)	DQO _{CH4} (%) = DQO _{removida} - DQO _{CH4}

Fonte: Godoi (2014).

Por fim, analisou-se o decaimento da concentração do íon sulfato a partir da modelagem matemática dada pelo modelo cinético de primeira ordem com concentração residual – Equação (8) - o qual foi ajustado aos dados experimentais. Os procedimentos para estimativa dos valores dos parâmetros cinéticos ($k_1^{SO_4}$, d^{-1}) foram semelhantes aos descritos para a degradação da matéria orgânica, sendo obtidos para cada relação DQO/SO₄²⁻. O coeficiente cinético de primeira-ordem específico ($k_1^{SO_4}$, $kg^{-1}VS\ d^{-1}$) foi obtido pela divisão do $k_1^{SO_4}$ pela quantidade de lodo (kg.VS) adicionada aos frascos.

$$C^{SO_4}(t) = C_0^{SO_4} \cdot \exp(-k_1^{SO_4} \cdot t) \quad (8)$$

Na Equação (8), $C_0^{SO_4}$ é a concentração inicial ($t=0$) de sulfato orgânico, em $g.L^{-1}$, t representa o tempo de incubação, em dias, e $k_1^{SO_4}$ é o coeficiente cinético de primeira –ordem específico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, apresentam-se os resultados obtidos por meio das determinações analíticas, realizadas durante e após o tempo de incubação dos reatores em batelada, bem como os dados tratados e as discussões levantadas a partir da comparação com a literatura estudada.

5.1. Remoção de matéria orgânica e produção de metano para DQO/SO₄²⁻ de 12,0

Os gráficos apresentados na Figura 16 mostram os perfis da degradação e da eficiência de remoção da matéria orgânica, bem como o perfil da produção acumulada de metano, para a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, num período de incubação de 120 dias.

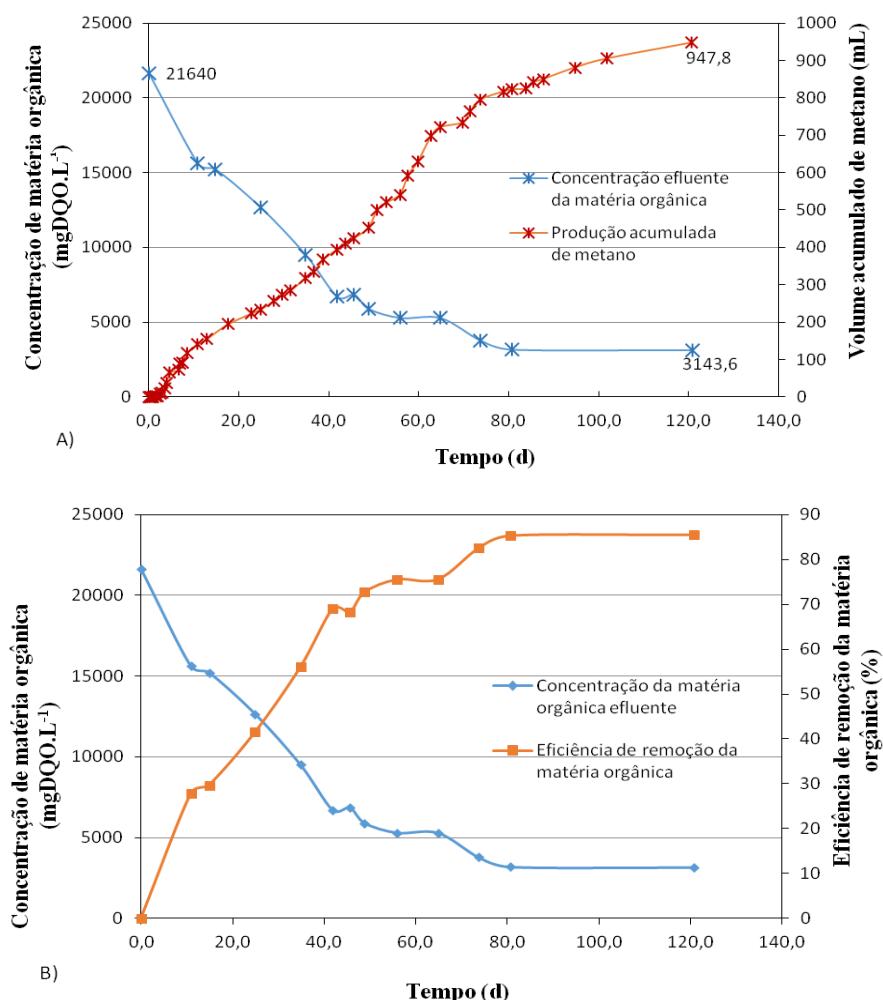


Figura 16 – Perfis de produção de metano (A) e de degradação da matéria orgânica (B) para relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0.

Para a condição de controle, em que se utilizou a vinhaça sem adição de NaSO₄, observou-se uma elevada eficiência de remoção da matéria orgânica, em torno de 85%.

Em Fuess (2013), na qual são listados alguns trabalhos científicos relacionados à eficiência de remoção de DQO resultante do tratamento de vinhaça por processos anaeróbios, verificou-se que, para concentrações de DQO próximas a 22 g.L⁻¹, a eficiência ficou em torno de 80 – 85%. Portanto, com base nestes resultados extraídos da literatura, conclui-se que a vinhaça com relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0 manteve a sua característica de alta biodegradabilidade, sem ocasionar instabilidade no sistema devido à presença de íons sulfato na água residiária.

Além disso, nota-se que, nos primeiros 10 dias de incubação, houve uma queda acentuada na concentração de matéria orgânica, fato também verificado pela curva da eficiência, sendo alcançado um valor de 30% de eficiência de remoção. Tal fato mostra que a biomassa se adaptou rapidamente à carga orgânica inicial, sendo este também o período de maior velocidade de remoção, explicada pela cinética de primeira ordem com residual.

Após este período, observa-se que a concentração da DQO reduziu de forma mais gradual. Este comportamento também pode ser visto, de forma indireta, por meio da análise dos ácidos orgânicos voláteis.

Devido ao pequeno volume de líquido retirado para realização das análises, a concentração de sulfato foi determinada em apenas algumas amostras. Para a vinhaça bruta, com relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, a concentração inicial do íon sulfato correspondia a 1804,63 mg.L⁻¹, sendo consumido em torno de 100% de eficiência. Desta forma, utilizando-se as equações da Tabela 7, tem-se que, para esta condição, apenas 6,5% da matéria orgânica foi removida via sulfetogênese, e o restante (93,5%) via metanogênese.

Em relação à produção de metano nos frascos com relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, notou-se o surgimento de gás metano no segundo dia de incubação dos reatores, o que mostra uma rápida adaptação das arqueias metanogênicas às condições do meio. Em seguida, na fase exponencial da curva de produção acumulada, compreendida entre os dias 10 e 65, a produção de metano é máxima, alcançando um volume total de 800 mL de gás metano, nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP). E, a partir do período de 65 dias de incubação, a velocidade de produção acumulada de metano apresentou uma tendência de estabilização. Assim, ao final dos 120 dias de incubação dos reatores, a produção total de gás metano foi de 947,8 mL.

A partir da DQO removida via metanogênese, determina-se o rendimento de metano (volume produzido de metano por quantidade de matéria orgânica removida pela via metanogênica), calculado sob as condições da CNTP. Para a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0, obteve-se um rendimento de metano de 182,3 mL CH₄. gDQO removida⁻¹. De acordo com Metcalf e Eddy (2003) e Speece (1996), a produção teórica de metano que poderia ser obtida pela degradação da glicose, nas CNTP, corresponde a 350 mLCH₄. gDQO removida⁻¹. O resultado obtido experimentalmente encontra-se bem abaixo do valor teórico esperado. Em termos de rendimento (volume de metano por sólidos voláteis inseridos nos frascos), obteve-se o valor de 486,05 mL.gSV⁻¹.

Para os ácidos orgânicos voláteis, determinaram-se os perfis temporais para melhor entendimento dos processos que envolvem os substratos presentes na água residuária em tratamento. Os perfis estão apresentados na Figura 17.

Com relação aos ácidos orgânicos voláteis presentes na vinhaça, observa-se, nitidamente, que o substrato a ser primeiro consumido foi o ácido butírico, tendo a sua concentração reduzida de, aproximadamente, 400 mg.L⁻¹ para 50 mg.L⁻¹ nos primeiros 10 dias de incubação. Esta redução, em termos de proporção, correspondeu a uma percentagem de 20% na composição, ou seja, no primeiro dia, o ácido butírico representava 25% na concentração total dos três ácidos orgânicos voláteis principais presentes na vinhaça, já no décimo primeiro dia, cerca de 5% apenas correspondia a este ácido. Este mesmo comportamento foi observado por Pontes et al. (2002) operando-se um reator UASB para tratamento de esgoto sanitário, em que a concentração do ácido butírico passou de 20% dos ácidos totais formados para 8,5%.

Esta queda na concentração de ácido butírico é explicada pela termodinâmica. Segundo Aquino e Chernicharo (2005), na etapa de acetogênese, os ácidos orgânicos, principalmente o ácido butírico e o ácido propiônico, reagem com moléculas de água e/ou bicarbonato, gerando como produto o acetato. Em termos da termodinâmica, estas reações são desfavoráveis nas condições padrão, uma vez que possuem um valor positivo para a energia livre de Gibbs. No entanto, as reações acetogênicas ocorrem naturalmente em reatores anaeróbios devido à interação entre os microrganismos acetogênicos e metanogênicos. Ainda assim, observando-se a reação de formação do ácido butírico em acetato, a sua energia livre de Gibbs é de +48,1 kJ/ reação, já a da reação do ácido propiônico é de +76,1 kJ/ reação. Desta forma, conclui-se que o consumo do ácido butírico ocorre mais favoravelmente em

comparação com o ácido propiônico, uma vez que quanto menor o valor da energia livre de Gibbs, mais favorável é a reação. O que explica a queda brusca na concentração deste ácido.

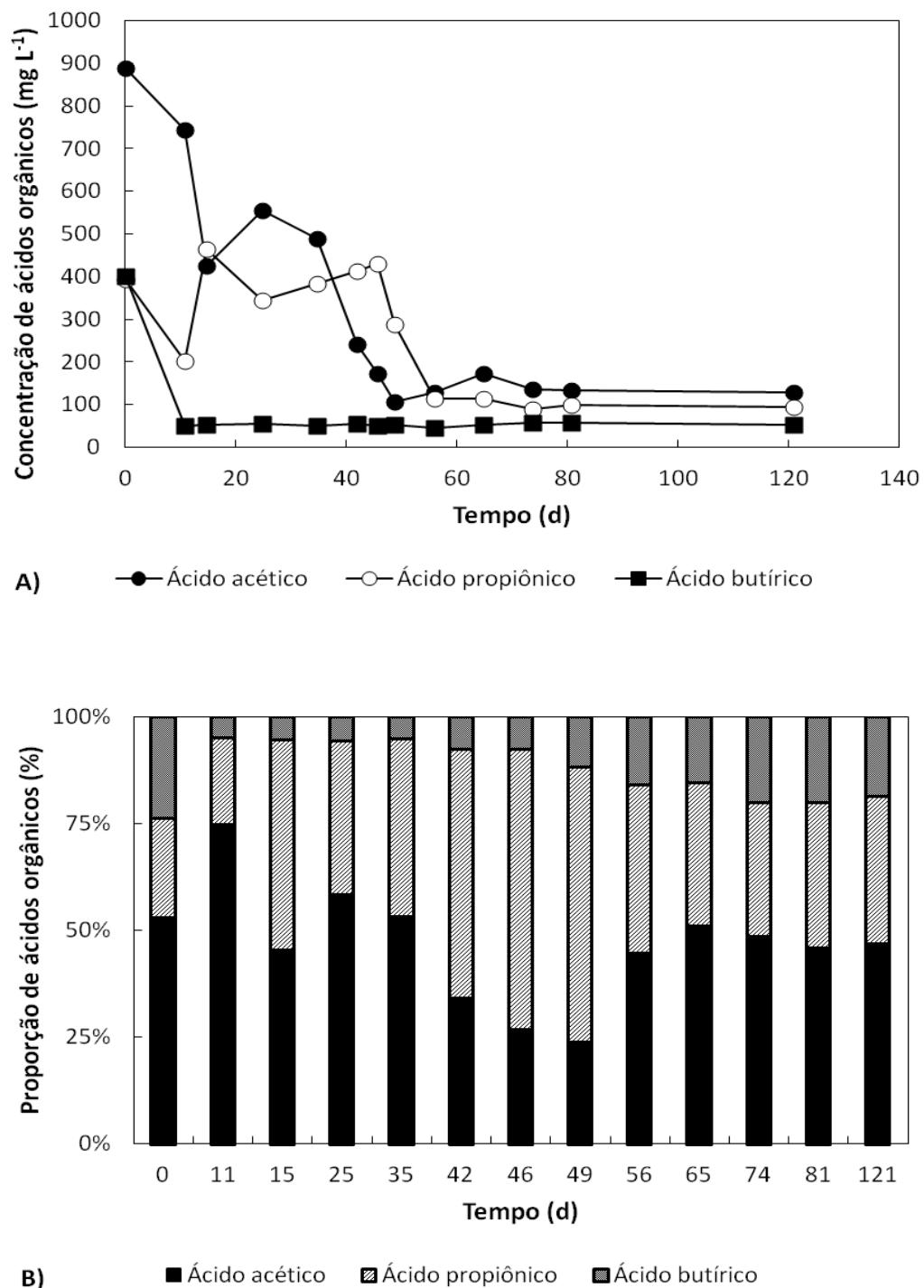


Figura 17 – Resultados da análise de ácidos orgânicas voláteis para relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0. A) Perfil temporal da concentração dos ácidos orgânicos; B) Proporção dos ácidos orgânicos.

