Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Digestão anaeróbia de vinhaça 2G para produção de biogás

Manuella Souza Silverio

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Microbiologia Agrícola

Piracicaba
2017

Manuella Souza Silverio
Bacharel em Biotecnologia

Digestão anaeróbia de vinhaça 2G para produção de biogás

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **ANTONIO SAMPAIO BAPTISTA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Microbiologia Agrícola

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Silverio, Manuella Souza

Digestão anaeróbia de vinhaça 2G para produção de biogás / Manuella Souza Silverio. - - versão revisada de de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

80 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Vinhaça 2G 2. Etanol 2G 3. Digestão anaeróbia 4. Biogás I. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço às agências de fomento CNPq e FUSP, que financiaram esse projeto e tornaram esses resultados possíveis.

Agradeço à ESALQ e ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, pela infra-estrutura e todos os demais recursos que foram postos à minha disposição e da equipe em que trabalhei para conclusão dessa pesquisa.

Agradeço aos professores, alunos e técnicos dos demais setores da ESALQ que auxiliaram diretamente em troca de conhecimento e compartilhamento de infra-estrutura. Foram colaboradores da equipe do Prof. Dr. Marcos Kamogawa, do Departamento de Química; equipe do Prof. Dr. Carlos Eduardo Cerri, do Departamento de Solos; Profª Drª Sonia Piedade, do Departamento de Estatística; equipe do laboratório do Prof. Dr. José Antonio Frizzone, do Laboratório de Irrigação no Departamento de Engenharia.

Tive também a sorte de receber os conselhos técnicos e científicos de externos da ESALQ. Obrigada à equipe da aluna de Pós-Doutorado Rose Maria Duda, da UNESP Jaboticabal. Obrigada à equipe do Prof. Dr. Eugênio Foresti, Profª Drª Marcia Damianovic e ao aluno de Doutorado Rogério Vilela, da EESC USP São Carlos.

Agradeço a todos da equipe do laboratório onde trabalhei na ESALQ, o Laboratório de Açúcar e Álcool do Grupo Hugot de Bioenergia. Absolutamente todos foram importantes para a condução do meu trabalho. Desde a recepção como membro da equipe, o próprio trabalho em equipe e, não menos importante, a amizade de muitos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Sampaio Baptista, que me orientou para a conclusão do meu projeto e para o meu crescimento profissional. Obrigada pela compreensão, paciência e pelos conselhos.

Agradeço aos meus amigos, que sempre são capazes de tornar melhor todos os tipos de momento.

Por fim, mas, com certeza, não menos importante, agradeço aos meus pais e aos demais membros da família. Obrigada pela compreensão, carinho, paciência e, pelo que é maior do que tudo, obrigada pelo amor ao apoiarem as minhas escolhas. Isso é o que me dá todas as respostas.

EPÍGRAFE

“Quando der a volta ao mundo, deixa o mundo te ensinar”.

Mestre Esquilo e Mestre Tamanduá

SUMÁRIO

RESUMO **7**

ABSTRACT **8**

1. INTRODUÇÃO **9**

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **11**

2.1. Biogás como Energia Renovável 11

2.2. Vinhaça: Características, Problemas Ambientais e Potencial para Produção de Biogás 12

2.2.1. Produtos secundários de pré-tratamento físico-químico e hidrólise enzimática do material lignocelulósico: influência sobre o tratamento da vinhaça por digestão anaeróbia 14

2.3. Produção de Biogás: Metabolismo Microbiano e Controle de Processo Metanogênico 17

3. MATERIAL E MÉTODOS **22**

3.1. Inóculo Metanogênico 22

3.2. Vinhaça 1G 22

3.3. Vinhaça 2G 22

3.4. Unidade Experimental 22

3.5. Procedimento Experimental 24

3.6. Implantação do Projeto: Start dos Reatores R1G e R2G 25

3.7. Operação dos Reatores Metanogênicos 26

3.8. Caracterização do Inóculo Metanogênico 27

3.9. Análises Físico-químicas 29

3.9.1. Sólidos 30

3.9.2. Monitoramento de pH 30

3.9.3. Produção Volumétrica de Biogás 30

3.9.4. Demanda Química de Oxigênio (DQO) 30

3.9.5. Alcalinidade 31

3.9.6. Acidez Volátil Total por Método Titulométrico 32

3.9.7. Teor de Compostos Fenólicos Totais 32

3.9.8. Teor de Carboidratos, Glicerol, Manitol 32

3.9.9. Teor de Ácidos Orgânicos 33

3.9.10. Teor de Furfural e 5-Hidroximetilfurfural (HMF) 33

3.9.11. Teor de Cátions 34

3.9.12. Teor de Ânions 34

3.10. Análise Estatística 34

4. DISCUSSÃO **35**

4.1. Caracterização Preliminar 35

4.1.1. Caracterização de Inóculo Metanogênico, Vinhaça 1G e Vinhaça 2G em teor de Sólidos e Nutrientes 35

4.1.2. Caracterização de Inóculo Metanogênico segundo Atividade Metanogênica Específica (AME) 39

4.2. Avaliação de Desempenho de Processos Metanogênicos 40

4.2.1. Produção de Biogás e Remoção de DQO 40

4.2.2. Monitoramento de Processos por pH, Alcalinidade e Acidez Volátil 44

4.2.3. Monitoramento de Processos por Ácidos Orgânicos 47

4.2.3.1. Ácidos Orgânicos e a Produção de Biogás 48

4.2.3.2. Consumo de Fenólicos Totais na presença de Ácido Acético 52

4.2.4. Monitoramento de Processos por Carboidratos 56
4.2.5. Monitoramento de Processos por Ânions 58
4.2.6. Teor de Cátions nos Efluentes de R1G e R2G 62
4.2.7. Monitoramento de Processos por Retenção de Sólidos 64

5. CONCLUSÕES 67

REFERÊNCIAS 68

APÊNDICES 74

RESUMO

Digestão anaeróbia de vinhaça 2G para produção de biogás

A expansão do setor sucroenergético favoreceu o desenvolvimento da tecnologia de etanol de segunda geração (2G). No entanto, este é um processo que leva à geração de altíssimos volumes de resíduos, bem como o processo de primeira geração (1G). O principal deles é a vinhaça, que também apresenta elevado potencial poluidor. Nesse contexto, vê-se, portanto, a necessidade de se dar uma finalidade adequada ao resíduo. A digestão anaeróbia se tornou uma tecnologia muito disseminada e valorizada em outros países. Isso se deve às vantagens em gestão de resíduos e na geração de energia proporcionadas por essa tecnologia. O potencial de aplicação da vinhaça para produção de biogás é enorme, dado que é um resíduo muito rico em matéria orgânica e de grande disponibilidade no Brasil. A digestão anaeróbia precisa também ser desenvolvida para o resíduo do processo de etanol 2G, pois espera-se que as características da vinhaça gerada sejam diferentes. É importante a investigação da influência que a composição da vinhaça 2G pode ter sobre o processo da digestão anaeróbia e produção de biogás, e este foi o principal objetivo deste trabalho. Para isso, realizou-se inicialmente a caracterização de vinhaça 1G e de vinhaça 2G obtidas para o experimento deste estudo. A composição das duas vinhaças apresentou as principais diferenças para as concentrações de DQO, ácidos orgânicos (sobretudo o ácido acético), compostos fenólicos e sulfato. Foram obtidas concentrações de DQO de 30.732,80 mg O_2 L^{-1} e 19.038,13 mg O_2 L^{-1} para vinhaça 1G e vinhaça 2G, respectivamente. As concentrações de ácido acético e compostos fenólicos totais foram, respectivamente, 88,14% e 84,10% maiores na vinhaça 2G do que na vinhaça 1G. A concentração de sulfato na vinhaça 2G foi 28,11% menor que a concentração obtida na vinhaça 1G. A avaliação de processo de produção de biogás foi realizada em dois reatores metanogênicos, um utilizando vinhaça 1G como substrato e outro, utilizando vinhaça 2G. Os processos foram monitorados segundo a produção de biogás por DQO removida, produção de ácidos orgânicos, alcalinidade, remoção de compostos fenólicos, remoção de ânions e retenção de sólidos. Os efluentes dos reatores metanogênicos também foram caracterizados segundo o teor de cátions. O processo com vinhaça 2G teve produção de biogás quatro vezes maior que o processo com vinhaça 1G. Foram obtidos valores médios de 0,32 $L_{biogás}$ DQO_{remov}^{-1} para o processo com vinhaça 2G e 0,08 $L_{biogás}$ DQO_{remov}^{-1} para o processo com vinhaça 1G. De acordo com o monitoramento dos processos por alcalinidade e concentração de ácidos orgânicos, o processo com vinhaça 2G também se mostrou mais eficiente do que o processo com vinhaça 1G no que diz respeito ao consumo de matéria orgânica. A remoção de compostos fenólicos totais teve eficiência média de 56,96% para o processo utilizando vinhaça 2G, enquanto que o processo com vinhaça 1G não foi capaz de removê-los. Infere-se que a elevada concentração de ácido acético na vinhaça 2G tenha contribuído para o processo de produção de biogás. A alta disponibilidade de acetato favorece a atividade metabólica de arqueas metanogênicas, o que é fundamental para o equilíbrio químico da conversão de matéria orgânica em biogás.

Palavras-chave: Vinhaça 2G; Etanol 2G; Digestão anaeróbia; Biogás

ABSTRACT

Anaerobic digestion of second generation vinasse for biogas production

The Sucroenergetic sector expansion has favored the development of second generation ethanol technology. However, the process leads to the production of large amounts of residues, as well as the first generation process. The main residue is the vinasse, which is very pollutant. In this context it becomes clear the need of giving an appropriate application for vinasse. Anaerobic digestion has turned into a very disseminated and very well accepted technology in many countries, which is mainly due to its results as an efficient waste management and energy generation. Vinasse has a great potential for biogas production through anaerobic digestion, since it is a residue with high organic matter and in large availability in Brazil. Such technology has to be developed also for the residues obtained through second generation ethanol process. With a different process, it is expected that residues composition might also be different. It is important to look into the influence that second generation vinasse composition may bring to anaerobic digestion. The purpose of this study was to investigate the effects of second generations vinasse composition over the biogas production process. Before experiments, first and second generation vinasses were characterized. The most remarkable differences for vinasses composition were obtained for COD concentration, organic acids concentration (specially for acetic acid), phenolic compounds and sulphate. COD concentrations were 30,732.80 mg O_2 L^{-1} and 19,038.13 mg O_2 L^{-1} for first generation vinasse and second generation vinasse, respectively. Acetic acid and total phenolic compounds were, respectively, 88.14% and 84.10% higher for second generation vinasse than those found for first generation vinasse. Sulphate concentration for second generation vinasse was 28.11% lower than first generation vinasse's concentration. Biogas production process was evaluated for two different methanogenic reactors: first generation vinasse was used as substrate for one reactor and second generation vinasse was used as substrate for the second one. Processes were monitored according to biogas production by removed COD, organic acids production, alkalinity, phenolic compounds removal, anions removal and solids retention. Both reactors had their effluents characterized by cations content. In the process carried out with second generation vinasse the biogas production was four times higher than in the process carried out with first generation vinasse. The average values were 0.08 L_{biogas} $COD_{removed}^{-1}$ and 0.32 L_{biogas} $COD_{removed}^{-1}$ for first and second generation, respectively. Considering processes monitoring by alkalinity and organic acids concentrations, the process carried out with second generation vinasse was more efficient in regards to organic matter consumption. The average efficiency for total phenolic compounds removal was 56.96% for the process using second generation as substrate. On the other hand, the process with first generation vinasse was not capable of consuming them. The results obtained in this study suggest that the high acetic acid concentration in second generation vinasse have contributed to biogas production. High acetate availability promotes archaeas metabolic activity, which is fundamental for chemical balance in converting organic matter into biogas.

Keywords: Second generation vinasse; Second generation ethanol; Anaerobic digestion; Biogas

1.INTRODUÇÃO

A disponibilidade energética é de grande importância para qualquer setor produtivo ou de desenvolvimento. Por essa razão, a preocupação com o suprimento da demanda energética envolve também questões sobre novas fontes energéticas e sua exploração apropriada. Devido a fatores como as mudanças climáticas e a disponibilidade finita de recursos fósseis, fontes alternativas e mais limpas de energia vem ganhando espaço na pesquisa energética. Um dos principais candidatos a substituto dos combustíveis fósseis é o etanol.

O interesse reside no etanol obtido por dois processos vigentes na indústria brasileira. Tem-se aquele obtido por processos de primeira geração (1G), ou seja, o etanol produzido a partir do caldo de cana-de-açúcar ou do melaço. E, mais recentemente, desenvolveu-se o processo de segunda geração (2G), que é aquele que utiliza a porção lignocelulósica da cana-de-açúcar para se produzir o etanol (DIAS, et al., 2011).

A indústria sucroenergética tem uma participação muito ativa na economia nacional, respondendo por cerca de 2% do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro (NOVACANA, 2015). De acordo com o relatório do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/ USP (CEPEA, 2015), o setor apresentou expansão de 5,01 % em 2015 em relação a 2014, totalizando uma renda de R$ 113,26 bilhões. A dimensão desses valores equipara a Cadeia Sucroenergética Brasileira ao PIB de países como Paraguai e Coréia do Norte (NOVACANA, 2015).

Atualmente a indústria sucroalcooleira favorece a redução de emissão dos gases do efeito estufa para a atmosfera por meio da exploração de biomassa. No entanto, essa indústria ainda enfrenta dificuldades para proporcionar de fato uma atividade totalmente limpa e sustentável. Isto acontece, em parte, porque gera grandes volumes de resíduos. Entre estes a vinhaça, gerada na etapa de destilação do etanol, é o mais importante deles, tanto em volume quanto em potencial poluidor (GRANATO; SILVA, 2002).

Deve-se considerar, portanto, que a produção volumétrica de etanol da safra 2015/2016 atingiu 30,4 bilhões de litros (UNICA, 2016), somando-se etanol anidro e hidratado. Aproximadamente 1 L de etanol produzido resulta em 10 a 14 L de vinhaça, para o processo de etanol de primeira geração. Isso quer dizer, cerca de 350 bilhões de litros de vinhaça foram gerados. A maior dificuldade na gestão da vinhaça está relacionada aos elevadíssimos volumes em que é gerada.

A abundância desse resíduo evidencia que novas medidas de uso racional devem ser adotadas. A elevada carga de matéria orgânica (DQO ≈ 35 000 mg O_2 L^{-1}), composta pelo residual dos carboidratos não consumidos na fermentação alcóolica e também elevada

concentração de sais e ácidos orgânicos, não permitem o despejo deliberado (CORTEZ et al., 2014; SYDNEY et al., 2014).

Diversos desafios existem para a disposição adequada da vinhaça. E na busca por finalidades mais racionais, a composição característica da vinhaça permite que ela não seja, necessariamente, tratada como efluente, mas sim como potencial fonte de nutrientes para outros processos. No caso da digestão anaeróbia para produção de biogás, já se tem diversos estudos dessa tecnologia no tratamento da vinhaça. Com o desenvolvimento da tecnologia do etanol de material lignocelulósico, deve-se considerar também o desenvolvimento de tecnologias para o tratamento de resíduos gerados nesse processo. A utilização de resíduos agroindustriais na geração de bioenergia já se mostra como um setor muito expressivo em outros países. E por meio da vinhaça o setor sucroenergético se encontra na posição de expandir sua importância como ator no cenário da energia renovável.

2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.Biogás como Energia Renovável

No mundo todo a biomassa corresponde a mais de dois terços das fontes de energia renovável (ANDRITZ GROUP, 2016). Entre as energias renováveis encontram-se atividades como a cogeração a partir de biomassa, como a queima do bagaço de cana-de-açúcar, atividade vigente no setor sucroenergético brasileiro. Outra fonte de energia renovável que tem se expandido muito, sobretudo na última década, é a geração de biogás a partir de resíduos orgânicos.

Os países que se encontram entre os maiores investidores e produtores do biogás se encontram na União Européia. Entre 2013 e 2015, o Reino Unido chegou a investir cerca de 160 milhões de libras na expansão do setor de digestão anaeróbia para a produção de energia a partir de resíduos (GREEN INVESTMENT BRANK, 2016). A Europa vê a produção de biogás como uma das atividades chave para obter uma gestão de resíduos eficiente e atingir suas metas em energias renováveis para 2020 (ANDRITZ GROUP, 2016).

A expansão desse setor se deve a outros fatores além dos ambientais. A digestão anaeróbia é uma tecnologia muito versátil, pois é aplicável para diferentes resíduos e o preparo de material para o processo é mínimo. São utilizados esgotos municipais, resíduos de processos alimentícios, agroindustriais e muitos outros. Somando-se a isso, existe a possibilidade de geração de energia descentralizada. Em determinados locais a independência da rede de distribuição de energia pode ser de grande interesse (ANDRITZ GROUP, 2016; GREEN INVESTMENT BRANK, 2016; EUROBSERV'ER, 2015).

O biogás pode ser queimado para a geração de energia, calor ou ambos. Outra finalidade possível é a purificação e compressão do gás para aplicação como combustível de veículos (NATIONAL RENEWABLE ENERGY LABORATORY, 2016; ENERGIGAS SVERIGE, 2016). Em diversos setores da indústria o biogás também pode ser usado como substituto do gás natural de origem fóssil (ANDRITZ GROUP, 2016).

Na maior parte dos países, em regiões como América Latina, América do Norte e Ásia, um dos usos mais difundidos do biogás acontece como geração de energia em zonas rurais, exatamente pela independência de redes de distribuição de eletricidade. No entanto, os países europeus tem se concentrado na produção em escala industrial do biogás. Alemanha, Reino Unido e Itália são os três maiores produtores e consumidores de biogás da Europa. Nesses países, cerca de 69% do biogás gerado provém de instalações industriais utilizando resíduos orgânicos (EUROBSERV'ER, 2015).

A Alemanha é o principal país a utilizar o biogás. Em 2012 havia 7470 plantas industriais operantes, que atingiram uma produção de 20 TWh para esse mesmo ano. Isso equivale à energia

necessária para suprir 5,7 milhões de casas. Atualmente tem-se que 3% da energia consumida em toda a Alemanha é proveniente do biogás. O setor de digestão anaeróbia tem participação no aquecimento industrial e como combustível de veículos (ANDRITZ GROUP, 2016).

A Holanda também tem expandido o setor de digestão anaeróbia do país. De 2012 para 2013, o aumento na produção de biogás do país teve um impressionante aumento de 70,3%. Atualmente, cerca de 11,8% da energia primária do país são provenientes do biogás (EUROBSERV'ER, 2015). A Suécia começou a produzir biogás na década de 1960 com o tratamento de resíduos industriais. Hoje corresponde ao maior usuário no mundo de biogás como combustível de veículos. Em 2012, cerca de 44 mil veículos do país, entre ônibus, caminhões e veículos de pequeno porte eram movidos a biogás purificado (ANDRITZ GROUP, 2016; ENERGIGAS SVERIGE, 2016).

Na busca por meios viáveis para a obtenção de energia renovável, a digestão anaeróbia é uma alternativa para que se tenha uma gestão de resíduos eficiente e geração de energia concomitantemente. No contexto brasileiro, o setor sucroenergético enfrenta dificuldades para dar a finalidade adequada à vinhaça, um resíduo de elevada matéria orgânica que é gerado na ordem de bilhões de litros por ano. Em razão disso, diversos estudos vem sendo desenvolvidos para disseminar a transferência da tecnologia de produção de biogás no contexto agroindustrial brasileiro.

2.2. Vinhaça: Características, Problemas Ambientais e Potencial para Produção de Biogás

A composição e o volume da vinhaça dependem de diversos fatores: resistência da levedura ao etanol, o processo empregado na produção do bioetanol e a biomassa utilizada (CORTEZ et al., 2014; PANT; ADHOLEYA, 2007). A composição desse resíduo proporciona um processo de biodigestão anaeróbia de relativa facilidade, já que maior parte da matéria orgânica está solubilizada. Através desse processo, existe o potencial de se obter 14,6 m^3 de biogás para 1 m^3 de vinhaça (SOUZA; SANTOS; FRACARO, 2011), o qual apresenta cerca de 55-65% de gás metano (GRANATO; SILVA, 2002). Há trabalhos que relatam biogás com composição de até 96% de metano em processos altamente otimizados (CORTEZ et al., 2014). A geração de energia pode chegar a 3,6 - 10,6 MW para processos com vinhaça de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) entre 17.000 e 50.000 mg O_2 L^{-1} (BAEZ-SMITH, 2006).

Em geral, a vinhaça é rica em matéria orgânica e sua composição apresenta ácidos orgânicos, substâncias redutoras, glicerol, altos teores de nitrogênio e potássio, fósforo, sulfatos, cloretos, substrato não fermentado, entre outros, apresentando pH entre 4 e 5 (RYZNAR-LUTY et al. 2007). Para vinhaça proveniente de melaços de cana-de-açúcar, a Demanda Química de

Oxigênio (DQO) varia entre 30.000 – 40.000 mg O_2 L^{-1}. O conteúdo de sólidos totais é de 5-10 % (CORTEZ et al., 2014; SYDNEY et al., 2014).

Devido à composição físico-química da vinhaça, ela apresenta várias aplicações: produção de adubo pela concentração do resíduo, fertirrigação (no Brasil, em lavouras da própria cana-de-açúcar), combustão, biodigestão, produção de proteína unicelular, alimentação animal e reciclagem para diluição do melaço (MARTINS; OLIVETTE; NACHILUK, 2011; GRANATO; SILVA, 2002). Dessas aplicações, a fertirrigação é a finalidade mais difundida para uso da vinhaça. No entanto, juntamente com a fertirrigação, a biodigestão também é uma alternativa bastante viável para o setor sucroenergético.

A digestão anaeróbia proporciona vantagens energéticas pela obtenção do biogás e ainda possibilita a solução de problemas enfrentados na técnica de fertirrigação. No caso da vinhaça, o resíduo pós digestão anaeróbica apresenta pH na faixa do neutro e conserva a qualidade em nitrogênio, fósforo e potássio (GRANATO; SILVA, 2002; SOUZA; SANTOS; FRACARO, 2011). Portanto, a digestão anaeróbia é uma alternativa para se aproveitar o potencial energético existente na vinhaça e torná-la menos nociva ao meio ambiente, por neutralizar o seu pH e reduzir a DBO e DQO.

A preocupação que se tem com um destino adequado para a vinhaça existe principalmente porque, além dos elevadíssimos volumes em que é gerada, o potencial de poluição da vinhaça é cerca de cem vezes maior do que o esgoto doméstico (MONTEIRO; PALMA; ARICA, 2010). Em razão de suas características físico-químicas, a vinhaça gerada em uma unidade produtora de 120 m^3 de etanol por dia apresenta o potencial poluidor correspondente ao esgoto de uma cidade de 270 mil habitantes (GRANATO; SILVA, 2002). Portanto, por não ser um resíduo inerte e em razão dos grandes volumes em que é gerada, a gestão da vinhaça requer um tratamento adequado.

Como citado acima, ela pode ser empregada como fertilizante nas próprias lavouras de cana-de-açúcar, mas essa é uma técnica que enfrenta restrições. A má gestão da vinhaça como fertilizante pode levar à lixiviação de íons para águas profundas ou escoamento superficial, contaminando também águas superficiais (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007).

De acordo com a Portaria do Ministério do Interior nº 323, de 29 de novembro de 1978, é proibida a emissão de vinhaça, direta ou indireta, em qualquer coleção hídrica. E a Portaria nº 158, de 3 de novembro de 1980 do Ministério do Interior, prevê o planejamento e implantação de unidades para tratamento e/ou aproveitamento do resíduo. Por esses motivos, desde então tornou-se necessário que as destilarias proponham projetos envolvendo uma finalidade apropriada para a vinhaça. Atualmente seu emprego na lavoura deve seguir as restrições de áreas

e regulamentações a serem seguidas de acordo com a Norma P 4.231 da CETESB, de dezembro de 2006.

Portanto, além dos interesses econômicos e energéticos que se tem ao produzir o biogás a partir da vinhaça, os interesses ambientais são fundamentais. As preocupações ambientais e dificuldades de gestão que a vinhaça tem apresentado para o processo de produção de etanol de primeira geração (1G) se estendem também para o processo de segunda geração (2G).

Com o desenvolvimento da tecnologia de etanol 2G, ainda não há relatos na literatura sobre os volumes de vinhaça que serão gerados. No entanto, já se sabe que a vinhaça proveniente do processo de etanol 2G apresenta características diferentes da vinhaça do processo 1G. Tratamentos físicos, químicos e enzimáticos são empregados sobre o material lignocelulósico para a obtenção de açúcares fermentescíveis. O mosto para a fermentação alcoólica é obtido a partir do material hidrolisado. Alguns compostos secundários são gerados nas etapas de pré-tratamento e não serão consumidos na fermentação alcoólica. Espera-se, portanto, que esses compostos sejam encontrados na vinhaça.

2.2.1. Produtos secundários de pré-tratamento físico-químico e hidrólise enzimática do material lignocelulósico: influência sobre o tratamento da vinhaça por digestão anaeróbia

O material lignocelulósico é composto por porções de celulose, hemicelulose e lignina. O bagaço da cana-de-açúcar pode chegar a apresentar aproximadamente 40 a 50% de celulose, 20 a 25% de hemicelulose e 20 a 25% de lignina (OGATA, 2013).

