UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

RENAN COGHI ROGERI

**ESTRATÉGIAS DE ALCALINIZAÇÃO NO PROCESSAMENTO ACIDOGÊNICO
DA VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR: DESEMPENHO DO SISTEMA E
INFLUÊNCIA NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS**

SÃO CARLOS

2022

RENAN COGHI ROGERI

ESTRATÉGIAS DE ALCALINIZAÇÃO NO PROCESSAMENTO ACIDOGÊNICO DA
VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR: DESEMPENHO DO SISTEMA E INFLUÊNCIA NA
PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia
de São Carlos da Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciências: Engenharia
Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo José da Silva

VERSÃO CORRIGIDA

SÃO CARLOS

2022

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

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

R722e Rogeri, Renan Coghi
Estratégias de alcalinização no processamento
acidogênico da vinhaça de cana-de-açúcar: Desempenho do
sistema e influência na produção de biogás / Renan
Coghi Rogeri; orientador Ariovaldo José da Silva. São
Carlos, 2021.

Dissertação (Mestrado) - Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e
Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2021.

1. Digestão anaeróbia com separação de fases.
2. Processo acidogênico - sulfetogênico. 3. Potencial
de alcalinização. 4. Recuperação energética . 5.
Produção de metano e biohidrogênio. 6. Vinhaça de cana-
de-açúcar. 7. AnSTBR. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **RENAN COGHI ROGERI**.

Título da dissertação: "Estratégias de alcalinização no processamento acidogênico da vinhaça de cana-de-açúcar: desempenho do sistema e influência na produção de biogás".

Data da defesa: 01/10/2021.

Comissão Julgadora

Resultado

Prof. Dr. Ariovaldo José da Silva

APROVADO

(Orientador)

(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

Dr. Moacir Messias de Araújo Júnior

APROVADO

(BIOPROJ)

Dr. Lucas Tadeu Fuess

APROVADO

(Pós-Doutorando/EP-USP)

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Dr. **Luiz Antonio Daniel**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, gostaria de agradecer minha família, em especial minha mãe e minha avó pelo amor incondicional e por sempre me apoiarem em todas as escolhas. Sem dúvida não teria conseguido avançar até aqui se não fosse o apoio de ambas durante toda a minha vida. Ao meu pai e sua companheira Silvia, aos meus irmãos Lucas e Renata, que carrego sempre comigo onde quer que eu esteja.

Minha total admiração e respeito a todos os profissionais dos serviços essenciais da Universidade que conseguiram manter a USP em funcionamento dentro das restrições impostas pela pandemia. A todos os trabalhadores da limpeza, segurança e do restaurante universitário que se quer tiveram a chance de escolher ficar em casa durante períodos críticos da pandemia. Espero que fique ainda mais claro para todos a nobreza e importância desses profissionais e que possam ter mais direitos e reconhecimento dentro de suas funções.

Meus agradecimentos ao meu orientador prof. Ariovaldo, por todo o apoio, por ter aceitado essa orientação “no meio do caminho” e por ter acreditado no meu trabalho. Ao prof. Valdir pelo acolhimento desde o início, pelas conversas e convivência durante o período em que estive sob sua orientação. A prof. Márcia, que fez esse trabalho se tornar possível desde sua concepção, por toda atenção e disponibilidade, pelo exemplo de pessoa que é e tanto admiro. Ao prof. Roberto (Robertão) e toda família maravilhosa que tive o privilégio de conviver durante um ano da minha vida, pessoas fundamentais no meu processo de evolução pessoal.

Ao excelentíssimo Lucas Fuess, ou Luquinhas, pela contribuição imensurável para esse projeto acontecer, desde a qualificação/concepção, montagem dos reatores e operação. Principalmente pelas conversas, caronas, convivência e por estar sempre disposto a ajudar diante das adversidades operacionais. Ao Felipe, por estar sempre disposto a ajudar no que for necessário, desde o período de operação até a realização de análises e preparo de amostras. Ao prof. Marcelo pela excelente coordenação do laboratório diante de todas adversidades postas com relação à pandemia, conduzindo o funcionamento do LPB da forma mais segura e sempre presente (remotamente) para resolver o que fosse necessário.

Aos professores Foresti e Campos, duas personalidades ímpares e fundamentais na construção da história do SHS e do tratamento de águas residuárias no país. Mais do que isso, grandes pessoas que tive o privilégio de conhecer e aprender durante suas disciplinas e conversas enriquecedoras.

Aos meus grandes amigos e irmãos Dudu e Francisco, parceiros não só de laboratório, como de vida, casa, vivência, histórias e aprendizados, agradeço de coração por tudo que compartilhamos e aprendemos uns com os outros. Agradeço, também, à Carol pelo breve (período de tempo) e valiosos momentos compartilhados no início dessa jornada. Ao Thiago e Viviane pelo convívio diário e trocas de experiências no contexto domiciliar. Aos amigos feitos nessa jornada são-carlense incrível e de muito aprendizado: Johnnys, Potty, Fernando, Xandy, André, Gleyson, Kleber, Carol (Xavier) e Alan.

Gostaria de agradecer a todos os amigos que compartilharam das dificuldades de se fazer pesquisa experimental diante de todas as limitações impostas pela pandemia, em especial a Paula, Rhayssa, Matheus, Amanda, Danilo, Rafael, Sami, Lili e Mariê. Espero reencontrá-los futuramente em condições menos adversas. Aos colegas, parceiros de turno, bancada e conversas: Carol (Tavares), Cris, Henrique, Jean, Rachel, Rafaela, Monstro e Alex. As incríveis técnicas do LPB por estarem sempre à disposição na resolução de todos os problemas que rotineiramente surgiam: Carol (Sabatini), Janja, Elô e Isabel. Às secretarias do departamento: Sá, Priscila e Rose. Aos colegas do NEPER que tive o prazer de trabalhar junto durante meu primeiro ano de mestrado: Hylma, Ana Paula, Carol (Bianco), Jonatas, Juliana, Túlio, Isa e Gabi.

Por fim, meus agradecimentos a todos os profissionais do Sistema Único de Saúde (SUS) que estiveram enfrentando a pandemia na linha de frente desde sua chegada ao país e que exercem essa grandiosa função social que se fez mais necessária do que nunca durante esse período. Gostaria, também, de deixar meus sinceros sentimentos às centenas de milhares de brasileiros que perderam seus entes queridos diante do Covid-19 por negligência do Estado.

"Science is not only compatible with spirituality; it is a profound source of spirituality. When we recognize our place in an immensity of light-years and in the passage of ages, when we grasp the intricacy, beauty, and subtlety of life, then that soaring feeling, that sense of elation and humility combined, is surely spiritual. (...) The notion that science and spirituality are somehow mutually exclusive does a disservice to both"

Carl Sagan

RESUMO

ROGERI, R. C. **Estratégias de alcalinização no processamento acidogênico da vinhaça de cana-de-açúcar: Desempenho do sistema e influência na produção de biogás**. 2022. 144 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

A digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar em duas fases (acidogênica e metanogênica) tem se apresentado promissora no contexto de potencialização da produção bioenergética ao proporcionar condições de crescimento específicas e adequadas para os distintos grupos microbianos. Ademais, a fase acidogênica é caracterizada pela sua versatilidade (remoção de compostos sulfurosos, produção de bioH_2 e metabólitos solúveis) em função do pH operacional onde diferentes estratégias de alcalinização induzem a distintas rotas metabólicas. Por outro lado, em alguns casos a fase ácida pode reduzir o potencial de recuperação energética proveniente do processo metanogênico aumentando o potencial de competição e inibição do efluente acidificado. A vinhaça de cana-de-açúcar é caracterizada pela presença de sulfato (SO_4^{2-}) proveniente de especificidades do processo produtivo do etanol e, como parte da matéria orgânica é removida na primeira fase, a relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ torna-se mais crítica. Adicionalmente, o processo de remoção do H_2S do biogás (dessulfurização) e os custos operacionais vinculados à alcalinização dos biorreatores representam as principais barreiras econômicas para viabilização em escala real. O processo acidogênico – sulfetogênico, por sua vez, apresenta potencial para superar as referidas limitações através da remoção dos compostos sulfurosos (SO_4^{2-} e H_2S), tal característica reduz ou até mesmo elimina a contaminação do biogás metanogênico. Adicionalmente, a maioria das vias sulfetogênicas de conversão de compostos orgânicos possuem capacidade para geração de bicarbonato (HCO_3^-) e, ainda, apresentam potencial neutralizante ao consumir os íons H^+ do meio na produção de sulfeto. Nesse contexto, o presente estudo busca avaliar o potencial de alcalinização proporcionado pelo processo acidogênico – sulfetogênico e o impacto da adição de alcalinizante e/ou neutralizante no desempenho de ambas as etapas. Sendo assim, a fase experimental foi dividida em duas etapas: a primeira consistiu na operação paralela e contínua de 3 reatores (AnSTBR) por 60 dias, sob uma Carga Orgânica Volumétrica de $75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. O desempenho sulfetogênico (R1: pH > 6 – $\text{NaOH} + \text{NaHCO}_3$); a produção de bioH_2 (R2: pH > 5 – NaOH); a produção de ácido láctico (HLA) e outros metabólitos solúveis (R3: pH < 5 – sem alcalinizante) foram avaliados. Posteriormente, investigou-se o impacto de cada condição na produção de metano (CH_4), o potencial de alcalinização proporcionado pela sulfetogênese na fase ácida, o consumo de matéria orgânica e as características composicionais do biogás produzido através de reatores metanogênicos em batelada. As especificidades do efluente acidificado e de alcalinização da fase metanogênica (com ou sem NaHCO_3) impactaram os parâmetros cinéticos, o rendimento de CH_4 e o poder calorífico do biogás produzido. Por fim, uma análise do potencial global de recuperação energética (PGRE) e os custos operacionais vinculados à alcalinização de cada condição foram realizados. Apesar do processo acidogênico – sulfetogênico não ter apresentado o melhor desempenho energético para o sistema, o potencial de alcalinização proporcionado e a consequente redução dos custos operacionais justificam sua adoção em estudos futuros. Utilizando o processo como fonte biológica de bicarbonato e/ou agente neutralizante para garantir maior viabilidade econômica em sistemas de duas fases no processamento da vinhaça de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: digestão anaeróbia com separação de fases, processo acidogênico – sulfetogênico, potencial de alcalinização, recuperação energética, produção de metano e bioH_2 , vinhaça de cana-de-açúcar, AnSTBR