Esta queda na concentração de ácido butírico é explicada pela termodinâmica. Segundo Aquino e Chernicharo (2005), na etapa de acetogênese, os ácidos orgânicos, principalmente o ácido butírico e o ácido propiônico, reagem com moléculas de água e/ou bicarbonato, gerando como produto o acetato. Em termos da termodinâmica, estas reações são desfavoráveis nas condições padrão, uma vez que possuem um valor positivo para a energia livre de Gibbs. No entanto, as reações acetogênicas ocorrem naturalmente em reatores anaeróbios devido à interação entre os microrganismos acetogênicos e metanogênicos. Ainda assim, observando-se a reação de formação do ácido butírico em acetato, a sua energia livre de Gibbs é de +48,1 kJ/ reação, já a da reação do ácido propiônico é de +76,1 kJ/ reação. Desta forma, conclui-se que o consumo do ácido butírico ocorre mais favoravelmente em comparação com o ácido propiônico, uma vez que quanto menor o valor da energia livre de Gibbs, mais favorável é a reação. O que explica a queda brusca na concentração deste ácido.

A reação de transformação do ácido butírico em acetato pode ser observada também pelo aumento da proporção do ácido acético nos primeiros 11 dias de incubação. Além disso, no primeiro dia de experimento, o ácido acético aparece em maiores proporções em relação aos outros dois ácidos orgânicos, em torno de 50%. A predominância deste ácido é relatada por Mosey (1983), o qual sugere que a reação de conversão da glicose em ácido acético fornece às bactérias acidogênicas um maior rendimento de energia para crescimento celular. Portanto, nos primeiros 11 dias, houve um acúmulo de acetato relativo, para este, então, ser consumido até o 49º dia de incubação. Após esse tempo, nota-se um leve acúmulo na proporção de acetato, indicando um possível início da fase estacionária no crescimento das metanogênicas e, consequente estabilização no consumo de acetato. O acúmulo de acetato verificado entre o tempo 49-56 dias provavelmente decorre da ação das bactérias acetogênicas na conversão do ácido propiônico. Segundo Aquino e Chernicharo (2005), os microrganismos metanogênicos acetoclásticos são facilmente saturados em termos cinéticos, por apresentarem maiores valores para o K_s (constante de saturação), variando de 11 a 421 mgDQO.L⁻¹. Desta forma, durante condições de choque de carga, representado, neste caso, pela concentração elevada de ácido propiônico no tempo de 49 dias, a produção de acetato atingiu valores elevados devido à maior atividade acidogênica, levando ao acúmulo deste, devido à baixa atividade de conversão do acetato em metano.

E, por fim, fazendo uma análise do perfil do ácido propiônico, observa-se um comportamento semelhante ao ácido butírico nos primeiros 11 dias, havendo um provável consumo pelas bactérias acetogênicas para formação de acetato. Em seguida, verifica-se um

acúmulo deste ácido. Tal comportamento é bastante comum em sistemas termofílicos e pode ser um fator limitante para o desempenho de processos anaeróbios operados sob esta condição (WIEGANT et al., 1985). Isso se deve, principalmente, ao estabelecimento de condições que desfavorecem a conversão do ácido propiônico em acetato, como a pressão parcial de H₂ baixa, uma vez que esta, como visto anteriormente, é termodinamicamente desfavorável, e só ocorre naturalmente se estiver em equilíbrio com a reação de consumo do hidrogênio dissolvido (Aquino e Chernicharo, 2005).

Conclui-se, portanto, em termos dos ácidos orgânicos voláteis, que não houve interferência aparente da sulfetogênese durante as fases acidogênicas e acetogênicas, sendo os comportamentos verificados pela Figura 17 comumente observados em sistemas metanogênicos, devido aos fatores termodinâmicos e cinéticos que envolvem as bactérias acidogênicas, acetogênicas e metanogênicas.

5.2. Remoção de matéria orgânica e produção de metano para DQO/SO₄²⁻ de 10,0

Os gráficos apresentados na Figura 18 mostram os perfis da degradação e da eficiência de remoção da matéria orgânica, bem como o perfil da produção acumulada de metano, para a relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0, num período de incubação de 120 dias.

Para a vinhaça com relação DQO/SO₄²⁻ igual a 10,0, em que se adicionou 0,36 g.L⁻¹ de NaSO₄ para o ajuste da condição, observou-se uma elevada eficiência de remoção da matéria orgânica, em torno de 85%, tendo, portanto, a mesma eficiência da condição de controle, sem ajuste da concentração de sulfato. Os resultados obtidos por Godoi (2014), em que foram operados um reator metanogênico e um reator sulfetogênico, ambos contínuos e de leito fixo, sendo o último sob condições de DQO/SO₄²⁻ bem menores que os estudados na presente pesquisa, variando de 2,6 a 5,2, mostraram que não houve diferenças significativas na eficiência final da matéria orgânica. Desta forma, nota-se que os sistemas sulfetogênicos apresentam potencial para serem aplicados na remoção de matéria orgânica, mesmo operando com valores bem baixos de DQO/SO₄²⁻.

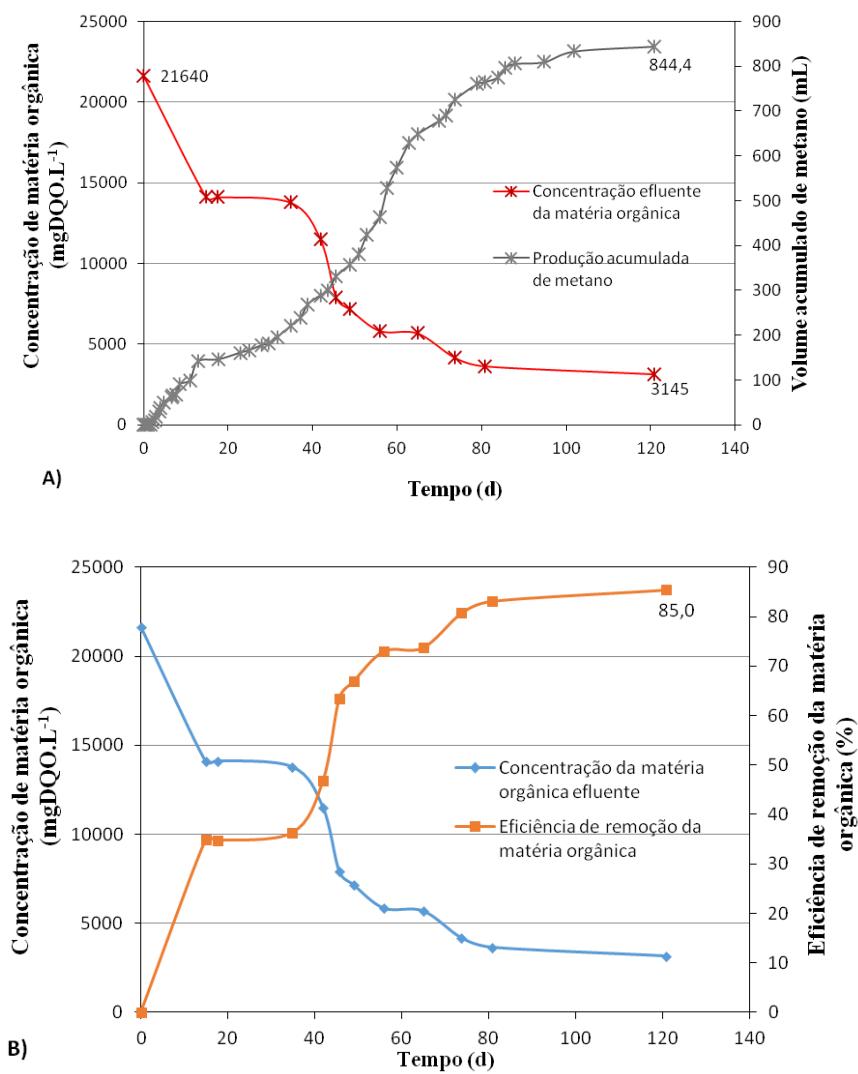


Figura 18 – Perfis de produção de metano (A) e de degradação da matéria orgânica (B) para relação DQO/SO₄²⁻ igual a 10,0.

Nos primeiros 10 dias de incubação, houve também uma queda acentuada na concentração de matéria orgânica, fato que pode ser notado pela curva da eficiência, sendo alcançado um valor de 35% de eficiência de remoção. Comparando-se com a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, é importante ressaltar que a condição de menor relação apresentou maior eficiência de degradação da matéria orgânica no mesmo período inicial de incubação. Provavelmente, tal fato aconteceu devido às BRS apresentarem condições termodinâmicas e cinéticas mais favoráveis em relação às outras bactérias, como reportado por Chen et al. (2008). A predominância das BRS na competição por diferentes substratos foi verificada por diversos autores, como é o caso, por exemplo, em que as BRS mostraram maior afinidade

pelo propionato e maiores velocidades de crescimento em comparação com outras espécies consumidoras deste substrato. Relatou-se também a dominância das redutoras de sulfato na utilização do acetato e do H₂, sendo atribuída às suas vantagens cinéticas. Assim, o meio com maior concentração do íon sulfato favoreceu para a atuação das BRS na degradação da matéria orgânica e consequente redução do sulfato a sulfeto.

O decaimento da matéria orgânica, neste caso, apresentou um comportamento semelhante ao obtido pela Miqueleto et al. (2005). Em ambos os casos, o perfil foi descrito por duas fases com comportamentos diferentes e, portanto, parâmetros cinéticos também distintos. Para este caso, o comportamento inicial dado por uma elevada velocidade de degradação da matéria orgânica pode estar associado à atuação das BRS, devido à disponibilidade de sulfato, enquanto que para a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, ocorreu apenas a metanogênese.

Para o cálculo do fluxo de elétrons para as vias metanogênica e sulfetogênica na condição DQO/SO₄²⁻ igual a 10,0, a concentração inicial do íon sulfato corresponde a 2164 mg.L⁻¹, sendo consumido até a concentração final igual zero. Desta forma, utilizando-se as equações da Tabela 7, tem-se que, para esta condição, apenas 7,9% da matéria orgânica foi removida via sulfetogênese, e o restante (92,1%) via metanogênese, o que difere de apenas 1,4% em relação à condição de controle. O fluxo de elétrons, portanto, mostra que, apesar de haver a atuação das BRS na relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0, a metanogênese ainda é a rota metabólica predominante no processo de tratamento para este caso.

Em relação à produção de metano nos frascos com relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0, notou-se o surgimento de gás metano também no segundo dia de incubação dos reatores. No entanto, a produção acumulada, neste dia, apresentou uma diferença significativa para a relação de 12,0, sendo duas vezes maior que esta última. Ao final dos 120 dias de incubação dos reatores, a produção total de gás metano foi de 844,4 mL. Esta menor produção de metano deve-se, provavelmente, ao desvio do fluxo de elétrons para a sulfetogênese.

A partir da DQO removida via metanogênese, determinou-se o rendimento de metano (volume produzido de metano por quantidade de matéria orgânica removida pela via metanogênica), calculado sob as condições da CNTP. Para a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 10,0, obteve-se um rendimento de metano de 164,60 mL CH₄. gDQO removida⁻¹, valor abaixo do rendimento alcançado na relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, com diferença de 17,7 mL CH₄. gDQO removida⁻¹. O resultado obtido experimentalmente também se encontra bem abaixo do valor teórico esperado.

Como a eficiência de remoção da matéria orgânica para os frascos com relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0 permaneceu a mesma para os frascos com relação igual a 10,0, e a produção acumulada de metano apresentou diferenças entre as condições, pode-se concluir que o processo de sulfetogênese ocorrido durante o período de incubação possivelmente causou inibições à metanogênese. A menor produção de metano apresentada pela menor relação DQO/SO₄²⁻, com diferença de 103,8 mL, deve-se provavelmente ao desvio do fluxo de elétrons para a sulfetogênese.

Para os ácidos orgânicos voláteis, determinaram-se os perfis temporais, apresentados na Figura 19.

Assim como nos frascos com relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0, o ácido butírico foi o substrato a ser primeiro consumido, tendo a sua concentração reduzida de 400 mg.L⁻¹ para 36 mg.L⁻¹ nos 15 primeiros dias de incubação. Esta redução, em termos de proporção, correspondeu a uma percentagem de 20% na composição, ou seja, no primeiro dia, o ácido butírico representava 25% na concentração total dos três ácidos orgânicos voláteis principais presentes na vinhaça, já no décimo quinto dia, cerca de 5% apenas correspondia a este ácido.

Já o perfil do ácido propiônico apresentou comportamento diferente em comparação com a condição de controle. Como foi visto para a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0, após o 11º dia, houve acúmulo do propionato, chegando a uma proporção de 60% entre os ácidos presentes no líquido. Este acúmulo não ocorreu nos frascos com relação igual a 10,0 devido à maior atuação das bactérias redutoras de sulfato, mais especificamente as oxidadoras incompletas, uma vez que a proporção de ácido acético é maior em comparação à condição de controle.