Para a obtenção de açúcares fermentescíveis a partir desses polímeros, pré-tratamentos são empregados a fim de solubilizar e quebrar essas estruturas poliméricas contidas no material lignocelulósico. São usados tratamentos físico-químicos, como hidrólise ácida ou básica (emprego de ácido sulfúrico, ácido clorídrico, hidróxido de sódio, hidróxido de cálcio, etc), auxiliados por altas temperaturas e pressões. São condições de temperatura entre 100-200 ^{0}C e pressões de 25 bar, por exemplo (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009).

A principal função do pré-tratamento físico-químico é tornar os polímeros acessíveis a enzimas como celulases, beta-glucosidases, xilanases, ligninases, amilases, pectinases e outras que são aplicadas na quebra dos polissacarídeos em unidades menores (IBRAHEEM & NDIMBA, 2013). Os processos de hidrólise enzimática ocorrem em condições relativamente mais brandas (pH em torno de 5, temperaturas em torno de 50 ^{0}C) (IBRAHEEM & NDIMBA, 2013; JARDINE; DISPATO; PERES, 2009).

Apesar dos altos custos, a hidrólise enzimática tem se mostrado bastante promissora, com alta especificidade sobre os polímeros, levando a rendimentos entre 75-85% (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009).

De modo geral, os processos vigentes para a produção do etanol 2G recorrem a uma combinação de pré-tratamentos físico-químicos com os enzimáticos, facilitando o acesso das enzimas ao substrato e, por fim, obtendo-se maior eficiência.

Contudo, os polímeros presentes na cana-de-açúcar apresentam ligações diversas e complexas, as quais requerem tempos de tratamento diferentes. No fim do processo tem-se a degradação de compostos gerados nas etapas iniciais. Somado às condições severas e inespecíficas de tratamentos físico-químicos, o que se tem é a geração de vários produtos secundários de diferentes naturezas químicas, que podem ser divididos em três categorias: derivados fenólicos, derivados do furano e ácidos fracos. A presença e proporção desses produtos serão dependentes da biomassa e dos processos empregados (CORTEZ et al., 2014; JARDINE; DISPATO; PERES, 2009; PALMQVIST & HAHN-HAGERDAL, 2000; KLINKE; THOMSEN; AHRING, 2004).

A quebra da lignina não libera compostos que servem como fonte de carbono fermentescível. No entanto, sendo um polímero aromático, possui resíduos de ação antimicrobiana, interessantes para o controle de contaminação na fermentação alcóolica. Três álcoois fenil-propiônicos existem como monômeros de lignina: álcool coniferílico, álcool cumarílico e álcool sinapílico, cujas proporções são variáveis de acordo com a espécie vegetal, estágio de maturação, localização celular, entre outros fatores. Em cana-de-açúcar, álcoois coniferílico e sinapílico são os principais (MONLAU et al., 2014). A quebra da lignina no pré-tratamento gera produtos secundários como compostos fenólicos, ácidos fracos, aldeídos e cetonas (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009; MONLAU et al., 2014; KLINKE; THOMSEN; AHRING, 2004; TORRY-SMITH; SOMMER; AHRING, 2003).

Cerca de 20-30 % do bagaço de cana-de-açúcar podem ser compostos por hemicelulose, um polímero heterogêneo (BOARETTO; MAZZAFERA, 2013; CORTEZ et al., 2014; OGATA, 2013). Na primeira fase da hidrólise, são liberados ácido glucurônico e arabinose, seguidos pelos xilanos. Por último, tem-se a liberação da celulose, polímero de moléculas de glicose de ligações β-1,4 (CORTEZ et al., 2014).

Além dos açúcares, grupos acetil da hemicelulose também são liberados. Estes podem se degradar e gerar ácido acético, que pode levar à inibição de leveduras produtoras de álcool (GÁMEZ et al., 2006). As pentoses resultantes da hidrólise, xilose e arabinose, podem se degradar e dão origem ao furfural, o qual também pode se degradar e originar ácido fórmico em condições severas de pré-tratamento. Bem como as pentoses, as hexoses obtidas da hidrólise

podem se degradar a hidroximetilfurfuraldeído (HMF), o qual ainda pode resultar em ácido fórmico e ácido levulínico (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009).

Furfural, HMF, compostos fenólicos, siringaldeído e vanilina já são conhecidos como inibidores de leveduras (DELGENES; MOLETTA; NAVARRO, 1996; TORRY-SMITH; SOMMER; AHRING, 2003). Os furanos apresentam mecanismos capazes de inibir enzimas glicolíticas e fermentativas, afetando passos metabólicos envolvendo a álcool desidrogenase e acetaldeído desidrogenase, bem como danos aos ácidos nucléicos. Além disso, também afetam a integridade e fluidez da membrana plasmática, o que também é possível de ser causado pelos compostos fenólicos. Os inibidores de menor peso molecular e de maior hidrofobicidade são aqueles que apresentam maior toxicidade, o que ocorre em razão de sua maior facilidade de se permeabilizar pela membrana plasmática e atingir o citoplasma. Há, ainda, os ácidos orgânicos, que podem levar as células ao gasto de energia para o controle do pH citoplasmático (IBRAHEEM & NDIMBA, 2013). Todos esses efeitos acarretarão no prejuízo no crescimento e metabolismo celulares.

Outros produtos secundários originados por meio dos pré-tratamentos são ácidos graxos, terpenóides e ceras (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009). Contudo, os furanos e compostos fenólicos derivados da lignina são os principais inibidores das leveduras produtoras de etanol (TORRY-SMITH; SOMMER; AHRING, 2003). Na literatura é possível encontrar principalmente os danos que os produtos secundários podem trazer às cepas fermentativas (DELGENES; MOLETTA; NAVARRO, 1996; IBRAHEEM & NDIMBA, 2013; MONLAU et al., 2014; PALMQVIST & HAHN-HAGERDAL, 2000), enquanto que pouco se desenvolveu em relação aos micro-organismos envolvidos na digestão anaeróbia para geração de biogás.

O inóculo empregado nos processos de biodigestão se trata de um consórcio de micro-organismos, cujas interações são interdependentes e complexas. Como discutido acima, sabe-se que os produtos secundários gerados no pré-tratamento do material lignocelulósico podem trazer problemas de crescimento celular e metabolismo nas leveduras fermentativas. Pelos seus mecanismos de ação, é possível que os produtos secundários do pré-tratamento afetem grupos do consórcio de micro-organismos biodigestores, o que traria consequências ao processo de biodigestão como um todo, levando a entraves na obtenção do biogás por metanogênese.

Os derivados de furanos e compostos fenólicos também podem levar à inibição de micro-organismos metanogênicos. Concentrações de 2 a 3 g L^{-1}de furfural e HMF já afetam a produção de biogás, demonstrando inibição completa a 6 g L^{-1}, bem como concentrações de fenol a partir de 1,2 g L^{-1} (BADSHAH, 2012). Além da diminuição na taxa de produtos da biodigestão, a inibição também pode se manifestar sob a forma de uma fase lag prolongada (FOX & NOIKE, 2004).

Por outro lado, ROSENKRANZ, F. et al, (2013) sugerem adaptação do inóculo aos inibidores, com redução de fase lag de 20-25 dias para apenas 4 dias. A concentração do inóculo, em relação à concentração de produtos secundários do material lignocelulósico, também tem um efeito importante sobre o processo de digestão anaeróbia (PARK et al., 2013).

A baixas concentrações (aproximadamente 0 - 2 g L^{-1}), os inibidores podem ser degradados pelos micro-organismos anaeróbios. Adaptação e concentração de inóculo podem ser parâmetros importantes para esse fim (BOYER et al., 1992; BADSHAH, 2012; FANG et al., 2004). Para casos em que um dos objetivos é o uso da vinhaça como fertilizante, a eliminação de compostos agressivos aos micro-organismos e ao ambiente devem ser de grande prioridade.

Segundo SIERRA-ALVAREZ & LETTINGA, 1991, a toxicidade está relacionada com grupos funcionais de anéis aromáticos. Logo, aldeídos e outros apolares podem ser altamente tóxicos, enquanto que compostos carboxílicos podem ser tóxicos em concentrações mais elevadas.

Tais compostos como ácido acético, compostos fenólicos, furanos e demais ácidos orgânicos podem ser encontrados em concentrações expressivas na vinhaça proveniente do processo de etanol 2G. Portanto, é importante que se faça a investigação sobre os possíveis desafios que a presença desses compostos pode trazer para o tratamento da vinhaça por digestão anaeróbia.

2.3. Produção de Biogás: Metabolismo Microbiano e Controle de Processo Metanogênico

O biogás é um gás de composição variável, mas basicamente composto por 70% de metano e 30% de porções variáveis de CO_2, H_2 e H_2S (MOSEY, 1982). O processo de geração desse gás ocorre com a degradação de matéria orgânica em condições anaeróbias, em pH na faixa do neutro. Existem vantagens de grande interesse quando se considera a degradação de matéria orgânica por via anaeróbia em comparação aos métodos aeróbios. O O_2 presente nos processos aeróbios leva os micro-organismos a consumir a matéria orgânica, mas gerando altos rendimentos celulares e elevada produção de CO_2 como subproduto da atividade metabólica. Além dos custos de instalação maiores em processos aeróbios, suas principais consequências são a geração de lodo microbiano em grandes quantidades. A produção pode ocorrer em tais proporções que parte dele precise ser tratado como resíduo e descartado. Além disso, a geração de CO_2 não apresenta os mesmos interesses que o biogás, que é um gás combustível (MCCARTY, 1964).

O processo anaeróbio trata-se, portanto, de diferentes etapas que levam à decomposição da matéria orgânica complexa em H_2, CO_2 e ácido acético, os quais são utilizados na produção do metano, o principal gás do biogás. A Figura 1 apresenta as etapas e micro-organismos envolvidos na obtenção de metano (CH_4) a partir dos polímeros orgânicos complexos.

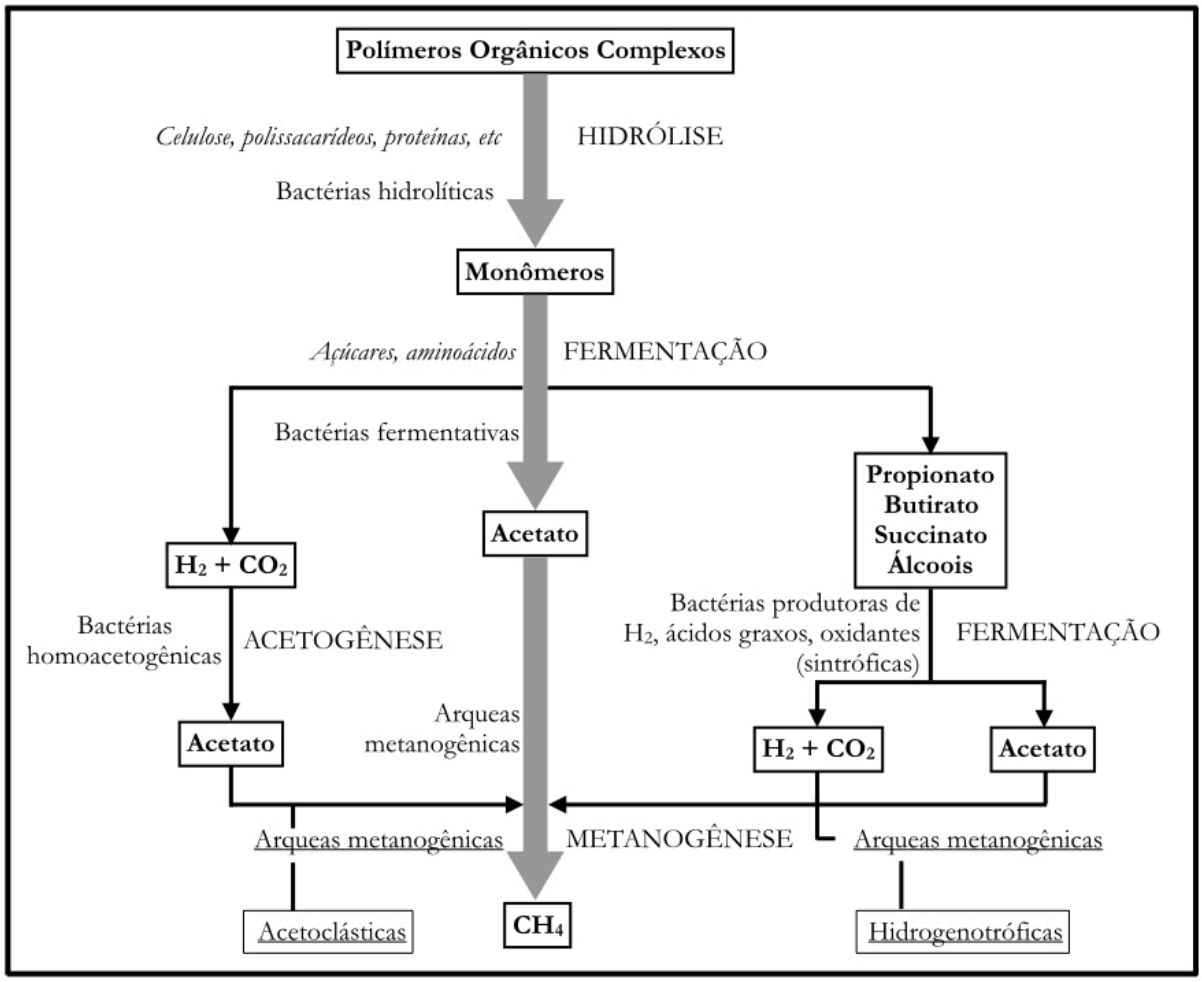

Figura 1 - Etapas e micro-organismos envolvidas no processo de metanogênese (Adaptado de MOSEY, 1982).

Nos processos anaeróbios a degradação da matéria orgânica acontece inicialmente com a hidrólise extracelular dos compostos mais complexos. Carboidratos, ácidos graxos, proteínas e demais compostos poliméricos são alvo de enzimas extracelulares de bactérias. Uma vez degradados em monômeros, esses compostos são transportados para o meio intracelular e convertidos em ácidos orgânicos, CO_2 e H_2 por bactérias acidogênicas. Os principais ácidos gerados nessa etapa são ácido butírico, ácido propiônico e, em menor proporção, ácido acético (eq. 1, 2 3). As bactérias responsáveis por essa etapa do processo respondem de forma eficiente a pulsos de carga orgânica no sistema. Quando sua atividade metabólica é elevada podem levar à queda de pH do sistema e estão relacionadas com a maior parte do H_2 produzido (FERRY, 2010; MOSEY, 1982).

Ácido Butírico: $C_6H_{12}O_6$ (glicose) $\longrightarrow$ $CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$ (1)

Ácido Propiônico: $C_6H_{12}O_6$ (glicose) + $2H_2$ $\longrightarrow$ $2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$ (2)

Ácido Acético: $C_6H_{12}O_6$ (glicose) + $2H_2O$ $\longrightarrow$ $2CH_3COOH + 4H_2$ (3)

A importância dos ácidos produzidos pelas bactérias acidogênicas reside na disponibilidade de substrato para bactérias acetogênicas. Nos processos anaeróbios, os principais gêneros envolvidos são *Clostridium* e *Acetobacterium*. Esse grupo de bactérias se caracteriza pelo consumo de ácido propiônico, ácido butírico e outros ácidos gerados em menor proporção, juntamente com o CO_2, frequentemente disponível na forma de bicarbonato, e produzem ácido acético, conforme ilustram as equações abaixo (eq 4, 5, 6 e 7) (MOSEY, 1982; MCCARTY, 1964; MADIGAN et al., 2011; FERRY, 2010; STAMS et al., 2012):

Ácido Butírico:

$CH_3CH_2CH_2COO^-$ (butirato) + $2H_2O$ $\longrightarrow$ $2CH_3COO^-$ (acetato) + $H^+ + 2H_2$ (4)

$CH_3CH_2CH_2COO^-$ (butirato) + $2HCO_3^-$ $\longrightarrow$ $2CH_3COO^-$ (acetato) + H^+ +
$2COOH^-$ (formiato) + $3H_2O$ (5)

Ácido Propiônico:

$CH_3CH_2COO^-$ (propionato) + $3H_2O$ $\longrightarrow$ CH_3COO^- (acetato) + $3HCO_3^- + H^+ + 3H_2$ (6)

$CH_3CH_2COO^-$ (propionato) + $2HCO_3^-$ $\longrightarrow$ CH_3COO^- (acetato) + H^+ +
$3COOH^-$ (formiato) (7)

O metano que compõe o biogás é produzido por arqueas metanogênicas, entre as quais estes são os principais gêneros encontrados em sistemas anaeróbios: *Methanobacterium, Methanococcus, Methanospirillum, Methanosarcina,* entre outros. Os principais substratos utilizados por essas arqueas são o acetato e H_2. Aquelas que são preferencialmente consumidoras de acetato são conhecidas como acetoclásticas, e as consumidoras de H_2, hidrogenotróficas. O metano produzido nos sistemas anaeróbios é cerca de 70% proveniente do metabolismo de acetoclásticas. O acetato é degradado de forma que seu grupo metil é conservado (CH_3) e reduzido até metano. O grupo carbonila (COOH) é oxidado a CO_2. Quando o metano é produzido a partir de H_2, o CO_2 dissolvido age como aceptor de elétrons e é reduzido com o H_2 obtido a partir da degradação enzimática de compostos orgânicos. Nessa via, o CO_2 nunca é limitante, pois está sempre em excesso no sistema (MOSEY, 1982; MCCARTY, 1964; MADIGAN et al., 2011).

O metabolismo das arqueas é muito mais lento do que o metabolismo das bactérias. Enquanto as bactérias produtoras de ácidos apresentam taxas de crescimento em torno de 2-3 h a 35°C, arqueas apresentam taxas de crescimento de cerca de 2-3 dias nas mesmas condições (MOSEY, 1982).

O sistema microbiano que leva à produção de biogás é um processo autorregulado e muito eficiente na conversão de matéria orgânica em CH_4, CO_2 e H_2. No entanto, a condução de processos anaeróbios deve favorecer condições adequadas para todos os micro-organismos envolvidos. Caso contrário, o desequilíbrio entre os diversos metabolismos microbianos pode afetar a eficiência do processo.

Por serem os micro-organismos mais sensíveis da comunidade, as arqueas são comumente as primeiras a serem afetadas. O seu desequilíbrio pode ser capaz de afetar todo o sistema. Quando as arqueas acetoclásticas apresentam baixa atividade, tem-se o acúmulo de ácido acético. Quando as hidrogenotróficas se encontram em condições desfavoráveis elas deixam de consumir o H_2 de forma eficiente, que também se acumula no sistema. A partir disso, processos metabólicos que desfavorecem o aumento de H_2 no sistema são desencadeados.

Num primeiro momento de excesso de H_2 num reator metanogênico, o ácido pirúvico proveniente da degradação de matéria orgânica é direcionado favoravelmente para a geração de ácido butírico ao invés de ácido acético. Conforme indicam eq (1) e (3), a produção de ácido butírico leva à menor produção de H_2 quando comparada ao ácido acético. Em paralelo, a degradação de matéria orgânica também é direcionada à produção ácido propiônico, pois essa é uma via que consome H_2 (eq 2).

Outra consequência da baixa atividade de metanogênicas é o prejuízo sobre a atividade das bactérias acetogênicas. O metabolismo reduzido das acetoclásticas leva ao acúmulo de ácido acético, produto gerado pelas bactérias acetogênicas. Além disso, o acúmulo de H_2 pelo metabolismo reduzido de hidrogenotróficas inibe a conversão de ácido butírico e propiônico em ácido acético por causa da geração de H_2 dessas vias (eq 4 e 6) (MOSEY, 1982; MADIGAN et al., 2011).

Os motivos de desequilíbrio das arqueas metanogênicas podem ser condições ambientais. O aumento repentino de carga orgânica pode ser um deles. O alto estímulo à atividade de acidogênicas pode levar a uma diferença de velocidades de atividade celular que leve ao desequilíbrio entre micro-organismos. Outros motivos comuns são a entrada de compostos tóxicos, que podem afetar a comunidade microbiana como um todo, ou oscilações de temperatura e pH muito bruscas (MCCARTY, 1964).

A presença de micro-organismos competidores também pode ser um fator de desequilíbrio quando o tamanho de populações é muito distinto. As populações de bactérias redutoras de sulfatos (BRS), por exemplo, podem agir sintroficamente com as metanogênicas ao

reduzir H^+ em H_2 na ausência de sulfato. No entanto, quando há sulfato no meio, BRS consomem H_2 para reduzir SO_4^{2-} em H_2S. Portanto, populações de BRS em números muito maiores do que as metanogênicas hidrogenotróficas podem levar à forte competição, sobretudo por H_2 (MADIGAN et al., 2011; STAMS & PLUGGE, 2008).

Nota-se, portanto, que o principal indicador de desequilíbrio do sistema é a produção de ácidos e o parâmetro mais utilizado para o acompanhamento desse indicador é o pH do meio. Contudo, sabe-se que o pH é uma análise que usa escala logarítmica. Por esse motivo, o monitoramento pela alcalinidade do reator é tão importante, pois sua escala é linear (FORESTI, 1997 apud PEREIRA-RAMIREZ et al., 2004).

Juntamente com a concentração de ácidos orgânicos e alcalinidade do reator, a produção de gás compõe o conjunto de parâmetros mais importantes do desempenho do reator. O monitoramento desses processos é fundamental para que se tenha uma eficiência constante, pois se trata de um processo biológico. Inúmeros fatores, como citados previamente, podem influenciar sobre a capacidade de conversão da matéria orgânica em biogás. Um dos principais deles será a própria água residuária afluente. No caso da vinhaça, ela é um resíduo proveniente de outro processo biológico, a fermentação alcoólica, que utiliza uma biomassa como matéria-prima, a cana-de-açúcar. A variação de composição da vinhaça pode ser considerada como um dos principais desafios de seu tratamento por digestão anaeróbia. No entanto, seu alto teor em matéria orgânica, que está majoritariamente solúvel, faz dela um resíduo de grande potencial para a aplicação na produção de biogás.

3.MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas instalações do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN II) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, em Piracicaba/SP.

O presente trabalho foi conduzido com dois reatores metanogênicos:

- Reator Controle (R1G): Reator contendo lodo metanogênico e vinhaça 1G
- Reator Tratamento (R2G): Reator contendo lodo metanogênico e vinhaça 2G

3.1.Inóculo Metanogênico

O lodo metanogênico para o trabalho foi obtido numa usina na região de Pradópolis/SP. Trata-se de um lodo ativo granulado de um reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) digestor de vinhaça 1G. A coleta ocorreu em dois momentos: em novembro de 2015, quando foi utilizado para testes dos reatores; em junho 2016, quando foi utilizado para os experimentos.

Em nosso laboratório o mesmo lodo metanogênico foi utilizado nos reatores controle e tratamento.

3.2.Vinhaça 1G

A vinhaça 1G utilizada no trabalho foi coletada numa usina região de Piracicaba/SP. A vinhaça é proveniente de processo de produção de etanol de primeira geração a partir de melaço de cana-de-açúcar e coletada em novembro de 2015.

3.3.Vinhaça 2G

A vinhaça proveniente de processo de produção de etanol lignocelulósico foi obtida na região de Piracicaba/SP. A coleta foi realizada em maio de 2016.

3.4.Unidade Experimental

Os dois reatores do trabalho foram construídos de forma similar. Cada reator possui um volume útil de 5L, com 65 cm de altura e 10 cm de diâmetro e ambos contam com um sistema de aquecimento acionado com resistência elétrica revestida em manta de silicone. Esta envolve o reator em dimensões de 300 mm x 300 mm. Com isso foi possível manter a temperatura do interior do reator a 38 ± 2°C. Foi realizado o controle automático da temperatura com o auxílio de um TIC-17 Full Gauge®. Na parte inferior interna de cada reator, aproximadamente 20 cm

acima da base do reator, foi adicionada uma tela de aço e polietileno de alta densidade para auxiliar a retenção e a adesão do inóculo (lodo). Para alimentar os reatores foram utilizadas bombas tipo centrífuga. Para a determinação volumétrica do biogás produzido foram utilizados medidores modelo *Wet Tip Gas Meter*®. Os componentes do modelo de reator são mostrados na Figura 2 (A - G).