ABSTRACT

ROGERI, R. C. **Alkalinizing strategies on acidogenic processing of sugarcane vinasse: performance of the system and influence in biogas production.** 2022. 144 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

Two-phase anaerobic digestion (acidogenic and methanogenic) of sugarcane vinasse has been presented promising in the context of potentization on bioenergy production. This configuration provides specific and adequate growth conditions for distinct microbial groups. Moreover, the acidogenic phase is characterized by its versatility (removal of sulfur compounds, biohydrogen and soluble metabolites production) in the function of the operational pH where different alkalinizing strategies induce distinct metabolic routes. On the other hand, the acidogenic phase can reduce the energy recovery potential resulting from the methanogenic process increasing the competition and inhibition potential of acidified effluent. The sugarcane vinasse is characterized by the presence of sulfate (SO_4^{2-}) deriving from specificities of the production process of ethanol, where part of the organic matter is removed on the first phase and the relation COD/ SO_4 becomes more critical. Additionally, the removal of hydrogen sulfide (H_2S) from biogas (desulfurization) and the operational costs related to the alkalinization of bioreactors represents the main economic barriers for the viability of real scale. In turn, the acidogenic - sulfidogenic process presents the potential to overcome referred limitations through the sulfur compounds (H_2S and SO_4^{2-}) removal, reducing or even eliminating the methanogenic biogas contamination. Moreover, most of the sulfidogenic routes of organic matter conversion have the capacity for bicarbonate (HCO_3^{2-}) generation and present the neutralizing potential provided by the H^+ consumption of the medium through sulfide production. In this context, the present study aims to evaluate the alkalinizing potential of the acidogenic - sulfidogenic process and the impact of alkalizing and/or neutralizing agents on the performance of both processes. Therefore, the experimental phase was divided into two stages: the first one consisted of the operation of three continuous reactors (AnSTBR) in parallel for 60 days, submitted to an Organic Loading Rate (OLR) of $75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. The sulfidogenic performance (R1: $\text{pH} > 6$ - $\text{NaOH} + \text{NaHCO}_3$), biohydrogen production (R2: $\text{pH} > 5$ - NaOH) and lactic acid production (R3: $\text{pH} < 5$ - no pH adjustment) was evaluated. Subsequently, the impact of each condition on methane production, alkalinizing potential provided by sulfidogenesis in acidogenic process, organic matter consumption and compositional characteristics of biogas produced in methanogenic batch reactors was investigated. The specificities of acidified effluent and alkalinizing of methanogenic phase (with or without NaHCO_3) impacted the kinetic parameters, methane yield and calorific power of biogas produced. Finally, a global energy recovery potential (GERP) and operational costs related to the alkalinizing strategy of each condition were realized. Despite the acidogenic - sulfidogenic process have not presented the best energetic performance for the system, the alkalinizing potential provided and the consequent operational costs reduction justify your adoption in future studies. Utilizing the process as biological bicarbonate source and/or neutralizing agent to guarantee more economic viability on a two-phase system processing sugarcane vinasse.

Keywords: two-phase anaerobic digestion, acidogenic – sulfidogenic process, alkalinizing potential, energy recovery, methane and bioH_2 production, sugarcane vinasse, AnSTBR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo produtivo de etanol e açúcar em uma destilaria anexa.....	33
Figura 2 - Esquema das rotas metabólicas da digestão anaeróbia na presença de SO_4^{2-}	38
Figura 3 - Variação das espécies de sulfeto em função dos valores de pH com indicação das faixas ótimas para digestão anaeróbia (☐) e metanogênese (▨).....	40
Figura 4 - Fluxograma da metodologia.....	62
Figura 5 - Representação esquemática do sistema AnSTBR acidogênico.....	65
Figura 6 - Foto do sistema AnSTBR acidogênico em operação	66
Figura 7 - Representação esquemática da fase metanogênica.....	72
Figura 8 - Desempenho sulfetogênico e hidrogenogênico do processo em função do pH	80
Figura 9 - Desempenho geral (líquido, sólido e gasoso).....	85
Figura 10 - Características Composicionais do Biogás da fase Ácida.....	86
Figura 11 - Concentração de metabólitos solúveis da fase ácida	89
Figura 12 - Características composicionais da fração solúvel (DQO equivalente)	90
Figura 13 - pH efluente e Sulfato (entrada e saída)	99
Figura 14 - Relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ (afluente e efluente)	101
Figura 15 - Concentração de Sulfeto Total Dissolvido: real e proporcional ao teórico	102
Figura 16 - Dados experimentais e modelo cinético ajustado para a produção de CH_4	106
Figura 17 - Perfil de degradação da DQOs	109
Figura 18 - Características composicionais da DQOs (Afluente e Efluente).....	112
Figura 19 - Perfil do rendimento de metano (Methane Yield – MY).....	114
Figura 20 - “Box-plot” das características composicionais do biogás metanogênico	117
Figura 21 - Desempenho energético e custos vinculados à alcalinização do processo	118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aspectos qualitativos da vinhaça de cana-de-açúcar proveniente do caldo e/ou melaço	36
Tabela 2 - Energia Livre de Gibbs das Reações Acetogênicas, Metagênicas e Sulfetogênicas	39
Tabela 3 - Reatores acidogênicos – sulfetogênicos para remoção de compostos sulfurosos e produção de metabólitos solúveis	48
Tabela 4 - Características composicionais da vinhaça de cana-de-açúcar coletada	63
Tabela 5 - Características composicionais da vinhaça (São Martinho) acidificada	71
Tabela 6 - Parâmetros monitorados e métodos analíticos utilizados	78
Tabela 7 - Desempenho geral do sistema AnSTBR	82
Tabela 8 - Desempenho do processo acidogênico – sulfetogênico (R1)	98
Tabela 9 - Parâmetros cinéticos de produção de CH ₄	107
Tabela 10 - Desempenho da fração solúvel metanogênica	110
Tabela 11 - Potencial Global de Recuperação Energética (PGRE) e Valor Unitário (VU)...	118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFBR: *Anaerobic Fluidized-Bed Reactor* (Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado)

AI: Alcalinidade Intermediária

A/M: Relação Alimento/Microrganismos (F/M – Food/Microorganisms)

AM: Arqueias Metanogênicas

AnSTBR: *Anaerobic Structured-Bed Reactor* (Reator Anaeróbio de Leito Estruturado)

AOVs: Ácidos Orgânicos Voláteis

AP: Alcalinidade Parcial

APBR: *Anaerobic Packed-Bed Reactor* (Reator Anaeróbio de Leito Empacotado)

AVCC: Ácidos Voláteis de Cadeia Curta

AVCL: Ácidos Voláteis de Cadeia Longa

BF: Bactérias Fermentativas

bioH₂: bio-hidrogênio

BRS: Bactérias Redutoras de Sulfato

BuOH: Butanol

CH: Carboidratos Totais

CI₅₀: Concentração Inibitória Média

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento

COVa: Carga Orgânica Volumétrica Aplicada

COVe: Carga Orgânica Volumétrica Específica

CPA: Cerâmica Porosa de Alumina

CSTR: *Completely Stirred Tank Reactor* (Reator de Mistura Completa)

CSV: Carga de Sulfato Volumétrica

CSV_{conv.}: Carga de Sulfato Volumétrica Convertida

CV: Carvão Vegetal

DA: Digestão Anaeróbia

DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO: Demanda Química de Oxigênio

DQO_{AP}: Demanda Química de Oxigênio Aplicada

DQO_c: Demanda Química de Oxigênio Convertida

DQO_s: Demanda Química de Oxigênio Solúvel

DQO_t: Demanda Química de Oxigênio Total

EC_{CH}: Eficiência de Conversão de Carboidratos Totais

EC_{GLY}: Eficiência de Conversão de Glicerol

EC_{HLA}: Eficiência de Conversão de Ácido Lático

EGSB: *Expanded Granular Sludge Bed* (Reator de Leito Expandido e Lodo Granular)

ER_{DQOs}: Eficiência de Remoção de DQOs

ER_{DQOt}: Eficiência de Remoção de DQOt

ER_{SO4}: Eficiência de Remoção de SO₄²⁻

EtOH: Etanol

GEE: Gases de Efeito Estufa

GLY: Glicerol

HAc: Ácido Acético

HBu: Ácido Butírico

HCa: Ácido Caproico

HLA: Ácido Lático

HPr: Ácido Propiônico

HVa: Ácido Valérico

HY: *Hydrogen Yield* (Rendimento de hidrogênio)

i-HVa: Ácido Iso-Valérico

IPCC: *Intergovernmental Panel on Climate Change* (Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas)

n: número de mol

NTK: Nitrogênio Kjeldahl

MeOH: Metanol

MY: *Methane Yield* (Rendimento de Metano)

P: Pressão atmosférica

PCI: Poder Calorífico Inferior

PEBD: Polietileno de Baixa Densidade

PGRE: Potencial Global de Recuperação Energética

Proálcool: Programa Nacional do Álcool

PU: Espuma de Poliuretano

PVH: Produção Volumétrica de Hidrogênio

Q: Vazão

Q_R: Vazão de recirculação

SST: Sólidos Suspensos Totais

SSV: Sólidos Suspensos Voláteis

SSV_E: Sólidos Suspensos Voláteis Efluente

STD: Sulfeto Total Dissolvido

T: Temperatura

TBG: Taxa de Biogás

TDH: Tempo de Detenção Hidráulico

TRC: Tempo de Retenção Celular

UASB: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente)