Além de o ácido propiônico ser uma fonte doadora de elétrons para as redutoras de sulfato, a termodinâmica favorece o consumo dos ácidos orgânicos voláteis por este grupo. No processo de acetogênese, usualmente acoplado à via metanogênica, as reações de conversão dos ácidos orgânicos a acetato dependem da pressão parcial do gás hidrogênio, sendo desfavorecidas quando esta pressão é elevada. Já as reações de conversão dos ácidos orgânicos em acetato pelas BRS independem da concentração do hidrogênio, portanto, elas são menos sensíveis às condições do ambiente.

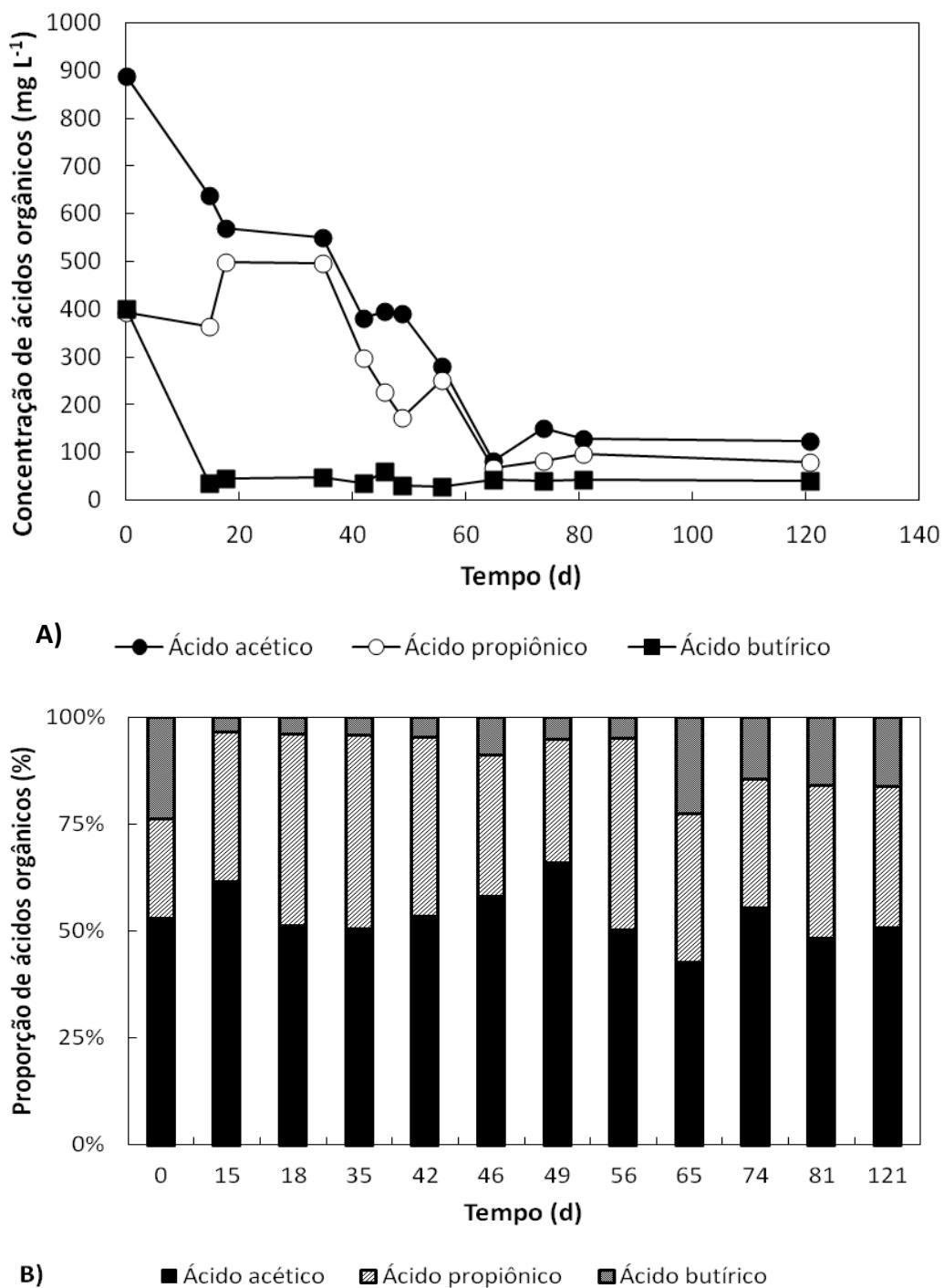


Figura 19 – Resultados da análise de ácidos orgânicas voláteis para relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0. A) Perfil temporal da concentração dos ácidos orgânicos; B) Proporção dos ácidos orgânicos.

Assim, nota-se um equilíbrio no sistema entre as reações de conversão dos compostos intermediários (ácidos orgânicos voláteis) em acetato e as reações de conversão deste substrato sendo restabelecido após os períodos de acúmulo do acetato (dias 20 ao 49 e 65 ao 74).

5.3. Remoção de matéria orgânica e produção de metano para DQO/SO₄²⁻ de 7,5

Os gráficos apresentados na Figura 20 mostram os perfis da degradação e da eficiência de remoção da matéria orgânica, bem como o perfil da produção acumulada de metano, para a relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5, num período de incubação de 120 dias.

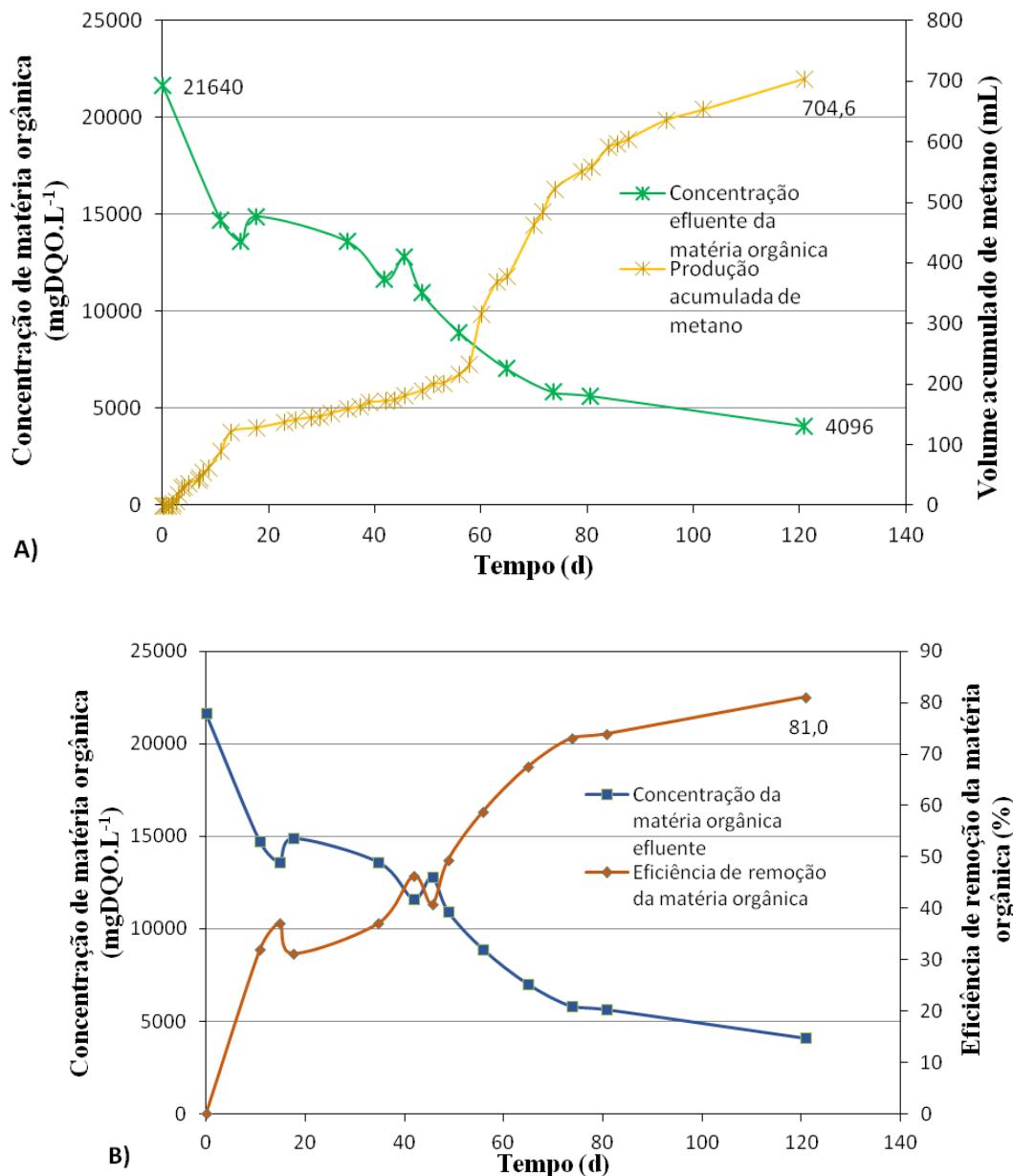


Figura 20 – Perfis de produção de metano (A) e de degradação da matéria orgânica (B) para relação DQO/SO₄²⁻ igual a 7,5.

Para a vinhaça com relação DQO/SO₄²⁻ igual a 7,5, em que se adicionou 1,08 g.L⁻¹ de NaSO₄ para o ajuste da condição, observou-se uma elevada eficiência de remoção da matéria orgânica, em torno de 81%, embora ela tenha sido menor em comparação com as outras duas condições. Essa redução na eficiência de remoção da matéria orgânica total presente na vinhaça pode ser resultado de uma inibição das arqueias metanogênicas pelo sulfeto, proveniente da redução do sulfato pelas BRS.

Além disso, a intensa atuação das BRS é notada nos primeiros 15 dias de incubação, em que se atingiu uma eficiência de aproximadamente 40,0 % na remoção da matéria orgânica. Este valor elevado pode ser explicado novamente pela versatilidade das redutoras de sulfato em consumir diversos substratos, podendo atuar tanto na fase de conversão das moléculas orgânicas simples, como os açúcares, quanto dos ácidos orgânicos. No entanto, vale ressaltar que apesar da presença das BRS ser vantajosa para a remoção da matéria orgânica, as vantagens podem ser em curto prazo, dependendo da concentração de sulfato na água resíduária em tratamento, uma vez que atingida certa quantidade limiar de sulfeto dissolvido no meio, efeitos tóxicos podem ser gerados sobre as arqueias metanogênicas, e até mesmo as BRS (O' FLAHERTY²¹ et al., 1998 apud CHEN et al., 2007).

Assim como na relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0, o perfil do decaimento da matéria orgânica apresentou duas curvas, com parâmetros cinéticos diferentes. Esta diferença na cinética de remoção pode ser explicada pela disponibilidade de sulfato, fator responsável pela remoção da matéria orgânica.

Para o cálculo do fluxo de elétrons para as vias metanogênica e sulfetogênica na condição DQO/SO₄²⁻ igual a 7,5, a concentração inicial do íon sulfato corresponde a 2885 mg.L⁻¹, sendo consumido até a concentração final igual a zero. Desta forma, utilizando-se as equações da Tabela 7, tem-se que, para esta condição, 11 % da matéria orgânica foi removida via sulfetogênese, e o restante (89%) via metanogênese, o que difere em 3,2 % em relação à DQO/SO₄²⁻ de 10,0 , e em 4,5% em comparação com a condição de controle. O fluxo de elétrons, portanto, mostra que a atuação das BRS na relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5 foi mais expressiva em relação às duas condições, contudo, a metanogênese ainda é a rota metabólica predominante no processo de tratamento para este caso.

Em relação à produção de metano nos frascos com relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5, notou-se o surgimento de gás metano também no segundo dia de incubação dos reatores. No entanto, a produção acumulada, obtida no segundo dia, foi menor em comparação com a segunda

condição ($\text{DQO/SO}_4^{2-} = 10,0$). Ao final dos 120 dias de incubação dos reatores, a produção total de gás metano foi de 704,6 mL.

A partir da DQO removida via metanogênese, determina-se o rendimento de metano (volume produzido de metano por quantidade de matéria orgânica removida pela via metanogênica), calculado sob as condições da CNTP. Para a relação DQO/SO_4^{2-} igual a 7,5, obteve-se um rendimento de metano de 149,10 mL $\text{CH}_4 \cdot \text{gDQO removida}^{-1}$, valor abaixo do rendimento alcançado nas relações DQO/SO_4^{2-} de 10,0 e 12,0, com diferença de 15,5 mL $\text{CH}_4 \cdot \text{gDQO removida}^{-1}$ e 33,2 mL $\text{CH}_4 \cdot \text{gDQO removida}^{-1}$, respectivamente. O resultado obtido experimentalmente também se encontra bem abaixo do valor teórico esperado. Nota-se que a diferença entre a relação de 7,5 e de 12,0 é maior que o dobro da diferença entre a relação de 7,5 e 10,0, o que mostra uma maior atuação das BRS e, consequentemente, uma possível inibição da atividade metanogênica pelo sulfeto.

Para os ácidos orgânicos voláteis, determinaram-se os perfis temporais, apresentados na Figura 21.