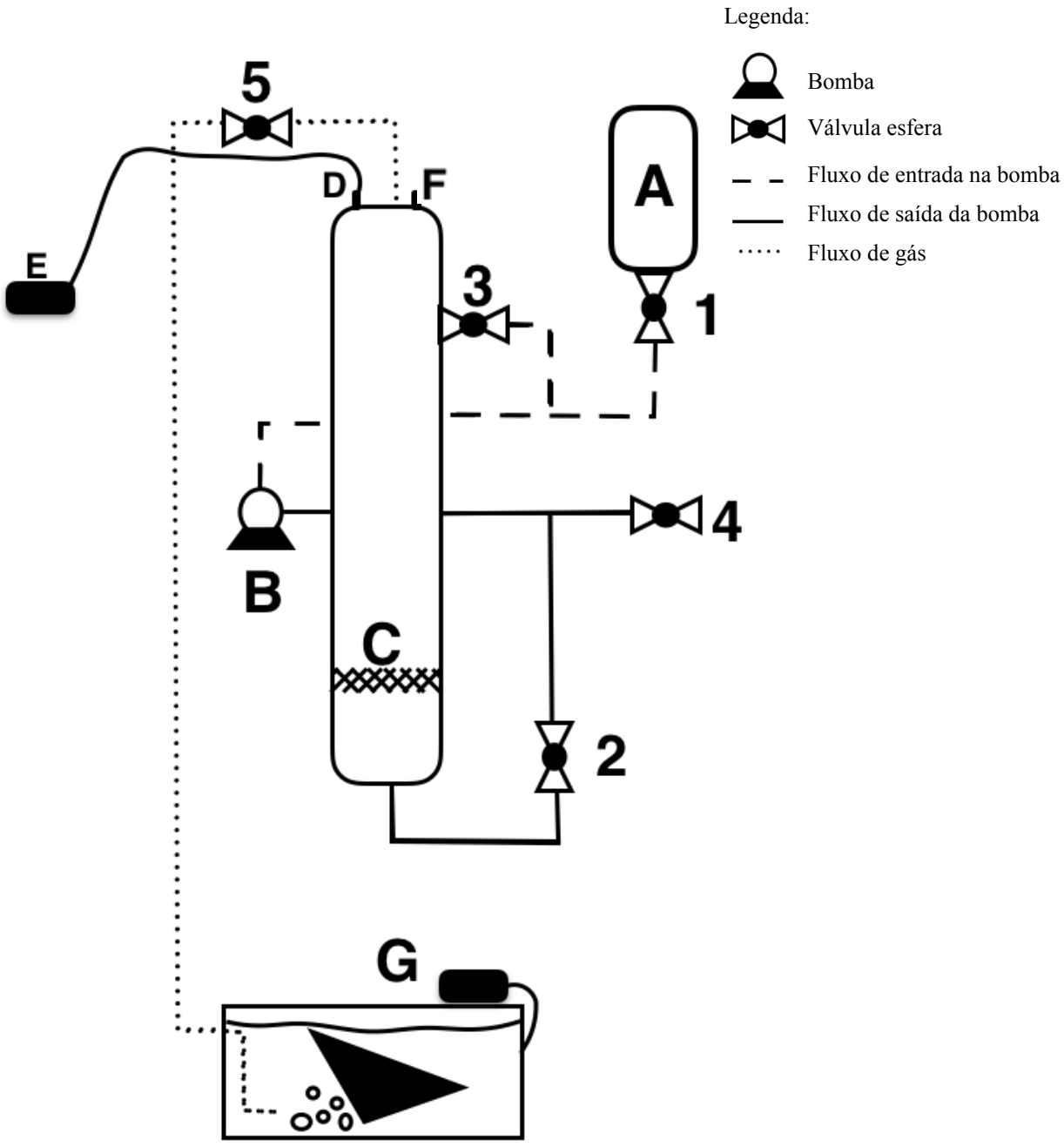

Figura 2 - Esquema do modelo de reatores metanogênicos utilizados no presente trabalho. 1-5: fluxos hidráulicos e de gás do reator. A: depósito de afluente; B: bomba centrífuga; C: estrutura interna auxiliar para retenção e adesão do lodo metanogênico; D: entrada para termômetro para controle de temperatura; E: controlador de temperatura; F: local de coleta de amostra gasosa; G: medidor de gás.

A operação hidráulica dos reatores ocorreu por três configurações, seguindo o esquema apresentado na Figura 2:

1) Alimentação do reator: a entrada do afluente foi feita com o depósito da vinhaça no recipiente (A). Através da válvula (1), o afluente passava pela bomba (B) e era direcionado à válvula (2), de modo que sua entrada ocorria em fluxo ascendente.
2) Retirada de efluente: o sobrenadante do reator saía através da válvula (3), passando pela bomba (B), que o direcionava à válvula (4) para coleta.
3) Recirculação do reator: o sobrenadante do reator saía pela válvula (3), passava pela bomba (B) e era direcionado à válvula (2) para entrada em fluxo ascendente.

Para que cada configuração fosse possível era necessário que as válvulas não envolvidas na operação desejada estivessem fechadas, de modo que a bomba operasse com o fluxo de entrada e saída direcionados. A válvula (5) tinha a função de direcionar o gás acumulado na cabeça do reator para o medidor de gás (G). Essa válvula operou continuamente aberta.

Na Figura 3 tem-se a representação real de um dos reatores empregados nos experimentos de metanogênese de vinhaça 1G e vinhaça 2G.

3.5. Procedimento Experimental

A implantação do projeto se iniciou com testes hidráulicos dos reatores, seguidos pelo *start* dos reatores, o que será descrito no Item 3.6. De 27/07/16 a 30/08/16, apenas o reator R2G foi conduzido. No dia 30/08/16 o reator controle R1G foi iniciado, permitindo que a partir dessa data, até 29/09/16, fossem conduzidos os reatores R1G e R2G simultaneamente. Houve dificuldades na condução do reator R1G e, por esse motivo, os experimentos foram avaliados apenas de 30/08/2016 a 29/09/2016, período correspondente à avaliação de desempenho de processos metanogênicos de R1G e R2G.

As condições operacionais de tempo de detenção hidráulica e concentração de matéria orgânica de cada reator estão detalhadas no Item 3.7.

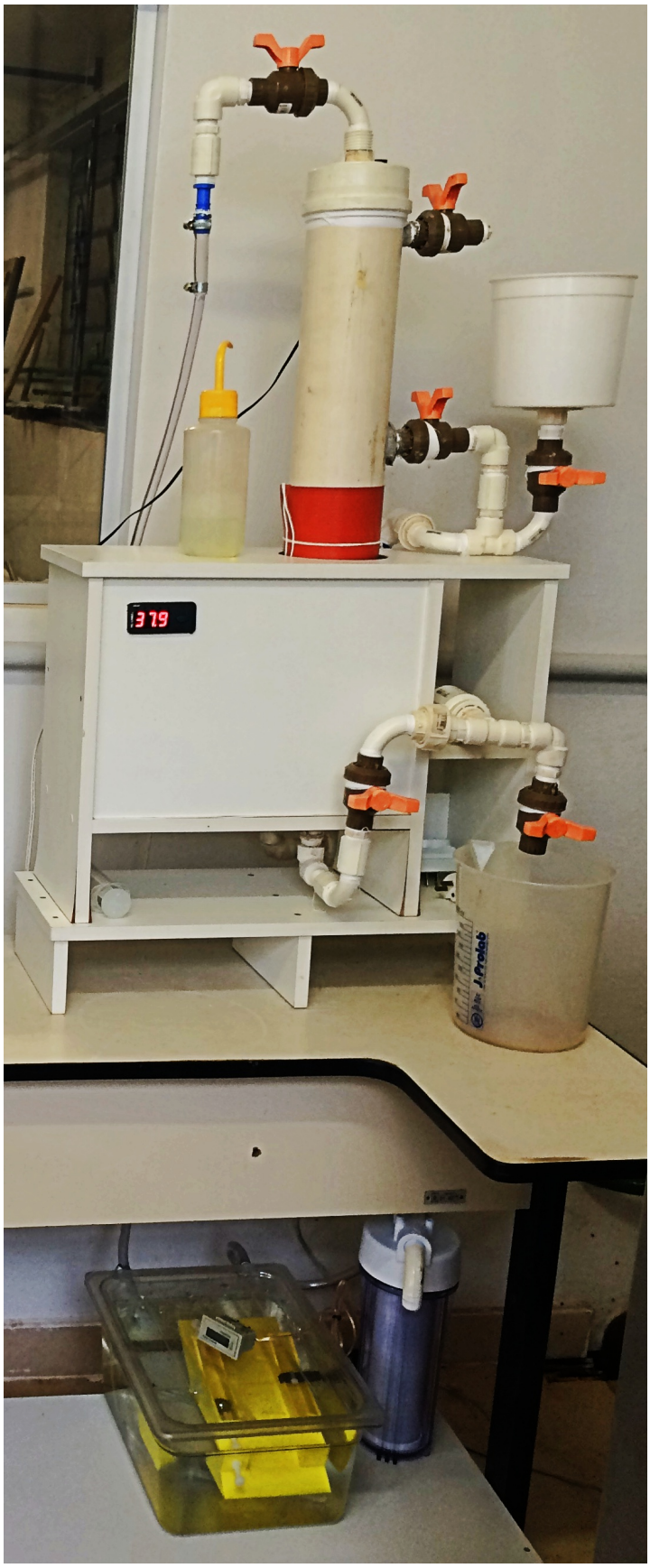

Figura 3 - Reator metanogênico para digestão de vinhaça 2G em operação.

3.6. Implantação do Projeto: *Start* dos Reatores R1G e R2G

O reator R2G foi iniciado com volume reacional de 4 L, composto por 3 L de inóculo metanogênico e 1L de vinhaça 2G. O volume do inóculo microbiano ocupou 75% do volume reacional total do reator R2G.

No caso do R1G, dificuldades experimentais não permitiram a obtenção de dados relevantes para produção volumétrica de biogás antes do dia 30/08/16. Portanto, a partir dessa data, o processo de R1G foi reiniciado com volume reacional de 4,5 L, composto por 1 L de vinhaça 1G e 3,5 L de inóculo metanogênico. O volume preenchido pelo lodo representou 77,7% do volume reacional total. O volume reacional de 4,5 L foi escolhido porque foram mantidos 0,5 L de lodo metanogênico inativo como suporte para o lodo ativo que estava sendo adicionado para reinício do reator. Era esperado que esse lodo inativo não influenciasse no seguimento do experimento, pois não foram observadas produções volumétricas de gás expressivas até 30/08/16 nesse reator.

Para o reinício do reator R1G, foi utilizado, portanto, o mesmo lodo metanogênico, coletado em maio de 2016. No entanto, esse lodo foi mantido em reator UASB de 50 L, proveniente de outro projeto sobre metanogênese conduzido em nosso laboratório, até a data de reinício de R1G. O reator UASB operava com a mesma vinhaça 1G empregada neste trabalho. As condições operacionais empregadas no reinício do reator R1G seguiram as condições aproximadas em que o reator UASB de 50 L operava, conforme consta na Tabela 1.

Tabela 1. Condições de Operação de Reatores Metanogênicos no período de avaliação de desempenho.

	Período de avaliação (Dias)	**Concentração de DQO de entrada (mg O_2 L^{-1})**	**Tempo de Detenção Hidráulica (Dias)**
Reator R1G	30	35.456,35 ± 9292,95	16,61 ± 2,30
Reator R2G	30	16.070,06 ± 1.856,03	16,61 ± 2,30

Quando iniciados, ambos os reatores foram mantidos sem manutenção ou intervenção por cinco dias para permitir adesão do lodo à estrutura interna dos reatores. O período de coleta de dados para a avaliação de desempenho dos processos foi realizada entre 30 de agosto a 29 de setembro de 2016, correspondendo a 30 dias.

3.7. Operação dos Reatores Metanogênicos

Os processos foram conduzidos em batelada alimentada. A Tabela 1 descreve as condições de operação dos reatores ao longo do período de avaliação dos tratamentos.

A Tabela 1 apresenta as concentrações médias de DQO de entrada nos reatores. A grande variação que se encontra nesses valores é devida, principalmente, a uma estratégia de recirculação de efluente adotada na segunda metade do experimento para ambos os processos, R1G e R2G.

Entre os 14º - 24º dias de avaliação, a vinhaça, respectiva de cada processo, 1G/2G, passou a ser misturada ao efluente do próprio reator, na razão 1:1. Essa mistura passou a compor o afluente de cada processo. O objetivo era proporcionar o retorno de matéria hidrolisada, aumentar a alcalinidade intrínseca de reator e reduzir a concentração de ácidos totais no processo (PEREIRA-RAMIREZ et al., 2004).

Encontram-se na Tabela 1 concentrações diferentes para a DQO afluente. O reator R1G foi conduzido com DQO afluente média de 35.456,35 mg O_2 L^{-1}. O reator R2G foi conduzido com DQO afluente média de 16.070,06 mg O_2 L^{-1}. Conforme detalhado no Item 3.6., a concentração de DQO afluente foi diferente entre os reatores porque R1G teve seu inóculo retirado de reator UASB de 50 L já em andamento. Portanto, a DQO afluente média de R1G obedeceu às condições de DQO afluente média de 35.000 mg O_2 L^{-1}, pois o inóculo estava adaptado a essas condições. Para o Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) foram mantidas condições idênticas para os dois reatores.

3.8.Caracterização do Inóculo Metanogênico

O lodo metanogênico foi caracterizado segundo sua Atividade Metanogênica Específica (AME) conforme indicado por (AQUINO et al., 2007). O experimento foi realizado com soluções preparadas de acordo com as indicações de diversos autores (AQUINO et al., 2007; SCHNEIDERS et al., 2016; ROCHA et al., 2011), cujas concentrações estão detalhadas na Tabela 2.

Foram preparadas a Solução (I), de macro e micronutrientes; Solução (II), de ácidos orgânicos; Solução (III), NaOH 3%, com solução alcoólica de fenolftaleína como indicador, para captura de CO_2 no biogás produzido.

Os reatores empregados nos experimentos de AME foram garrafas de vidro de 0,5 L de volume reacional. O *headspace* foi mínimo para que o biogás produzido fosse totalmente direcionado ao sistema de medida de gás, onde se encontrava a Solução III. Dessa forma, o volume de gás medido era composto por CH_4.

Os reatores foram montados, portanto, contendo 497 mL de Solução (I) e 2,92 mL de Solução (II). O lodo metanogênico adicionado aos reatores foi previamente caracterizado para seu teor de Sólidos Totais Voláteis (STV), conforme descrito no Item 3.9.1 a seguir. O lodo "bruto" foi diluído para que apresentasse a concentração de 2,5 g STV L^{-1} no volume reacional

do reator de AME. Os experimentos foram conduzidos em mesas agitadoras, com rotações de 200 rpm, a 38 °C.

Tabela 2. Soluções utilizadas na caracterização de AME dos lodos metanogênicos

Solução I - Macro e Micronutrientes	
$NaHCO_3$	1,0 g L^{-1}
KH_2PO_4	0,65 g L^{-1}
K_2HPO_4	0,15 g L^{-1}
NH_4Cl	0,5 g L^{-1}
$MgCl_2$	0,1 g L^{-1}
$CaCl_2.2H_2O$	0,1 g L^{-1}
Extrato de Levedura	0,05 g L^{-1}
Solução II - Ácidos Orgânicos	
Ácido Acético Glacial (100%)	3,8 mL L^{-1} (v v^{-1})
Ácido Propiônico (99%)	1,0 mL L^{-1} (v v^{-1})
Ácido Butírico (99%)	1,04 mL L^{-1} (v v^{-1})
Solução III - NaOH 3%	
NaOH	30 g L^{-1} (m v^{-1})

A análise de AME foi feita com o inóculo coletado dos reatores R1G e R2G no fim do experimento. A determinação da AME é dada em produção de metano por matéria orgânica (DQO), como dado pela eq (8) (ROCHA et al., 2011):

$$AME = (R*24) / (38,5 * STV) \quad (8)$$

Onde,

AME: atividade metanogênica específica ($gDQO_{CH4}$ $gSTV.d^{-1}$)

R: taxa de produção de metano (L_{CH4} h^{-1})

24: fator de conversão de horas para dias

38,5: fator de conversão de volume de CH_4 para gDQO

STV: Sólidos Totais Solúveis (g L^{-1})

3.9. Análises Físico-químicas

Primeiramente foi realizada a caracterização da vinhaça 1G e da vinhaça 2G utilizadas no trabalho. Dentre os parâmetros analisados, houve aqueles que foram utilizados como controle do processo de digestão anaeróbia e aqueles que foram utilizados para a caracterização no início e final do experimento. A Tabela 3 sintetiza as análises de controle e caracterização de materiais que foram realizadas no trabalho, mostrando a frequência das análises de monitoramento.

Tabela 3. Análises físico-químicas empregadas para caracterização dos materiais e controle de processo do experimento.

	Lodo	V1G	V2G	ER1G	ER2G	Biogás	Referência	Finalidade	Frequência
ST	X	X	X	X	X		APHA, 1998	Caracterização /Controle	Mensal
STF	X	X	X	X	X		APHA, 1998	Caracterização /Controle	Mensal
STV	X	X	X	X	X		APHA, 1998	Caracterização /Controle	Mensal
pH		X	X	X	X		pHmetro	Caracterização /Controle	Diária
Volume gás						X	*Wet Tip Gas Meter*	Controle	Diária
DQO		X	X	X	X		APHA, 1998	Caracterização /Controle	Semanal
Alcalinidade				X	X		RIPLEY; BOYLE & CONVERSE, 1986	Controle	Semanal
Acidez Volátil				X	X		DILLALO & ALBERTSEN, 1961	Controle	Semanal
Fenólicos		X	X	X	X		JULKUNEN-TIITTO, 1985	Caracterização /Controle	Semanal
Carb/GLR/ MNT		X	X	X	X		CI	Caracterização /Controle	Semanal
Ác. Org. GV.		X	X	X	X		CLAE	Caracterização /Controle	Semanal
Furfural/ HMF		X	X	X	X		CLAE	Caracterização /Controle	Semanal
Cátions		X	X	X	X		CI	Caracterização	Mensal
Ânions		X	X	X	X		CI	Caracterização /Controle	Semanal

Legenda: V1G: vinhaça 1G; V2G: vinhaça 2G; ER1G: efluente do reator R1G; ER2G: efluente do reator R2G; ST: Sólidos Totais; STF: Sólidos Totais Fixos; STV: Sólidos Totais Voláteis; Carb/GLR/MNT: Carboidratos/ Glicerol/Manitol; Ác. Org GV.: ácidos orgânicos e ácidos graxos voláteis; CG: cromatografia gasosa; CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência; CI: cromatografia iônica.

3.9.1.Sólidos

Foram realizadas análises de Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Fixos (STF) e Sólidos Totais Voláteis (STV). O método empregado foi por gravimetria, de acordo com AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, A. W. W. A., 1999.

A análise de sólidos (ST, STF e STV) foi realizada na caracterização dos materiais e no controle do processo. Portanto, na caracterização de início do experimento foram analisados o lodo metanogênico, a vinhaça 1G e a vinhaça 2G. Os efluentes dos processos de R1G e R2G também foram analisados nos 6º e 30º dias de avaliação.

3.9.2.Monitoramento de pH

Foi utilizado um medidor de pH modelo Metrohm 827, para as análises de afluente e efluente do trabalho.

A medição de pH foi feita para as vinhaças preparadas para afluente dos reatores. No seu preparo foi utilizado bicarbonato de sódio, na forma em pó, para correção direta do pH para a faixa de 6,8 - 7,8 para ambas as vinhaças.

O efluente de cada reator também teve o pH monitorado diariamente. Para situações em que o pH dos efluentes de reatores ficaram abaixo da faixa de trabalho, ou seja, 6,8 - 7,8, foi utilizada uma solução de NaOH 10% (m/v) para a correção.

3.9.3.Produção Volumétrica de Biogás

A produção volumétrica de biogás gerado pelos reatores foi medida com o *Wet Tip Gas Meter*, como ilustrado no Item 3.4. O equipamento foi calibrado para contagens a cada 100 mL de gás produzido. Os dados foram coletados diariamente.

3.9.4.Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A DQO foi determinada pelo método colorimétrico, de acordo com AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, A. W. W. A., 1999. O método empregado para avaliação de DQO foi aquele que avalia amostras de concentração de DQO entre 50 - 800 mg O_2 L^{-1}. As análises de DQO foram realizadas para caracterização das vinhaças utilizadas como afluente, bem como para controle do efluente de ambos reatores.

Foi realizada análise de DQO total, utilizando a vinhaça bruta e o sobrenadante dos efluentes de reatores metanogênicos. As amostras de vinhaça foram diluídas em cem vezes. As amostras de efluente de reatores foram diluídas em cinquenta vezes.

A eficiência de remoção (E) de DQO foi determinada pela eq (9) (COLARES & SANDRI, 2016):

$$E = \left(\frac{DQO_{afluente} - DQO_{efluente}}{DQO_{afluente}} \right) * 100 \quad (9)$$

3.9.5.Alcalinidade

A fim de monitorar o desempenho dos reatores, foram determinados os parâmetros de Alcalinidade Total (AT) e Alcalinidade a Bicarbonato (AB) dos efluentes de ambos reatores metanogênicos segundo o método titulométrico de RIPLEY, BOYKE & CONVERSE, 1986. Os autores do método recomendam a coleta de amostra imediatamente antes do início da análise para que se tenha exposição mínima ao CO_2 do ambiente de trabalho. A fim de evitar o contato com ar atmosférico, a amostra era coletada em béquers de vidro, preenchidos com o volume máximo de amostra e tampados com filme plástico.

Cálculo de Alcalinidade Total (AT):

$$AT\ (mg\ L^{-1}\ CaCO_3) = (V_{titulado} * N_{H2SO4} * 50\ 000) / V_{amostra} \quad (10)$$

Onde,

$V_{titulado}$ = volume de H_2SO_4 titulado

N_{H2SO4} = Normalidade do ácido utilizado

$V_{amostra}$ = volume de amostra

Cálculo de Alcalinidade a Bicarbonato (AB):

$$AB\ (mg\ L^{-1}\ CaCO_3) = AT - (0{,}71 * AGV) \quad (11)$$

Onde,

AT = Alcalinidade Total

AGV = Acidez Volátil Total (obtenção por método titulométrico)

3.9.6.Acidez Volátil Total por Método Titulométrico

O teor de ácidos graxos voláteis totais (AGV) foi determinado como parâmetro de controle do processo dos reatores metanogênicos. O método empregado foi o método titulométrico de DILALLO & ALBERTSON, 1961.

Cálculo de Acidez Volátil:

$$AGV\ (mg\ L^{-1}) = (V_{titulado} * N_{NaOH} * 60\ 000 * 1{,}5) / V_{amostra} \quad (12)$$

Onde,

$V_{titulado}$ = volume de NaOH titulado

N_{H2SO4} = Normalidade de NaOH utilizado

$V_{amostra}$ = volume de amostra

3.9.7.Teor de Compostos Fenólicos Totais

A fim de caracterizar as vinhaças empregadas no estudo, bem como monitorar o teor de compostos fenólicos totais no efluente dos reatores metanogênicos, foi feita a análise por método colorimétrico de acordo com JULKUNEN-TIITTO, 1985. As amostras de vinhaças e efluentes de reatores foram previamente diluídas em cinquenta vezes.

3.9.8.Teor de Carboidratos, Glicerol, Manitol

Foram determinadas as concentrações em glicerol, manitol, sacarose, glicose, frutose, xilose e arabinose por cromatografia iônica. Foram analisadas as vinhaças utilizadas como materiais do experimento, bem como o efluente dos reatores metanogênicos para monitoramento do consumo desses compostos ao longo do processo.

Foi utilizado o cromatógrafo Metrohm, modelo 930 IC Compact. A coluna empregada foi Metrosep Carb 1 150/4.0, a 30°C, com o eluente 100 mM NaOH, 10 mM Acetato de Sódio, fluxo de 0,5 mL min^{-1} e 20 µL de amostra. As amostras de vinhaças e efluentes de reatores foram diluídas em cinquenta vezes e filtradas em membranas de 0,45 µm.

3.9.9.Teor de Ácidos Orgânicos

Ácidos orgânicos foram analisados para caracterização da vinhaça 1G e da vinhaça 2G desta pesquisa. Ao longo do processo, os reatores foram monitorados para avaliação de consumo e produção de ácidos orgânicos voláteis. Os analitos avaliados foram ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácido iso-butírico, ácido láctico, ácido fórmico, ácido succínico e ácido cítrico.

O método de análise foi por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando o cromatógrafo Shimadzu, de modelo UFLC Prominence. A coluna empregada foi Aminex HPX-87H (300 mm x 7,8 mm; Bio-Rad) operando sob temperatura de 64°C. Como eluente foi utilizada a solução de 0,005 M H_2SO_4, sob fluxo de 0,4 mL min^{-1}. Foi empregado detector ultravioleta com arranjo de diodos, em comprimento de onda de 208 nm. As amostras foram acidificadas com ácido sulfúrico concentrado para pH≤ 2,0, de acordo com LAZARO, 2009, utilizando volume de 100 µL de amostra. As amostras de vinhaças e efluentes de reatores foram diluídas em cem vezes e filtradas em membranas de 0,45 µm.

3.9.10.Teor de Furfural e 5-Hidroximetilfurfural (HMF)

Os teores de furfural e HMF foram determinados na vinhaça 1G e vinhaça 2G, bem como o efluente dos reatores ao longo do processo para monitorar o consumo desses compostos ao longo do experimento.

As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência, em cromatógrafo Shimadzu, de modelo UFLC Prominence. A coluna empregada foi Shim-pack VP-ODS (5 µm) de 250 x 4,6 mm, a 25 °C. O eluente foi acetonitrila/água 1:8 (v/v) com 1% de ácido acético, em fluxo de 0,8 mL min^{-1}. O detector utilizado foi DAD (Shimadzu SPD-M20A), com o comprimento de onda de 275 nm. O volume de amostra injetado foi de 20 µL. As amostras de vinhaças e efluentes de reatores foram diluídas em cinquenta vezes e filtradas em membranas de 0,45 µm.

3.9.11.Teor de Cátions

Os cátions analisados foram: sódio, potássio, amônio, ferro, magnésio e cálcio. Esses analitos foram quantificados nas vinhaças 1G, 2G e nos efluentes dos reatores controle (R1G) e tratamento (R2G) no início e no final do experimento, para fim de caracterização dos materiais.