UP: Usina da Pedra

UP-I: Usina da Pedra (Inóculo)

USM: Usina São Martinho

V: Volume

V_a: Velocidade Ascensional

VBG: Vazão de Biogás

VP_{BG-n}: Volume produzido de biogás no tempo “n”

VP_{CH4-n}: Volume produzido de metano no tempo “n”

VPA_{CH4-n}: Volume acumulado de metano no tempo “n”

V_u: Volume Útil

VU: Valor Unitário

LISTA DE SIMBOLOS

ΔG^0 : Energia Livre de Gibbs

%-CH₄: Fração de metano no biogás

%-CO₂: Fração de gás carbônico no biogás

%-H₂: Fração de hidrogênio no biogás

%-H₂S: Fração de sulfeto de hidrogênio no biogás

Al: Alumínio

C₀^{DQOs}: Concentração de DQOs inicial

C_R^{DQOs}: Concentração de DQOs residual

CaCO₃: Carbonato de Cálcio

Cd: Cádmiio

CH₄: Metano

C₆H₁₂O₆: Glicose

CO₂: Gás Carbônico

Cr: Cromo

Cu: Cobre

e: número de Euler

Fe: Ferro

GJ: Gigajoule

GWh: Gigawatt-hora

H₂: Hidrogênio

HCO₃⁻: Bicarbonato

H₂O: água

HS⁻: sulfeto ionizado

H₂S: sulfeto de hidrogênio (não – ionizado)

H₂SO₄: Ácido Sulfúrico

K⁺: Íon Potássio

k₁: constante cinética de consumo do substrato

Mn: Manganês

N: Nitrogênio

N₂: Nitrogênio Gasoso

N₂O: Óxido Nitroso

Na⁺: Íon Sódio

NaHCO₃: Bicarbonato de Sódio

NaOH: Hidróxido de Sódio

Nm³: metro cúbico na CNTP

NmL: mililitros na CNTP

P: Fósforo

P_{CH4}: Potencial de produção de metano

P_{0 (n)}: Pressão pré-injeção

P_(n-1): Pressão pós-injeção

R: Constante Universal dos Gases Perfeitos

R²: Coeficiente de Determinação

R_m: Taxa máxima de produção de metano

R\$: Real (moeda)

S: Enxofre

S²⁻: sulfeto ionizado

S_{DQOc}: substrato (CH, HLa e GLY) convertido em termos de DQO

S_{DQO(CH)}: carboidratos totais convertido em termos de DQO

S_{DQO(GLY)}: glicerol convertido em termos de DQO

S_{DQO(HLa)}: ácido láctico convertido em termos de DQO

SO₂: Dióxido de Enxofre

SO₄²⁻: Sulfato

TWh: Terawatt-hora

US\$: Dólar (moeda)

V_{CH4(t)}: Volume acumulado de metano no tempo “t”

X₀: Quantidade de biomassa (aderida e suspensa) na partida do reator

X_A: Quantidade de biomassa aderida

X_E : Quantidade total de biomassa efluente (lavada)

X_n : Quantidade de biomassa acumulada no tempo “n”

X_{n-1} : Quantidade de biomassa acumulada no tempo “n – 1”

X_S : Quantidade de biomassa suspensa

X_T : Quantidade de biomassa produzida

$Y_{X/S}$: Coeficiente de Rendimento Celular

Z_n : Zinco

λ : Fase lag

α : Fator de significância

η_{el} : eficiência elétrica do motor

η_{th} : eficiência térmica do motor

η_{el+th} : eficiência global (elétrica + térmica) do motor

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	27
2. OBJETIVOS	30
2.1. Objetivo Geral.....	30
2.2. Objetivos Específicos	30
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
3.1. Agroindústria Sucroalcooleira	31
3.1.1. Processo Produtivo.....	32
3.1.2. Vinhaça: aspectos quantitativos e características composicionais	34
3.2. Digestão Anaeróbia.....	37
3.2.1. Reatores de Alta Taxa aplicados no Tratamento de Águas Residuárias	41
3.2.2. Remoção de Compostos Sulfurosos na Fase Acidogênica.....	46
3.3. Biodigestão Anaeróbia da Vinhaça	51
3.3.1. Fase Única: Limitações em Relação à Recuperação Energética.....	53
3.3.2. Duas fases: Versatilidade da etapa acidogênica	56
4. MATERIAIS E MÉTODOS	62
4.1. Vinhaça.....	63
4.2. Fase Acidogênica.....	64
4.3. Fase Metanogênica.....	71
4.4. Potencial de Recuperação Energética e Valor Unitário	75
4.5. Métodos Analíticos.....	77

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
5.1. Fase Acidogênica.....	79
5.1.1. Alcalinização: estabelecimento da sulfetogênese, produção de bioH ₂ e conversão de compostos orgânicos	79
5.1.2. Metabólitos solúveis: produção de ácidos voláteis e solventes.....	88
5.1.3. Sulfetogênese: inóculo, competição e inibição	97
5.2. Fase metanogênica	106
5.2.1. Desempenho geral: cinética, consumo de DQOs e rendimento de CH ₄	106
5.2.2. Aspectos energéticos e econômicos do sistema	115
6. CONCLUSÕES.....	121
7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	123
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124

1. INTRODUÇÃO

Encontrar uma solução para os problemas inter-relacionados de crescimento populacional, escassez energética e mudanças climáticas é um dos grandes desafios do século XXI. A população global aumentou drasticamente no século passado devido ao acentuado processo de industrialização, que só foi viabilizado devido ao uso intensivo dos combustíveis fósseis (petróleo, carvão mineral e gás natural). Essas fontes energéticas, além de serem esgotáveis, são responsáveis diretas por uma crescente crise ambiental em escala global (JONES & WARNER, 2016). A utilização destes combustíveis para geração de energia resulta na liberação de gases de efeito estufa (GEE), principalmente o dióxido de carbono (CO_2), que é caracterizado por ser a principal fonte de emissões antropogênicas de GEE. Desta forma, o aquecimento global está fundamentalmente vinculado ao futuro da produção energética (HÖÖK & TANG, 2013).

Dentre as alternativas, encontram-se os biocombustíveis que são derivados de biomassa renovável e podem substituir, parcial ou totalmente, os combustíveis fósseis. No Brasil, consolidou-se a indústria sucroalcooleira que têm como principais produtos o etanol, o açúcar e a bioeletricidade proveniente da combustão do bagaço. Entretanto, ainda é necessário estudar alternativas para a destinação da vinhaça, o principal efluente gerado na cadeia produtiva. Devido à presença de macro e micronutrientes em sua composição, a prática mais utilizada em território nacional é a fertirrigação nas próprias culturas de cana-de-açúcar. Porém tal prática, se realizada de maneira intensiva, pode acarretar sérios danos ambientais para o solo, recursos hídricos e atmosfera. O alto teor de matéria orgânica, características ácidas e corrosivas, assim como a presença de compostos sulfurosos resultantes de determinadas etapas do processo produtivo, conferem um elevado potencial poluidor a essa água residuária (FUESS & GARCIA, 2014).

A digestão anaeróbia (DA) apresenta-se como um processo ambientalmente sustentável a ser empregado no tratamento da vinhaça. Além de diminuir o potencial poluidor deste efluente e conservar suas características nutricionais, permite extrair um novo biocombustível através do biogás, o qual é composto majoritariamente por metano (CH_4) e pode ser utilizado como fonte energética (MORAES et al., 2014). Garantindo maior sustentabilidade ambiental e diversificando a extração de produtos de valor agregado dentro do ciclo produtivo nas biorrefinarias de cana-de-açúcar. A separação de fases (acidogênica e metanogênica) vem sendo aplicada em diversos estudos com êxito no que se refere ao aumento do potencial de

recuperação energética. Uma vez que proporciona, separadamente, condições operacionais e ambientais adequadas para os distintos grupos microbianos responsáveis pela conversão dos compostos orgânicos (FOX & POHLAND, 1994; POHLAND & GHOSH, 1971).

A etapa acidogênica apresenta uma grande versatilidade para produção de compostos orgânicos solúveis, produção de hidrogênio (bioH_2) e potencialidade de remoção de compostos sulfurosos (SO_4^{2-} e H_2S) através do estabelecimento da sulfetogênese (FUESS et al., 2019; PIFFER et al., 2021). A produção de bioH_2 é o aspecto que mais tem sido estudado nos últimos anos pois garante uma diversificação da extração de bioenergia e elevada produção de ácidos orgânicos. O estabelecimento das Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS), por sua vez, pode eliminar o potencial de competição e inibição causado pela presença de sulfato (SO_4^{2-}): seja através da redução da competição pelos mesmos substratos das BRS com a comunidade metanogênica e consequente redução da produção de CH_4 (KIYUNA et al., 2017) ou através da formação de sulfeto ($\text{HS}^- / \text{H}_2\text{S}$) na fase ácida em que as comunidades microbianas são menos susceptíveis à inibição pelos referidos compostos tóxicos (CHEN et al., 2008; GIL-GARCIA et al., 2018; MAILLACHERUVU et al., 1993). O sulfeto é eliminado através do biogás gerado no processo e, em consequência, é reduzida a presença de compostos sulfurosos na fração solúvel e gasosa da etapa subsequente. O pH operacional é considerado a principal variável para uma atividade hidrogenogênica (5 – 5,5) ou sulfetogênica (6 – 6,5) estável e otimizada (FUESS et al., 2019; PIFFER et al., 2021). Sendo assim, a estratégia de alcalinização da fase acidogênica é um parâmetro de extrema importância a ser definida de acordo com a finalidade do processo.