Assim como nas condições anteriores, o ácido butírico foi o primeiro substrato a ser consumido pelos grupos de microrganismos, tendo a sua concentração reduzida de 400 mg.L^{-1} para $31,4 \text{ mg.L}^{-1}$ nos 15 primeiros dias de incubação. Esta redução, em termos de proporção, correspondeu a uma percentagem de 22% na composição, ou seja, no primeiro dia, o ácido butírico representava 25% na concentração total dos três ácidos orgânicos voláteis principais presentes na vinhaça, já no décimo quinto dia, cerca de 3% apenas correspondia a este ácido. Vale ressaltar que, apenas para a menor relação DQO/SO_4^{2-} , a concentração deste ácido, no período total de incubação, foi 100% consumida.

Nota-se que, no período entre os dias 81 e 121, o ácido butírico passou de uma concentração de 70 mg.L^{-1} para uma concentração igual a zero. Ao mesmo tempo, houve, também, uma redução na concentração de ácido acético, o que significa que a atividade metanogênica ainda estava ocorrendo, como pode ser visto no perfil da produção acumulada de metano (Figura 20). No entanto, observa-se um acúmulo de ácido acético no período final de incubação dos reatores, chegando à proporção de 92%.

Tal fato mostra um desequilíbrio no sistema entre as reações que envolvem a conversão de matéria orgânica, assim como foi observado na relação DQO/SO_4^{2-} igual a 12,0. No entanto, sugere-se que, neste caso, o acúmulo do ácido acético foi devido a uma provável inibição das arqueias metanogênicas pelo sulfeto dissolvido.

Além disso, no período entre os dias 56 e 65, a redução na proporção do ácido propiônico foi igual ao aumento na proporção do acetato. O que mostra a atuação das BRS oxidadoras incompletas, que convertem compostos intermediários em acetato, estabelecendo uma relação sintrófica com as arqueias metanogênicas acetoclásticas.

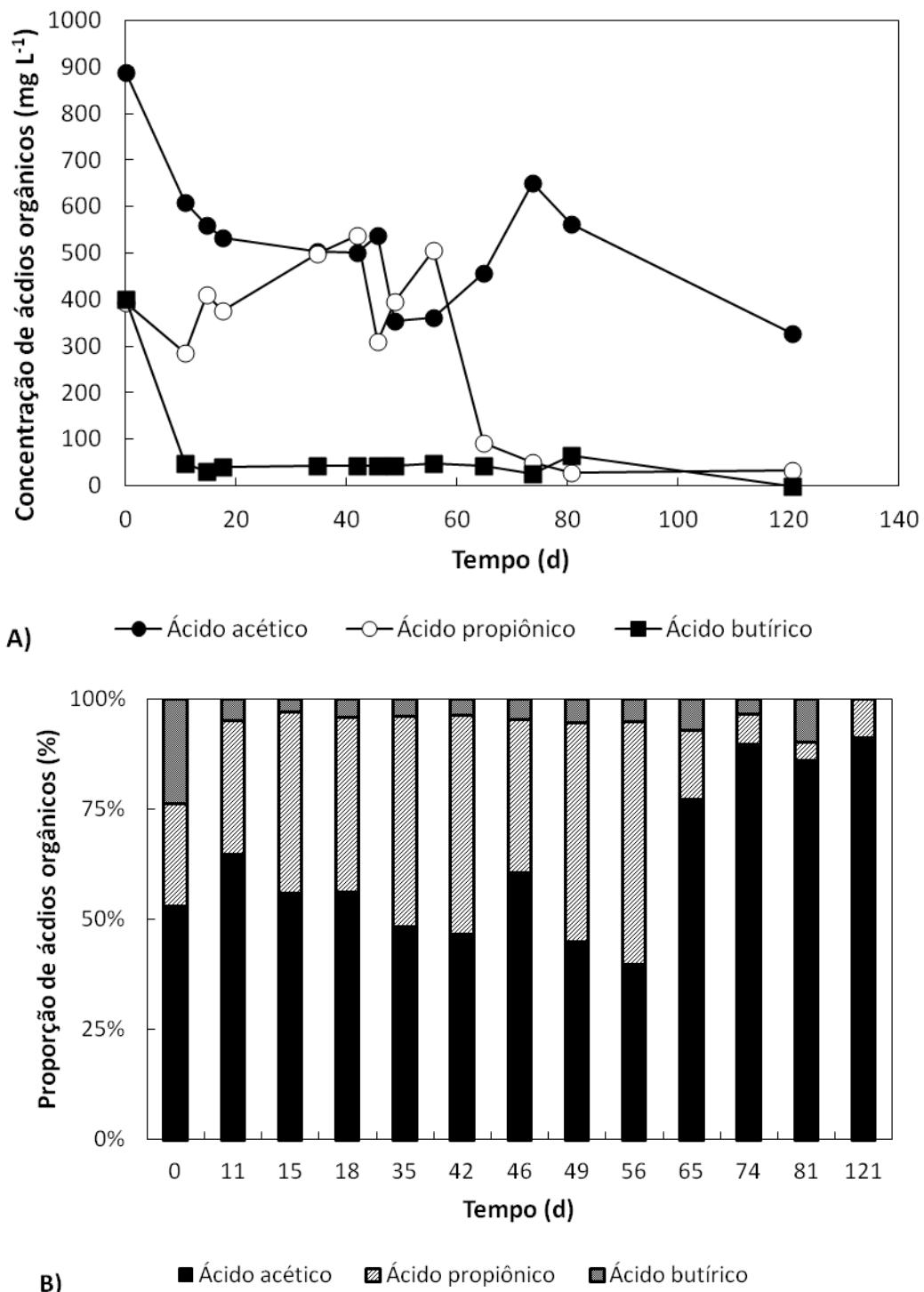


Figura 21 – Resultados da análise de ácidos orgânicas voláteis para relação DQO/ SO_4^{2-} de 7,5. A) Perfil temporal da concentração dos ácidos orgânicos; B) Proporção dos ácidos orgânicos.

5.4. Comparação entre as condições DQO/SO₄²⁻ estudadas

As diferenças entre as condições DQO/SO₄²⁻ estudadas diante dos parâmetros de degradação da matéria orgânica e produção acumulada de metano podem ser mais bem visualizadas pela Figura 22 e 23, respectivamente.

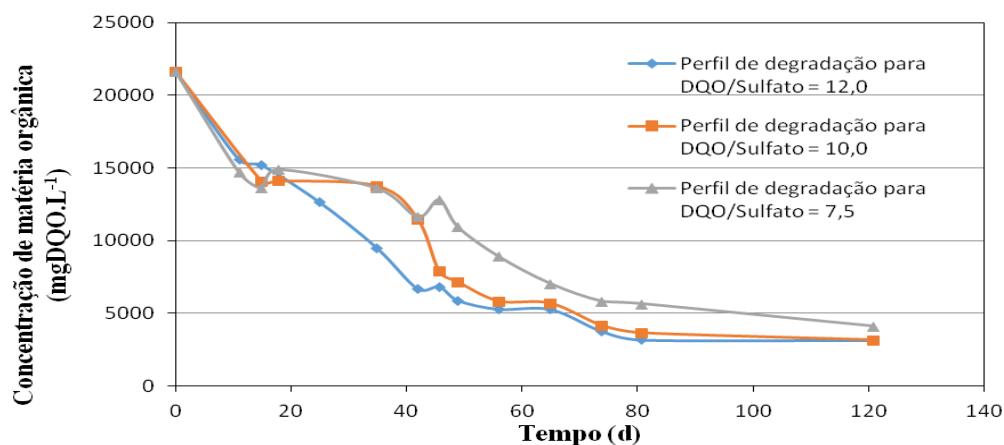


Figura 22 – Perfil de degradação da matéria orgânica para as condições estudas

Em relação à degradação da matéria orgânica, nota-se que nos primeiros dias de incubação, os perfis tiveram o mesmo comportamento para as três condições estudadas, descrito por uma velocidade de remoção acentuada. No entanto, apesar da pequena diferença entre as eficiências neste período, observa-se que a parte reta da curva referente à relação DQO/SO₄²⁻ igual a 7,5 apresenta uma queda maior em tempo menor, significando uma maior velocidade inicial de remoção da matéria orgânica. Em seguida, o perfil referente à relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0, com uma queda na concentração da matéria orgânica um pouco maior em comparação com a condição de controle.

Entre o período dos dias 15 a 80, a curva referente à relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0 teve um comportamento diferente das duas outras condições. A queda na concentração de matéria orgânica foi menos acentuada do que no período inicial, até atingir uma concentração residual de 3145 mg.L⁻¹, representando uma eficiência de remoção em torno de 85%. Já os perfis referentes às relações com maior concentração de sulfato, observa-se um comportamento incomum, com duas fases de decaimento. Este comportamento é mais bem definido no perfil referente à relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0.

Em termos de eficiência de remoção, as três condições apresentaram eficiências na faixa dos 80 – 85%, valor acima do que os observados em reatores anaeróbios contínuos utilizados para tratamento de vinhaça. Portanto, conclui-se que, para as concentrações de sulfato utilizadas na presente pesquisa, houve uma interferência considerável da sulfetogênese na metanogênese. Tal fato pode ser verificado pelos cálculos do fluxo de elétrons, apesar de as três condições estudadas apresentarem predominância da metanogênese.

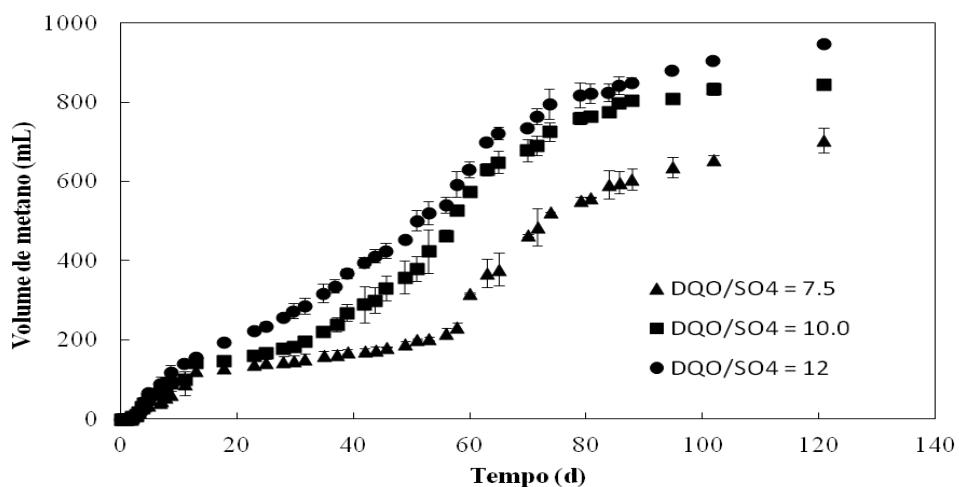


Figura 23 – Perfis da produção acumulada de metano para as três condições estudadas

A partir da Figura 23 é possível verificar uma diferença considerável no comportamento da produção de metano ao longo do período de incubação para as três relações estudadas. Nota-se que, para a relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5, a fase exponencial apresentou maior velocidade de produção de metano a partir de 60 dias depois do início do experimento, enquanto que, para as outras condições, se deu em torno de 30 dias após o início.

A menor produção acumulada de metano, ao final do experimento, verificada na menor relação DQO/SO₄²⁻ deve-se à interferência mais expressiva da sulfetogênese, respondendo a um fluxo de elétrons em torno de 11% da matéria orgânica total removida, conforme previamente apresentado. A baixa produção acumulada de metano, cerca de 240 mL a menos que a produção atingida na condição de controle, deve-se à atuação das BRS oxidadoras incompletas, levando a um maior desvio no fluxo de elétrons e, consequentemente, à provável inibição da atividade metanogênica pelo sulfeto.

Ao final do período de incubação dos reatores, realizaram-se as análises de pH, alcalinidade parcial e concentração de sulfeto ionizado da vinhaça para cada relação DQO/SO₄²⁻. Os resultados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultados de pH, alcalinidade parcial e sulfeto ionizado da vinhaça após o período de incubação

Relação DQO/SO ₄ ²⁻	pH	Alcalinidade parcial (mgNaHCO ₃ .L ⁻¹)	Sulfeto ionizado (mg.L ⁻¹)
12,0	8,3 ± 0,0	7893 ± 55	111 ± 16
10,0	8,4 ± 0,0	8391 ± 141	132 ± 2
7,5	8,4 ± 0,0	8275 ± 212	190 ± 27

Em relação à condição DQO/SO₄²⁻ igual a 10,0, a interferência da sulfetogênese foi menos apesar de que, no período dos dias 20 aos 60, o perfil se distanciou mais do perfil representado pela condição de controle. No entanto, para a produção acumulada de metano total, a diferença resultou em apenas 103,8 mL.

A Tabela 9 apresenta um resumo dos valores obtidos para os parâmetros analisados e que permitem a verificação da interferência da sulfetogênese na metanogênese para o tratamento da vinhaça em diferentes condições de relação DQO/SO₄²⁻.

Tabela 9 – Resumo dos resultados obtidos para cada condição estudada.