O método empregado foi a cromatografia iônica, utilizando cromatógrafo Metrohm, modelo 930 IC Compact. A coluna empregada foi Metrosep C4 250/4.0, a 30 °C, utilizando eluente 7,5 mM Ácido Tartárico, 0,135 mM Ácido Dipicolínico, 3 mM Ácido Ascórbico, com fluxo de 0,9 mL min^{-1}. O volume de amostra injetado foi de 20 µL. As amostras de vinhaças e efluentes de reatores foram diluídas em cem vezes e filtradas em membranas de 0,45 µm.

3.9.12.Teor de Ânions

Os ânions analisados durante a pesquisa foram cloreto, nitrato, nitrito, fosfato e sulfato. A análise foi feita para a caracterização da vinhaça 1G e vinhaça 2G. Foi também realizado o monitoramento do processo segundo o teor de ânions dos reatores ao longo do experimento.

O método da análise foi a cromatografia iônica, com cromatógrafo Metrohm, modelo 930 IC Compact. A análise foi realizada com a coluna Metrosep A Supp 5 250/4.0, 25 °C. O eluente utilizado foi a solução de 3,2 mM de Carbonato de Sódio, 1,0 mM Bicarbonato de Sódio, a fluxo de 0,7 mL min^{-1}. A solução de supressão utilizada foi 100 mM de Ácido Sulfúrico e o volume de amostra foi de 20 µL. As amostras de vinhaças e efluentes de reatores foram diluídas em cem vezes e filtradas em membranas de 0,45 µm.

3.10.Análise Estatística

As análises de estatística descritiva, figuras de dispersão e histogramas foram realizados com o software Microsoft Excel 2010. Foram calculados dados de média aritmética, mediana, desvio padrão, valores máximos e mínimos.

4.DISCUSSÃO

O experimento consistiu basicamente de duas etapas: (i) caracterização preliminar dos materiais de estudo, tais como lodo metanogênico, vinhaça 1G e vinhaça 2G; (ii) e avaliação de desempenho dos reatores metanogênicos.

Na caracterização preliminar serão discutidos os valores encontrados nos materiais antes de serem aplicados no experimento. Portanto, as variações de composição observadas ao longo dos processos metanogênicos serão discutidas nos tópicos referentes à avaliação de desempenho dos processos metanogênicos. O monitoramento de processos por compostos específicos, como serão abordados dos Itens de 4.2.3 a 4.2.7., analisa as concentrações afluentes e efluente de analitos considerando a diluição no volume total dos reatores.

4.1.Caracterização Preliminar

4.1.1.Caracterização de Inóculo Metanogênico, Vinhaça 1G e Vinhaça 2G em teor de Sólidos e Nutrientes

A Tabela 4 mostra a caracterização realizada antes do início dos experimentos. Foi determinada a composição do lodo metanogênico em teores de sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV) e sólidos totais fixos (STF). As vinhaças utilizadas na pesquisa também foram caracterizadas em teores de ST, STV e STF, além da concentração de matéria orgânica por Demanda Química de Oxigênio (DQO), glicerol, manitol, teor de açúcares residuais, ácidos orgânicos, compostos fenólicos totais, furfural, 5-hidroximetilfurfural, sulfato, nitrato, fosfato e outros componentes.

O lodo metanogênico foi caracterizado e obteve-se que 66,39% do seu teor em ST correspondem ao teor de STV, o que corresponde principalmente à porção orgânica do material (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, A. W. W. A., 1999). Portanto, tem-se que o lodo metanogênico apresentou 17.899,00 mg L^{-1} de STV. As vinhaças também apresentaram elevada proporção de STV em relação a ST. Para a vinhaça 1G, o valor de STV correspondeu a 72,68% de ST, ou seja, 20.854 mg L^{-1}. Para a vinhaça 2G essa porcentagem foi de 66,6%, o que significou 11.720 mg L^{-1}.

A matéria orgânica expressa na forma de DQO apresentou concentração maior na vinhaça 1G (30.732, 8 mg L^{-1}) do que na vinhaça 2G (19.038,13 mg L^{-1}). Além da concentração total de matéria orgânica, a composição da vinhaça 2G, proveniente do processo de produção de etanol a partir de material lignocelulósico, apresentou composição diferente da vinhaça 1G. De

Tabela 4. Caracterização de Lodo Metanogênico, Vinhaça 1G e Vinhaça 2G utilizados nos experimentos.

	Lodo metanogênico	Vinhaça 1G	Vinhaça 2G
ST (mg L^{-1})	26964	28694	17599
STV (mg L^{-1})	17899	20854	11720
STF (mg L^{-1})	9065	7840	5879
DQO (mg L^{-1})	NA	30732,8	19038,13
Glicerol (mg L^{-1})	NA	1970,12	701,28
Manitol (mg L^{-1})	NA	130,41	112,98
Sacarose (mg L^{-1})	NA	285,5	67,95
Glicose (mg L^{-1})	NA	88,78	66,51
Frutose (mg L^{-1})	NA	130,71	324,7
Xilose (mg L^{-1})	NA	ND	105,0
Arabinose (mg L^{-1})	NA	ND	12,16
Ácido Acético (mg L^{-1})	NA	1641,9	13844,38
Ácido Propiônico (mg L^{-1})	NA	ND	ND
Ácido Butírico (mg L^{-1})	NA	ND	1021,18
Ácido Iso-butírico (mg L^{-1})	NA	44,67	ND
Ácido Láctico (mg L^{-1})	NA	571,27	6869,19
Ácido Succínico (mg L^{-1})	NA	2383,31	23848,13
Ácido Fórmico (mg L^{-1})	NA	264,28	ND
Fenólicos Totais (mg L^{-1})	NA	382,71	2407,21
Furfural (mg L^{-1})	NA	ND	ND
5-Hidroximetilfurfural (mg L^{-1})	NA	ND	ND
Sulfato (mg L^{-1})	NA	3440,85	2473,6
Nitrato (mg L^{-1})	NA	513,74	631,7
Fosfato (mg L^{-1})	NA	109,52	ND
Cloreto (mg L^{-1})	NA	1546,98	977,34
Sódio (mg L^{-1})	NA	4916,64	22208,6
Potássio (mg L^{-1})	NA	8618,9	39067,24
Amônio (mg L^{-1})	NA	ND	ND
Magnésio (mg L^{-1})	NA	1618,21	8082,67
Cálcio (mg L^{-1})	NA	985,93	6750,4

NA: Não se aplica, ou seja, a análise não foi realizada para o material; ND: Não Detectável

acordo com a literatura (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009), o pré-tratamento físico-químico e o tratamento enzimático do material lignocelulósico são importantes para romper a lignina e liberar os açúcares presentes na hemicelulose e celulose. Os açúcares obtidos a partir desses polímeros serão, majoritariamente, glicose, frutose, xilose e arabinose.

Portanto, nesse trabalho, foram realmente detectadas concentrações de xilose e arabinose na vinhaça 2G, nas concentrações de 105 mg L^{-1} e 12,16 mg L^{-1}, respectivamente. Outros açúcares residuais da fermentação alcoólica, como sacarose, (67,95 mg L^{-1}) glicose (66,51 mg L^{-1}) e frutose (324,7 mg L^{-1}), também foram detectados na vinhaça 2G. A presença desses carboidratos residuais é comum nos processos de etanol 1G. A vinhaça 1G utilizada nesse trabalho também apresentou concentrações de sacarose (285,5 mg L^{-1}), glicose (88,78 mg L^{-1}) e frutose (130,71 mg L^{-1}) residuais. Apesar da composição diferente em pentoses e hexoses residuais, a concentração de açúcares residuais totais das duas vinhaças foi próxima, 504,99 mg L^{-1} para a vinhaça 1G e 576,32 mg L^{-1} para a vinhaça 2G.

A diferença de concentração de açúcares de cada vinhaça é dependente de diversos fatores: variedade de cana-de-açúcar utilizada, obtenção do mosto para fermentação, condições de processo de fermentação alcoólica, levedura empregada, etc (ALVES, 1994). Para a aplicação da vinhaça no processo de metanogênese, a presença de dissacarídeos e monossacarídeos são de grande interesse. Compostos simples como sacarose, glicose e os demais monossacarídeos presentes na vinhaça devem ser rapidamente consumidos pois são facilmente assimilados pelas células microbianas (MADIGAN et al., 2011).

Diversos autores (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009; MONLAU et al., 2014; KLINKE; THOMSEN; AHRING, 2004; TORRY-SMITH; SOMMER; AHRING, 2003) relatam que o pré-tratamento físico-químico do material lignocelulósico gera subprodutos. Mesmo após o processo de fermentação alcóolica, esses subprodutos estarão presentes na vinhaça 2G. Esses produtos secundários não são geralmente encontrados em vinhaças de processos de produção de etanol de primeira geração, ou pelo menos não em concentrações elevadas. Esses compostos são, principalmente, o ácido acético, compostos fenólicos, furfural e 5-hidroximetilfurfural.

A caracterização das vinhaças de fato identificou ácido acético em concentração maior na vinhaça 2G, o que pode ser, principalmente, devido à quebra da hemicelulose. Esse polímero apresenta grupos acetil que são liberados no processo de hidrólise por tratamento físico-químico e que acabam sendo convertidos em ácido acético até a etapa de obtenção da vinhaça (KLINKE; THOMSEN; AHRING, 2004). Em razão disso, a diferença nos teores de ácido acético entre as vinhaças foi perceptível: 1.641,9 mg L^{-1} para a vinhaça 1G e 13.844,38 mg L^{-1} para a vinhaça 2G.

O ácido acético é de enorme interesse para o processo de metanogênese, pois é um substrato direto para as arqueas metanogênicas acetoclásticas (MCCARTY, 1964). Outros ácidos

orgânicos presentes na vinhaça também são de interesse, pois podem servir de substrato às bactérias envolvidas nas demais etapas de degradação da matéria orgânica.

Ao considerar uma concentração de ácidos orgânicos totais na vinhaça 1G, obteve-se um valor de 4.905,43 mg L^{-1}. Para a vinhaça 2G, essa concentração foi de 45.582,88 mg L^{-1}, ou seja, cerca de 9,3 vezes superior à concentração da vinhaça 1G. Apesar de ácido iso-butírico e ácido fórmico não estarem presentes na vinhaça 2G, os demais ácidos estão presentes em concentrações muito superiores. O mais relevante deles foi o ácido succínico, com concentração de 23.848,13 mg L^{-1}. Segundo ALVES, 1994, a geração de ácido succínico ao longo do processo de fermentação alcoólica é proveniente quase exclusivamente do metabolismo da levedura.

A composição em fenólicos totais das duas vinhaças também apresentou concentrações distintas: 382,71 mg L^{-1} e 2.407,21 mg L^{-1} para vinhaça 1G e vinhaça 2G, respectivamente. A concentração encontrada para a vinhaça 2G se mostrou cerca de 6,3 vezes maior do que a concentração da vinhaça 1G. De acordo com a literatura, diversas classes de compostos fenólicos podem causar efeitos inibitórios ao processo de metanogênese. Mas afirma-se também que o consórcio microbiano é passível de adaptação à presença desses compostos, podendo apenas tolerar sua presença ou até mesmo consumi-los e convertê-los em biogás (MONLAU et al., 2014; FEDORAK & HRUDEY, 1984).

Furfural e 5-hidroximetilfurfural apresentam efeitos sobre o processo metanogênico similares àqueles causados por compostos fenólicos. Contudo, nas análises realizadas, não foram encontradas concentrações detectáveis desses compostos em nenhuma das vinhaças nem nos efluentes dos reatores metanogênicos.

A concentração de sulfato na vinhaça 1G foi 28,11% maior do que na vinhaça 2G. Esse ânion é o mais importante no monitoramento de processos anaeróbios, pois é capaz de favorecer a população de bactérias redutoras de sulfato (BRS). Quando as BRS estão presentes em reatores anaeróbios, a disponibilidade de propionato é disputada por BRS e bactérias acetogênicas. O H_2 presente também pode ser consumido pelas BRS. A competição com as arqueas hidrogenotróficas pelo H_2 pode ser preocupante para o processo, pois as BRS apresentam maiores velocidades de crescimento celular do que as arqueas. Portanto, para processos de digestão anaeróbia visando à produção de biogás, a redução mínima de sulfato é de maior interesse (ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012).

A diferença de concentrações para o nitrato foi relativamente pequena, onde a vinhaça 2G apresentou concentração 18,67% maior do que a vinhaça 1G. Por outro lado o fosfato não foi encontrado em concentrações detectáveis para a vinhaça 2G, enquanto que na vinhaça 1G obteve-se a concentração de 109,52 mg L^{-1}.

A composição em sais minerais das vinhaças foi bastante distinta. A vinhaça 2G teve concentrações maiores do que 1G para sódio, potássio, magnésio e cálcio. Na vinhaça 2G, a

concentração de sódio foi 77,86% superior à concentração da vinhaça 1G; o potássio foi 77,94% maior do que na vinhaça 1G. Para a concentração de magnésio, o valor encontrado na 1G corresponde a apenas 20,02% da concentração obtida para a vinhaça 2G. A maior diferença nas concentrações de cátions foi encontrada para o cálcio. A concentração encontrada na vinhaça 2G foi 85,4% maior do que a concentração da vinhaça 1G.

4.1.2.Caracterização de Inóculo Metanogênico segundo Atividade Metanogênica Específica (AME)

No fim dos experimentos foi realizada a coleta de amostra da manta de lodo de cada um dos reatores R1G e R2G. Foi feita a comparação da atividade metanogênica específica (AME) do inóculo microbiano após cada um dos processos. Para caracterização da AME, o tempo de experimento é determinado pela atividade do inóculo. As Figuras 4 e 5 apresentam a dispersão dos fatores *R* (eq 8) obtidos para o experimento com o lodo de R1G e R2G, respectivamente.

No caso do lodo de R1G, o experimento durou 15 horas. A Figura 4 mostra o tempo total de duração do experimento para o lodo de R1G, com a produção máxima de metano em 8h de experimento. Desse momento em diante observou-se a queda de atividade microbiana. O cálculo da AME do lodo de R1G forneceu o resultado de 0,00057 $gDQO_{CH4}$ $gSTV.d^{-1}$.

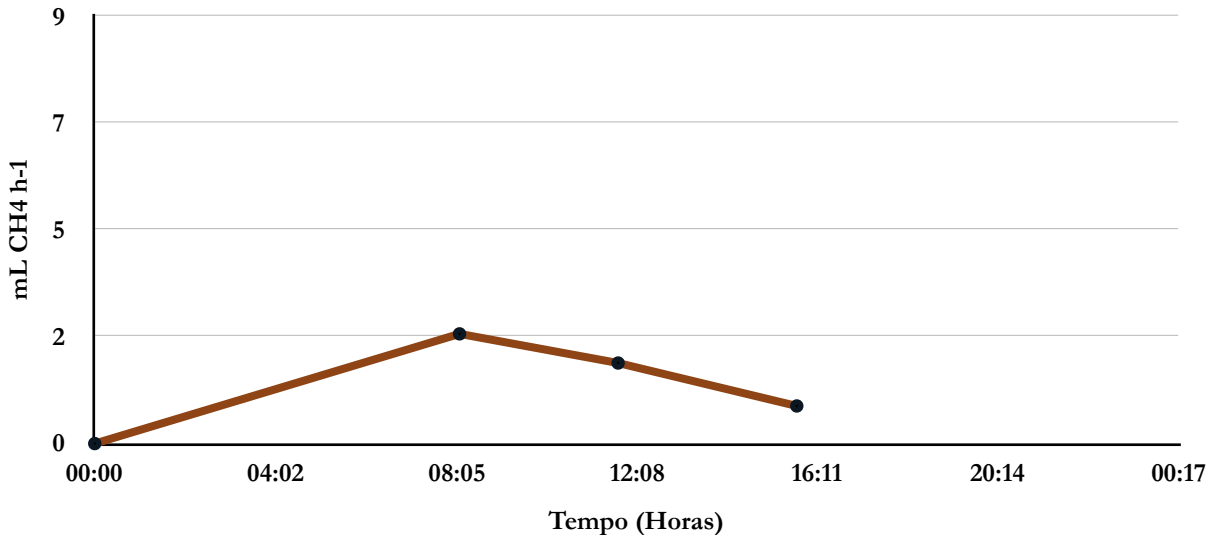

Figura 4 - Produção volumétrica (*R*) de metano para o inóculo metanogênico de R1G.

Para R2G, o tempo de experimento foi de 24 horas (Figura 5) e o ponto máximo de produção de metano ocorreu igualmente em 8h. Para R2G, o lodo metanogênico teve resultado de 0,00220 $gDQO_{CH4}$ $gSTV.d^{-1}$.

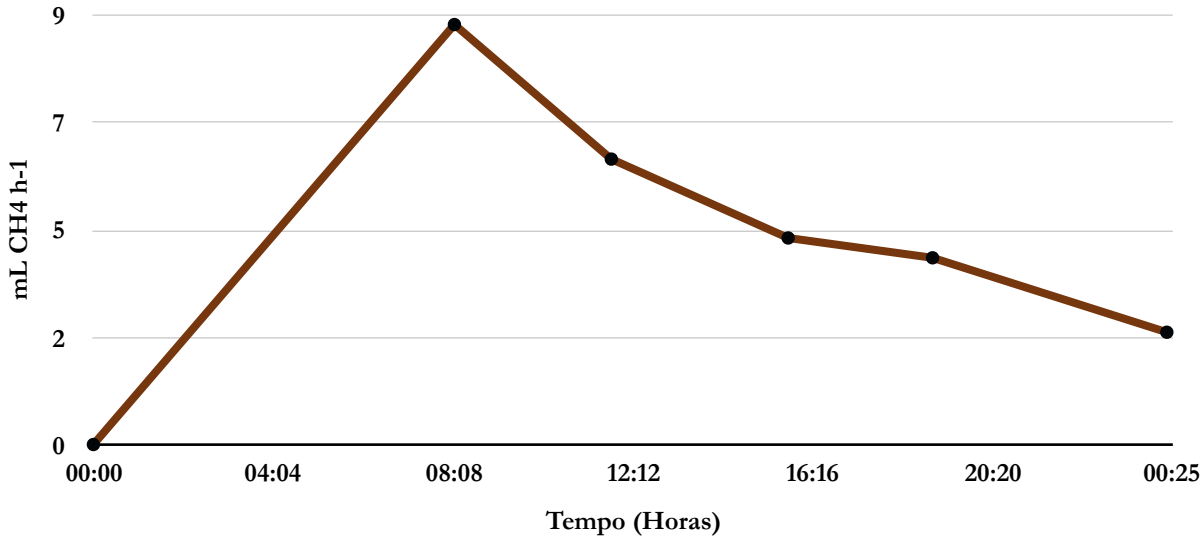

Figura 5 - Produção volumétrica (*R*) de metano para o inóculo metanogênico de R2G.

Considerando que esse teste avalia a capacidade específica de produção de metano, esses valores indicam que a atividade das arqueas metanogênicas em R2G apresentaram atividade maior do que a população de arqueas metanogênicas de R1G.

Para a mesma finalidade de avaliação de lodo metanogênico após o processo, a literatura indica valores 0,017 a 1,1 $gDQO_{CH4}$ $gSTV.d^{-1}$ (ROCHA et al., 2011; GODOI, 2014).

Com os resultados obtidos para AME dos lodos metanogênicos, em conjunto com os parâmetros que serão discutidos a seguir, infere-se que os inóculo ainda se encontravam em fase de adaptação. A literatura relata períodos de aclimatação da microbiota variando de 60 até 250 dias de experimento (VILELA, 2012; OMIL et al., 1998). O reator R2G se encontrava em operação há 62 dias quando o período de avaliação de desempenho de processo foi encerrado. R1G, que foi iniciado mais tardiamente, apresentava 30 dias de operação. Portanto pode-se dizer que a coleta de dados foi realizada precocemente e que a extensão do tempo de avaliação poderia contar com processos mais estáveis.

4.2.Avaliação de Desempenho de Processos Metanogênicos

4.2.1.Produção de Biogás e Remoção de DQO

O desempenho dos processos de metanogênese foi avaliado segundo a produção volumétrica total de biogás. Ao longo do experimento, R1G apresentou produção média de biogás de 0,54 L dia^{-1}, ao passo que o processo de metanogênese no reator R2G apresentou produção de 0,65 L dia^{-1}, conforme pode ser verificado na Tabela 5.

Tabela 5. Produção Volumétrica Diária de Biogás de R1G e R2G

	R1G (L)	R2G (L)
Média	0,54 ± 0,34	0,65 ± 0,29
Mínimo	0,16	0,35
Máximo	1,1	1,25

Nota-se que ambos os sistemas ainda se encontravam em fase de adaptação no período de avaliação. É possível dizer isso em razão da instabilidade apresentada pelos dados, como pode ser visto nas Figuras 6 e 7, que apresentam as produções diárias de biogás. Os dois processos apresentaram etapas de produção volumétrica de biogás crescente, seguidas por etapas de inibição e recuperação.

O reator R1G apresentou produção maior nos 20º, 21º e 28º dias de experimento (Figura 6). A produção mínima observada aconteceu nos primeiros dias de avaliação, do 1º ao 6º dia. A seguir, embora tenha-se percebido aumento na produção em torno dos 7º e 8º dias, houve uma queda a partir do 9º dia. Essa queda de produção de biogás foi o principal motivo para que, a partir do 13º dia de experimento, fosse adotada a estratégia de recirculação de efluente para aumentar o uso da alcalinidade intrínseca do reator (PEREIRA-RAMIREZ et al., 2004). A partir do 14º dia foi observado o aumento gradual na produção volumétrica de biogás. Entre os 7º - 14º dias, a média de produção de biogás foi de 0,28 L dia^{-1}. Entre 15º - 31º dias essa média chegou a 0,77 L dia^{-1}. O valor máximo atingido ocorreu nos 21º e 22º dias, com produção de 1,1 L dia^{-1}.

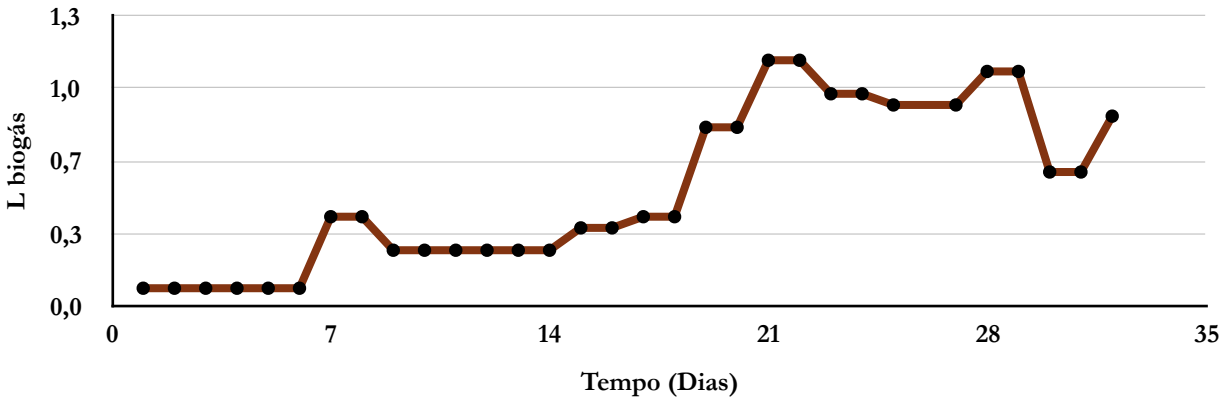

Figura 6 - Produção volumétrica de biogás de R1G.

Os valores mais expressivos de biogás para R2G ocorreram nos 13º, 14º, 21º e 22º dias de experimento (Figura 7). Nos três primeiros dias de avaliação, o reator apresentava a média de produção de biogás de 0,675 L d^{-1}. Entre 4º - 12º dias foi observada uma queda na produção volumétrica de biogás, apresentando média de 0,37 L d^{-1}. A partir da adoção de recirculação de

efluente, que ocorreu no 13º dia, observou-se recuperação na capacidade de produção volumétrica. Entre o 14º - 30º dias a média para a produção de biogás foi de 0,78 L dia^{-1}. No 21º dia já se pôde obter valores de 1,25 L dia^{-1}.

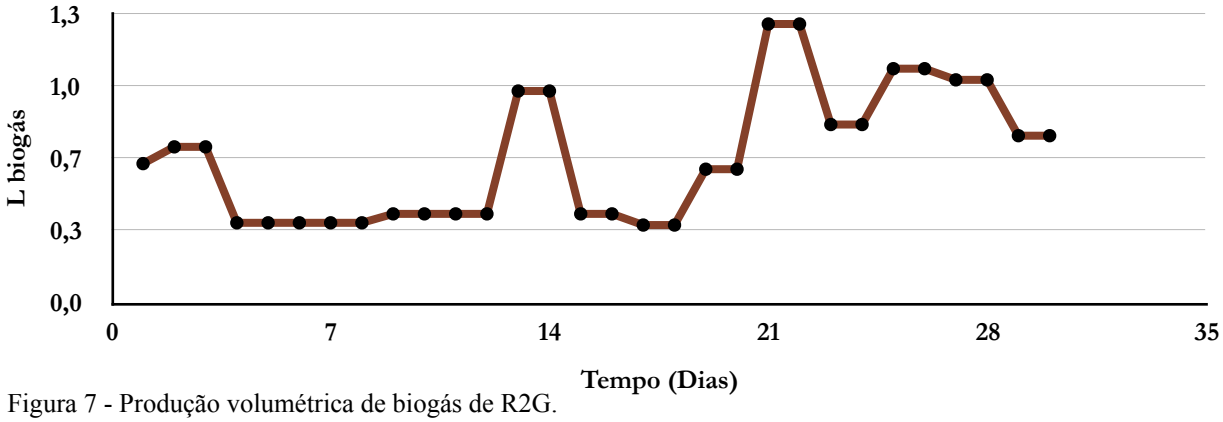

Figura 7 - Produção volumétrica de biogás de R2G.