Em termos energéticos, o biogás rico em H_2 apresenta baixa contribuição levando em consideração o potencial global do sistema (FERRAZ JR. et al., 2016; FUESS et al., 2017b; 2018c, 2019; LUO et al., 2011). O aumento da biodegradabilidade do efluente é considerado o principal aspecto responsável pela maior conversão de matéria orgânica e, em consequência, produção de metano (CH_4). Sendo assim, a adoção de diferentes estratégias de alcalinização na fase ácida e, consequentemente, indução de distintas rotas metabólicas tende a impactar a geração de biogás na fase metanogênica, tanto em termos quantitativos quanto qualitativos. A remoção de H_2S da fração gasosa (dessulfurização) representa uma etapa indispensável previamente ao seu aproveitamento energético, uma vez que é caracterizado como um composto altamente corrosivo (SUN et al., 2015). Em termos econômicos, o referido processo ainda é apontado como uma das principais barreiras financeiras para o aproveitamento energético do biogás na indústria sucroalcooleira brasileira. Nesse caso, devido à carência de

tecnologias nacionais, o valor unitário (R\$/GJ) é impactado diretamente pelas taxas de importação e poder de compra da moeda local (LEME & SEABRA, 2017).

Adicionalmente, uma característica intrínseca das rotas de conversão de compostos orgânicos pelas BRS é o de geração de bicarbonato (HCO_3^-) por vias biológicas (GIL-GARCIA et al., 2018; WANG et al., 2008) e a geração de sulfeto agir como um agente neutralizante ao consumir os íons de H^+ do meio reacional (GODOI et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2021). Tal fato pode proporcionar uma redução ou até mesmo eliminação do uso de alcalinizantes químicos na etapa metanogênica das plantas de DA com separação de fases. No contexto da vinhaça de cana-de-açúcar, a alcalinização é considerada a principal variável que define sua viabilidade econômica, em específico o agente químico utilizado (NaOH ou NaHCO_3) em adição ou não à recirculação no processamento da vinhaça de cana-de-açúcar em duas fases (FUESS et al., 2017a, 2018b). Apesar das características alcalinizantes, esse aspecto é praticamente inexplorado na literatura técnica em sistemas metanogênicos precedidos por uma etapa acidogênica – sulfetogênica.

Nesse contexto, o presente trabalho buscou avaliar o impacto da estratégia de alcalinização tanto no desempenho do processo acidogênico em termos de produção de bioH_2 , remoção de compostos sulfurosos (SO_4^{2-} e H_2S) e geração de metabólitos orgânicos solúveis; quanto em relação à influência exercida pela referida variável na etapa metanogênica em termos de produção de CH_4 , consumo de compostos orgânicos, características composicionais do biogás e potencial de recuperação energética. Adicionalmente, a capacidade de alcalinização proporcionada pelo estabelecimento da sulfetogênese na fase ácida também foi investigada, bem como seu impacto em termos de valores unitários ($\text{US\$ GWh}^{-1}$).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência exercida pelo alcalinizante (NaOH e/ou NaHCO₃) no processo acidogênico da vinhaça de cana-de-açúcar submetidos à Carga Orgânica Volumétrica (COVa) otimizada ($\sim 75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) em Reatores Anaeróbios de Leito Estruturado (AnSTBR). Posteriormente, na biometanização do efluente acidificado.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a conversão de substratos, rotas metabólicas, produção de bio-hidrogênio e remoção de compostos sulfurosos (SO₄²⁻ e H₂S) sob diferentes estratégias de alcalinização na fase acidogênica;
- Avaliar a influência exercida por cada condição na fase metanogênica, com relação à produção de metano (CH₄), consumo de matéria orgânica, parâmetros cinéticos e características composicionais do biogás;
- Investigar o potencial de alcalinização proporcionado à etapa metanogênica devido ao estabelecimento da sulfetogênese na fase ácida;
- Avaliar o impacto de cada condição no potencial global de recuperação energética e aos custos operacionais vinculados à estratégia de alcalinização adotada em cada caso.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Agroindústria Sucroalcooleira

A produção de etanol tem se tornado cada vez mais atrativa devido a duas principais razões. A primeira é que consiste em uma tecnologia consolidada que pode ser proveniente de uma grande diversidade de biomassa nas mais distintas condições climáticas, tornando-se uma alternativa viável mundialmente para substituir a utilização de combustíveis fósseis em veículos automotivos. A segunda é que se trata de uma fonte renovável de energia com menores emissões de CO₂ durante sua combustão se comparados aos combustíveis fósseis. Sendo assim, contribui para a diminuição das emissões antropogênicas de GEE (WILKIE et al., 2000; FURTADO et al., 2011).

Em busca de alternativas para a primeira grande “crise do petróleo”, o governo brasileiro implementou o Programa Nacional do Álcool (Proálcool) em 1975, que tinha como objetivo estimular a indústria sucroalcooleira devido aos elevados preços de importação do petróleo e às flutuações do preço do açúcar no mercado internacional. O excesso da produção de cana-de-açúcar naquele período foi transformado em etanol anidro, usado como aditivo na gasolina sem a necessidade de modificação nos motores dos veículos. (MOREIRA & GOLDEMBERG, 1999; GOLDEMBERG et al., 2008).

Com o aumento da produtividade agrícola e industrial, a agroindústria sucroalcooleira se consolidou pelo território nacional. No ano de lançamento do Proálcool, a produção de etanol durante aquela safra foi de 6.000 m³ (GOLDEMBERG et al., 2008) ao passo que na última safra (2020/2021) foi de 32,8 milhões de m³ (CONAB, 2021). Ainda assim, apresentando uma redução de 8,2% em comparação à safra 2019/2020 (35,6 milhões de m³), justificado devido à reduzida demanda por combustíveis em função da pandemia Covid-19 e condições de mercado favoráveis para produção de açúcar que, por sua vez, aumentou em 38,46% (CONAB, 2021).

O Brasil é o segundo maior produtor de etanol do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos. Ao contrário do sistema norte-americano que utiliza o milho como principal matéria-prima, o sistema brasileiro produz etanol a partir da cana-de-açúcar. O processo produtivo brasileiro é mais competitivo economicamente e gera menos GEE do que o americano, principalmente porque a energia requerida na usina é fornecida pela própria biomassa remanescente (bagaço), através de sua queima para cogeração de energia elétrica e térmica (MOREIRA & GOLDEMBERG, 1999; FURTADO et al., 2011).

3.1.1. Processo Produtivo

O etanol está agrupado em três diferentes categorias em função da matéria-prima e tecnologia de conversão utilizada para sua produção. A mais disseminada pelo mundo refere-se ao de primeira geração, que são produzidos através da fermentação de compostos que contenham açúcar ou amido, obtido através de culturas alimentícias destinadas para bioenergia. Também existe o de segunda geração que é proveniente de biomassa lignocelulósica agrícola e/ou florestal, bem como o de terceira geração que tem como matéria-prima a biomassa aquática como algas e cianobactérias (SALADINI et al., 2016).

No território brasileiro, consolidou-se a produção de etanol de primeira geração a partir da cana-de-açúcar. O processo produtivo de primeira geração pode ser proveniente do caldo da cana ou do melaço (subproduto da produção do açúcar), ou então uma mistura de ambos, dependendo do processo adotado por cada usina. Em destilarias autônomas o caldo da cana é utilizado somente para a produção de etanol, ao passo que em destilarias anexas uma fração deste caldo é direcionada para a produção de açúcar e a fração remanescente, junto com o melaço, é utilizada para a produção do etanol, conforme ilustra a Figura 1. Segundo dados da CONAB (2019), em território nacional 70,3% e 26,4% das unidades de processamento da cana-de-açúcar são anexas e autônomas, respectivamente, e as unidades remanescentes produzem apenas açúcar. A prevalência das plantas anexas no país está relacionada com a flexibilidade da instalação em produzir mais etanol ou mais açúcar em função das demandas do mercado interno e externo (MORAES et al., 2015).

Inicialmente, após passar pelo processo de limpeza para retirada de resíduos e impurezas, a cana é encaminhada à etapa de moagem, dando origem ao caldo e ao bagaço da cana-de-açúcar. Este caldo, antes de ser direcionado ao processo fermentativo, necessita ser clarificado e concentrado para obter-se uma concentração de açúcares adequada ao processo (DIAS et al., 2015). O bagaço é submetido ao processo de combustão em caldeiras gerando vapor, o qual é posteriormente expandido nas turbinas acopladas a geradores elétricos. Este mesmo vapor após passar pelos estágios de expansão na turbina pode ter sua energia térmica residual aproveitada como fonte de calor nas diversas operações do ciclo produtivo (SERRA et al., 2009).

A fermentação deste caldo, já clarificado e concentrado, ocorre nas dornas que são reatores operando em ciclos de “batelada” de curta duração (6-12 horas) com a utilização da levedura reciclada. Os açúcares são fermentados a etanol e outros subprodutos, dando origem

ao vinho fermentado que, por sua vez, precisa ser centrifugado para separação da levedura. O vinho é direcionado para colunas de destilação, enquanto o concentrado de levedura recebe um tratamento com ácido sulfúrico (H_2SO_4) que visa reduzir a contaminação bacteriana nos processos fermentativos subsequentes. Ao final da etapa de destilação é obtido o etanol hidratado, que poderá ser submetido ao processo de desidratação para produção do etanol anidro, mas também resulta na produção da vinhaça, principal efluente do processo produtivo (AMORIM et al., 2011; LOPES et al., 2016).

Figura 1- Processo produtivo de etanol e açúcar em uma destilaria anexa

Fonte: Adaptado de Amorim et al. (2011) e Cavalett et al. (2012).

Para produção do açúcar, o caldo da cana é clarificado e submetido ao processo térmico de evaporação para sua concentração e posterior cozimento com a finalidade de cristalização da sacarose. A separação de fases (sólida-líquida) desta solução resultante dos processos anteriores é realizada em centrifugas, obtendo-se o açúcar, destinado a um secador para retirada

da umidade dos cristais, e o melaço, usualmente misturado com o caldo da cana concentrado na linha de produção do etanol. Vale ressaltar ainda que, para a produção do “açúcar branco”, é empregado o dióxido de enxofre (SO_2) na etapa de clarificação do caldo em um processo denominado sulfitação (DIAS et al., 2015).