DQO/SO ₄ ²⁻	Degradiação da matéria orgânica		Produção acumulada de metano	
	C _r ¹ (mgDQO.L ⁻¹)	Eficiência (%)	P _{final} (mL)	Rendimento (mLCH ₄ .gDQO removida ⁻¹)
12,0	3143,6	85,5	947,8	182,3
10,0	3145,0	85,0	844,4	164,60
7,5	4096,0	81,0	704,6	149,10

1 C_r: concentração residual de matéria orgânica após o período final de incubação dos reatores.

5.5. Modelos matemáticos ajustados

5.5.1. Modelo para a produção acumulada de metano

Como apresentado no item 2.7, o modelo cinético utilizado, na presente pesquisa, para descrever matematicamente o perfil da produção acumulada de metano, foi o modelo de Gompertz modificado.

Tal modelo, descrito por Zwietering et al. (1990), assume que a cinética de produção de biogás, ou de metano, corresponde à velocidade de crescimento específico das arqueias metanogênicas no reator, e é dado pela Equação 6.

Para o ajuste das curvas, bem como para a determinação dos parâmetros cinéticos do modelo matemático, utilizou-se o software OriginLab 8. Vale ressaltar que, a partir dos resultados obtidos experimentalmente, foram encontradas duas curvas de Gompertz que melhor se ajustaram ao perfil de produção acumulada de metano nas três condições estudadas. Os gráficos com as curvas sigmoidais ajustadas estão apresentas nas Figuras 24 a 26.

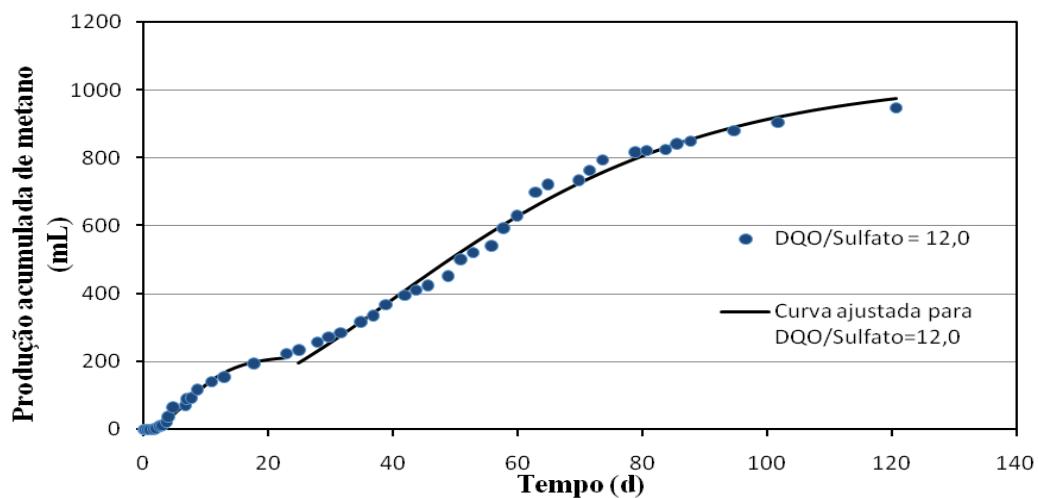


Figura 24 – Modelo matemático ajustado aos pontos experimentais para a relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 12,0

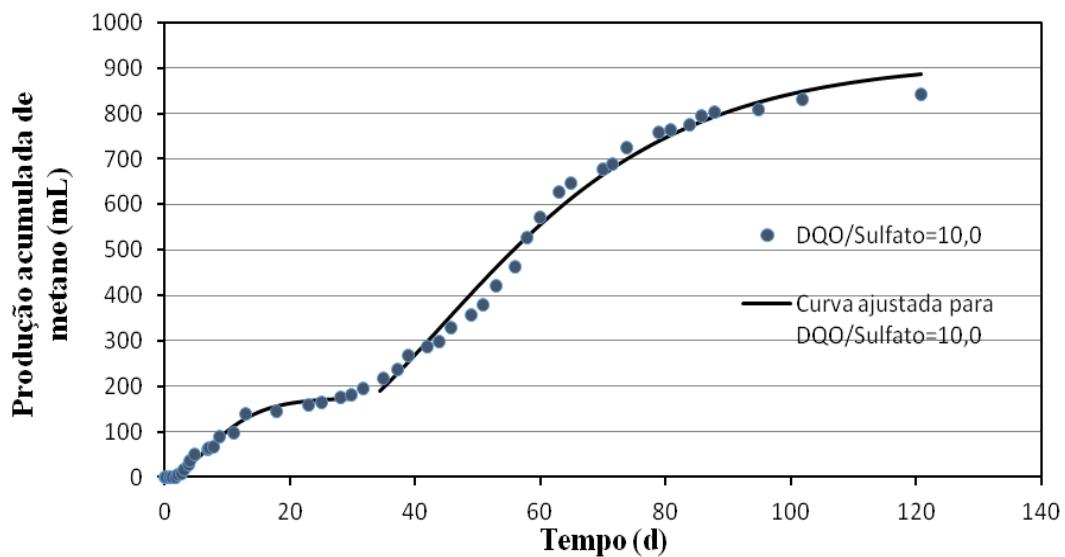


Figura 25 – Modelo matemático ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/ SO_4^{2-} de 10,0

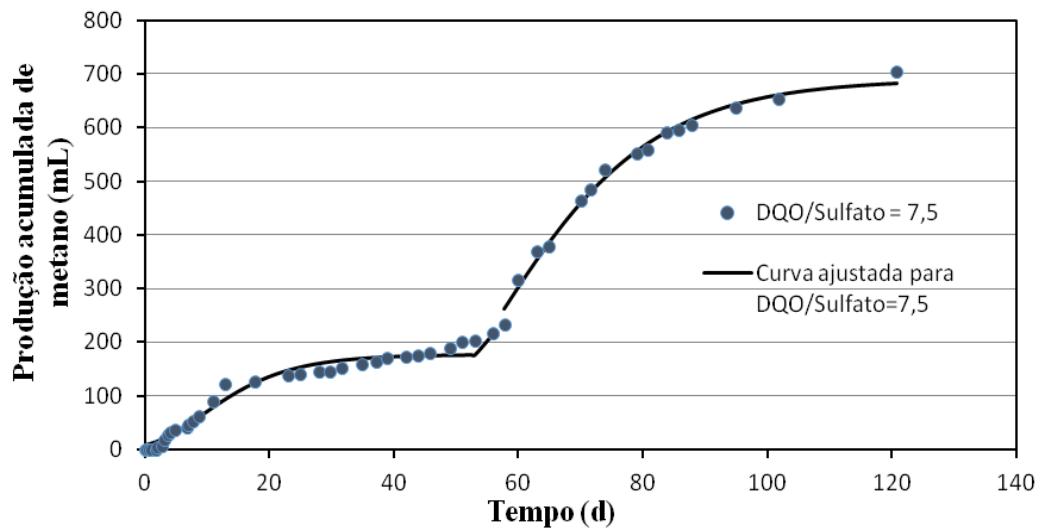


Figura 26 – Modelo matemático ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/ SO_4^{2-} de 7,5

Os parâmetros cinéticos P_{CH_4} e R_m , da equação de Gompertz modificada, foram divididos pela concentração inicial de sólidos voláteis, sendo apresentados na Tabela 10 como P'_{CH_4} e R'_m . Além dos valores específicos para estes dois parâmetros, obtiveram-se os valores para λ , coeficiente de determinação (R^2) e os respectivos erros, resultantes do ajuste das curvas sigmoidais para cada uma das condições estudadas.

Tabela 10 – Parâmetros cinéticos para as condições estudadas.

Parâmetro	Relação DQO/SO ₄ ²⁻					
	12,0		10,0		7,5	
	Curva 1	Curva 2	Curva 1	Curva 2	Curva 1	Curva 2
P _{CH₄} (mL.gSV ⁻¹)	111,9 (±9,11)	532,20 (±29,87)	89,4 (±2,34)	469,8 (±13,5)	95,0 (±2,9)	354,3 (± 6,6)
R _m (mL.d ⁻¹ .gSV ⁻¹)	9,1 (±1,22)	6,70 (±0,52)	6,6 (± 0,46)	7,7 (±0,4)	3,80 (±0,37)	9,2 (±0,56)
λ (d)	2,31 (±0,32)	nd ¹	1,93 (± 0,36)	22,0 (±1,36)	0,94 (±0,88)	43,2 (±1,33)
R ²	0,983	0,988	0,986	0,984	0,97	0,99

1. nd= não detectado. Valor encontrado foi abaixo de zero.

Para as três condições estudadas, o coeficiente de determinação ficou próximo de 1,0, o que significa que as curvas, definidas pelos parâmetros apresentados na Tabela 10, se ajustaram bem aos pontos obtidos experimentalmente.

Em relação aos parâmetros cinéticos referentes à curva 2, nota-se que, para a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0, em que há menor concentração de íon sulfato e a mesma concentração de matéria orgânica comparando-se às outras condições, o parâmetro cinético de produção potencial de metano específico (P_{CH₄}) apresenta maior valor, de 532,20 mL.gSV⁻¹, o que condiz com os resultados obtidos experimentalmente, em que a condição de 12,0 obteve uma maior produção acumulada de metano.

Apenas para a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 7,5, a produção potencial teórica específica apresentou valor abaixo da produção específica acumulada obtida experimentalmente (361,3 mLCH₄.gSV⁻¹). Considerando a variação de - 6,6 no valor teórico, obtém-se uma diferença de 4% do valor obtido experimentalmente. Conclui-se que, neste caso, a produção específica obtida experimentalmente chegou próxima da produção específica teórica, valor bem abaixo do potencial verificado na condição de controle.

Analizando-se o parâmetro de produção potencial específica para a curva 2, nas três condições, é possível notar que a relação de 12,0 também apresentou maior valor.

Portanto, a partir da produção potencial específica de metano obtida na curva 2 pela modelagem, conclui-se que para a condição de 7,5, há uma considerável interferência da

sulfetogênese na metanogênese, indicando uma perda percentual em torno de 35% na produção específica de metano obtida na condição de controle.

Com relação ao parâmetro de velocidade específica de produção (R_m'), para a curva 1, a condição de 12,0 apresentou maior valor, com $9,1 \text{ mL.d}^{-1}.\text{gSV}^{-1}$, praticamente o mesmo que o obtido na menor relação DQO/SO₄²⁻ para a curva 2.

Para a segunda curva, a relação de 7,5 apresentou o valor de $9,2 \text{ mL.d}^{-1}.\text{gSV}^{-1}$, apesar da menor produção potencial de metano. Nota-se, pela Figura 26, que o momento em que a curva tem uma “quebra” no perfil se situa entre os dias 40 e 60. Este mesmo comportamento pode ser verificado na segunda parte do perfil apresentado na Figura 25, no mesmo período, em que ocorreu o consumo do acetato (dias 46 ao 56).

Assim, sugere-se que o maior valor de velocidade de produção para a menor relação DQO/SO₄²⁻ resulta de um acúmulo de substrato, ou ácido acético, devido à maior atuação das BRS oxidadoras incompletas.

Já para a condição de controle, em que a atuação das BRS oxidadoras incompletas não foi expressiva, observa-se uma menor velocidade específica de produção, de $6,70 \text{ mL.d}^{-1}.\text{gSV}^{-1}$. Comparando-se os perfis de ácidos orgânicos voláteis mostrados nas Figuras 17, 19 e 21, observa-se que, ao longo do período de incubação, os frascos com relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0 apresentaram menores proporções de acetato, o que possivelmente resultou em menor velocidade de produção de metano em relação às outras condições estudadas.

E, por fim, a condição de 7,5 apresentou uma maior fase de adaptação, 43,2 dias, o que significa que a produção de metano foi retardada. O tempo de adaptação na condição DQO/SO₄²⁻ de 10,0 foi aproximadamente a metade da condição de 7,5, 22 dias. Sugere-se, portanto, que para as relações de 10,0 e 7,5, a concentração de sulfato presente na vinhaça foi determinante no fluxo de elétrons nos primeiros dias de incubação, comportamento explicado pelas características termodinâmicas e cinéticas favoráveis das BRS oxidadoras incompletas.

Outra hipótese é que para o menor valor de DQO/SO₄²⁻, a quantidade de sulfeto gerada pode ter interferido negativamente no crescimento celular das arqueias metanogênicas, levando ao retardamento da produção de metano. De acordo com a Tabela 8, os frascos com relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5, ao final do período de incubação, apresentaram uma concentração de sulfeto ionizado de 71% acima do valor obtido para a condição de 12,0.

5.5.2. Modelo para a degradação da matéria orgânica

Os perfis de degradação da matéria orgânica obtidos pelos dados experimentais, bem como as curvas ajustadas por meio do modelo matemático de primeira ordem com residual, estão apresentas nas Figuras 27 a 29.