Quanto à produção volumétrica de biogás de ambos reatores, é possível observar que, após a decisão de recirculação de efluente para R1G e R2G a partir 13º dia, houve produções volumétricas superiores, com picos de produção em torno do 21º dia para os dois reatores.

Em suma, o reator R2G teve desempenho superior a R1G para produção de biogás na análise de produção média e produção máxima. Contudo, como citado no item 3.7. em Material e Métodos, os reatores foram conduzidos com concentrações de DQO de entrada diferentes. A Tabela 6 apresenta dados do monitoramento de remoção da DQO de ambos reatores e dados de produção volumétrica de biogás relativa à concentração de DQO removida ($L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$) para R1G e R2G.

A concentração de DQO do afluente em R1G apresentou média de 35.456,35 mg L^{-1}. O efluente teve média de 21.480,80 mg L^{-1}, com remoção de DQO média de 39,89 %. O reator R2G apresentou valores médios de 16.764,17 mg L^{-1} para concentração de DQO afluente e de 11.111,04 mg L^{-1} para concentração de DQO efluente. A remoção de DQO média em R2G foi de 40,80 %. As eficiências de remoção de DQO de R1G e R2G foram consideradas baixas, dado que outros autores relatam eficiências entre 40 - 90% (HARADA et al., 1996; SUBTIL; CASSINI; GONÇALVES, 2011; WEIJMA et al., 2003).

A Tabela 6 mostra também a produção de biogás relativa à DQO removida. Para R1G obteve-se o valor médio de 0,08 $L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$. Para R2G, esse valor foi quatro vezes maior, de 0,32 $L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$. Em estudos semelhantes, ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012 apresentou resultados 0,21 $L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$ para um experimento com reator de manta de lodo com fluxo ascendente, com 3 L de volume reacional. O estudo de ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012 utilizou DQO afluente de vinhaça a 17.050 mg L^{-1}, com remoção média de DQO de 69% em condições mesofílicas (30 ± 5°C).

Tabela 6. Concentração de DQO Afluente, Efluente, Removida e Produção de Biogás relativa à Concentração de DQO Removida para R1G e R2G.

Reator R1G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
DQO Afluente (mg L^{-1})	35456,35 ± 9292,95	16338,19	46961,39
DQO Efluente (mg L^{-1})	21480,80 ± 5106,07	14626,33	30857,26
Remoção de DQO (%)	39,89 ± 7,83	31,25	55,12
$L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$	0,08 ± 0,05	0,03	0,20
Reator R2G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
DQO Afluente (mg L^{-1})	16764,17 ± 1856,03	13200	19635,09
DQO Efluente (mg L^{-1})	11111,04 ± 5377,80	5464,73	20776,33
Remoção de DQO (%)	40,80 ± 20,57	15,39	67,80
$L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$	0,32 ± 0,20	0,08	0,62

* O valor mínimo despreza os dados dos períodos de acúmulo de DQO no reator.

Sabe-se que a DQO, como um parâmetro isolado, fornece a concentração da matéria orgânica de forma inespecífica, pois não distingue os compostos presentes na amostra (ZUCCARI; GRANER; LEOPOLDO, 2005). Dessa forma, deve-se considerar a composição da matéria orgânica, pois existem alguns compostos específicos que tem maior influência sobre o processo de metanogênese. É de interesse para a aplicação de vinhaça na digestão anaeróbia determinar na vinhaça a proporção de compostos que favorecem e daqueles que desfavorecem a produção do biogás.

Ao comprar os resultados obtidos para R2G em remoção de DQO (%) e produção de biogás ($L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$) com os dados obtidos por ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012, deve-se observar a composição das vinhaças empregadas. No caso da vinhaça utilizada no estudo de ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012, destacam-se dois compostos: ácido acético (2.237 mg L^{-1}) e sulfato (5.336 mgL^{-1}).

No processo de produção do biogás, o ácido acético é um substrato direto das arqueas metanogênicas acetoclásticas, portanto quanto maior sua concentração, mais interessante para o processo. Para o ácido acético, a vinhaça 2G apresentou a concentração de 4.850,78 mg L^{-1}. No que diz respeito ao sulfato, ele pode agir como um inibidor indireto ao estimular crescimento de bactérias que desfavorecem a metanogênese. Para esse ânion, a vinhaça 2G teve concentração de 866,70 mg L^{-1}.

Nos tópicos que se seguem, serão abordados com maior detalhe a influência que ácido acético, sulfato e outros compostos tiveram sobre os processos de R1G e R2G. Mas através da literatura vê-se que apesar da remoção de DQO em R2G (40,80%) ter sido menor do que a eficiência encontrada nos resultados de ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012 (69%), a produção de biogás em R2G foi maior. Como citado acima, ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012 obteve 0,21 $L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$, enquanto que o processo de R2G apresentou valor médio de 0,32 $L_{biogás}$ $gDQO_{remov}^{-1}$. Esses resultados sugerem que o processo em R2G poderia ser mais eficiente após a devida adaptação do inóculo metanogênico, mas apesar disso a produção de biogás relativa à DQO removida teve valores interessantes quando comparados aos valores de um processo mais eficiente.

4.2.2.Monitoramento de Processos por pH, Alcalinidade e Acidez Volátil

O processo também foi monitorado de acordo com as variações de pH de ambos os reatores. R1G apresentou pH médio de 7,19 e R2G, de 7,03 (Tabela 7). Esses valores são considerados ideais para o processo metanogênico, pois estão dentro do que é sugerido por outros autores, entre 6,2 - 7,6, considerando 7,0 - 7,2 como os valores ótimos para as reações enzimáticas (MCCARTY, 1964).

Tabela 7. Valores de pH dos Reatores R1G e R2G

	Média	**Mínimo**	**Máximo**
R1G	7,19 ± 0,39	6,85	8,37
R2G	7,03 ± 0,25	6,50	7,77

Os valores de pH, mesmo quando se apresentam dentro da faixa desejada, não são indicadores sensíveis do equilíbrio do processo. Por esse motivo a análise de alcalinidade é capaz de dar informações mais fiéis da estabilidade do reator. De acordo com SPEECE, 1996, a razão que se obtém a partir dos dados de Alcalinidade Total (AT) e concentração de Ácidos Graxos Voláteis (AGV), ou seja, AGV/AT, nos permite observar a capacidade do reator em produzir ácidos orgânicos, consumi-los e manter o poder tamponante do sistema. O metabolismo microbiano gera compostos como bicarbonatos, sulfatos e fosfatos, que são capazes de auxiliar o reator na manutenção do pH na faixa próximo do neutro. A literatura relata valores desejáveis entre 0,2 e 0,3 para a razão AGV/AT (SPEECE, 1996).

A Tabela 8 apresenta os valores obtidos de AT, AGV e razão AGV/AT ao longo do experimento para R1G e R2G. Os altos valores de desvio padrão ilustram que os processos

Tabela 8. Monitoramento de Processos por AT, AB, AGV e Razão AGV/AT para R1G e R2G.

	R2G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Alcalinidade Total (AT) (mg L^{-1})	8698,98 ± 3189,28	6030,21	15630,63
Alcalinidade a Bicarbonato (mg L^{-1})	5841,90 ± 1371,93	3732,42	7759,35
Ácidos Graxos Voláteis (mg L^{-1})	2403,51 ± 913,79	1411,947	3632,38
Razão AGV/AT	0,33 ± 0,14	0,16	0,54
	R2G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Alcalinidade Total (AT) (mg L^{-1})	6290,27 ± 1842,51	4265,23	10063,16
Alcalinidade a Bicarbonato (mg L^{-1})	4376,16 ± 1215,49	2215,52	5541,39
Ácidos Graxos Voláteis (mg L^{-1})	1810,27 ± 1052,14	479,83	2886,91
Razão AGV/AT	0,33 ± 0,22	0,08	0,67

apresentaram muitas oscilações para esses parâmetros, indicando que a atividade celular de bactérias produtoras de ácidos não estava em equilíbrio com a atividade de consumidoras de ácidos, como as bactérias acetogênicas e das arqueas metanogênicas, também consumidoras de ácido acético (MOSEY, 1982).

O reator R1G se manteve dentro da faixa ideal de AGV/AT no período entre 9º - 20º dias de experimento (Figura 8). A partir do 23º dia essa razão teve valores maiores, indicando que a acidez do reator superava a alcalinidade total. De fato, em torno do 23º dia foi notada oscilação na produção de biogás (Figura 6). A instabilidade na produção de gás associada à acidez crescente indicam que R1G não se apresentava com um processo totalmente equilibrado.

Para R2G, em torno dos 21º - 23º dias os valores estiverem entre 0,26 - 0,34 (Figura 9). Esses períodos são coerentes com aqueles em que se notou maiores produções volumétricas de gás, conforme ilustrado na Figura 7 anteriormente.

O valor máximo de AGV/AT, de 0,67, obtido no 9º para R2G indica que a acidez do reator se apresentava muito elevada. Por outro lado, foi observado o valor mínimo para AGV/AT para R2G no 14º dia, de 0,08. Um dos motivos que levou à tomada de decisão pela recirculação de efluente foi, de fato, a elevada acidez do reator, conforme ilustra o dado para o 9º dia. A queda brusca para esse parâmetro no 14º dia indica que a alcalinidade total superava a acidez presente no reator. Esses dados mostram a resposta do reator frente à circulação do efluente, que tem o propósito de reaproveitar a alcalinidade intrínseca do sistema (PEREIRA-RAMIREZ et al.,

2004). Essa resposta levou à recuperação do reator, que apresentou aumento na produção volumétrica de biogás, conforme ilustrado pela Figura 7. Nos dias que se seguiram, entre o 16º - 23º dias de experimento, a razão AGV/AT se mostrou mais próxima ao intervalo desejado, de 0,2 - 0,3.

A recirculação de efluente foi mantida até o 24º dia. Tanto R1G quanto R2G passaram a apresentar instabilidades na razão AGV/AT com a suspensão da recirculação de efluente. Observou-se, portanto, o distanciamento do intervalo 0,2 - 0,3. Nesse momento a produção de

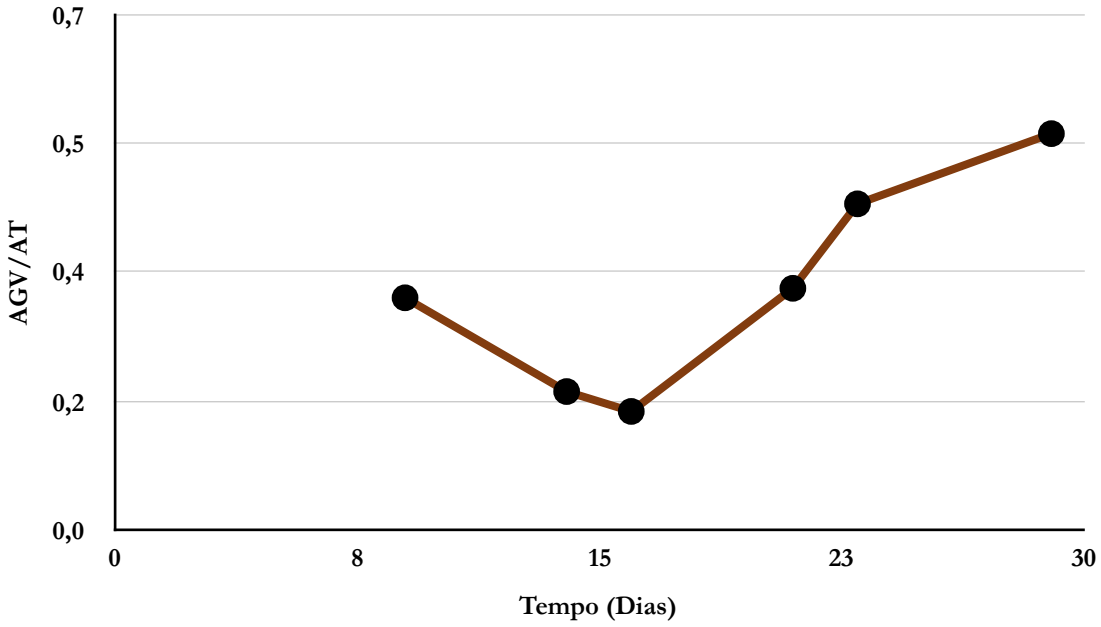

Figura 8 - Razão AGV/AT para R1G.

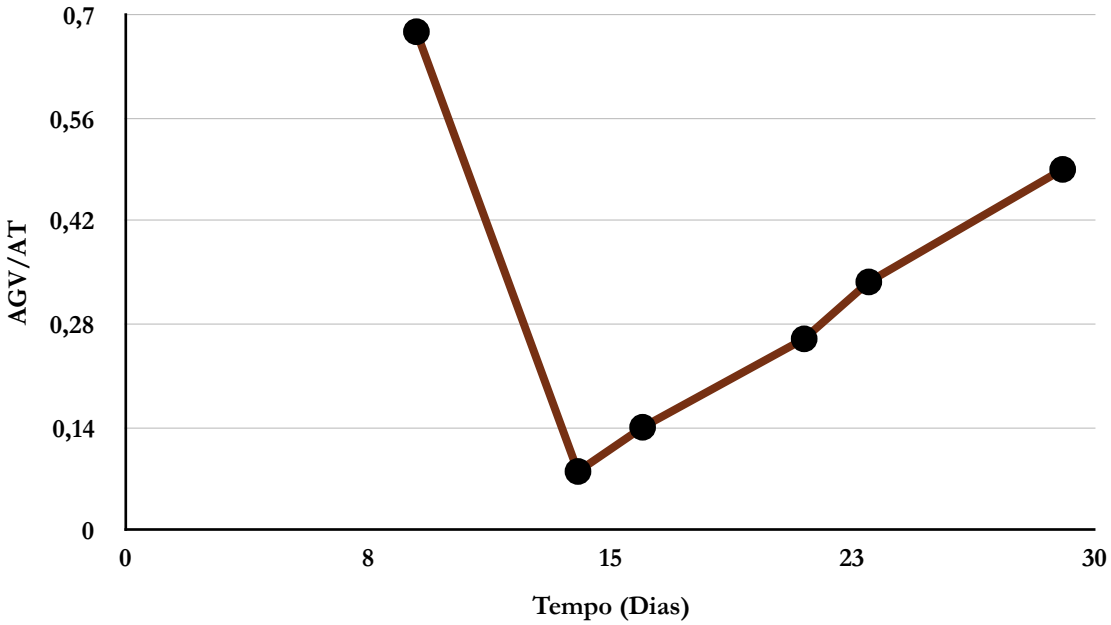

Figura 9 - Razão AGV/AT para R2G.

biogás de ambos reatores também passaram a apresentar oscilações novamente. Esses resultados indicam que R1G e R2G estavam vulneráveis à alimentação de vinhaça sem recirculação, demonstrando dificuldade em consumir a matéria orgânica complexa do afluente.

De um modo geral, a literatura sugere valores $0,2 \geq AGV/AT \geq 0,3$, mas também afirma que essas condições são fixas para o desempenho satisfatório de reatores anaeróbios (SPEECE, 1996). O importante é atingir condições em que essa razão se apresente estável e a produção de biogás seja eficiente.

Sobre a Alcalinidade a bicarbonato, MCCARTY, 1964 relaciona a presença de ácidos orgânicos com o consumo da alcalinidade a bicarbonato. Em sistemas bem equilibrados na produção e no consumo de ácidos, alcalinidade total e alcalinidade a bicarbonato apresentam valores muito próximos. Por outro lado, com o aumento de ácidos orgânicos no meio, o bicarbonato disponível é consumido para neutralizá-los e a alcalinidade a bicarbonato é reduzida frente à alcalinidade total.

De um modo geral para os sistemas anaeróbios, MCCARTY, 1964 indica que a alcalinidade a bicarbonato desejável para condições mesofílicas fica em torno de 2.500 - 5.000 mg L^{-1}. De acordo com a Tabela 8 verifica-se que R1G apresentou média acima desse intervalo, com valor de 5.841,90 mg L^{-1}. O reator R2G teve média de 4.376,16 mg L^{-1}, valor que já se encaixa no intervalo indicado e sugere que o processo obtido para R2G foi mais equilibrado do que em R1G.

4.2.3.Monitoramento de Processos por Ácidos Orgânicos

Considerando o período total de avaliação de cada reator, ambos apresentaram elevadas concentrações de ácidos. Apesar disso, foi possível observar tanto em R1G quanto em R2G que embora tenha havido períodos de acúmulo de ácido acético, até o fim da avaliação foi notada a remoção do mesmo no efluente. Isso demonstra que ambos reatores passaram por condições críticas no consumo eficiente de matéria orgânica no afluente, mas tiveram capacidade de recuperação, sobretudo a partir da adoção de recirculação de efluente. Neste Item também será discutida a avaliação dos reatores de acordo com os ácidos orgânicos: acético, propiônico e butírico, relacionando-os com a produção de biogás. Em segundo lugar, esse tópico discutirá separadamente a influência do ácido acético sobre o consumo de compostos fenólicos totais.

4.2.3.1.Ácidos Orgânicos e a Produção de Biogás

A Tabela 9 ilustra os valores de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico quantificados no efluente de R1G e R2G.

Tabela 9. Monitoramento de Processos pela Concentração de Ácido Acético, Ácido Propiônico e Ácido Butírico em R1G e R2G

R1G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Ácido Acético (mg L^{-1})	5654,07 ± 3685,97	0,00	12234,33
Ácido Propiônico (mg L^{-1})	4122,66 ± 2571,46	0,00	9348,18
Ácido Butírico (mg L^{-1})	4704,04 ± 4019,36	995,60	16269,74
R2G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Ácido Acético (mg L^{-1})	2449,77 ± 1972,83	190,88	7081,2
Ácido Propiônico (mg L^{-1})	2091,86 ± 1655,64	0,00	4817,64
Ácido Butírico (mg L^{-1})	1415,88 ± 840,85	0,00	2560,62

Os valores de desvio padrão obtidos tanto para R1G quanto R2G nos indicam a grande variância que esses dados apresentaram durante o período de avaliação. Apesar de ambos reatores terem apresentado perfil ácido ao longo do processo, é notável que R1G teve médias de concentração de ácido acético, propiônico e butírico no seu efluente muito maiores do que as médias obtidas para R2G. Isso nos indica que o processo de consumo da matéria orgânica pelos micro-organismos foi mais equilibrado para R2G do que para R1G. A elevada concentração desses ácidos no meio indicam que a atividade celular de bactérias e arqueas não se encontrava equilibrada.

É importante ressaltar que o acúmulo de ácido acético em reatores metanogênicos está geralmente relacionado com a baixa atividade das arqueas metanogênicas. Seu metabolismo e velocidade de crescimento mais lentos do que nas bactérias são fatores de vulnerabilidade intrínseca do sistema metanogênico para o equilíbrio de geração e consumo de metabólitos. É fundamental que arqueas hidrogenotróficas e acetoclásticas consumam H_2 e acetato, respectivamente, em velocidades satisfatórias para evitar o acúmulo de ácido acético no reator (MOSEY, 1982).

Em sistemas com acúmulo de H_2 e ácido acético, o consumo de ácido propiônico e ácido butírico será igualmente prejudicado. As reações de conversão desses dois últimos ácidos em ácido acético são reações que geram H_2 em proporções relativamente altas. Na busca pela manutenção do equilíbrio do sistema quanto à disponibilidade de H_2, reações que favoreçam o

excesso de H_2 no reator acabam sendo suprimidas. O resultado é o acúmulo de ácido propiônico e ácido butírico como consequência do baixo consumo de H_2 e ácido acético por arqueas metanogênicas (MOSEY, 1982; MCCARTY, 1964; MADIGAN et al., 2011; FERRY, 2010; STAMS et al., 2012).

O acúmulo desses três ácidos orgânicos em questão são o resultado de baixa atividade de bactérias acetogênicas, arqueas hidrogenotróficas e acetoclásticas (MOSEY, 1982). Isto é pouco desejável em reatores metanogênicos.

A Figura 10 a seguir ilustra o comportamento da produção de ácidos orgânicos no reator R1G. Apesar da maior concentração de DQO no afluente em R1G, não era esperado que houvesse acúmulo de ácidos orgânicos em razão disso. O inóculo já estava adaptado à concentração de DQO empregada no 1º dia. Além disso, é possível verificar que o "novo" inóculo foi capaz de consumir a matéria orgânica nos primeiros dias (1º - 6º) com eficiência, pois o consumo de ácido acético chegou aos níveis máximos (a concentração de ácido acético foi de 414,99 mg L^{-1} no 2º dia; concentração não detectável no 6º dia). Após esse período, foi verificado o aumento das concentrações de ácidos orgânicos em R1G. A partir do 14º dia de incubação do inóculo foi observada a queda nos teores de ácido acético e propiônico. A remoção de ácido acético chegou a 65,94%. Para de ácido propiônico, a chegou a 80,17%. Isso demonstra que arqueas acetoclásticas e bactérias acetogênicas foram favorecidas pelas estratégia de recirculação de efluente.

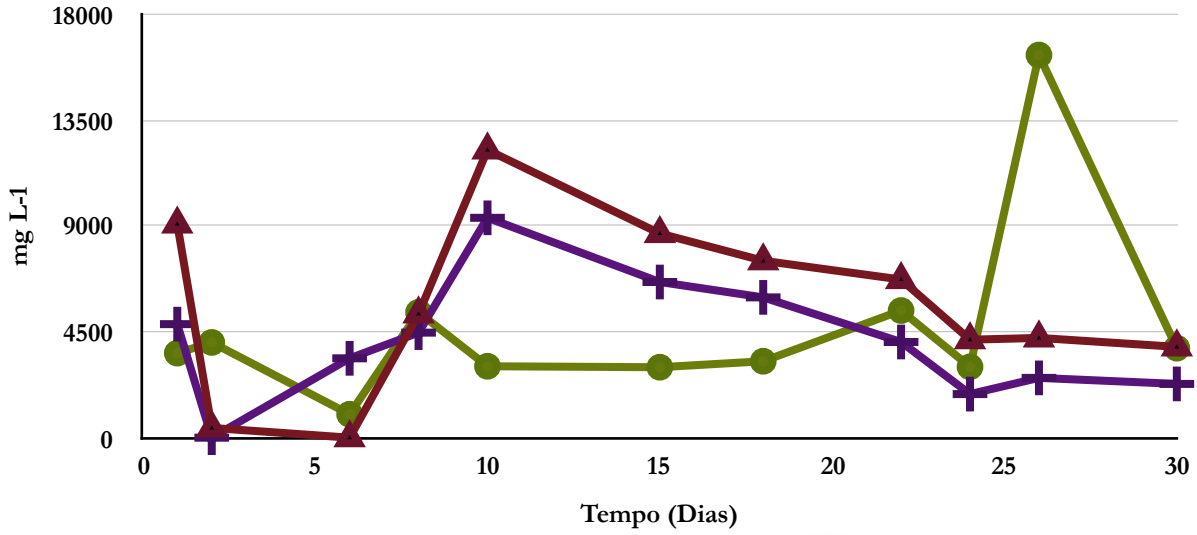

Figura 10 - Concentração de Ácidos Orgânicos em R1G. (▲) Ácido Acético; (+) Ácido Propiônico; (●) Ácido Butírico.

Segundo MOSEY, 1982, a alta concentração de H_2 no reator direciona a digestão de matéria orgânica para a formação de ácido butírico (eq 1). Ao considerar que o acúmulo de H_2

pode ser devido à baixa atividade de arqueas hidrogenotróficas, pode-se inferir que R1G apresentou boa recuperação do sistema a partir do 14º dia de incubação pela atividade das arqueas acetoclásticas e bactérias acetogênicas. Contudo, a concentração de ácido butírico manteve-se elevada, sugerindo que a concentração de H_2 se manteve elevada. Sugere-se que a baixa atividade de hidrogenotróficas foi prejudicial ao sistema, porque ele não se tornou de fato estável, o que é visível na Figura 6, de produção de biogás. No entanto, foi observado o aumento da produção de biogás a partir de biogás a partir do 14º dia. Considerando-se, portanto, a volta no consumo de ácido acético indica que houve aumento na atividade das arqueas acetoclásticas, que são responsáveis por 70% do metano produzido em sistemas anaeróbios (ALZATE et al., 2007).

Para a investigação da estabilidade do sistema, os valores encontrados na quantificação de ácidos orgânicos se mostrou um ótimo parâmetro para o monitoramento do processo, sobretudo o ácido acético. Ao comparar a Figura 10 com a Figura 6, é visível que os pontos de remoção na concentração de ácido acético nos 6º, 15º e 22º dias também foram momentos em que se notou aumento na produção volumétrica de biogás.

Tratando-se do reator R2G, também foram observados momentos de aumento de concentração de ácidos orgânicos, seguidos por recuperação do reator com o consumo dos mesmos. A Figura 11 apresenta o comportamento das concentrações de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico em R2G.