3.1.2. Vinhaça: aspectos quantitativos e características composicionais

O principal efluente gerado no ciclo produtivo do etanol é a vinhaça, também conhecida como vinhoto ou restilo, e é produzido no processo de destilação do caldo de cana e/ou melaço fermentado. Este resíduo líquido apresenta um grande potencial poluidor devido à elevada carga orgânica, características ácidas e corrosivas, assim como concentrações consideráveis de macro e micronutrientes. Em termos quantitativos, são gerados em média 12 L de vinhaça por litro de etanol produzido no Brasil (FUESS & GARCIA, 2014; LEME & SEABRA, 2017). Levando em consideração os dados apresentados pela CONAB (2021), na safra 2020/2021 foi gerado um volume total em torno de 394 milhões de metros cúbicos, ou bilhões de litros, de vinhaça no território nacional. Sendo assim, é necessário buscar alternativas ambientalmente sustentáveis e economicamente viáveis para sua destinação.

Apesar de seu potencial poluidor, a vinhaça apresenta algumas características que a torna adequada para sua utilização como fertilizante, principalmente a elevada presença de potássio (K^+), um nutriente raro nos solos brasileiros. Desta forma, a principal destinação tem sido a aplicação direta nas culturas de cana-de-açúcar em um processo denominado de fertirrigação. Essa prática tem por objetivo retornar a água e os nutrientes contidos neste efluente para o solo, reduzindo os custos com irrigação e fertilizantes químicos. (GODOI et al., 2019). No entanto, o uso intensivo desta prática em longo prazo pode acarretar diversos efeitos negativos para o ambiente, entre eles a salinização e acidificação do solo; aumento nas emissões de GEE em consequência da sobrecarga orgânica que induz à anaerobiose no meio, resultando na liberação de metano (CH_4) e, devido à presença de nitrogênio orgânico, óxido nitroso (N_2O); além do potencial de eutrofização das águas superficiais e subterrâneas por conta da lixiviação dos nutrientes presentes (FUESS & GARCIA, 2014; MORAES et al., 2017).

Os aspectos qualitativos e quantitativos da vinhaça variam de acordo com o período da safra e o processo produtivo adotado por cada usina. Sendo assim é necessário tomar conhecimento de tais variações para poder propor alternativas adequadas. Em destilarias anexas, quando há uma elevada produção de açúcar, significa que há grande quantidade de

melaço sendo destinado para a produção de etanol e isso resulta em maiores proporções de compostos orgânicos e recalcitrantes na vinhaça. Por outro lado, quando essa proporção é invertida e há maior produção de etanol, há um aumento no volume produzido e uma diminuição na concentração destes compostos (FUESS et al., 2017c, 2018c). A fim de comparação, a Tabela 1 apresenta as características qualitativas da vinhaça de primeira geração proveniente do caldo de cana, do melaço e da mistura de ambos.

Os componentes orgânicos da vinhaça são originados, principalmente, devido aos compostos presentes no melaço que não são capazes de serem fermentados, os produtos formados na fermentação e que não são extraídos na destilação, além dos resíduos de levedura que não foram separados no processo industrial. Dentre os componentes orgânicos identificados na vinhaça o carboidrato, glicerol, ácido láctico e sorbitol estão presentes em maiores concentrações (CARRILHO et al., 2016; FUESS et al., 2019). Em termos de compostos inorgânicos, alguns macro-nutrientes (N; P; S) são presentes em maiores quantidade e metais traço (Al; Cd; Cr; Cu; Fe; Mn; Zn) em baixas concentrações (FUESS et al., 2018c; GODOI et al., 2019). A presença de compostos sulfurosos causa grandes implicações quando presentes na vinhaça durante a fertirrigação. Esses compostos podem ser convertidos a sulfeto de hidrogênio (H_2S) sob condições de anaerobiose no solo (YANG et al., 1997), que é caracterizado como um gás tóxico e corrosivo com forte mau odor (LENS et al., 1998). Além disso, a presença do íon sulfato (SO_4^{2-}) pode inibir o crescimento da cana-de-açúcar e a síntese da clorofila, além de diminuir a assimilação de potássio e cálcio (JOSHI & NAIK, 1980).

Em estudo realizado por Fuess et al. (2018c), foi analisada a variação sazonal da composição desse efluente proveniente de uma destilaria anexa no estado de São Paulo durante a safra de 2014. Os resultados obtidos indicaram menor presença de SO_4^{2-} durante os meses em que a proporção de melaço na produção do etanol foi baixa, uma vez que é empregado o processo de sulfitação para a clarificação do açúcar e isto implica na presença de compostos sulfurosos na vinhaça. Ainda segundo os autores, a presença de SO_4^{2-} foi maior ao final da safra, mesmo com um aumento proporcional da produção de etanol neste período (menores concentrações de melaço). Nesse caso, indicando que houve acúmulo deste composto de forma progressiva no decorrer da safra, devido ao tratamento da levedura com ácido sulfúrico para que esta pudesse ser reciclada nos ciclos fermentativos subsequentes.

Tabela 1 - Aspectos qualitativos da vinhaça de cana-de-açúcar proveniente do caldo e/ou melaço

Matéria-prima	DBO (g L ⁻¹)	DQO (g L ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	NTK (mg L ⁻¹)	P _{total} (mg L ⁻¹)	K (mg L ⁻¹)	pH	Referência
Caldo	15	22	400	400	58 ^(B)	nd	3,5	Driessen et al. (1994)
	16,7	30,4	1.356	628	130	1.952	4,0	Prodanović & Vasić (2013)
	5,6	16,7	383	97	98	3.175	3,8	Santos et al. (2017)
	nd	19,2	648	345	102	1.470	4,2	Del Nery et al. (2018)
	8,8	17,9	1.225	nd	nd	nd	4,5	Santos et al. (2019)
Melaço	nd	70 - 100	6.000 – 7.000	1.000 – 2.500	200 - 300	11.700 – 17.500	4,0	Riera et al. (1985)
	52 - 58	92 - 100	2.100 - 2.300	1.600 - 1.800	300 - 400	8.700 - 9.700	4,2 - 4,3	Nandy et al. (2002)
	48	108,4	4.940	1.871	220	7.650	4,0	Chaudhari et al. (2008)
	42	90	5.760	2.800	5,4 ^(B)	nd	4,1	Chandra & Kumar (2017)
	36	139,7	4.983	1.154	45	nd	4,0	Fito et al. (2017)
	59	129	7.445	353 ^(A)	nd	11.082	nd	Chen et al. (2020)
Caldo + Melaço	nd	36,0 - 49,0	2.300 - 2.900	570 - 1.603	35 - 111	2.334 - 3.147	4,3 - 4,6	Siqueira et al. (2013)
	nd	32,1 - 33,9	2.100 - 2.900	1.354 - 1.619	208 - 236	4.200 - 4.800	4,3	Santos et al. (2014)
	16,7	35,2	1.400	700	160	nd	4,6	Ferraz Jr. et al. (2015b)
	14,6	28,3	1.700	862	113	nd	4,5	Fuess et al. (2016)
	19,2	24,2	1.800	774	147	nd	4,6	Kiyuna et al. (2017)

Siglas: DBO = demanda bioquímica de oxigênio; DQO = demanda química de oxigênio; NTK = nitrogênio total Kjeldahl; P_{total} = fósforo total; nd = dado não disponível. Notas:

^(A) Representa o valor da concentração de amônia (NH₄⁺); ^(B) Representa o valor da concentração fosfato (PO₄³⁻).

Uma alternativa para o tratamento da vinhaça é a Digestão Anaeróbia (DA). Tal prática permite a redução da carga orgânica, remoção dos compostos sulfurosos e conservação de grande parte dos nutrientes presentes como o potássio, nitrogênio e o fósforo. Tornando-se um efluente mais adequado, do ponto de vista ambiental, para ser utilizado como fertilizante após a DA. Além disso, este processo gera como subproduto um biogás composto, majoritariamente, por metano (CH_4) e que, devido ao seu intrínseco poder calorífico, pode ser utilizado para fins energéticos. Seja através da cogeração de energia elétrica e térmica ou de sua utilização como combustível automotivo (MORAES et al., 2014).

3.2. Digestão Anaeróbia

A digestão anaeróbia consiste em um processo biológico que ocorre na ausência de oxigênio por meio do qual diferentes populações microbianas interagem no processo de degradação da matéria orgânica, onde os subprodutos são produzidos e consumidos por tais populações. Nesse processo é gerado o biogás composto, principalmente, por metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e, em alguns casos onde há presença de compostos sulfurosos, sulfeto de hidrogênio (H_2S).

A rota de degradação anaeróbia da matéria orgânica, ilustrada na Figura 2, é dividida em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Inicialmente, a matéria orgânica complexa é hidrolisada pelas bactérias hidrolíticas fermentativas a compostos orgânicos mais simples (monômeros) que, por sua vez, são fermentados pelas bactérias acidogênicas a ácidos orgânicos voláteis (AOVs), álcoois, hidrogênio (H_2) e dióxido de carbono (CO_2). Posteriormente, as bactérias acetogênicas convertem a acetato os compostos gerados na fase anterior, além de gerar como subprodutos mais H_2 e CO_2 . Por fim, o CH_4 é formado na metanogênese pela via acetoclástica, através do acetato, ou pela via hidrogenotrófica, através do H_2 e do CO_2 . Quando há presença de sulfato (SO_4^{2-}) na água residuária, é estimulada a atividade das Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) que utilizam os produtos da fermentação como doadores de elétrons para redução do SO_4^{2-} . Consequentemente ocorre alteração das rotas metabólicas resultando na formação de sulfeto de hidrogênio em seu estado líquido e gasoso.

sintrófica entre as bactérias acetogênicas oxidativas com as metanogênicas hidrogenotróficas (Reação 20 – Tabela 2) e homoacetogênicas (Reação 5 – Tabela 2) que consomem constantemente o H_2 e são responsáveis pela manutenção da pressão parcial deste gás no meio (HARPER & POHLAND, 1986). As reações sulfetogênicas (Tabela 2 – Reações 6-18), por sua vez, independem da pressão parcial do H_2 , são favoráveis do ponto de vista termodinâmico e da geração de alcalinidade a bicarbonato (HCO_3^-).