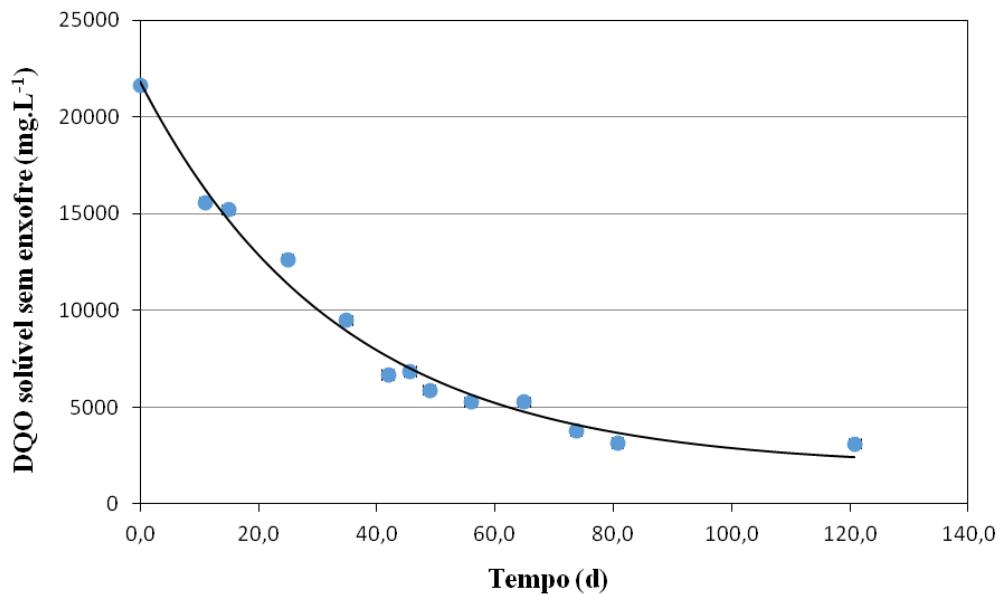


Figura 27 – Modelo matemático para degradação da matéria orgânica ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0

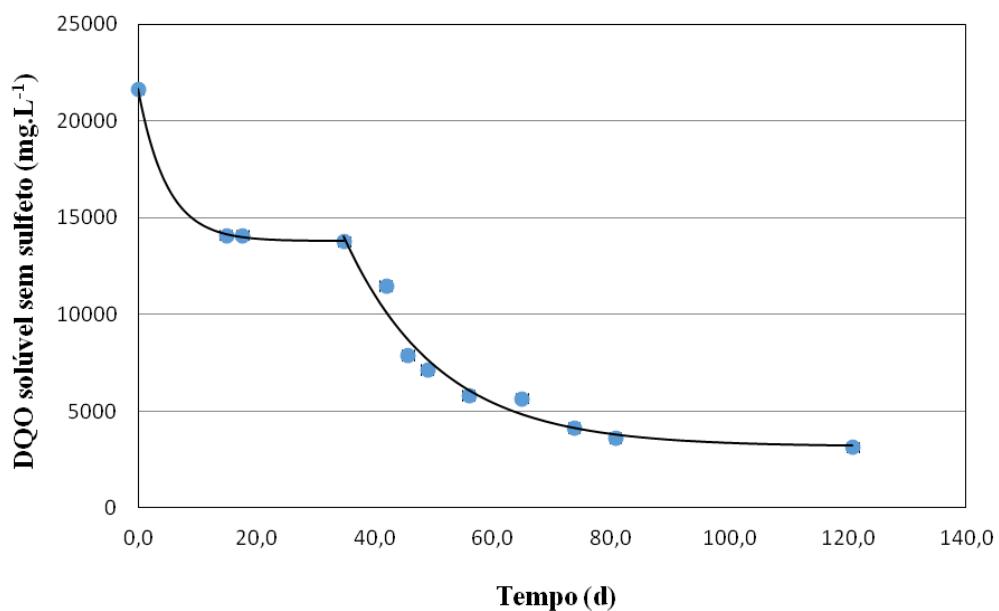


Figura 28 – Modelo matemático para degradação da matéria orgânica ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/ SO_4^{2-} de 10,0.

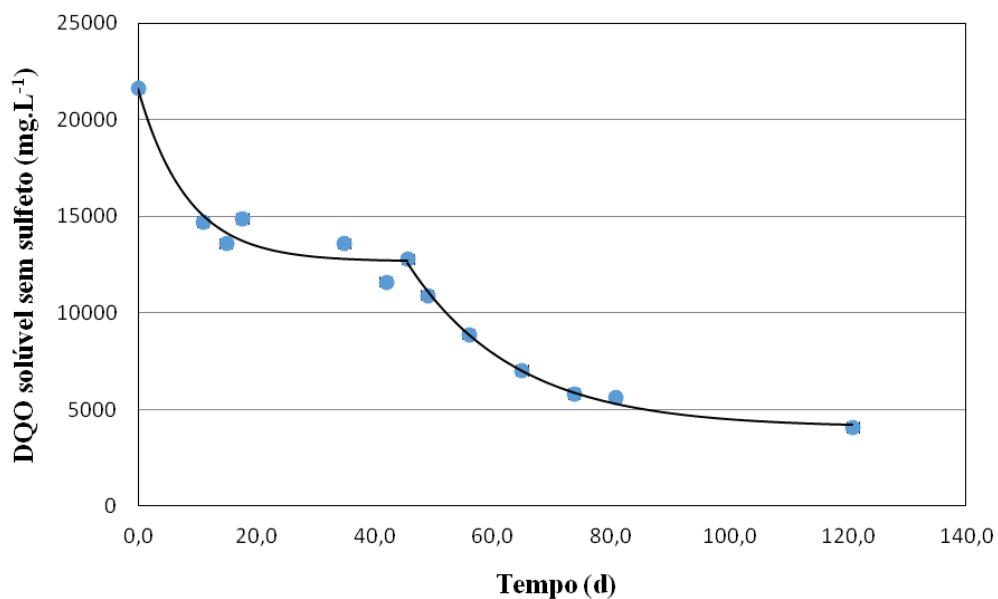


Figura 29 – Modelo matemático para degradação da matéria orgânica ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/ SO_4^{2-} de 7,5.

Os parâmetros cinéticos C_r e C_o , da equação de primeira ordem com residual, resultantes das curvas ajustadas para cada uma das condições estudadas estão apresentados na Tabela 11, bem como o coeficiente de determinação (R^2) e os respectivos erros. Para o

parâmetro k, dividiu-se o valor obtido do ajuste pela quantidade de SV adicionada no início do experimento, sendo representado por k'.

Tabela 11 – Parâmetros cinéticos de degradação da matéria orgânica para as condições estudadas.

Parâmetro	Relação DQO/SO ₄ ²⁻				
	12,0	10,0		7,5	
		Curva 1	Curva 2	Curva 1	Curva 2
k' (d ⁻¹ .gSV ⁻¹)	0,015 (± 0,00302)	0,106 (±0,03465)	0,032 (±0,01149)	0,062 (±0,03557)	0,028 (±0,0049)
C _r (mgO ₂ .L ⁻¹)	1844,104 (± 708,312)	13805,83 (±133,170)	3182,728 (±618,140)	12685,03 (±612,315)	4103,488 (±263,726)
C _o (mgO ₂ .L ⁻¹)	21812,48 (± 631,121)	21639,52 (±132,791)	14016,35 (±723,040)	21584,06 (±949,732)	12595,29 (±200,572)
R ²	0,98419	0,99879	0,95398	0,91456	0,99396

Assim como no ajuste do modelo para produção de metano, o coeficiente de determinação ficou próximo de 1,0, o que significa que as curvas, definidas pelos parâmetros apresentados na Tabela 11, se ajustaram bem aos pontos obtidos experimentalmente.

Com relação ao coeficiente cinético específico de primeira ordem com residual, representado por k', a condição que apresentou maior valor foi a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 10,0, curva 1, com 0,106 d⁻¹.gSV⁻¹. Como visto anteriormente, a primeira parte da curva apresentou maior coeficiente cinético específico em comparação à segunda parte. Uma hipótese para este comportamento é a atuação das BRS oxidadoras incompletas que, devido à maior concentração de sulfato no meio líquido, passaram a conduzir o consumo de matéria orgânica.

Para a condição de 7,5, o coeficiente cinético específico apresentou menor valor de 0,062 d⁻¹.gSV⁻¹ em comparação à condição de 10,0. Ao contrário do que pode ter acontecido para esta última, sugere-se que a concentração de sulfeto dissolvido atingiu valores suficientes para inibir levemente o crescimento celular dos grupos de microrganismos envolvidos na degradação da matéria orgânica.

Nota-se que, para a curva 2 das relações de 10,0 e 7,5, a diferença foi menor entre as duas, 0,032 d⁻¹.gSV⁻¹ e 0,028 d⁻¹.gSV⁻¹, respectivamente. No entanto, o valor de k' para a relação de 7,5 ainda foi maior que o coeficiente para a relação de 12,0, o que mostra a influência da concentração de sulfato no consumo de matéria orgânica.

Já com relação ao parâmetro de concentração residual da matéria orgânica, os valores foram coerentes ao esperado e aos resultados obtidos. Para a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, a concentração residual a ser atingida pelo modelo matemático é de 1844,104 mg.O₂.L⁻¹, valor bem abaixo do resultado obtido experimentalmente. No entanto, vale ressaltar que o período de incubação foi definido com base em pontos experimentais que indicaram certa estabilização, sendo possível atingir uma concentração residual mais próxima do teórico aumentando-se o tempo de incubação dos reatores.

Para as relações DQO/SO₄²⁻ de 10,0 e 7,5, as concentrações residuais teóricas foram mais próximas dos valores obtidos experimentalmente. Além disso, a diferença entre a condição de 10,0 em relação à de 7,5 se manteve, tendo a primeira uma concentração residual de 3182,728 mgO₂.L⁻¹ e a segunda, 4103,488 mgO₂.L⁻¹. Portanto, para uma relação DQO/SO₄²⁻ menor, espera-se uma eficiência menor de remoção da matéria orgânica.

E, por fim, a concentração inicial de matéria orgânica para as três relações apresentaram variações em relação ao valor experimental, sendo estas variações devido ao ajustamento do modelo matemático aos pontos experimentais. No entanto, os valores não apresentaram diferenças relevantes, uma vez que a concentração de matéria orgânica no início do experimento foi de 21640 mg.L⁻¹.

5.5.3. Modelo de decaimento da concentração do íon sulfato

Os perfis de decaimento da concentração do íon sulfato obtidos pelos dados experimentais, bem como as curvas ajustadas por meio do modelo matemático de primeira ordem com residual, estão apresentas nas Figuras 30 a 32.

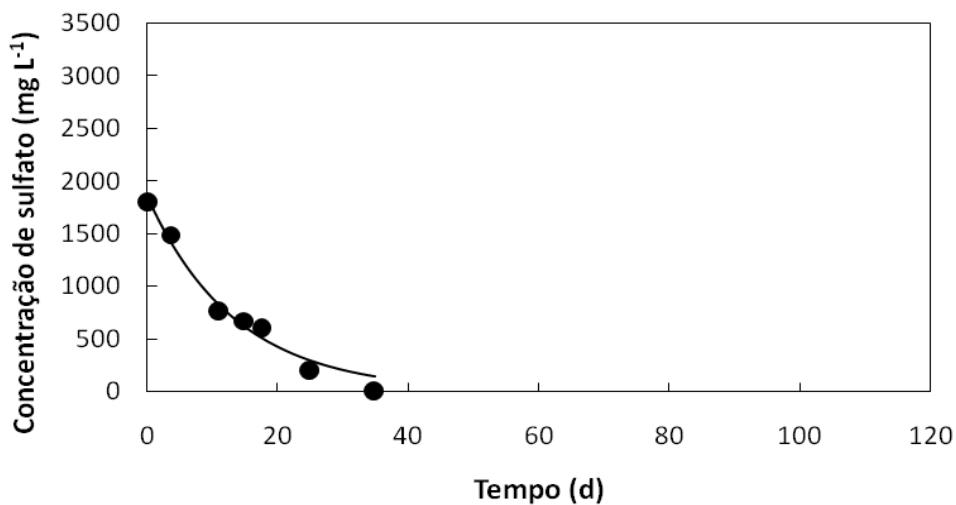


Figura 30 – Modelo matemático para decaimento da concentração de sulfato ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0.

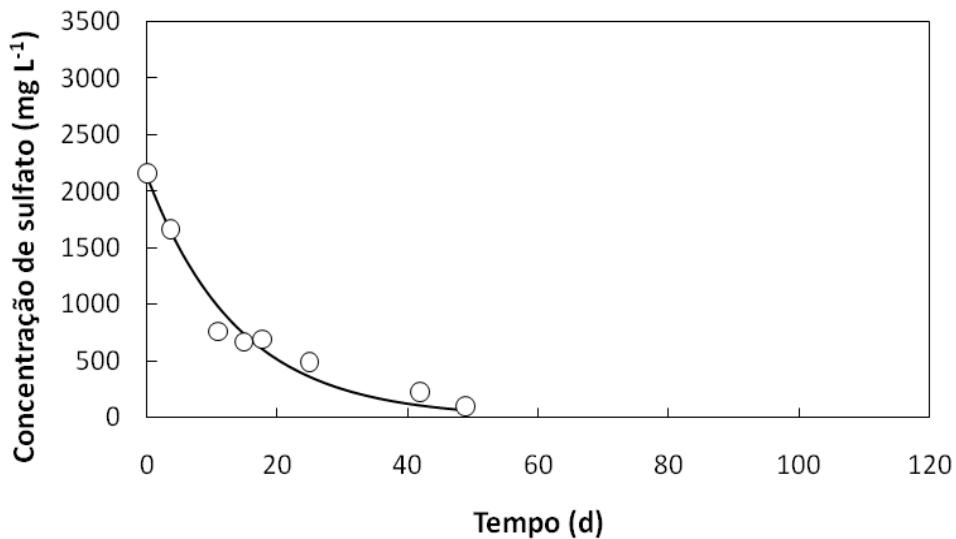


Figura 31 – Modelo matemático para decaimento da concentração de sulfato ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO₄²⁻ de 10,0.