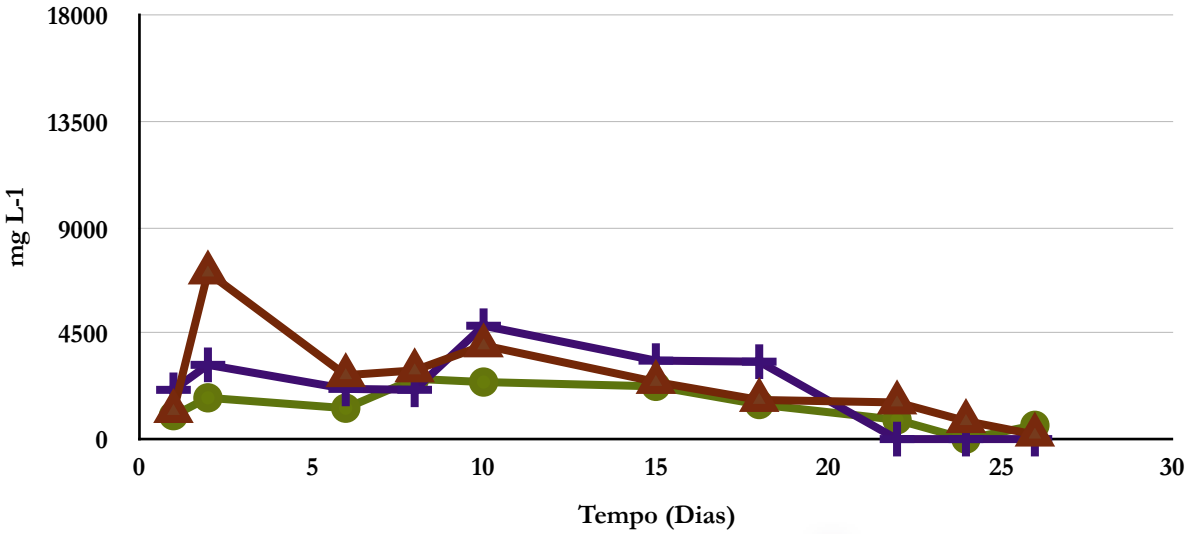

Figura 11 - Concentração de Ácidos Orgânicos em R2G. (▲) Ácido Acético; (+) Ácido Propiônico; (●) Ácido Butírico.

Ao comparar a Figura 11 com a Figura 7, nota-se a elevada concentração de ácido acético no 2º dia de avaliação do experimento (7.081,20 mg L^{-1}), o que se seguiu com a queda na produção de biogás entre os 4º - 12º dias. A concentração de ácido acético, propiônico e butírico continuaram crescentes até o 10º dia de experimento. Com o início da recirculação no 14º dia, já

foi observada a remoção de 31,51% do ácido acético e 34,44% na concentração de ácido butírico. A rápida remoção observada para a concentração de ácido acético indica que a população de arqueas acetoclásticas foi capaz de recuperar a atividade celular.

Por outro lado, a remoção observada para o ácido propiônico foi de apenas 1,31%. Contudo, a partir do 22º dia até o 26º as amostras de efluente de R2G não apresentaram concentrações detectáveis de ácido propiônico.

Em sistemas onde há o excesso de H_2 devido à baixa atividade de metanogênicas hidrogenotróficas, a produção de ácido propiônico é uma das vias mais favorecidas no processo de degradação da matéria orgânica, pois é uma via em que se tem o consumo de H_2. Além disso, a conversão de ácido propiônico em ácido acético por meio da atividade de bactérias acetogênicas também é inibida, pois essa é uma via de produção de H_2.

Baseando-se nesses fundamentos, pode-se inferir que as populações de arqueas hidrogenotróficas e bactérias acetoclásticas tiveram uma recuperação gradual de sua atividade celular.

De um modo geral, R2G apresentou melhora no desempenho para o consumo de ácidos orgânicos voláteis. No 24º dia de experimento, ácido butírico e propiônico já não se encontravam em concentrações detectáveis. Nesse mesmo momento, a concentração de ácido acético havia sido reduzida em 89,20% em relação ao valor máximo (2º dia). No 26º dia obteve-se a concentração mínima de ácido acético, de 190,88 mg L^{-1}, 97,30% inferior à concentração máxima (2º dia).

No 24º dia de experimento, ácidos propiônico e butírico chegaram a ser completamente consumidos. Ácido acético chegou a concentrações mínimas no 26º dia, com remoção de 95,20% em comparação ao 10º dia (Figura 11).

A remoção destes três ácidos orgânicos, associada ao aumento na produção volumétrica de biogás, sobretudo entre os 14º - 24º dias, demonstra que o sistema foi capaz de se recuperar em relação ao consumo da matéria orgânica. E isso foi observado tanto para R1G quanto R2G. Considerando o restabelecimento dos reatores, houve a tentativa de suspender a recirculação de efluente a partir do 24º dia. Entretanto, o reator se mostrou muito sensível à condição de afluente composto apenas por vinhaça nessa fase.

Em comparação ao reator R1G, R2G se mostrou mais equilibrado na análise do comportamento dos micro-organismos do consórcio metanogênico por meio da produção e consumo de ácidos orgânicos. Diferentemente de R1G, R2G chegou a concentrações mínimas de ácido propiônico e butírico (22º - 26º dias), indicando que as bactérias acetogênicas recuperaram a eficiência na conversão desses ácidos, metabólitos das bactérias acidogênicas, em ácido acético.

E, para que isso fosse possível, pode-se dizer que também houve eficiência no consumo de ácido acético pelas acetoclásticas e H_2 pelas hidrogenotróficas.

Essa vulnerabilidade à acidificação de ambos reatores pode estar relacionada à configuração do reator. Principalmente após o reinício de R1G, com inóculo ativo e adaptado à vinhaça 1G, foi possível observar que inicialmente o reator operou em condições equilibradas, mas não foi capaz de mantê-las a partir do 8º dia de ensaio com o novo inóculo (Figura 10). Acredita-se que canais preferenciais tenham se formado no reator, favorecendo a hidrólise e acidogênese nesses pontos. Devido à distribuição possivelmente deficiente de nutrientes e à diferença de velocidades metabólicas de bactérias hidrolíticas, acidogênicas, acetogênicas e arqueas o consumo equilibrado de H_2 e ácidos orgânicos não foi mantido.

A recirculação de efluente, além de favorecer a alcalinidade intrínseca do reator, favorece o retorno de matéria orgânica hidrolisada. Seriam necessárias investigações analíticas mais detalhadas para essa afirmação, no entanto a DQO analisada para esse período de recirculação nos mostra que a DQO de afluente não foi reduzida e a produção de biogás aumentou, com consumo de ácidos orgânicos mais equilibrado para ambos reatores.

Submetido às mesmas adversidades, R2G apresentou desempenho melhor do que R1G. Isto, possivelmente, ocorreu em razão da alta concentração em ácido acético proveniente da vinhaça 2G. A entrada de substrato imediato para arqueas acetoclásticas é capaz de favorecer o metabolismo desses micro-organismos, levando à produção de biogás mais eficiente e processo mais equilibrado.

O item a seguir aborda a comparação de R1G e R2G frente ao consumo de compostos fenólicos totais na presença de ácido acético.

4.2.3.2. Consumo de Fenólicos Totais na presença de Ácido Acético

Os principais componentes que diferenciaram as vinhaças 1G e 2G deste trabalho foram a concentração em ácido acético e fenólicos totais (Tabela 4). A Tabela 10 abaixo resume a diferença de concentração de fenólicos totais do afluente de R1G e R2G.

A média no afluente de R1G foi de 209,74 mg L^{-1}. A respeito do consumo, a concentração média de fenólicos no efluente foi de 565,21 mg L^{-1}, sugerindo que houve acúmulo no reator (Figura 10). Em nenhuma amostra foi identificada a remoção e por esse motivo os dados de Fenólicos Removidos (mg L^{-1}) e Remoção (%) não são apresentados na Tabela 10 para R1G.

A concentração média de compostos fenólicos no afluente de R2G foi de 843,44 mg L^{-1}, o que significa que a concentração em R2G foi aproximadamente quatro vezes maior do que

Tabela 10. Monitoramento de Processos por Consumo de Compostos Fenólicos Totais

	R1G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Fenólicos Totais Afluente (mg L^{-1})	209,74 ± 89,74	94,88	413,95
Fenólicos Totais Efluente (mg L^{-1})	565,21 ± 78,38	488,45	649,77
Fenólicos Totais Removidos (mg L^{-1})	NA	NA	NA
Remoção de Fenólicos Totais (%)	NA	NA	NA
	R2G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Fenólicos Totais Afluente (mg L^{-1})	843,44 ± 294,63	271,37	1241,35
Fenólicos Totais Efluente (mg L^{-1})	356,34 ± 92,48	267,50	495,33
Fenólicos Totais Removidos (mg L^{-1})	512,36 ± 220,61	219,30	746,02
Remoção de Fenólicos Totais (%)	56,96 ± 12,98	40,88	70,57

NA: Não se aplica.

aquela encontrada em R1G. Apesar disso, a concentração de fenólicos totais no efluente apresentou a média de 356,34 mg L^{-1}, o que mostra consumo médio de 56,96% pelo inóculo microbiano. Ao longo do processo, a remoção chegou ao valor máximo de 70,57% de fenólicos totais, que foi observado no 8º dia de experimento.

Através das Figuras 12 e 13, fica claro o comportamento de cada reator frente ao consumo de fenólicos totais. No reator R1G nota-se que a concentração no efluente foi sempre crescente, indicando a dificuldade de remoção nesse sistema (Figura 12). Apesar disso, a produção de biogás não foi reduzida com o aumento de compostos fenólicos no efluente. Como relatado anteriormente, foi observado o aumento na produção de biogás a partir do 14º dia, com produções máximas no período entre os 21º - 28º dias.

Na Figura 12, o aumento de fenólicos totais no efluente do 8º dia para o 26º dia foi de 21,29%. Para o mesmo período, a produção volumétrica de biogás aumentou em 55,55%. De acordo com CHAPLEUR et al., 2016, concentrações de fenol até 500 mg L^{-1} não apresentam toxicidade aos micro-organismos do consórcio metanogênico. Além disso, CHAPLEUR et al., 2016 também relaciona o acúmulo de fenólicos com condições em que os micro-organismos consomem preferencialmente outros substratos.

Sobre R2G, a Figura 13 mostra que o consumo de compostos fenólicos foi expressivo, com eficiências de remoção sempre acima de 40%. Em pesquisa realizada por FEDORAK &

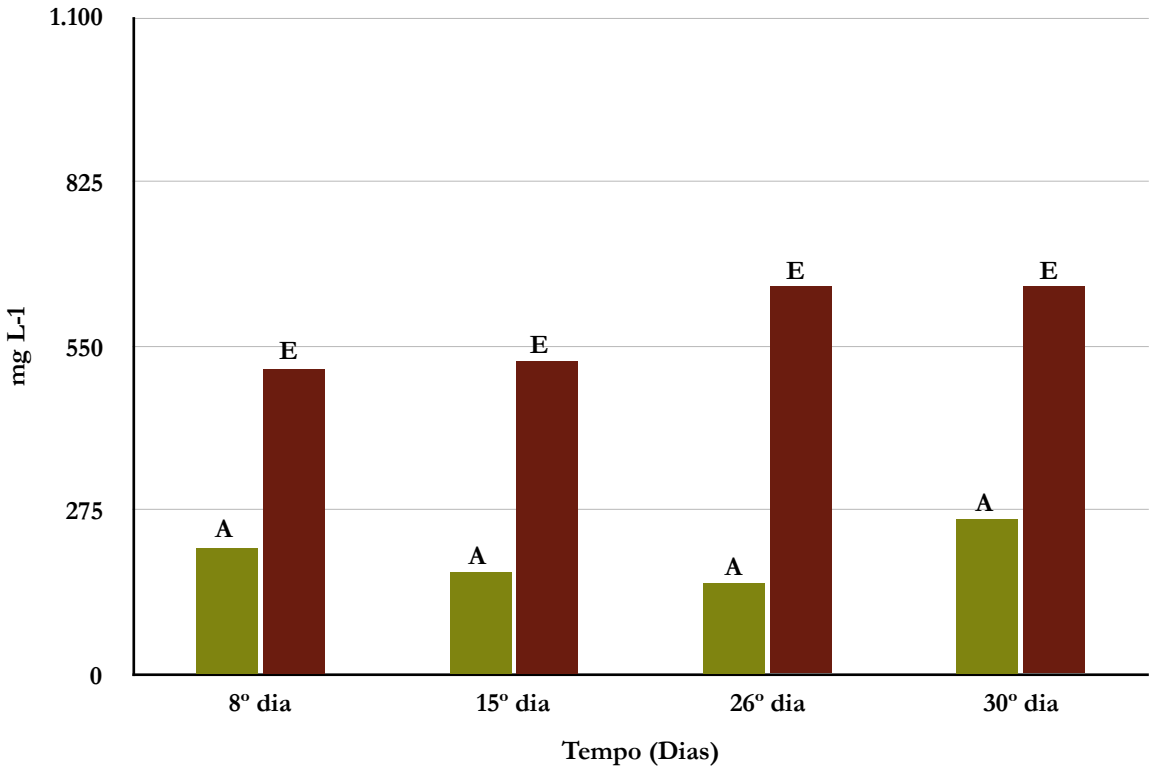

Figura 12 - Monitoramento do Processo de R1G por consumo de compostos fenólicos totais. (A): concentração de fenólicos totais no afluente; (E): concentração de fenólicos totais no efluente.

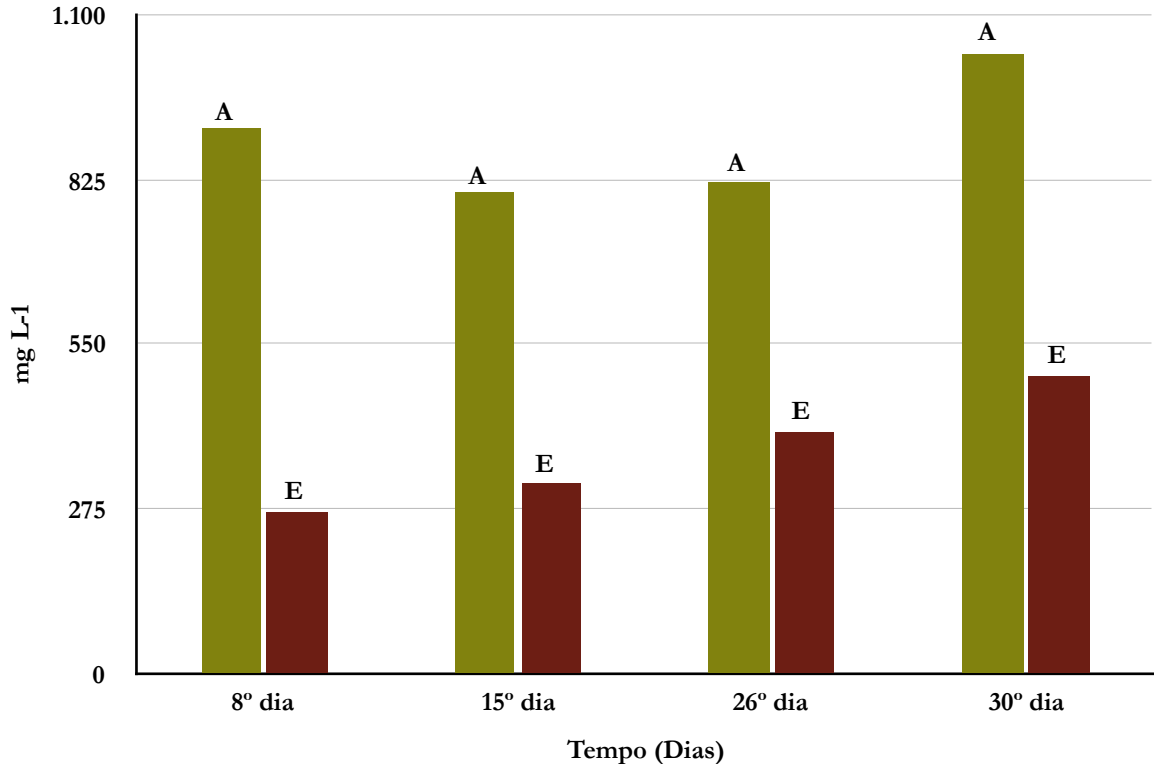

Figura 13 - Monitoramento do Processo de R2G por consumo de compostos fenólicos totais. (A): concentração de fenólicos totais no afluente; (E): concentração de fenólicos totais no efluente.

HRUDEY, 1984, foi investigada a degradação de compostos fenólicos em sistemas anaeróbios na presença e na ausência de ácidos orgânicos (ácido acético e propiônico). Na presença de ácido acético em concentrações de 2.800 mg L^{-1} e ácido propiônico em 975 mg L^{-1}, concentrações de até 1.200 mg L^{-1} de fenol foram associadas a maiores produções de metano. Na ausência desses ácidos orgânicos, o mesmo comportamento não foi observado. O experimento de FEDORAK & HRUDEY, 1984 foi realizado em batelada e demonstrou que as arqueas são inibidas por fenol em concentrações a partir de 2.000 mg L^{-1}. As bactérias acetogênicas, por outro lado, não apresentam a mesma tolerância e, quando expostas ao fenol, podem não produzir o acetato, substrato imediato de arqueas acetoclásticas.

Portanto, a entrada de ácido acético no reator juntamente com fenólicos permite que as arqueas acetoclásticas mantenham-se ativas. Dessa forma, o consumo de ácido acético se mantém contínuo, assimilando o acetato que também vem a ser gerado com a degradação de fenólicos e demais compostos presentes na matéria orgânica.

A concentração média de ácido acético no afluente de R1G foi de 899,82 mg L^{-1} e no afluente de R2G, essa concentração foi de 4.850,78 mg L^{-1} (Tabela 11). Isso quer dizer que a concentração de ácido acético na vinhaça afluente de R2G foi cerca de cinco vezes maior. Apesar disso, a concentração de ácido acético no efluente de R1G foi superior à concentração

Tabela 11. Monitoramento de Eficiência de Remoção de Ácido Acético nos Processos de R1G e R2G.

	R1G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Ácido Acético Afluente (mg L^{-1})	899,82 ± 384,98	407,06	1775,93
Ácido Acético Efluente (mg L^{-1})	5654,07 ± 3685,97	0,00*	12234,33
Ácido Acético Removido (mg L^{-1})	NA	1360,94*	1775,93
Remoção de Ácido Acético (%)	NA	76,63*	100
	R2G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Ácido Acético Afluente (mg L^{-1})	4850,78 ± 1694,49	1560,70	7139,24
Ácido Acético Efluente (mg L^{-1})	2544,13 ± 1897,57	190,88	7081,20
Ácido Acético Removido (mg L^{-1})	2703,61 ± 2146,89	656,86	5752,13
Remoção de Ácido Acético (%)	49,80 ± 36,54	21,29	95,56

* O valor mínimo despreza os dados dos períodos de acúmulo de Ácido Acético no reator.
NA: não se aplica.

encontrada em R2G, indicando que a eficiência no consumo de ácido acético foi maior em R2G do que em R1G, como já discutido no item anterior (4.2.3.1.).

A Tabela 11 indica através do parâmetro Ácido Acético Removido (mg L^{-1}) que R1G apresentou acúmulo desse analito. Dessa forma, dados de média para a remoção percentual não foram considerados. A baixa atividade de R1G para o consumo de ácido acético indica que o sistema foi facilmente desestabilizado. Ao longo do processo foi possível atingir restabelecimento no consumo de ácido acético, conforme detalhado no Item 4.2.3.1.. O mesmo não foi atingido para compostos fenólicos. Portanto, caso houvesse bactérias consumidoras de fenólicos presentes, estas também não tiveram atividade observada, já que o que se observou foi o acúmulo de fenólicos no reator.

Em R2G, a remoção média ácido acético foi de 49,80%. No entanto, o reator chegou a atingir 95,56% de remoção do ácido acético. Diante desses resultados, é importante considerar que o consumo total de acetato do reator também inclui aquele que é gerado ao longo do processo pelas bactérias acetogênicas.

Portanto, de acordo com o trabalho de FEDORAK & HRUDEY, 1984, a alta disponibilidade de ácido acético para R2G (4.850,78 mg L^{-1}) pode estar relacionada ao sistema mais eficiente no consumo dos compostos fenólicos.

No entanto, sabe-se que há diferentes classes de fenólicos, as quais exercem efeitos diferentes sobre o consórcio metanogênico, onde compostos com maior número de hidroxilas apresentam maior efeito inibitório (FEDORAK & HRUDEY, 1984; KAYEMBE et al., 2013). Seria importante, para que se tivesse afirmações mais precisas, definir quais classes de compostos fenólicos foram presentes em cada tipo de vinhaça empregada. De acordo com CHAPLEUR et al., 2016, concentrações de compostos fenólicos maiores do que 100 mg L^{-1} de determinadas classes de fenólicos já são capazes de influenciar a comunidade microbiana, selecionando os grupos mais adaptados para o consumo desses compostos. A elucidação das classes de compostos fenólicos presentes nas vinhaças investigadas permitiria inferir qual concentração teria potencial para causar de fato efeitos inibitórios sobre as populações microbianas. Também permitira determinar quais classes de fenólicos foram consumidas, colaborando para a produção de biogás.

4.2.4.Monitoramento de Processos por Carboidratos

Outro componente da vinhaça que é importante para o processo de digestão anaeróbia é o teor em carboidratos, que é composto pelos açúcares residuais não consumidos pelas leveduras na fermentação alcoólica.

Como discutido no Item 4.1.1., foram identificados sacarose, glicose e frutose na vinhaça 1G e sacarose, glicose, frutose, xilose e arabinose na vinhaça 2G. Para os interesses do processo de digestão anaeróbia, esses açúcares foram interpretados na forma de "Açúcares Totais". Os valores obtidos em açúcares totais estão resumidos na Tabela 12 para a vinhaça 1G e 2G.

Tabela 12. Açúcares Totais presentes na Vinhaça 1G e Vinhaça 2G.

	Vinhaça 1G	**Vinhaça 2G**
Açúcares Totais (mg L^{-1})	504,99	576,32

Percebe-se que, apesar da composição em açúcares ser distinta entre os dois tipos de vinhaças investigadas, os teores de açúcares totais foram semelhantes entre elas. O teor em açúcares da vinhaça 2G foi apenas 12,37% (71,33 mg L^{-1}) superior ao da vinhaça 1G.

A Tabela 13 abaixo resume as concentrações de açúcares no afluente e efluente de cada reator. Considerando que os teores em açúcares totais foram semelhantes entre os dois tipos de vinhaças avaliadas, também era esperado que R1G recebesse maior quantidade de açúcares porque a concentração de DQO do substrato de entrada foi maior do que em R2G, como foi detalhado em 3.7 em Material e Métodos. A concentração média de açúcares totais no afluente de R1G foi de 276,75 mg L^{-1}, com eficiência de remoção média de 87,99%. Durante o período de

Tabela 13. Monitoramentos dos Processos de R1G e R2G pelo consumo de Açúcares Totais.

R1G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Açúcares Totais Afluente (mg L^{-1})	276,75 ± 118,41	125,20	546,21
Açúcares Totais Efluente (mg L^{-1})	355,77 ± 591,67	0	1400,54
Açúcares Totais Removidos (mg L^{-1})	243,06 ± 112,52	125,20*	349,34
Remoção de Açúcares Totais (%)	87,99 ± 53,59*	63,96*	100
R2G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Açúcares Totais Afluente (mg L^{-1})	194,69 ± 52,35	64,97	297,20
Açúcares Totais Efluente (mg L^{-1})	117,09 ± 185,26	0	503,70
Açúcares Totais Removidos (mg L^{-1})	145,06 ± 49,06*	64,97*	199,80
Remoção de Açúcares Totais (%)	85,83 ± 96,03*	52,93*	100

* O valor mínimo despreza os dados dos períodos de acúmulo de Açúcares no reator.

análise, no reator R1G foi identificado apenas um momento de acúmulo de açúcares, que ocorreu no 22º dia. Nesse mesmo período de acúmulo de açúcares foi observada elevada produção de biogás. Esses dados demonstram que nesse período, apesar da possível inibição de bactérias hidrolíticas e fermentativas, as arqueas metanogênicas estavam ativas. Essa queda na atividade de degradação de matéria orgânica, observada no 22º dia pelo acúmulo de açúcares, levou à diminuição na produção de biogás no 23º dia. No 22º dia a produção de biogás foi de 1,1 L, chegando a 0,95 L em no 23º.

Em R2G a concentração de entrada de açúcares totais foi de 200,03 mg L^{-1}, com eficiência de remoção média de 87,15%, chegando a 100% no 22º dia de experimento.

Ao comparar o consumo de Açúcares Totais Removidos (mg L^{-1}) de cada reator, verifica-se que R1G consumiu maior quantidade de açúcares (mg L^{-1}). Como citado no Item 4.2.3.2 sobre o consumo de fenólicos, CHAPLEUR et al., 2016 afirmam que bactérias consumidoras de fenólicos podem selecionar outras fontes de carbono, resultando no acúmulo dos fenólicos. Açúcares na forma de mono e dissacarídeos, como é o caso de glicose, frutose, xilose, arabinose e sacarose, são de fato mais facilmente consumidos por uma grande variedade de bactérias na fase de hidrólise da digestão anaeróbia. O consumo de fontes de carbono na forma de ácidos orgânicos e compostos fenólicos ocorre em grupos mais restritos de bactérias.

4.2.5.Monitoramento de Processos por Ânions

Alguns ânions possuem papel muito importante no equilíbrio do processo de metanogênese. Os principais ânions a serem investigados neste trabalho foram: sulfato, fosfato e nitrato.