Tabela 2 - Energia Livre de Gibbs das Reações Acetogênicas, Metanogênicas e Sulfetogênicas

Processo	Reação	ΔG^0 (kJ.mol ⁻¹)
Acetogênese	1) Propionato + 3H ₂ O → Acetato + H ⁺ + HCO ₃ ⁻	+ 76,1
	2) Butirato + 2H ₂ O → 2 Acetato + H ⁺	+ 48,1
	3) Etanol + H ₂ O → Acetato + H ⁺ + 2H ₂	+ 9,6
	4) Lactato + 2H ₂ O → Acetato + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 2H ₂	-4,2
	5) 2 HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + H ⁺ → Acetato + H ₂ O	-104,6
Sulfetogênese	6) 3 SO ₄ ²⁻ + 4 Propionato → 3HS ⁻ + 4 HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 4 Acetato	-150,6
	7) SO ₄ ²⁻ + 2 Butirato → HS ⁻ + H ⁺ + 4 Acetato	-55,5
	8) SO ₄ ²⁻ + 2 Etanol → HS ⁻ + 2 H ₂ O + H ⁺ + 2 Acetato	-132,7
	9) SO ₄ ²⁻ + 2 Lactato → HS ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 2 Acetato	-160,1
	10) SO ₄ ²⁻ + Glicose → HS ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻ + 3H ⁺ + 2 Acetato	-358
	11) SO ₄ ²⁻ + Acetato → HS ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻	-47,3
	12) 7 SO ₄ ²⁻ + 4 Propionato → 7 HS ⁻ + 12 HCO ₃ ⁻ + H ⁺	-341
	13) 10 SO ₄ ²⁻ + 4 Butirato → 10 HS ⁻ + 16 HCO ₃ ⁻ + 2H ⁺	-492
	14) 3 SO ₄ ²⁻ + 2 Etanol → 3 HS ⁻ + 4 HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 2 H ₂ O	-227,3
	15) 3 SO ₄ ²⁻ + 2 Lactato → 3 HS ⁻ + 6 HCO ₃ ⁻ + H ⁺	-255,3
	16) 3 SO ₄ ²⁻ + Glicose → 3 HS ⁻ + 6 HCO ₃ ⁻ + 3 H ⁺	-452,5
	17) 3 SO ₄ ²⁻ + 4 Metanol → 3 HS ⁻ + 4 HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ O + 4 H ⁺	-361,7
	18) SO ₄ ²⁻ + 4H ₂ + H ⁺ → HS ⁻ + 4H ₂ O	-152,2
Metanogênese	19) Acetato + H ₂ O → HCO ₃ ⁻ + CH ₄	-31
	20) HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + H ⁺ → CH ₄ + 3H ₂ O	-135,6

Fonte: Adaptado Harper & Pohland (1986) e Zhou & Xing (2015)

A partir da Tabela 2, pode-se observar que as BRS são muito versáteis e conseguem utilizar uma grande diversidade de compostos, orgânicos ou inorgânicos, como doadores de

elétrons. A redução do sulfato a partir da oxidação de compostos orgânicos pode ocorrer tanto pela via completa (Reações 12 – 17), onde esses compostos são convertidos a sulfeto e HCO_3^- , quanto pela via incompleta (Reações 6 – 11), onde os compostos intermediários da fermentação são convertidos a acetato e sulfeto. Adicionalmente, a sulfetogênese também pode ocorrer por via redutiva, onde o hidrogênio é utilizado como aceptor de elétrons a partir da rota hidrogenotrófica (Reação 18), resultando na produção de sulfeto e H_2O (LENS et al., 1998).

Devido à competição pelos mesmos substratos, quando o sulfato está presente em elevadas concentrações, há uma diminuição na produção de CH_4 , podendo causar até mesmo a inibição das AM. Além disso, as BRS também podem inibir a presença destes microrganismos devido à produção do sulfeto. Seja através da penetração na membrana celular em sua forma não-ionizada (H_2S) e consequente desnaturação de proteínas específicas, ou indiretamente através de sua forma ionizada (HS^- ou S^{2-}), que resulta no aumento da precipitação de metais essenciais ao crescimento destas bactérias (CHEN et al., 2008; SPEECE, 1983). A distribuição das espécies de sulfeto ($\text{S}^{2-} + \text{HS}^- + \text{H}_2\text{S}$) varia em função do pH da solução (Figura 3), na faixa entre 6 e 7 prevalece sua forma não-ionizada e para valores de pH acima deste intervalo predomina o sulfeto em suas formas ionizadas.

Figura 3 - Variação das espécies de sulfeto em função dos valores de pH com indicação das faixas ótimas para digestão anaeróbia (▨) e metanogênese (▩)

Fonte: Lens et al. (1998)

Em virtude da diversidade e da complexidade das populações microbianas envolvidas no processo, muitos fatores influenciam a seleção e o crescimento de tais populações. Entre eles estão os fatores ambientais (pH, alcalinidade e temperatura) e os requisitos nutricionais (macro e micronutrientes). Sendo assim, os reatores anaeróbios foram concebidos para proporcionar condições ideais para que tais reações ocorram e passaram por um processo de aprimoramento ao longo do tempo à medida que houve maior conhecimento biotecnológico.

3.2.1. Reatores de Alta Taxa aplicados no Tratamento de Águas Residuárias

Os reatores anaeróbios são aplicados há mais de 100 anos no tratamento de águas residuárias e diversas configurações foram desenvolvidas para melhorar a eficiência de remoção de matéria orgânica. Caracteriza-se por ser um sistema ambientalmente adequado pois, além de reduzir o potencial poluidor dos efluentes, possibilita recuperar energia através do biogás (metano) e compostos (nitrogênio, fósforo, enxofre e água). Sendo assim, é uma tecnologia de fundamental importância para cumprir as metas do desenvolvimento sustentável no futuro (CHERNICARO & BRESSANI-RIBEIRO, 2019; MCCARTY, 2001).

Até a década de 60, os sistemas mais utilizados no tratamento anaeróbio foram os de mistura completa (CSTR – *Completely Stirred Tank Reactor*). Entretanto, a grande desvantagem desta configuração é o fato de que o Tempo de Detenção Hidráulico (TDH) deve ser similar ao Tempo de Retenção Celular (TRC) para atingir a eficiência requerida ao processo. Nesse caso, a capacidade de conversão da matéria orgânica está intrinsecamente relacionada ao tempo de crescimento bacteriano. Uma vez que tais taxas de crescimento celular são baixas, se faz necessário grandes volumes para um desempenho adequado do sistema. Desta forma, o aumento da capacidade de tratamento só poderia ser atingido com um aumento da concentração de biomassa no meio (RITTMANN & MCCARTY, 2001).

Um fator fundamental para o êxito da aplicação do tratamento anaeróbio em grande escala foi a concepção dos reatores de alta taxa, o qual possibilitou atingir elevadas eficiências em sistemas mais compactos. Nesse caso, o lodo anaeróbio é retido dentro do sistema através da granulação, imobilização em um meio suporte (fixo ou móvel) ou sedimentação/recirculação. Sendo assim, para tais configurações de biorreatores o TRC independe do TDH. As configurações mais utilizadas são os reatores de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB - *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), os reatores de leito expandido e

lodo granular (EGSB - *Expanded Granular Sludge Bed*), ambos utilizam o mecanismo da granulação. Os filtros anaeróbios, também conhecidos como reatores de leito empacotado (APBR – *Anaerobic Packed-Bed Reactor*), consistem em uma tecnologia de leito fixo. E os reatores de leito fluidificado (AFBR – *Anaerobic Fluidized-Bed Reactor*) utilizam um meio suporte móvel no reator para a imobilização da biomassa (VAN LIER, 2008; VAN LIER et al., 2015).

Atualmente, os reatores de alta taxa supracitados possuem uma vasta aplicação no tratamento de águas residuárias, incluindo as que são caracterizadas por elevada concentração de compostos orgânicos e sulfato. Diversos estudos com efluente sintético, bem como águas residuárias industriais ricas em sulfato (mineração, papelreira, alimentícia e mineração) foram desenvolvidos para o estudo do processo sulfetogênico e a interação entre as comunidades microbianas envolvidas. Na sequência, serão abordados os fundamentos, vantagens e limitações de cada configuração.

O reator UASB foi desenvolvido por Gatze Lettinga e seu grupo de pesquisa durante os anos 70 (LETTINGA et al., 1980). A retenção da biomassa nesta configuração só foi possível devido ao desenvolvimento de um lodo granular com elevada capacidade de sedimentação e à aplicação do separador trifásico (líquido-sólido-gás) no reator (VAN LIER et al., 2015). Tais características permitem atingir uma elevada concentração de biomassa ($2 - 6 \text{ g L}^{-1}$) sem a utilização de um meio suporte, possibilitando operar com elevados TRC. Sendo assim, foi reduzido significativamente o volume do reator comparado aos outros sistemas de tratamento utilizados (CHERNICHARO & BRESSANI-RIBEIRO, 2019). Entretanto, esta tecnologia apresenta algumas limitações: [I] longo período de partida do reator devido ao tempo necessário para o lodo atingir a granulação adequada; [II] aplicação de elevadas cargas orgânicas volumétricas (COV) implica na perda de biomassa ativa junto com o efluente, devido ao baixo TDH e, conseqüentemente, elevadas velocidades ascensionais aplicadas (V_a); [III] efluentes com alta concentração de sólidos suspensos dificulta a granulação do lodo (EL-KAMAH et al., 2010; GOBI et al., 2011; HAMZA et al., 2016).