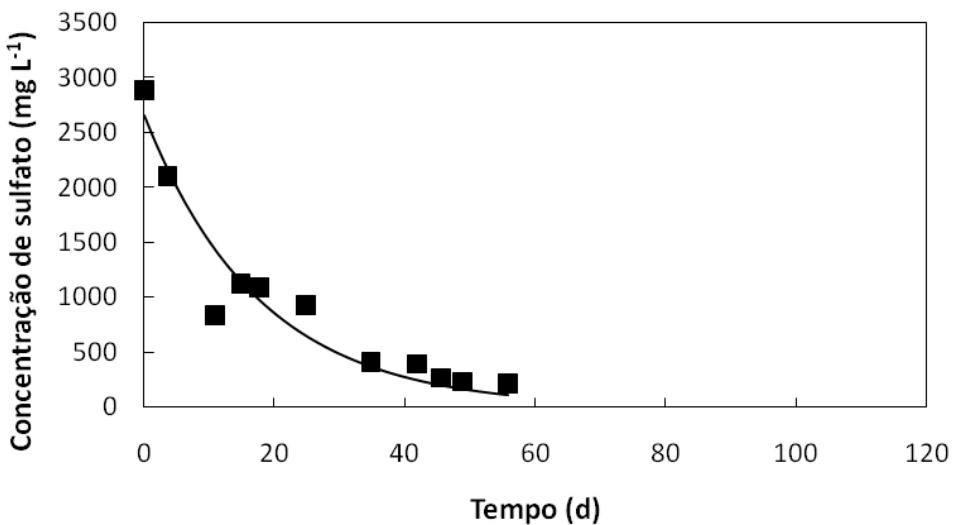


Figura 32 – Modelo matemático para decaimento da concentração de sulfato ajustado aos pontos experimentais para a relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5.

Os parâmetros cinéticos $k_1^{\text{SO}_4}$ e $C_o^{\text{SO}_4}$, da equação de primeira ordem com residual, resultantes das curvas ajustadas para cada uma das condições estudadas estão apresentados na Tabela 12, bem como o coeficiente de determinação (R^2).

Tabela 12 – Parâmetros cinéticos de decaimento da concentração do sulfato

DQO/SO ₄ ²⁻	$C_o^{\text{SO}_4}$ (mg.L ⁻¹)	$k_1^{\text{SO}_4}$ (kg ⁻¹ SV d ⁻¹)	R^2
12,0	1854	38,01	0,9804
10,0	2118	36,46	0,9689
7,5	2649	29,00	0,9178

Com relação ao coeficiente cinético de primeira-ordem específico, obteve-se o maior valor para a maior relação DQO/SO₄²⁻, condição em que a concentração inicial de sulfato é menor (1854 mg.L⁻¹). O perfil de decaimento da concentração do íon sulfato teve comportamento contrário dos perfis de produção acumulada de metano e de degradação da matéria orgânica, em que ambos apresentaram maiores valores de velocidade de produção específica e coeficiente cinético de primeira-ordem aparente para a relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5 e 10,0, respectivamente.

Este resultado pode ter origem em diversos fatores, segundo Chen et al. (2008) e Camiloti et al. (2014), tais como: disponibilidade reduzida de doadores de elétrons para a

sulfetogênese, aumento das concentrações de sódio devido à adição de Na_2SO_4 e inibição do sulfeto.

Embora as relações tenham apresentado valores de coeficiente cinético distintos, todas tiveram eficiência de remoção do sulfato de cerca de 100%, com concentração final igual a zero. Isso mostra que nos frascos de relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 12,0, as BRS oxidadoras incompletas estavam presentes no meio, mas como a concentração de sulfato inicial era menor, então o sulfato foi reduzido logo nos primeiros dias do experimento, devido à elevada concentração de substrato, doador de elétrons, como mostra a Figura 30.

Nota-se que o decaimento da concentração do íon sulfato, para as três condições estudadas, ocorreu nos primeiros dias de incubação dos reatores, sendo que, para a relação de 12,0, este decaimento aconteceu em um intervalo de tempo menor em comparação às outras condições. Os perfis obtidos mostram que, no período inicial de incubação dos reatores, houve a presença da sulfetogênese e, portanto, a atuação das BRS oxidadoras incompletas.

Tal fato possivelmente explica o comportamento dos perfis de degradação da matéria orgânica e de produção acumulada de metano, definidos por duas curvas com parâmetros cinéticos distintos. Para a degradação da matéria orgânica, este comportamento foi mais definido para as condições de 10,0 e 7,5, enquanto que para a produção de metano, as três condições apresentaram tal comportamento.

Em relação à produção acumulada de metano, na primeira curva, definida no período inicial de incubação, a condição de 12,0 apresentou maior valor para o parâmetro cinético de produção potencial de metano específico, como visto anteriormente. Tal fato pode ser explicado pelo rápido decaimento da concentração de sulfato no meio. E para a segunda curva, a relação de 7,5 apresentou maior valor. Enquanto que para os perfis de degradação da matéria orgânica, a condição de 10,0 apresentou maior valor para o coeficiente cinético específico de primeira ordem com residual nas duas curvas, ma vez que foi a condição que apresentou uma alta concentração do íon sulfato sem inibir as arqueias metanogênicas acetoclásticas devido ao sulfeto dissolvido.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ A condição com maior relação DQO/SO₄²⁻ (12,0) apresentou maior produção de metano, com valor total de 947, 8 mL, e eficiência de degradação da matéria orgânica em torno de 85%;
- ✓ A condição com menor relação DQO/SO₄²⁻ (7,5), por outro lado, apresentou menor produção de metano, com volume total de 704,6 mL, e menor eficiência de degradação da matéria orgânica, em torno de 81%;
- ✓ Embora as produções de metano tenham reduzido à medida que se aumentou a relação DQO/SO₄²⁻, a metanogênese foi a principal rota de degradação anaeróbia consolidada nas três condições estudadas. Em média, a rota metanogênica apresentou influência de 92% no fluxo de elétrons, ou seja, cerca de 92% da matéria orgânica inicial foi degradada via metanogênese;
- ✓ As relações DQO/SO₄²⁻ de 10,0 e 7,5 foram marcadas pela atividade das bactérias redutoras de sulfato (BRS) oxidadoras incompletas, sendo que na condição em que a concentração de sulfato era maior, a atuação deste grupo de microrganismos foi mais evidente, marcado por alguns comportamentos como o acúmulo de ácido acético durante o período de incubação, menor produção acumulada de metano e perfis de degradação da matéria orgânica e de produção de metano compostos por duas fases distintas em termos de cinética.
- ✓ A partir da produção acumulada de metano, pode-se inferir que a interferência da sulfetogênese na metanogênese foi negativa para as relações DQO/SO₄²⁻ de 10,0 e 7,5, embora tenham apresentado maior valor para a velocidade específica de produção de metano em comparação à condição de controle, para a curva 2.

- ✓ A interferência positiva da sulfetogênese foi a relação sintrófica estabelecida entre as BRS oxidadoras incompletas e as arqueias metanogênicas acetoclásticas, uma vez que as primeiras produziam o acetato para o consumo das segundas, sem depender da pressão parcial de hidrogênio;
- ✓ Já para a relação de 7,5, a sulfetogênese foi menos benéfica para a metanogênese. Devido à maior concentração de sulfato presente na vinhaça, consequentemente a concentração de sulfeto dissolvido também foi maior. Tal fator acarretou na provável inibição dos microrganismos envolvidos na conversão da matéria orgânica.
- ✓ O acúmulo de acetato durante o período de incubação dos reatores com relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5, significou um desequilíbrio no sistema entre as reações de produção de acetato e o seu consumo, sendo este substrato produzido pelas BRS oxidadoras incompletas em maiores quantidades em relação ao que foi consumido pelas arqueias metanogênicas;
- ✓ Analisando-se os parâmetros cinéticos de degradação da matéria orgânica, a condição que apresentou maior valor para o coeficiente cinético específico de primeira ordem com residual foi a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 10,0, curva 1, com 0,106 d⁻¹.gSV⁻¹. E a relação de 7,5 apresentou o segundo maior valor (0,062 d⁻¹.gSV⁻¹).

7 CONCLUSÕES

- ✓ Em termos da produção acumulada de metano, a menor relação DQO/SO₄²⁻ (7,5), condição com maior concentração de sulfato, a interferência da sulfetogênese na metanogênese foi negativa. Para esta condição, obteve-se um rendimento de metano de 149,10 mL CH₄. gDQO_{removida}⁻¹, com diferença de 33,2 mL CH₄.gDQO_{removida}⁻¹ em comparação com a condição de maior relação DQO/SO₄²⁻ (12,0).
- ✓ Em termos da degradação da matéria orgânica, as eficiências de remoção não tiveram diferenças consideráveis para as três condições estudadas, sendo os valores obtidos em torno de 80-85%, faixa relatada na literatura em tratamentos anaeróbios da vinhaça com concentrações de DQO próximas à da água resíduária adotada no presente trabalho.
- ✓ Como o esperado, a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 12,0 apresentou menor concentração de residual de matéria orgânica em comparação com a relação de 7,5. Este valor elevado para a concentração residual de matéria orgânica para esta última condição pode ser explicado pela provável inibição das arqueias metanogênicas acetoclásticas devido ao sulfeto dissolvido;
- ✓ Analisando-se os parâmetros cinéticos obtidos para a produção acumulada de metano, obteve-se uma produção potencial específica menor para a relação DQO/SO₄²⁻ de 7,5, como obtido experimentalmente. Tal relação apresentou menor valor para o parâmetro de velocidade específica de produção, na curva 1, em comparação com as relações de 10,0 e 12,0. No entanto, para a curva 2, a relação apresentou o maior valor, que pode ser explicado pelo acúmulo de acetato e a menor sensibilidade do sistema em relação às pressões parciais de hidrogênio e acetato.
- ✓ Analisando-se os parâmetros cinéticos de degradação da matéria orgânica, a condição de 10,0 e 7,5 apresentaram os maiores valores para o coeficiente cinético de primeira ordem com residual, para as curvas 1 e 2, em comparação com a condição de 12,0. Tal fato possivelmente ocorreu devido à maior atuação das BRS, principalmente as oxidadoras incompletas.

- ✓ Analisando-se os parâmetros cinéticos obtidos para o decaimento da concentração do íon sulfato, obteve-se um maior valor para o coeficiente cinético de primeira ordem aparente para a relação DQO/SO₄²⁻ de 12,0, mostrando um comportamento contrário em comparação com a cinética de degradação da matéria orgânica e de produção acumulada de metano, em que ambas apresentaram maiores valores de velocidade de produção específica e coeficiente cinético de primeira ordem aparente para as relações de 7,5 e 10,0, respectivamente.

8 SUGESTÕES

- ✓ Realização de análises microbiológicas com o objetivo de se avaliar as populações estabelecidas nas três condições estudadas, bem como atrelar os resultados obtidos desta análise às hipóteses sugeridas na presente pesquisa;
- ✓ Realização de um ensaio em batelada com frascos com maior capacidade volumétrica, a fim de permitir a retirada de alíquotas com maior volume de líquido e maior frequência para acompanhamento de outros parâmetros, tais como sulfeto dissolvido, sulfato e alcalinidade;
- ✓ Avaliar menores relações de $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ para compreender como a sulfetogênese interfere no processo de degradação anaeróbia da vinhaça sob condições extremas de concentração de sulfato.
- ✓ Estudar a inibição da metanogênese pela sulfetogênese utilizando-se vinhaça como água residiária através do seu tratamento em reatores contínuos em escala de bancada, comparando-se alguns tipos de configuração e formas de disposição da biomassa;

REFERÊNCIAS

- ADORNO, M.A.T.; MIRANDOLA, C.A.S.; PIMENTA, D.F.N.; TOMITA, I.N. **Development and validation of a method (GC/TCD) to determine N₂, CH₄, CO₂ and H₂S in biogas.** In: XI Latin American Workshop and Symposium on Anaerobic Digestion, 2014. Palacio de Convenciones de La Habana. *Resumos...*Cuba: Comité Organizador.2014. p. 1972.
- AGUILAR, R et al. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, v.55, p.309-318, mar. 2002.
- ALCARDE, A. R. **Árvore do conhecimento:** cana-de-açúcar – Fermentação. Brasília: Agência Embrapa de Informação Tecnológica –AGEITEC, 2009a.
- _____. **Árvore do conhecimento:** cana-de-açúcar – Processamento da cana-de-açúcar. Brasília:Agência Embrapa de Informação Tecnológica– AGEITEC, 2009b.
- _____. **Árvore do conhecimento:** cana-de-açúcar – Tratamento do caldo de cana. Agência Embrapa de Informação Tecnológica–AGEITEC,2009c.
- AMORIM, H.V. **Fermentação Alcólica:** ciência e tecnologia. Piracicaba: Fermentec, 2005. 448p.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA– ANEEL. **Banco de informações de geração.** 2014. Disponível em: <<http://www.aneel.gov.br/aplicacoes/capacidadebrasil/operacaocapacidadebrasil.asp>>. Acesso em: 06 fev. 2015.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO–ANP. Gás Natural e Biocombustíveis. Superintendência de refino, processamento de gás natural e produção de biocombustíveis. SRP. **Boletim do etanol**,n. 01, fev. 2014. Disponível em: <www.anp.gov.br/?dw=70000> .Acesso em: 17 maio .2015.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater.**21st edition. Washington, D. C: American Public Health Association, 2005. 1600 p.
- AQUINO, S. 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, p. 152-161, 2005.
- BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL– BNDES. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos – CGEE. **Bioetanol de cana-de-açúcar:** energia para o desenvolvimento sustentável.1 ed. Rio de Janeiro: BNDES. 2008.
- BORIES, A.; RAYNAL, J.; BAZILE, F. Anaerobic digestion of high-strength distillery wastewater (cane molasses stillage) in a fixed-film reactor.**BiologicalWastes**n.23, p. 251-267, 1988.