Na Tabela 14 verifica-se que o reator R1G apresentou concentração média de sulfato em seu afluente de 1.885,71 mg L^{-1} e atingiu eficiência de remoção de sulfato na média de 95,09%, o que representou a média de 2.064,52 mg L^{-1} de sulfato removido. De um modo geral, R1G apresentou eficiência constante na remoção de sulfato, mantendo-se sempre acima de 90%.

Sobre R1G, a Figura 14 ilustra que, novamente, o processo foi favorecido pela recirculação de efluente a partir do 13º dia. Notava-se que a quantidade de sulfato removido do efluente (mg L^{-1}) diminuía do 6º ao 15º dias. No entanto, no 24º dia o sulfato removido foi 57,22% superior ao valor observado no 15º dia.

No tocante ao fosfato, o sistema de R1G apresentou acúmulo de fosfatos. Em razão disso, a Tabela 14 não apresenta valores médio nem mínimos para a remoção de fosfato. De acordo com DILALLO & ALBERTSON, 1961, a produção de fosfatos está relacionada com a geração de alcalinidade durante o processo de degradação de matéria orgânica. O fósforo

Tabela 14. Monitoramento do Processo de R1G pela concentração de Ânions

Sulfato			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Sulfato Afluente (mg L^{-1})	1885,71 ± 806,79	853,05	3721,74
Sulfato Efluente (mg L^{-1})	99,11 ± 91,53	0	186,24
Sulfato Removido (mg L^{-1})	2064,52 ± 1133,81	666,81	3721,74
Remoção de Sulfato (%)	95,09 ± 4,67	90,24	100
Fosfato			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Fosfato Afluente (mg L^{-1})	32,97 ± 27,04	13,58	118,46
Fosfato Efluente (mg L^{-1})	86,53 ± 91,11	0	218,27
Fosfato Removido (mg L^{-1})	NA	NA	20,92
Remoção de Fosfato (%)	NA	NA	NA
Nitrato			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Nitrato Afluente (mg L^{-1})	281,55 ± 120,46	127,37	555,68
Nitrato Efluente (mg L^{-1})	14,52 ± 13,49	0	27,64
Nitrato Removido (mg L^{-1})	308,52 ± 167,78	103,00	555,68
Remoção de Nitrato (%)	95,26 ± 4,36	91,45	100,00

presente nas ligações químicas de compostos orgânicos é dissolvido e se torna disponível na forma de fosfato (SHARMA et al., 2013; WANG et al., 2016). Semelhante à geração de bicarbonatos, os fosfatos tem o papel importante na neutralização dos ácidos orgânicos produzidos por bactérias acidogênicas. A Figura 14 apresenta valores de fosfato removido (mg L^{-1}) abaixo de zero, indicando os períodos de geração do fosfato. No 30º dia, por fim, foi apresentado o consumo de 20,92 mg L^{-1} de fosfato.

O consumo de nitrato, semelhante ao de sulfato, apresentou altas eficiências de remoção, variando de 91,45 - 100%, com a média de 95,26%. Também foi observado que havia queda de nitrato removido (mg L^{-1}) até o 15º dia e que houve recuperação a partir desse momento (Figura 14). O nitrato removido no 30º dia foi 71,77% superior ao valor do 15º dia. Diversos grupos microbianos são capazes de assimilar o nitrogênio na forma de nitrato, que é incorporado pelas células por sistemas de transporte de alta afinidade (MORENO-VIVIÁN & FLORES, 2006).

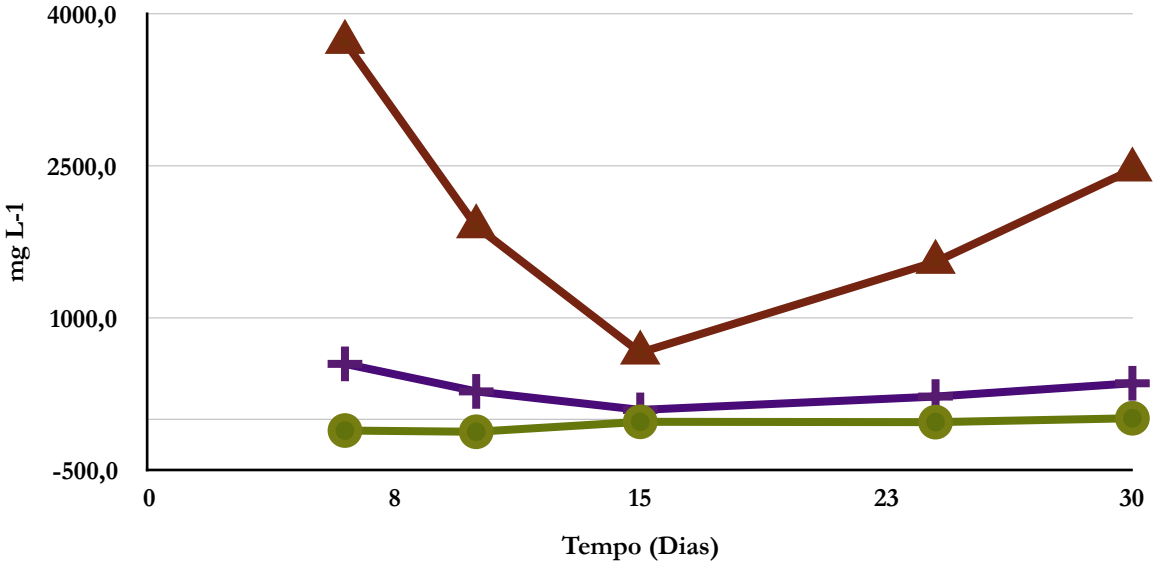

Figura 14 - Concentração de Ânions Removidos em R1G. (▲) Sulfato; (+) Nitrato; (●) Fosfato.

A Tabela 15 resume os dados obtidos para R2G. A média de remoção de sulfato ao longo de todo o processo foi de 87,15%. Em relação ao fosfato, não foram encontradas concentrações detectáveis na vinhaça 2G. Portanto, o fosfato quantificado no efluente de R2G é proveniente do processo metabólico dos micro-organismos. Como mencionado acima, grande parte do fósforo disponível nos compostos orgânicos é disponibilizado na forma de fosfato ao longo do processo de digestão anaeróbia.

O consumo de nitrato apresentou muitas oscilações ao longo do experimento. Foi observado um momento de acúmulo no 10º dia, como pode ser visualizado na Figura 15. No entanto, quando foi observado o consumo de nitrato, ele foi removido com alta eficiência. Do 15º ao 30º dias os valores foram de 88,98 a 100% de remoção do nitrato quantificado no afluente, indicando a alta assimilação de nitrogênio pelo consórcio microbiano.

A análise de ânions dos dois processos anaeróbios, R1G e R2G, mostrou que houve diferença entre a disponibilidade de sulfato entre os reatores. A caracterização das vinhaças 1G e 2G (Tabela 4) demonstrou que a vinhaça 1G possui 28,11% de sulfato a mais do que a vinhaça 2G. Além disso, dado que a DQO afluente de R1G foi maior (Item 3.7 de Material e Métodos), a concentração afluente de sulfato para R1G foi 55,06% superior à concentração afluente para R2G.

De acordo com STAMS & PLUGGE, 2009, na ausência de sulfato, as BRS podem colaborar para o processo metanogênico ao produzir H_2. Por outro lado, a presença de sulfato as torna competidoras das arqueas hidrogenotróficas pela disponibilidade de H_2.

Comparando o processo de R1G com o processo de R2G, a disponibilidade de sulfato e eficiência de remoção de sulfato em R1G foram superiores e mais constantes, sem períodos de

Tabela 15. Monitoramento do Processo de R2G pela concentração de Ânions

Sulfato			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Sulfato Afluente (mg L^{-1})	866,70 ± 302,76	278,85	1275,58
Sulfato Efluente (mg L^{-1})	126,82 ± 95,22	0,00	275,81
Sulfato Removido (mg L^{-1})	866,81 ± 253,03	459,61	1168,17
Remoção de Sulfato (%)	86,88 ± 9,28	74,99	100,00
Fosfato			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Fosfato Afluente (mg L^{-1})	0,00	NA	NA
Fosfato Efluente (mg L^{-1})	26,78 ± 41,51	0	82,43
Fosfato Removido (mg L^{-1})	NA	NA	NA
Remoção de Fosfato (%)	NA	NA	NA
Nitrato			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Nitrato Afluente (mg L^{-1})	223,50 ± 65,69	119,26	281,58
Nitrato Efluente (mg L^{-1})	97,75 ± 228,22	0,00	563,45
Nitrato Removido (mg L^{-1})	142,42 ± 217,20	106,12*	281,58
Remoção de Nitrato (%)	97,09 ± 80,62*	88,98*	100

* O valor mínimo despreza os dados dos períodos de acúmulo no reator.

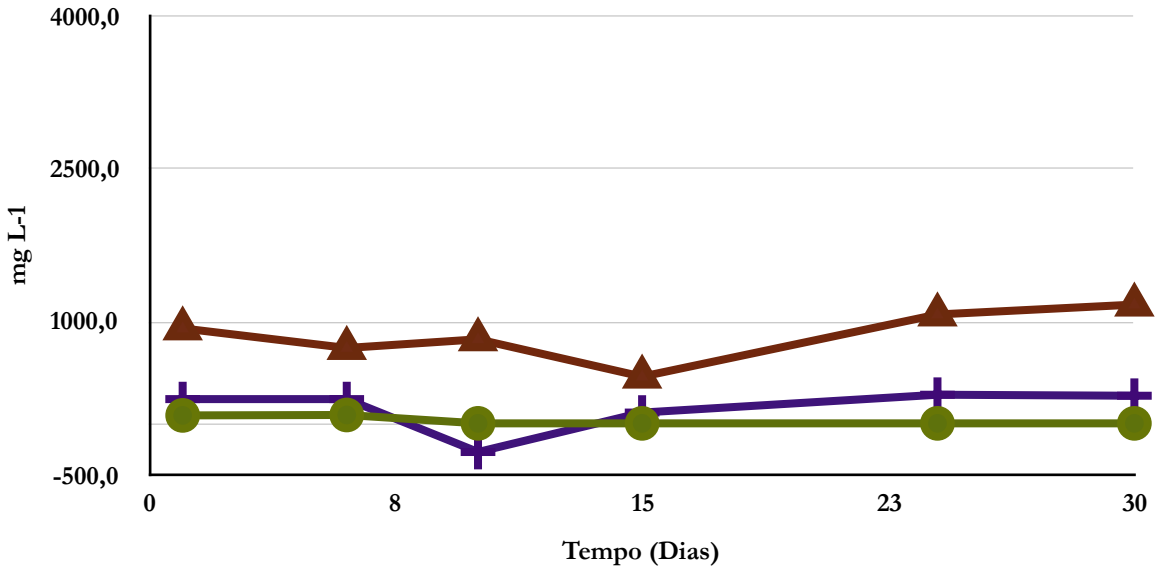

Figura 15 - Concentração de Ânions Removidos em R2G. (▲) Sulfato; (+) Nitrato; (●) Fosfato.

acúmulo. Em R2G, apesar de também ter sido observada a eficiência de 100% de remoção do sulfato, o desempenho para esse processo biológico foi inconstante, indicando que as BRS não tiveram atividade completamente consolidada no reator.

Os elevados valores para remoção de sulfato para R1G (95,09%) e R2G (86,88%) indicam que as BRS se mantiveram bastante ativas durante os processos. Isso ocorreu porque, além da alta disponibilidade de sulfato (1.885,71 mg L^{-1} em R1G; 866,70 mg L^{-1} em R2G) essas bactérias possuem grande tolerância à presença de ácidos orgânicos no sistema, apresentando pouco prejuízo às suas atividades metabólicas.

A eficiência de remoção de sulfato dos processos de R1G e R2G se mostraram coerentes co as eficiências encontradas na literatura, que apresentam médias entre 57-95% (GODOI, 2014; DAMIANOVIC & FORESTI, 2009; SABUMON, 2008; VILELA, 2012).

4.2.6. Teor de Cátions nos Efluentes de R1G e R2G

A fim de caracterizar o efluente dos reatores do estudo, foram realizadas as análises de teor de cátions, conforme detalhado na Tabela 16. É possível observar que, no período avaliado, R1G apresentou retenção de todos os cátions analisados. Isso quer dizer que houve acúmulo de sódio, potássio, magnésio e cálcio na vinhaça biodigerida. O cátion que apresentou menor acúmulo foi o cálcio, que teve aumento de 28% em relação à concentração afluente. A concentração de sódio aumentou em cerca de quatro vezes a concentração do afluente, enquanto que potássio e magnésio tiveram aumento de aproximadamente seis vezes a concentração de entrada.

Para R2G, porém, foi observado que o reator foi capaz de remover uma parcela de todos os cátions analisados. A concentração média de sódio removido foi de 1.137 mg L^{-1}, o que significa uma remoção média de 22,97% da concentração afluente. Para potássio, essa remoção foi de 847,90 mg L^{-1} (9,74%), para magnésio, 289,90 mg L^{-1} (16,10%) . Cálcio apresentou a maior eficiência de remoção média entre os cátions analisados, de 962,80 mg L^{-1}, representando 64,00% de remoção.

MCCARTY, 1964 classificou sódio, potássio, magnésio e cálcio como estimulantes, inibidores moderados e fortes inibidores do processo anaeróbio segundo as concentrações em que se encontram no meio. Para o sódio, concentrações a partir de 8.000 mg L^{-1} passam a ter efeitos negativos sobre a microbiota, agindo como forte inibidor. A Tabela 16 mostra que R1G não passou por condições de inibição causadas por sódio. R2G, no entanto, teve concentração afluente de 7.781,44 mg L^{-1}, próxima à condição de inibição. Apesar disso, o reator foi capaz de reter sódio e o efluente apresentou concentração abaixo da inibição, de 3.812,62 mg L^{-1}.

Tabela 16. Teor de Cátions nos Efluentes de R1G e R2G.

R1G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Sódio Afluente (mg L^{-1})	2411,73 ± 667,45	1218,92	2726,92
Sódio Efluente (mg L^{-1})	5557,07 ± 72,49	NA	NA
Potássio Afluente (mg L^{-1})	4227,80 ± 1170,05	2136,78	4780,32
Potássio Efluente (mg L^{-1})	13240,38 ± 99,43	NA	NA
Magnésio Afluente (mg L^{-1})	793,77 ± 219,67	401,18	897,51
Magnésio Efluente (mg L^{-1})	2375,02 ± 55,87	NA	NA
Cálcio Afluente (mg L^{-1})	532,51 ± 25,10	488,860	546,829
Cálcio Efluente (mg L^{-1})	679,78 ± 14,55	NA	NA
R2G			
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Sódio Afluente (mg L^{-1})	7781,44 ± 2718,23	2503,61	11452,49
Sódio Efluente (mg L^{-1})	3812,62 ± 561,72	NA	NA
Potássio Afluente (mg L^{-1})	13688,36 ± 4781,65	4404,12	20146,12
Potássio Efluente (mg L^{-1})	7859,06 ± 267,38	NA	NA
Magnésio Afluente (mg L^{-1})	2832,00 ± 989,28	911,17	4168,06
Magnésio Efluente (mg L^{-1})	1511,5 ± 1,16	NA	NA
Cálcio Afluente (mg L^{-1})	2365,20 ± 826,22	760,98	3881,04
Cálcio Efluente (mg L^{-1})	541,67 ± 0,27	NA	NA

NA: não se aplica.

O potássio no afluente de R1G esteve dentro da faixa de inibição moderada, que corresponde a 2.500 - 4.500 mg L^{-1}, no entanto o acúmulo em R1G levou à concentração de 13.240,48 mg L^{-1}. Para R2G, a concentração afluente foi de 13.688,36 mg L^{-1}, apresentando remoção de 7.859,06 mg L^{-1}. Apesar de MCCARTY, 1964 indicar o potássio a 12.000 mg L^{-1} como um forte inibidor, o inóculo de R2G se mostrou capaz de consumi-lo, o que indica que, apesar do desempenho abaixo do satisfatório de R1G, o potássio não foi razão de inibição do processo.

Para o magnésio, o comportamento entre R1G e R2G foi semelhante ao comportamento em relação ao potássio, onde o acúmulo no efluente de R1G (2.375,02 mg L^{-1}) chegou à concentração próxima da faixa de forte inibição, que se trata de 3.000 mg L^{-1} ou superior. R2G

apresentou concentração afluente elevada para o magnésio (2.832,00 mg L^{-1}) mas apresentou a remoção desse cátion mostrou que o inóculo não foi inibido por altas concentrações.

A concentração de forte inibição para o cálcio é relatada a partir de 8.000 mg L^{-1}, muito superior às concentrações encontradas para R1G e R2G, como pode-se observar pela Tabela 16.

Por fim, pode-se dizer que apesar de concentrações elevadas de potássio, para ambos reatores, sódio e magnésio, no caso de R2G, o inóculo metanogênico empregado nos processos não foi inibido pela presença de cátions. Por meio do processo em R2G o inóculo apresentou a capacidade de retê-los no reator e utilizá-los como micronutrientes.

4.2.7.Monitoramento de Processos por Retenção de Sólidos

Os reatores também foram avaliados segundo sua capacidade de reter sólidos da vinhaça afluente.

A Tabela 17 resume os dados obtidos para R1G, onde pode-se verificar que o reator não foi capaz de reter eficientemente os sólidos provenientes da vinhaça. Ao analisar as médias para Sólidos Totais (ST), Sólidos Totais Fixos (STF) e Sólidos Totais Voláteis (STV) vê-se que os valores de efluente foram superiores àqueles do afluente.

Tabela 17. Monitoramento do Processo de R1G por Retenção de Sólidos.

	R1G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Sólidos Totais Afluente (mg L^{-1})	12292,24 ± 3717,01	5880,98	13156,68
Sólidos Totais Efluente (mg L^{-1})	26976,66 ± 11818,11	18620,00	35333,33
Sólidos Totais Fixos Afluente (mg L^{-1})	3358,47 ± 879,84	1606,79	3594,65
Sólidos Totais Fixos Efluente (mg L^{-1})	9823,33 ± 980,33	9130,00	10516,67
Sólidos Totais Voláteis Afluente (mg L^{-1})	8933,78 ± 2701,46	4274,19	9562,04
Sólidos Totais Voláteis Efluente (mg L^{-1})	17153,33 ± 10837,59	9490,00	24816,67

Apesar disso, a Figura 16 indica que houve remoção entre as análises realizadas no 6º e 30º dias de experimento. A remoção da concentração de ST foi de 47,30%, sendo que a remoção mais expressiva se deu graças à remoção em STV, que foi de 61,76%, indicando a capacidade de retenção de matéria orgânica do reator. A remoção de STF foi menor, de apenas 13,18%.

R2G, por outro lado, teve desempenho mais satisfatório para a retenção de sólidos. Foram observadas reduções na concentração de todos os parâmetros, como detalhado na Tabela 18. A remoção de ST média foi de 61,17%, sendo que a remoção de STV foi a maior responsável por essa remoção. Em comparação à concentração de STV do afluente, a remoção média foi de

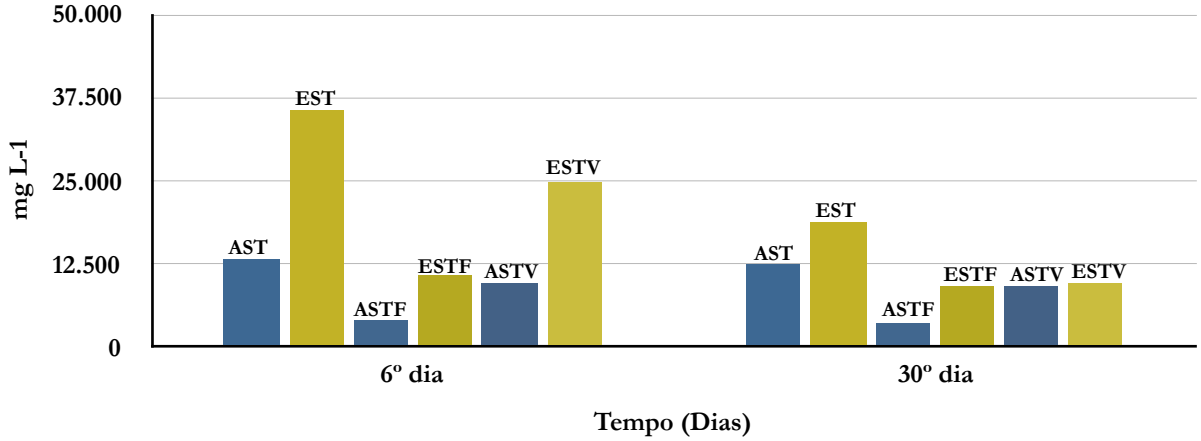

Figura 16 - Monitoramento do processo de R1G pela Retenção de Sólidos. AST: Afluente de ST; EST: Efluente de ST; ASTF: Afluente de STF; ESTF: Efluente de STF; ASTV: Afluente de STV; ESTV: Efluente de STV.

71,33%, indicando a retenção de matéria orgânica do afluente. STF apresentou a média de 40,92% para a eficiência de remoção.

O melhor desempenho de R2G na remoção de STV foi obtido no 30º dia, como pode ser visto na Figura 17. Nesse período a remoção foi de 81,16%. Em razão disso, foi quando também se obteve o maior valor para a remoção de ST, correspondendo a 65,81%.

O desempenho superior de R2G em relação a R1G pode-se dar ao tempo de avaliação e, sobretudo, ao fato de que R1G passou por desmontagem e reinício com novo inóculo. Esse

Tabela 18. Monitoramento do Processo de R1G por Retenção de Sólidos.

	R2G		
	Média	**Mínimo**	**Máximo**
Sólidos Totais Afluente (mg L^{-1})	27351,13 ± 9554,36	8800,00	40254,60
Sólidos Totais Efluente (mg L^{-1})	13286,98 ± 672,99	12811,11	13762,86
Sólidos Totais Removidos (mg L^{-1})	21577,30 ± 6950,07	16662,86	26491,74
Remoção de Sólidos Totais (%)	61,17 ± 6,56	56,53	65,81
Sólidos Totais Fixos Afluente (mg L^{-1})	9137,76 ± 3192,02	2940,00	13448,70
Sólidos Totais Fixos Efluente (mg L^{-1})	6984,21 ± 2444,68	5255,56	8712,86
Sólidos Totais Fixos Removidos (mg L^{-1})	4663,63 ± 102,11	4591,43	4735,84
Remoção de Sólidos Totais Fixos (%)	40,92 ± 8,07	35,21	46,63
Sólidos Totais Voláteis Afluente (mg L^{-1})	18213,37 ± 6362,33	5860,00	26805,90
Sólidos Totais Voláteis Efluente (mg L^{-1})	6302,78 ± 1771,70	5050,00	7555,56
Sólidos Totais Voláteis Removidos (mg L^{-1})	16913,67 ± 6847,95	12071,43	21755,90
Remoção de Sólidos Totais Voláteis (%)	71,33 ± 13,90	61,50	81,16

evento pode ser capaz de influenciar na perda de sólidos do próprio lodo, tornando difícil a determinação de retenção de sólidos do afluente.

De um modo geral, o desempenho de R2G para a retenção de sólidos foi coerente com o que se encontra em trabalhos paralelos. Nos experimentos de LONGO, 2015, utilizando reatores de manta de lodo com fluxo ascendente para tratamento de vinhaça também foi observada a dificuldade de retenção de STF pelo inóculo metanogênico. Entre os parâmetros de sólidos analisados em R1G e R2G, STF foi o que apresentou a menor remoção média, de 40,92%. Para os valores de STV, os resultados obtidos em R2G (71,33%) foram próximos aos obtidos por LONGO, 2015 (79,70%).

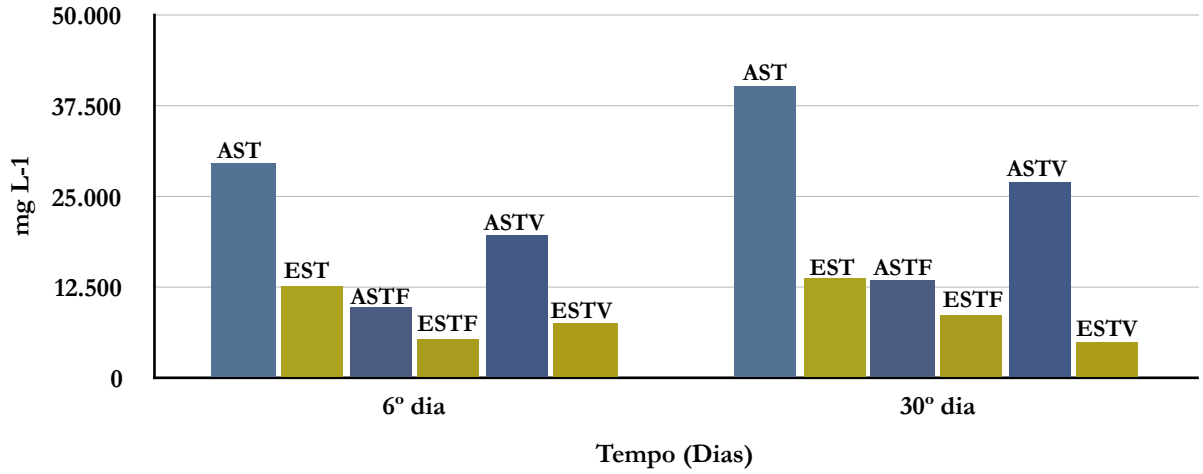

Figura 17 - Monitoramento do processo de R2G pela Retenção de Sólidos. AST: Afluente de ST; EST: Efluente de ST; ASTF: Afluente de STF; ESTF: Efluente de STF; ASTV: Afluente de STV; ESTV: Efluente de STV.