Tratando-se de efluentes com elevada concentração de sulfato, o reator UASB apresenta algumas limitações. É o caso da toxicidade do sulfeto em relação às comunidades microbianas presentes nos grânulos, principalmente às arqueias metanogênicas (LENS et al., 1998; LIN et al., 2001; RODRIGUEZ et al., 2012). Devido à baixa densidade das BRS e sua limitada capacidade de formar grânulos densos e firmes, a aplicação de elevadas cargas orgânicas facilita

a lavagem (“washout”) destes microrganismos junto com o efluente (LENS et al., 2002, 1998; SHAYEGAN et al., 2005; VALLERO et al., 2004).

Em escala piloto, o reator UASB apresentou algumas limitações relacionadas à mistura e contato entre grânulos e a água residuária, resultando em zonas mortas e redução da capacidade de remoção da matéria orgânica (VAN DER LAST & LETTINGA, 1992). A aplicação da recirculação do efluente e a utilização de reatores mais extensos (maior relação “Largura/Diâmetro”) deu origem ao sistema EGSB. Caracterizado pela maior capacidade de mistura e elevadas V_a , fatores que possibilitaram maior contato entre a água residuária e a biomassa, expansão do leito de lodo granular e, assim sendo, diminuição das zonas mortas (SEGHEZZO et al., 1998). Contudo, tal tecnologia ainda está susceptível à granulação para uma eficiente performance e, levando em consideração as características desfavoráveis anteriormente expostas das BRS, a aplicação de elevadas COV/V_a favorece a retirada destes microrganismos junto com o efluente.

A respeito dos sistemas de alta taxa com crescimento aderido, a tecnologia AFBR baseia-se no crescimento bacteriano em meio suporte móvel, o qual é mantido em suspensão de maneira ascendente devido à introdução de elevadas vazões de recirculação (Q_R). Areia fina, basalto, púmice ou plástico são alguns dos materiais suportes utilizados para o crescimento do biofilme em sua superfície, garantindo o contato com o substrato por estarem constantemente em movimento. É um sistema que permite a aplicação de elevadas cargas orgânicas volumétricas (até $60 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$). Todavia, em termos operacionais, a elevada Q_R requerida para fluidificação do leito¹ está vinculado a um alto consumo energético e, consequentemente, econômico. Outra desvantagem está relacionada ao controle do tamanho e da densidade das partículas que são influenciadas pelo crescimento do biofilme e, em longo prazo, pode haver um desequilíbrio entre as forças das biopartículas² e as que mantêm o leito fluidificado (ANDALIB et al., 2014; VAN HAANDEL & VAN DER LUBBE, 2019; VAN LIER et al., 2015)

Nos filtros anaeróbios, ou reatores anaeróbios de leito empacotado (*Anaerobic Packed Bed Reactors* – APBR), o material suporte preenche o meio reacional e proporciona uma

¹ Algumas condições operacionais reportadas na literatura atingem, aproximadamente, uma taxa de recirculação (Q_R/Q_A) = 180 – 230, alcançando elevadas velocidades ascensionais ($20 - 30 \text{ m h}^{-1}$) do efluente para fluidificação do leito no reator (DORNELLES et al., 2020; MACEDO et al., 2020).

² Biopartícula = Material suporte + Biofilme

superfície de contato para o crescimento bacteriano. O fluxo do efluente pode ser tanto ascendente quanto descendente. Diversos tipos de materiais, sintéticos ou naturais, têm sido estudados para serem empregados. Pesquisas indicam que a forma, tamanho, peso, área superficial específica e porosidade do meio suporte são aspectos importantes de serem levados em consideração (SPEECE, 1983; VAN LIER et al., 2015).

O sistema APBR possui algumas vantagens em relação aos reatores abordados anteriormente devido à utilização de um leito fixo: [I] curto período de partida quando aplicado um material suporte adequado (RAJESHWARI et al., 2000; VAN LIER et al., 2015); [II] capacidade de absorver choques de cargas orgânicas e tóxicas (FERRAZ JR. et al., 2014; VAN DEN BERG et al., 1985); [III] melhor estabilidade do processo quando aplicado elevadas cargas orgânicas devido à retenção da biomassa (RAJESHWARI et al., 2000). No entanto, a grande desvantagem desta configuração é manter um contato entre os microrganismos e o efluente de maneira constante. Devido ao crescimento microbiano e/ou à aplicação de águas residuárias com elevada concentração de sólidos suspensos, ocorre o entupimento do leito. Fato que resulta em caminhos preferenciais e zonas mortas, comprometendo a eficiência do sistema (AQUINO et al., 2017; VAN LIER et al., 2015).

Buscando aplicar as vantagens e superar as limitações apresentadas pelo APBR, foi desenvolvido na última década o Reator Anaeróbico de Leito Estruturado (AnSTBR – “*Anaerobic Structured-Bed Reactor*”). Nesta configuração, o material suporte (espuma de poliuretano ou anéis de polipropileno de baixa densidade) é fixado em hastes, as quais são posicionadas de forma longitudinal e intercaladas, de modo que não ocupe todo o meio reacional e mantenha uma elevada porosidade no leito (AQUINO et al., 2017; FUESS, 2017). Tal característica garante que o processo obtenha as vantagens do APBR, porém previne que ocorra a acumulação de biomassa e sólidos no reator.

Diversos estudos com diferentes finalidades têm sido publicados nos últimos anos com a aplicação do AnSTBR, demonstrando sua versatilidade no campo do tratamento anaeróbico de águas residuárias. Esse biorreator vem sendo empregado em processos metanogênicos (AQUINO et al., 2017; FUESS et al., 2017b; OLIVEIRA et al., 2020a; VILELA et al., 2021), acidogênicos (BLANCO et al., 2017, 2019; FUESS et al., 2019, 2020a; NIZ et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020b; VILELA et al., 2019, 2021), sulfetogênicos com remoção de matéria orgânica (CAMILOTI et al., 2014; GODOI et al., 2015, 2017), sulfetogênicos com recuperação

de metais (GODOI et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2019) e sulfetogênicos em fase ácida (GIL-GARCIA et al., 2018; PIFFER et al., 2021).

Em estudo realizado por Silva et al. (2006) foi avaliado a capacidade de imobilização celular e a composição microbiana do biofilme formado em reatores com distintos meios suportes de filme fixo, preenchidos com diferentes materiais suportes e alimentados com água residuária sintética rica em sulfato. Os materiais utilizados foram: Espuma de Poliuretano (PU), Carvão Vegetal (CV), Polietileno de Baixa Densidade (PEBD) e Cerâmica Porosa de Alumina (CPA). Através dos resultados obtidos, os autores concluíram que a escolha do meio suporte a ser aplicado no reator é de fundamental importância e depende da finalidade para o qual este será aplicado. PU e CV proporcionaram melhor aderência às BRS, portanto tais materiais poderiam ser aplicados se a redução do SO_4^{2-} for a finalidade do tratamento. Ao passo que o CPA possibilitou maior colonização das AM, demonstrando potencialidade em ser utilizado quando o objetivo for produção de CH_4 . Por fim, a comunidade microbiana formada no PEBD obteve predominância das BF, sendo mais adequado de ser aplicado em reatores acidogênicos.

De fato, a espuma de poliuretano demonstrou elevado desempenho quando aplicada em AnSTBR para remoção de matéria orgânica e redução de sulfato. Camiloti et al. (2014) e Godoi et al. (2015) atingiram máxima eficiência de 82% e 96% de remoção de DQO, bem como 89% e 98% de redução de SO_4^{2-} , respectivamente. Todavia, nos referidos estudos foi avaliada a sulfetogênese em processos metanogênicos. Por outro lado, estudos também têm demonstrado a viabilidade de estabelecimento da comunidade sulfetogênica em sistemas com anéis de PEBD na fase metanogênica (GODOI et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2019) e acidogênica (FUESS et al., 2019; GIL-GARCIA et al., 2018). Devido à viabilidade do estabelecimento das BRS em ambos os meios suportes em sistemas AnSTBR, acredita-se que para processos acidogênicos – sulfetogênicos os anéis de PEBD possam ser mais adequados devido ao favorecimento das BF, abordado anteriormente.

A disponibilidade de estudos na literatura a respeito da influência da sulfetogênese na metanogênese é vasta e consolidada. Por outro lado, os estudos que abordam o estabelecimento das BRS em reatores acidogênicos ainda são incipientes e, em sua grande maioria, realizados com efluente sintético. A seguir, serão apresentados os fundamentos, exploradas as potencialidades e discutidos os parâmetros operacionais que influenciam o processo sulfetogênico na fase ácida.

3.2.2. Remoção de Compostos Sulfurosos na Fase Acidogênica

A sulfetogênese implica em diversas desvantagens para a metanogênese devido à redução do sulfato, pois há competição pelos mesmos substratos e produção de sulfeto, um composto nocivo para o processo. Em sua forma aquosa, o referido composto é inibitório para as comunidades microbianas envolvidas na degradação da matéria orgânica e, em sua forma gasosa, caracteriza-se por ser um gás tóxico, de mau odor e corrosivo. Fato que resulta na diminuição da produção de CH_4 e provoca contaminação do biogás produzido devido à presença do sulfeto de hidrogênio (H_2S) (LENS et al., 1998).

Inicialmente a separação de fases, acidogênica e metanogênica, foi concebida para superar as limitações que a DA apresenta para o tratamento de águas residuárias de elevada carga orgânica, possibilitando otimizar as condições operacionais (pH, temperatura, carga orgânica e alcalinidade) de ambas etapas. Separadamente, o desequilíbrio entre os microrganismos de crescimento rápido (bactérias fermentativas) e os de crescimento lento (arqueias metanogênicas) causado por choques de carga orgânica ou pela presença de compostos tóxicos são minimizados, garantindo maior estabilidade ao processo (FOX & POHLAND, 1994; POHLAND & GHOSH, 1971).