BRASIL. Portaria/GM MINTER n. 323, de 29 de novembro de 1978. Disponível em: <<http://www.assemae.org.br/arquivosLegislacao/agua/Port323.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2015.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Produção e Agroenergia. **Anuário Estatístico da Agroenergia**. 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Desenvolvimento_Sustentavel/Agroenergia/anuario_agroenergia_web_2012.pdf> . Acesso em: 28 jan. 2015.

BRASKEM. A cana-de-açúcar. Disponível em: <<http://www.braskem.com.br/site.aspx/Cana-de-Acucar>> Acesso em: 20 de jan 2015.

BUDIYONO et al. The kinetic of biogas production rate from cattle manure in batch mode. **Int. J. Chem. Biol. Eng.** v.3, n.1, p. 39–44, 2010.

BUZOLIN, P. G. C. **Uma abordagem clássica e bayesiana para os modelos de Gompertz e de Richards heteroscedásticos**. 2005. 128 f. Dissertação (Mestrado em Estatística) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

CAMILOTI, P. R et al. Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** n.89, p. 1044-1050, 2014.

CARVALHO, J.C. M.; SATO, S. Fermentação descontínua alimentada. In: SCHMIDELL, W. et al. (Coord.). **Biotecnologia Industrial**: engenharia bioquímica. São Paulo: Edgar Blücher, 2001. p. 205-222. (Biotecnologia Industrial; v.2).

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB. **Norma P4.231: vinhaça – critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola**. São Paulo, 2006.

CHEN, Y.; CHENG, J.J.; CREAMER. K.S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4044- 4064, 2007.

CHERUBIN, R.A. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. 2003. 137 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo,Piracicaba, 2003.

COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; O’KEEFFE, R.B. Anaerobic digestion of high-sulphate-content wastewater from the industrial production of citric acid. **Water Science and Technology**, v. 30, n. 12, p. 263–273, 1994.

COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENN, P. Anaerobic treatment of sulphate – containing waste streams. **Antonie van Leeuwenhoekv.** 67, p.29-46, 1995.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar safra 2013/2014**. 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=2&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 24 fev. 2015.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA. **Guia da Cana-de-açúcar:** avanço científico beneficia o País. 2009. Disponível em: <<http://cib.org.br/biotec-de-a-az/publicacoes/guia-da-cana-de-acucar/>>. Acesso em: 24 fev. 2015.

COSTA, F. J.C. B et al. Utilization of vinasse effluents from an anaerobic reactor. **Water Science and Technology**. v. 18, n.12, p. 135-141, 1986.

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.

DARÉ, R. M. **Avaliação de coeficientes de rendimento e modelagem do processo fermentativo de produção de etanol.** 2008. 81 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

DRIESSEN, W.J.B.M.; TIELBAARD, M.H.; VEREJKEN, 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.

FAKRUDDIN, M. D.; MAZUMDER, R.M.; MANNAN, K.S.B. Predictive microbiology: modeling microbial responses in food. **Ceylon Journal of Science (Bio.Sci.)**. v.40, n.2,p. 121-131, 2011.

FERNANDES, B. S. Potential to produce biohydrogen from various wastewaters. **Energy for Sustainable Development**.n.14, p.143-148, 2010.

FERRAZ JR., A.D.N. **Digestão anaeróbia da vinhaça da cana de açúcar em reator acidogênico de leito fixo seguido de reator metanogênico de manta de lodo.** São Carlos. 2013. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

FERREIRA, L.F.R. Evaluationof sugar-canevinassetreatedwithPleurotussajor-cajuutilizingaquaticorganisms as toxicologicalindicators. **Ecotoxicology and Environmental Safety**,n.74, p.132-137, 2011.

FUESS, L.T. **Potencial contaminante e energético da vinhaça: riscos de contaminação ao solo e recursos hídricos e recuperação de energia a partir da digestão anaeróbia.** 2013. 163 f. Dissertação (Mestradoem Geociências e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013.

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.

FURTADO, T. A.; SCANDIFFIO, M. G. Álcool no Brasil: uma longa história. **Scientific American Brasil**, p. 66-71, out.2006.

GALLO, C. R.. **Determinação da microbiota bacteriana de mosto e de dornas de fermentação alcoólica.** Campinas. 1989. 388 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas,1989.

GODOI, L.A.G. **Interferência da sulfetogênese na produção de metano a partir de águas resíduárias ricas em carboidratos.** 2014. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

GUJER, W.; ZEHNDER, A. J. B. Conversion processes in anaerobic digestion. **Water Science and Technology**, v. 15, p. 127-167. 1983.

HENRIQUE, M.R. **Efeitos da concentração dos compostos fenólicos do mosto na fermentação alcoólica.** 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2013.

HUTNAN, M. et al. Anaerobic treatment of wheat stillage. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 17, n.3, p. 233-241, 2003.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY – IEA. Key World Energy Statistics. 2013. Disponível em: <www.iea.org>. Acesso em: 05 mar. 2015.

LEITÃO, R. C. et al. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: a review. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 1105-1118, 2006.

LENS, P.N. L. et al. Biotechnological treatment of sulphate-rich wastewaters. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v.1, n. 28, p. 41-88, 1998.

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. **Biotecnologia Industrial:** processos fermentativos e enzimáticos. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p.1-43. (Biotecnologia Industrial; v.3).

MCCARTY, P.L. Anaerobic waste treatment fundamentals. **Public Works**, v.95, n.9,10,11,12, set. 1964.

MCCARTY, P.L.; SMITH, D.P. Anaerobic wastewater treatment: fourth of a six-part series on wastewater treatment processes. **Environmental Science Technology**, v. 20, n. 12, 1986.

MENEZES, T.J.B. **Etanol:** o combustível do Brasil. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 233 p.

METCALF E EDDY, INC. **Wastewater engineering: treatment and reuse.** 4th. edition. New York: McGraw-Hill, Inc., 2003. 1819 p. (McGraw-Hill series in civil and environmental engineering).

MILLER, F. et al. Obtenção de açúcares fermentescíveis a partir da casca de laranja e bagaço de cana-de-açúcar. **Revista Analytica Online**. 2012. Disponível em: <www.revistaanalytica.com.br/artigos/11.pdf> . Acesso em: 10 mar.2015.

MIQUELETO, A. P. Treatment of easily degradable wastewater in a stirred anaerobic sequencing batch biofilm reactor. **Water Research**, v. 39, p. 2376-2384, 2005.

MOREIRA, A. L. et al. Dosagem de ácido lático na produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. **Biológico**, São Paulo, v.71, p. 69-76, 2009.

MOSEY, F.E. Mathematical modeling of the anaerobic digestion process: Regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile fatty acids from glucose. **Water Science Technology**, v.15, p.209-232, 1983.

NOVACANA. **Portal da cana:** etanol, açúcar e cogeração. A produção de cana-de-açúcar no Brasil (e no mundo). 2013. Disponível em: <<http://www.novacana.com/cana-de-acucar/producao-cana-de-acucar-brasil-e-mundo/>>. Acesso em: 09 abr. 2015.

_____. **Portal da cana:** etanol, açúcar e cogeração. Processos de fabricação do etanol. 2012. Disponível em: <<http://www.novacana.com/etanol/fabricacao/>>. Acesso em: 09 abr. 2015.

_____. **Portal da cana:** etanol, açúcar e cogeração. nocaCana.com Estudos. O desenvolvimento tecnológico do setor sucroenergético. 2013. Disponível em: <<http://www.novacana.com/estudos/o-desenvolvimento-tecnologico-do-setor-sucroenergetico-241013/>>. Acesso em: 09 abr. 2015.

OLIVEIRA E SOUZA, P. H.T. **Rede neural artificial para monitoramento em tempo real da concentração de potássio na vinhaça in natura.** 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado em Sistema Dinâmico) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

OMIL, F. et al. Long-term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids. **Biotechnology bioengineering**, n.57, p. 676-685, 1998.

OMIL, F. et al. Effect of Upward Velocity and Sulphide Concentration on Volatile Fatty Acid Degradation in a Sulphidogenic Granular Sludge Reactor. **ProcessBiochemistry**, v. 31, n. 7, p. 699-710, 1996.

PACHECO, T.F. **Fermentação alcóolica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). 2010. 94 f. – Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia 2010.

PATIL, J. H. et al. Kinetics of anaerobic digestion of water hyacinth using poultry litter as inoculum. **Int. J. Environ. Sci. Dev.**, v.3, n.2, p. 94–98, 2012.

PAULA JR, D. R.; FORESTI, E. Sulfide toxicity kinetics of a UASB reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 26, n. 04, p. 669–675, 2009.

PEIXOTO, G. et al. Hydrogen and Methane Production, Energy Recovery, and Organic Matter Removal from Effluents in a Two-Stage Fermentative Process. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.168, p.651-671, 2012.

PONTES, P. P.; et al. Perfil de decaimento da concentração de ácidos graxos voláteis em um reator UASB utilizado para o tratamento de esgoto sanitário e operando sob diferentes tempos

de detenção hidráulica. IN: CONGRESO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL, 28., 2002, Cancún, México. **Anais...** Cancún: Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental: 2002.

PRADA, S. M. et al. Metodologia analítica para a determinação de sulfato em vinho. **Química Nova**, v. 21, n.3, p. 249-252, 1998.

RIBAS, M. M. F. **Tratamento de vinhaça em reator anaeróbio operado em batelada sequencial contendo biomassa imobilizada sob condições termofílicas e mesofílicas.** 2010. 175 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

RIPLEY, L.E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. **Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes.** Journal of water pollution control federation, v. 58, n.5, p. 406-411. 1986.

ROBAZZA, W. S. et al. Modelagem matemática do crescimento dos microrganismos em alimentos. **Tend. Mat. Apl. Comput.**, v.11, n. 1, p.101-110, 2010.

RODRÍGUEZ-CHONG, A. et al. Hydrolysis of sugarcane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. **J. FoodEng.** n.61, p.143–152, 2004.

SCHENBERG, A. C. G. Biotecnologia e Desenvolvimento Sustentável. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, 2010. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142010000300002>. Acesso em: 06 jun. 2015.

SHEEHAN, G. J.; GREENFIELD, P. F. Utilisation, treatment and disposal of distillery wastewater. **Water Research** n.14, p. 257-277, 1980.

SHIGEMATSU, T et al. Effect of dilution rate on metabolic pathway shift between aceticlastic and nonaceticlasticmethanogenesis in chemostat cultivation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 7, p. 4048-4052. 2004.

SILES, J. A. et al. A. Impact of ammonia and sulphate concentration on thermophilic anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v.101, p. 9040–9048, 2010.

SOUZA, C. S. **Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de S. Cerevisiae.** São Paulo. 2009. 136 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, Instituto Butantan/IPT, São Paulo, 2009.

SOUZA, M. E. et al. Thermophilic anaerobic digestion of vinasse in pilot plant UASB reactor. **Water Science and Technology**, v. 25, n. 7, p. 213-222, 1992.

STECKELBERG, C. **Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas.** 2001. 215 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SYAICHRROZI, 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.

TORIJA, M. J. et al. Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Food Microbiology**, v.80 p. 47-53. 2003.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR – UNICA. Sustentabilidade: zoneamento agroambiental. Disponível em: < www.unica.com.br>. Acesso em: 19 de jan. 2015.

_____. **Área total por Estado**. Disponível em: < www.unica.com.br>. Acesso em: 19 de jan. 2015.

_____. **Setor Sucroenergético**. Disponível em: < www.unica.com.br>. Acesso em: 19 de jan. 2015.

VASCONCELOS, J. N. Fermentação etanólica. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (Org.). **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool- tecnologias e perspectivas**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2012. p.451 – 487. v.1.

VELA, F. J. et al. Influence of the COD to sulphate ratio on the anaerobic organic matter degradation kinetics. **Water SA**, v. 28, n. 2, 2002. Disponível em: <www.wrc.org.za> .Acesso em: 10 jun. 2015.

VIÉGAS, E. K. D. **Propriedade antibacteriana da própolis verde sobre bactérias contaminantes da fermentação etanólica**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

VILELA, R. S. **Remoção de matéria orgânica de águas residuárias com elevada concentração de sulfato pelas vias sulfetogênica e metanogênica combinadas**. 2012. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

WIEGANT, W. M. et al. Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewaters. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, n. 9, p. 1374-1381, 1985.

WILKIE, A. C. et al. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, p. 63-102, 2000.

WILKIE, A. C. Biomethane from Biomass, Biowaste, and Biofuels. In: J. Wall et al (Ed). Bioenergy. Washington, DC, p. 195 – 205.

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

ZWIETERING, M. H. et al. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, p. 1875-1881, 1990.