5.CONCLUSÕES

A produção de biogás a partir da vinhaça 2G se mostra tecnologicamente passível de ser viabilizada. A produção de biogás a partir de vinhaça 2G foi maior do que a partir da vinhaça 1G. Nos experimentos deste estudo, a produção de biogás ($L_{biogás}\ DQO_{remov}^{-1}$) a partir da vinhaça 2G foi quatro vezes maior do que a produção obtida com vinhaça 1G. Os valores médios obtidos foram de 0,32 $L_{biogás}\ DQO_{remov}^{-1}$ para o processo utilizando vinhaça 2G e 0,08 $L_{biogás}\ DQO_{remov}^{-1}$ para o processo utilizando vinhaça 1G.

Os produtos secundários, como compostos fenólicos, furfural e 5-hidroximetilfurfural, presentes na vinhaça 2G não apresentaram efeitos inibitórios sobre o consórcio metanogênico. Os resultados indicam que a presença do ácido acético em altas concentrações na vinhaça 2G favoreceu a produção de biogás em comparação ao processo que utilizou vinhaça 1G.

É essencial a estabilização do processo de metanogênese para que se obtenha remoção de DQO e produção volumétrica de biogás constantes. Apesar das dificuldades encontradas, pode-se afirmar que a instabilidade encontrada no processo utilizando vinhaça 2G foi semelhante àquela que se observou no processo utilizando 1G. A vinhaça 2G apresenta, de fato, grande potencial para a aplicação em processos anaeróbios visando à produção de biogás.

REFERÊNCIAS

ALZATE, L. M. et al. Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. **Int J Hydrogen Energ**, v. 32, 2007.

ALVES, D. M. G. **Fatores que afetam a formação de ácidos orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica. Piracicaba.** 1994. 274p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, A. W. W. A., WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20. Amer Public Health Assn., 1999. ISBN 978-0875532356.

ANDRITZ GROUP. **Biogas - An Important Renewable Energy Source**. Estocolmo, Suécia: World Bioenergy Association, Maio 2013. Disponível em: <http://www.worldbioenergy.org/sites/default/files/wfm/Factsheet_Biogas.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2016.

AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em Lodos Anaeróbios. 2. v. 12, p. 192–201, 2007.

BADSHAH, M. **Evaluation of process parameters and treatments of different raw materials for biogas production**. 2012. 158 Dissertation (Composite) Department of Water and Environmental Studies, Linköping University, Sweden.

BAEZ-SMITH, C. **Anaerobic Digestion of Vinasse for the Production Of Methane in the Sugar Cane Distillery**. 2006 Proceedings of the Conference on Sugar Processing Research - Frontiers in Sugar Processing. Águas de São Pedro, Brazil**:** 19 p. 2006.

BOARETTO, L. F.; MAZZAFERA, P.. The proteomes of feedstocks used for the production of second-generation ethanol: a lacuna in the biofuel era. v. 163, p. 12–22, 2013.

BOYER, L. J. et al. The effects of furfural on ethanol production by saccharomyces cereyisiae in batch culture. Biomass and Bioenergy, v. 3, n. 1, p. 41-48, 1992. ISSN 0961-9534. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/096195349290018L >.

CEPEA, E. M. Desaceleração da Economia Brasileira Reflete Em Baixa nas Cadeias do Agronegócio. Cepea - ESALQ/USP, p.13. 2015.

CHAPLEUR, O. et al. Increasing concentrations of phenol progressively affect anaerobic digestion of cellulose and associated microbial communities. **Biodegradation**, v. 27, n. 1, p. 15–27, 2016.

COLARES, C. J. G.; SANDRI, D. Eficiência do tratamento de esgoto com tanques sépticos seguidos de leitos cultivados com diferentes meios de suporte. **Rev. Ambient. Água**, Taubaté , v. 8, n. 1, p. 172-185, Apr. 2013. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2013000100013&lng=en&nrm=iso>. access on 20 Nov. 2016. http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1047.

CORTEZ, L. A. B. et al. **Sugarcane bioethanol - R&D for Productivity and Sustainability**. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda., 2014. 992 ISBN 978-85-212-0822-8.

DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; FORESTI, E. (2009) Dynamics of sulfetogenesis associated to methanogenesis in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor. Process Biochemistry, n. 44, 1050-1054p.

DELGENES, J. P.; MOLETTA, R.; NAVARRO, J. M. Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xylose by Saccharomyces cerevisiae, Zymomonas mobilis, Pichia stipitis, and Candida shehatae. Enzyme and Microbial Technology, v. 19, n. 3, p. 220-225, 1996. ISSN 0141-0229. Disponível em: < http:// www.sciencedirect.com/science/article/pii/0141022995002375 >.

DIAS, M. O. S. et al. Second generation ethanol in Brazil: Can it compete with electricity production? **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 8964–8971, out. 2011.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile Acids by Direct Titration. 4. v. 33, p. 356–365, Abril 1961.

ENERGIGAS SVERIGE. **Biogas in Sweden**. [s.l.] Swedish Biogas Association, mar. 2011. Disponível em: <http://www.biogasportalen.se/~/media/Files/www_biogasportalen_se/Sidhuvud/BiogasInSweden.ashx.>. Acesso em: 15 nov. 2016.

ESPAÑA-GAMBOA, E. I. et al. Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, n. 1, p. 82, 2012.

EUROBSERV'ER et al. **Baromètre Biogaz**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.eurobserv-er.org/category/all-biogas-barometers/>. Acesso em: 10 abr. 2015.

FANG, H. H. et al. Anaerobic degradation of phenol in wastewater at ambient temperature. Water Science and Technology, v. 49, n. 1, p. 8, 2004.

FEDORAK, P. M.; HRUDEY, S. E.. The effects of phenol and some alkyl phenolics on batch anaerobic methanogenesis. 3. v. 18, p. 361–367, 1984.

FERRY, J. G. The chemical biology of methanogenesis. **Planetary and Space Science,** v. 58, n. 14-15, p. 1775-1783, Dec 2010. ISSN 0032-0633. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000285433200003 >.

FOX, M.; NOIKE, T. Wet oxidation pretreatment for the increase in anaerobic biodegradability of newspaper waste. **Bioresource Technology,** v. 91, n. 3, p. 273-281, Feb 2004. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000188981700007 >.

GÁMEZ, S. et al. Study of the sugarcane bagasse hydrolysis by using phosphoric acid. **Journal of Food Engineering** v. 74, n. 1, p. 78-88, 2006.

GRANATO, E. F.; SILVA, C. L. Geração de energia elétrica a partir do resíduo vinhaça. Encontro de Energia no Meio Rural, 4. Campinas 2002.

GREEN INVESTMENT BANK. **The UK Anaerobic Digestion Market**. Londres: Green Investment Bank, mar. 2015. Disponível em: <http://www.greeninvestmentbank.com/media/44758/gib-anaerobic-digestion-report-march-2015-final.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2016.

GODOI, L. A. G. **Interferência da sulfetogênese na produção de metano a partir de águas residuárias ricas em carboidratos**. Dissertação de Mestrado—São Carlos: Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos. Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, 2014.

JARDINE, J. G.; DISPATO, I.; PERES, M. R. Considerações Sobre o Bioetanol Lignocelulósico para Subsidiar a Elaboração de Conteúdo da Árvore do Conhecimento Agroenergia. AGROPECUÁRIA, E. I. Campinas: Embrapa Informática Agropeucária: 28 p. 2009.

JULKUNEN-TIITTO, R. Phenolic Constituents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics**. Agric. Food Chem.,** v. 33, n. 2, p. 213-217, 1985.

HARADA, H. et al. Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor. **Bioresource Technol**, v. 55, 1996.

IBRAHEEM, O.; NDIMBA, B. K. Molecular Adaptation Mechanisms Employed by Ethanologenic Bacteria in Response to Lignocellulose-derived Inhibitory Compounds. **International Journal of Biological Sciences,** v. 9, n. 6, p. 598-612, 2013. ISSN 1449-2288.

KAYEMBE, K. et al. Inhibitory Effects of Phenolic Monomers on Methanogenesis in Anaerobic Digestion. 1. v. 3, p. 32–41, 2013.

KLINKE, H. B.; THOMSEN, A. B.; AHRING, B. K. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology,** v. 66, n. 1, p. 10-26, Nov 2004. ISSN 0175-7598. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000225046200002 >.

LAZARO, C. Z. **Obtenção e caracterização filogenética de consórcio de bactérias fototróficas púrpuras não-sulfurosas consumidoras de ácidos orgânicos visando a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de batelada.** Dissertação de Mestrado—São Carlos: Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos. Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, mar. 2009.

LONGO, R. R. **Geração de metano em reator UASB: Avaliação de parâmetros de monitoramento para controle do processo de tratamento anaeróbio de vinhaça**. 2015. 146p. Dissertação (Mestrado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo Escola de Engenharia de São Carlos. São Carlos, 2015.

MARTINS, R.; OLIVETTE, M. P. d. A.; NACHILUK, K. SUSTENTABILIDADE: novos desafios e oportunidades para a produção paulista de cana-de-açúcar: Informações Econômicas, SP. 41 2011.

MADIGAN, M. T. et al. **Biology of Microorganisms**. 13a. ed. [s.l.] Benjamin Cummings, Pearson Education, 2011.

MCCARTY, P. L. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals. **Public Works, Chemistry and Microbiology**. v. 95, p. 107–126, Outubro 1964.

MONLAU, F. et al. Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. **Biotechnology Advances,** v. 32, n. 5, p. 934-951, 2014/10// 2014. ISSN 0734-9750. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975014000548 >.

MORENO-VIVIÁN, C.; FLORES, E. Nitrate Assimilation in Bacteria. In: **Biology of the Nitrogen Cycle**. ! ed. [s.l.] Bothe & Ferguson & Newton, 2006. p. 452.

MOSEY, F. E.. New Developments in the Anaerobic Treatment of Industrial Wastes. **Wat. Pollut. Control.** 4. v. 81, p. 540–552, 1982.

MONTEIRO, M. S. P.; PALMA, M. A. M.; ARICA, G. G. M. D. Estudo de viabilidade econômica do uso de um biodigestor anaeróbio para reduzir os impactos ambientais do processo de produção de álcool. XXX Encontro Nacional de Engenharia de Produção. Maturidade e desafios da Engenharia de Produção: competitividade das empresas, condições de trabalho, meio ambiente. . São Carlos, Brazil**:** 14 p. 2010.

NATIONAL RENEWABLE ENERGY LABORATORY. **Biogas Potential in United States**. Golden, Colorado USA: U.S. Department of Energy, Outubro 2013. Disponível em: <http://www.nrel.gov/docs/fy14osti/60178.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2016.

NOVACANA. Um negócio de US$ 107 bilhões: panorama do PIB da cadeia sucroenergética., 2015. Disponível em: < https://www.novacana.com/n/industria/usinas/negocio-us-100-bilhoes-panorama-pib-cadeia-sucroenergetica-031115/ >.

OGATA, B. H. **Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias.** 2013. 108p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.2013

OMIL, F.; LENS, P.; VISSER, A.; HULSHOFF POL, L.W.; LETTINGA, G. Long-term competition between sulphate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids. **Biotechnology bioengineering**, n. 57, 676-685p. 1998.

PEREIRA-RAMIREZ, O et al. Influência da recirculação e da alcalinidade no desempenho de um reator UASB no tratamento de efluente de suinocultura. **R. Bras. Agrociência.** v. 10, p. 103–110, 2004.

PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. **Bioresource Technology,** v. 74, n. 1, p. 17-24, Aug 2000. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000086842700003 >.

PANT, D.; ADHOLEYA, A. Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. **Bioresource Technology,** v. 98, n. 12, p. 2321-2334, Sep 2007. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS: 000246350000007 >.

PARK, J. H. et al. Optimization of batch dilute-acid hydrolysis for biohydrogen production from red algal biomass. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p. 6130-6136, 2013. ISSN 0360-3199. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319913001353 >.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.

ROCHA, M. C. V. et al. Avaliação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em reator anaeróbio em batelada com bioaumento para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário. In: 26º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. Porto Alegre/RS: 2011

ROSENKRANZ, F. et al. Relationship between phenol degradation efficiency and microbial community structure in an anaerobic SBR. **Water Research**, v. 47, n. 17, p. 6739-6749, 2013. ISSN 0043-1354. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135413006830 >.

RYZNAR-LUTY, A. et al. Aerobic Biodegradation of Vinasse by a Mixed Culture of Bacteria of the Genus *Bacillus:* Optimization of Temperature, pH and Oxygenation State. **Polish J. of Environ. Stud.,** v. 17, n. 1, p. 101-112, 2007.

SABUMON, P.C. Development of enhanced sulphidogenesis process for the treatment of wastewater having low COD/SO4 2- ratio. **Journal of Hazardous Materials**, n. 159, 616–625p. 2008.

SCHNEIDERS, D. et al . Atividade Metanogênica Específica (AME) de lodos industriais provenientes do tratamento biológico aeróbio e anaeróbio. **Rev. Ambient. Água**, Taubaté , v. 8, n. 2, p. 135-145, Aug.2013. Available from

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2013000200014&lng=en&nrm=iso>. access on 20 Nov. 2016. http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1098.

SHARMA, S. B. et al. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 587, 2013.

SIERRA-ALVAREZ, R.; LETTINGA, G. The methanogenic toxicity of wastewater lignins and lignin related compounds. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology,** v. 50, n. 4, p. 443-455, 1991. ISSN 1097-4660. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/jctb.280500403 >.

SILVA, F. V. Panorama e perspectivas do etanol lignocelulósico. **Revista Liberato**, v. 13, n. 20, p. 16, 2012.

SILVA, M. A. S. D.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** v. 11, n. 1, p. 108-114, 2007.

SOUZA, S. N. M. D.; SANTOS, R. F.; FRACARO, G. P. M. Potential for the production of biogas in alcohol and sugar cane plants for use in urban buses in the Brazil. World Renewable Energy Congress. Linkoping, Sweden: 6 p. 2011.

SPEECE, R. E. Bicarbonate Alkalinity. In: Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters. [s.l.] Vanderbilt University, 1996. p. 416.

STAMS, A. J. M. et al. Role of syntrophic microbial communities in high-rate methanogenic bioreactors. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 2, p. 352, 1 jun. 2012.

STAMS, A. J. M.; PLUGGE, C. M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. **Nat Rev Micro**, v. 7, n. 8, p. 568–577, ago. 2009.

SUBTIL, E.L.; CASSINI, S.T.A.; GONÇALVES, R.F. (2011) Sulphate and dissolved sulfide variation under low COD/Sulphate ratio in up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) treating domestic wastewater. **Interdisciplinary Journal of Applied Science**: v. 7, n.1, 130-139p.

SYDNEY, E. B. et al. Economic process to produce biohydrogen and volatile fatty acids by a mixed culture using vinasse from sugarcane ethanol industry as nutrient source. **Bioresource Technology,** v. 159, p. 380-386, May 2014. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000335393500050 >.

TORRY-SMITH, M.; SOMMER, P.; AHRING, B. K. Purification of bioethanol effluent in an UASB reactor system with simultaneous biogas formation. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 84, n. 1, p. 7-12, Oct 5 2003. ISSN 0006-3592. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000185013200002 >.

UNICA. Safra de Cana 2016/2017 cresce em produção e área. 2016. Disponível em: < http://www.unica.com.br/na-midia/29063662920340989 32/safra-de-cana-2016-por-cento2F17-cresce-em-producao-e-area/ >. Acesso em: 27 jul 2016.

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

WANG, R. et al. **Effect of High Ortophosphate Concentrations on Methane Production During Mesophilic Anaerobic Digestion**. Vancouver, CA: modelEAU, jul. 2013. Disponível em: <http://modeleau.fsg.ulaval.ca/no_cache/publications/>. Acesso em: 11 out. 2016.

WEIJMA, J. et al. The effect of sulphate on methanol conversion in mesophilic upflow anaerobic sludge bed reactors. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 9, p. 1259–1266, 2003.

ZUCCARI, M. L.; GRANER. C. A. F.; LEOPOLDO. P. R. Determinação da demanda química de oxigênico (DQO) em águas e efluentes por método colorimétrico alternativo. **Energ. Agric**. Botucatu. v. 20. N. 4. p. 69-82. 2005.

APÊNDICES

A. Caracterização físico-química dos materiais de estudo: Inóculo Metanogênico, Vinhaça 1G e Vinhaça 2G.

Tabela I. Caracterização em Sólidos Totais, Sólidos Totais Fixos e Sólidos Totais Voláteis

Sólidos Totais (mg L^{-1})					
Amostra	Repetição	ST (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Lodo Metanogênico	1	30300,000	26965,000	4716,402	-
	2	23630,000			
Vinhaça 1G	1	28300,000	28695,000	558,614	DQO amostra analisada: 37176,34 mgO_2 L^{-1}
	2	29090,000			
Vinhaça 2G	1	18240,000	17600,000	905,097	DQO amostra analisada: 4292,4 mgO_2 L^{-1}
	2	16960,000			
Sólidos Totais Fixos (mg L^{-1})					
Amostra	Repetição	STF (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Lodo Metanogênico	1	10300,000	9065,000	1746,554	-
	2	7830,000			
Vinhaça 1G	1	7790,000	7840,000	70,711	DQO amostra analisada: 37176,34 mgO_2 L^{-1}
	2	7890,000			
Vinhaça 2G	1	5880,000	5880,000	2,010E-09	DQO amostra analisada: 4292,4 mgO_2 L^{-1}
	2	5880,000			
Sólidos Totais Voláteis (mg L^{-1})					
Amostra	Repetição	STF (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Lodo Metanogênico	1	20000,000	17900,000	2969,848	-
	2	15800,000			
Vinhaça 1G	1	20510,000	20855,000	487,904	DQO amostra analisada: 37176,34 mgO_2 L^{-1}
	2	21200,000			
Vinhaça 2G	1	12360,000	11720,000	905,097	DQO amostra analisada: 4292,4 mgO_2 L^{-1}
	2	11080,000			

Tabela II. Caracterização em Demanda Química de Oxigênio

Amostra	Repetição	DQO (mgO_2 L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	32496,800	30732,800	2494,673	3,2º Brix
	2	28968,800			
Vinhaça 2G	1	12504,800	19038,133	8741,981	3,8º Brix
	2	28968,800			
	3	15640,800			

Tabela III. Caracterização em Teor de Glicerol

Amostra	Repetição	Glicerol (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	1956,850	1953,712	3,403	DQO amostra analisada: 30476,85 mgO_2 L^{-1}
	2	1950,094			
	3	1954,191			
Vinhaça 2G	1	661,073	660,215	1,966	DQO amostra analisada: 17923,23 mgO_2 L^{-1}
	2	657,965			
	3	661,606			

Tabela IV. Caracterização em Açúcares Residuais

Amostra	Repetição	Glicose (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	81,345	88,040	8,838	DQO amostra analisada: 30476,85 mg L^{-1}
	2	84,716			
	3	98,058			
Vinhaça 2G	1	64,756	62,617	1,870	DQO amostra analisada: 17923,23 mg L^{-1}
	2	61,801			
	3	61,293			

Tabela IV. Caracterização em Açúcares Residuais (Continuação)

Amostra	Repetição	Frutose (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	122,425	129,621	12,942	DQO amostra analisada: 30476,85 mg L^{-1}
	2	121,876			
	3	144,561			
Vinhaça 2G	1	316,770	305,684	10,630	DQO amostra analisada: 17923,23 mg L^{-1}
	2	304,704			
	3	295,578			
Amostra	Repetição	Xilose (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	ND	-	-	DQO amostra analisada: 30476,85 mg L^{-1}
	2	ND			
	3	ND			
Vinhaça 2G	1	100,218	98,859	3,100	DQO amostra analisada: 17923,23 mg L^{-1}
	2	101,047			
	3	95,312			
Amostra	Repetição	Arabinose (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	ND	-	-	DQO amostra analisada: 30476,85 mg L^{-1}
	2	ND			
	3	ND			
Vinhaça 2G	1	11,617	11,447	0,733	DQO amostra analisada: 17923,23 mg L^{-1}
	2	10,644			
	3	12,080			
Amostra	Repetição	Sacarose (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	275,117	283,122	15,889	DQO amostra analisada: 30476,85 mg L^{-1}
	2	272,828			
	3	301,422			
Vinhaça 2G	1	69,898	63,976	6,729	DQO amostra analisada: 17923,23 mg L^{-1}
	2	65,371			
	3	56,658			

Tabela V. Caracterização em Teor de Ácidos Orgânicos

Amostra	Repetição	Ácido Acético (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	3265,760	2508,920	1070,333	DQO amostra analisada: 46961,39 mg L^{-1}
	2	1752,080			
Vinhaça 2G	1	2453,480	3121,400	944,582	DQO amostra analisada: 4292,4 mg L^{-1}
	2	3789,320			
Amostra	Repetição	Ácido Butírico (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	ND	-	-	DQO amostra analisada: 46961,39 mg L^{-1}
	2	ND			
Vinhaça 2G	1	460,48	-	-	DQO amostra analisada: 4292,4 mg L^{-1}
	2	ND			
Amostra	Repetição	Ácido Láctico (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	857,580	872,940	21,722	DQO amostra analisada: 46961,39 mg L^{-1}
	2	888,300			
Vinhaça 2G	1	1666,680	1548,750	166,778	DQO amostra analisada: 4292,4 mg L^{-1}
	2	1430,820			
Amostra	Repetição	Ácido Succínico (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	3396,400	3641,830	347,090	DQO amostra analisada: 46961,39 mg L^{-1}
	2	3887,260			
Vinhaça 2G	1	3488,200	5376,880	2670,997	DQO amostra analisada: 4292,4 mg L^{-1}
	2	7265,560			

Tabela V. Caracterização em Teor de Ácidos Orgânicos (Continuação)

Amostra	Repetição	Ácido Iso-butírico (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	68,26	-	-	DQO amostra analisada: 46961,39 mg L^{-1}
	2	ND			
Vinhaça 2G	1	ND	-	-	DQO amostra analisada: 4292,4 mg L^{-1}
	2	ND			
Amostra	Repetição	Ácido Fórmico (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	403,84	-	-	DQO amostra analisada: 46961,39 mg L^{-1}
	2	ND			
Vinhaça 2G	1	ND	-	-	DQO amostra analisada: 4292,4 mg L^{-1}
	2	ND			

Tabela VI. Caracterização em Teor de Compostos Fenólicos Totais

Amostra	Repetição	Fenólicos Totais (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G	1	780,505	584,805	390,006	DQO amostra analisada: 46961,39 mg L^{-1}
	2	791,972			
	3	766,743			
Vinhaça 2G	1	546,560	542,737	4,774	DQO amostra analisada: 4292,40 mg L^{-1}
	2	544,266			
	3	537,385			

Tabela VII. Caracterização em Teor de Ânions

Amostra	Repetição		Cloreto (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	1718,765	1716,006	5,636	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	1719,732			
		3	1709,522			
Vinhaça 2G		1	877,219	872,059	9,112	DQO amostra analisada: 16972,21 mg L^{-1}
		2	877,420			
		3	861,538			
Amostra	Repetição		Nitrato (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	570,103	569,874	0,601	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	569,193			
		3	570,327			
Vinhaça 2G		1	563,306	563,143	0,490	DQO amostra analisada: 16972,21 mg L^{-1}
		2	562,592			
		3	563,531			
Amostra	Repetição		Fosfato (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	120,841	121,485	0,681	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	121,415			
		3	122,198			
Vinhaça 2G		1	ND	-	-	DQO amostra analisada: 16972,21 mg L^{-1}
		2	ND			
		3	ND			
Amostra	Repetição		Sulfato (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	4118,938	3816,815	263,340	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	3695,577			
		3	3635,930			
Vinhaça 2G		1	2229,254	2199,453	26,342	DQO amostra analisada: 16972,21 mg L^{-1}
		2	2179,276			
		3	2189,829			

Tabela VIII. Caracterização em Teor de Cátions

Amostra	Repetição		Sódio (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	5710,004	5501,097	261,847	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	5207,350			
		3	5585,938			
Vinhaça 2G		1	5044,893	5019,918	58,465977972948	DQO amostra analisada: 4292,40 mg L^{-1}
		2	4953,112			
		3	5061,748			
Amostra	Repetição		Potássio (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	10097,383	9702,493	583,586	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	9032,164			
		3	9977,932			
Vinhaça 2G		1	8737,993	8785,502	172,313	DQO amostra analisada: 4292,40 mg L^{-1}
		2	8641,928			
		3	8976,585			
Amostra	Repetição		Magnésio (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	1390,936	1929,718	466,599	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	2199,109			
		3	2199,109			
Vinhaça 2G		1	1777,201	1807,298	52,129533155400	DQO amostra analisada: 4292,40 mg L^{-1}
		2	1777,201			
		3	1867,492			
Amostra	Repetição		Cálcio (mg L^{-1})	Média (mg L^{-1})	Desvio Padrão	Detalhe
Vinhaça 1G		1	1177,982	1065,550	97,369	DQO amostra analisada: 34090,77 mg L^{-1}
		2	1009,334			
		3	1009,334			
Vinhaça 2G		1	1589,747	1544,562	78,263	DQO amostra analisada: 4292,40 mg L^{-1}
		2	1589,747			
		3	1454,191			