O tratamento em duas fases também tem demonstrado grandes potencialidades em relação às águas residuárias ricas em sulfato. Pesquisas têm comprovado a viabilidade do estabelecimento das Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) na fase acidogênica (Tabela 4). Nessa configuração o sulfato é reduzido na primeira etapa do processo, evitando problemas de competição, inibição e contaminação do biogás na fase posterior (LOPES et al., 2007b; REIS et al., 1988). A produção de ácidos orgânicos voláteis e solventes pelas bactérias fermentativas (BF) não é prejudicada sob condições sulfetogênicas, pois as BF são menos propensas à inibição devido à presença de sulfeto comparadas com as AM e, até mesmo, que as BRS (CHEN et al., 2008; GIL-GARCIA et al., 2018; MAILLACHERUVU et al., 1993).

Paralelamente a esta questão, a produção de íons bicarbonato (HCO_3^-) é atingida através da conversão de compostos orgânicos a partir da sulfetogênese (Tabela 2). Outro ponto a ser destacado é a capacidade de neutralização do meio reacional proporcionado pela produção do sulfeto em sua forma ionizada a partir do consumo dos íons de hidrogênio (H^+). Os compostos intermediários da fermentação são convertidos a acetato (Tabela 2 – Reações 6-11) de forma

mais favorável do ponto de vista termodinâmico comparadas às bactérias acetoclásticas oxidativas (Tabela 2 – Reações 1-4). Ademais, a atividade das BRS hidrogenotróficas (Tabela 2 – Reação 18) contribui com a manutenção da pressão parcial de H_2 devido à sua característica metabólica de consumo deste composto (REN et al., 2007a). O efluente acidificado gerado no referido processo apresenta condições ótimas para ser direcionado a um sistema metanogênico e, ainda, potencial de redução do uso de alcalinizantes químicos.

Entretanto, estratégias operacionais devem ser realizadas para a remoção do sulfeto produzido na primeira fase para que não haja inibição a comunidade metanogênica na etapa subsequente. Uma vez que o processo ocorre sob condições ácidas ($pH \sim 6$), o sulfeto encontra-se predominantemente em sua forma não-ionizada (Figura 3) e esta, por sua vez, apresenta baixa solubilidade na água. Assim sendo, uma parcela tende a se deslocar para a fase gasosa e sua concentração é diminuída significativamente no meio líquido (LOPES & LENS, 2011). Diversos parâmetros operacionais e configurações de reatores influem na eficiência de redução do SO_4^{2-} e remoção de H_2S , bem como nas rotas metabólicas predominantes. A Tabela 4 apresenta um resumo dos principais resultados extraídos da literatura e que serão discutidos a seguir.

Um fator de extrema importância no controle do processo acidogênico/sulfetogênico é o estabelecimento de um pH operacional adequado para o favorecimento de tais comunidades microbianas e inibição das metanogênicas (AM). Reis et al. (1988) reportaram uma elevada perda na eficiência de redução de SO_4^{2-} (ER_{SO_4}) com a diminuição do pH dentro da faixa estudada (6,6 – 5,4) para os reatores APBR (100 – 18%) e CSTR (71 – 8%). Similarmente, Lopes et al. (2007a, 2008) relataram diminuição na ER_{SO_4} quando os reatores foram submetidos a $pH < 6$. A rota metabólica é outra variável influenciada diretamente por tal parâmetro e pode ser avaliada em função dos principais AOVs e solventes produzidos. Nos estudos citados anteriormente, o elevado desempenho em relação à ER_{SO_4} esteve atrelado ao favorecimento da produção de acetato. À medida que foi diminuído o pH , houve alteração nas vias de produção dos metabólitos, principalmente no que diz respeito ao favorecimento da geração de ácido butírico (HBu). Por outro lado, não houve inibição satisfatória das AM nas condições operacionais otimizadas ($pH \sim 6$) e esta, por sua vez, só ocorreu quando o desempenho do processo foi afetado devido às condições mais ácidas (LOPES et al., 2007a, 2008; REIS et al., 1988).

Tabela 2 - Reatores acidogênicos – sulfetogênicos para remoção de compostos sulfurosos e produção de metabólitos solúveis

Substrato	Reator	T (°C)	TDH (h)	COV ^(A)	DQO/SO ₄ ²⁻	pH	Remoção Sulfato (%)	STD (mg L ⁻¹)	Metabólitos Produzidos	Referência
Vinhaça (melaço)	CSTR	35	29	34	8,8	6,6 5,4	71 8	550 130	HAc* e HPr HBu*, HAc, HVa	Reis et al. (1988)
	APBR	35	29	34	8,8	6,2 - 6,6 5,4	100 18	350 - 410 50	HAc* e HPr HBu*, HAc, HVa	
Sacarose, Amido, HLa, HPr e HAc	UASB	55	15 - 5	5 - 40	10 - 8	6	95 - 40	52 - 180	HAc*, HPr, HBu, HVa	Lens et al. (2001)
	EGSB	55	15 - 5	5 - 40	10 - 8	6	100 - 34	50 - 220	HPr* e HAc	
Sacarose	UASB	55	10	3,5	9	6	100	30	HAc*, HPr, HBu	Lopes et al. (2007a)
					9 - 3,5	5	95 - 80	30 - 65	HBu*, HAc, HPr	
						4	65 - 35	18 - 25	HBu*, H ₂ *, HAc, EtOh.	
Melaço ^(B)	CSTR	34	6 - 4,8	12 - 20	4 - 2	5,7 - 6,1	90 - 76	nd	HAc* e HBu	Ren et al. (2007)
Sacarose	UASB	30	10	5	4	6	95	100	HAc	Lopes et al. (2008)
			10 - 24			5	34 - 67	60 - 105	HAc*, HBu, EtOH, HLa	
	CSTR	30	20	5	4	6 5	43 25	115 70	HAc*, HBu, HLa HAc*, HBu, EtOH, HPr	
Melaço ^(B)	CSTR	35	10,6	7,3	4,5 - 3,6	7	100 - 97	4,5 - 6,4 ^(D)	HAc* e EtOH	Wang et al. (2008)
					2,7 - 0,9		88 - 39	7,2 - 8,5 ^(D)	HAc	
Sacarose	UASB	55	10	4	4	5	30	20 - 100	HAc*, HBu*, HPr	Lopes et al. (2010)
					4 - 1		90	10 - 40	HAc	
Ethanol	AnSTBR	55	6 - 12	20	1,25 - 2,5	6 - 6,5	18 - 58	170 - 370	HAc	Gil-Garcia et al. (2018)
Vinhaça ^(C)	AnSTBR	55	6,4	100	24	6,5	74	nd	HBu*, HAc, HPr	Fuess et al. (2019)
Glicose	EGSB	37	20	43 - 30	3 - 2	5,5 - 6,5	65 - 40	60 - 80	HAc*, HBu, HPr	Li et al. (2019)
				21,6 - 7	1,5 - 0,5		40 - 10	40 - 60	HAc* e HPr	

Siglas: COV = Carga Orgânica Volumétrica Aplicada; STD = Sulfeto Total Dissolvido (méd.); nd = não disponível; HAc = Ácido Acético; HBu = Ácido Butírico; HPr = Ácido Propionico; HVa = Ácido Valérico; EtOH = Etanol; HLa = Ácido Lático. **Legendas:** ^(A) Valores em kg DQO m⁻³ d⁻¹; ^(B) proveniente da produção do açúcar de beterraba; ^(C) Vinhaça da destilação do caldo de cana + melaço; ^(D) valores em mmol S²⁻ L⁻¹; * Principal produto da fermentação.

A escolha de diferentes configurações de reatores também afeta diretamente o desempenho do sistema. Reis et al. (1988) obtiveram 100% de eficiência de redução de SO_4^{2-} em um APBR condicionado a um pH operacional de 6,6 e 6,2. Ao passo que para condições operacionais idênticas aplicadas em um CSTR a ER_{SO_4} foi de 71% e 65%, respectivamente. Lopes et al. (2008) também demonstraram maior sensibilidade do CSTR ($\text{ER}_{\text{SO}_4} = 43 - 25\%$) submetido às mesmas condições operacionais que um reator UASB ($\text{ER}_{\text{SO}_4} = 95 - 34\%$). Assim sendo, os reatores de alta taxa obtêm melhor desempenho em processos sulfetogênicos na fase ácida.

Outros parâmetros operacionais que também exercem influência direta no desempenho do sistema são a COV_A e o TDH. Em estudo realizado por Lens et al. (2001), houve uma redução na ER_{SO_4} (100 – 34%) quando a carga orgânica aplicada no reator EGSB aumentou de 30 para 40 kg DQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$, posteriormente a eficiência foi reestabelecida (~ 95%) através da diminuição da COV para 35 kg DQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$. Lopes et al. (2008) relataram um aumento na ER_{SO_4} (34 – 67%) a partir da variação do TDH de 10 para 24 horas em um reator UASB submetido à mesma COV (5 kg DQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$) e diferente DQO. Tais resultados demonstram a susceptibilidade dos reatores de alta taxa e crescimento suspenso à aplicação de elevadas COV e/ou baixo TDH devido às turbulências causadas no meio reacional. Por outro lado, Fuess et al. (2019) comprovou a robustez do AnSTBR aplicado a processos acidogênicos. O sistema foi submetido à elevada carga orgânica (100 kg DQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$) e baixo TDH (6h), onde atingiu-se $\text{ER}_{\text{SO}_4} = 72,3 \pm 36,3\%$ com inibição total das AM sob um pH operacional entre 6 – 6,5.

A composição do efluente em relação à concentração de matéria orgânica e de sulfato ($\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$) é uma característica que influi na competição entre os diferentes grupos microbianos devido à maior ou menor disponibilidade de aceptores (SO_4^{2-}) ou doadores (matéria orgânica) de elétrons. Li et al. (2019) avaliaram a variação decrescente da relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ (3 – 0,5) fixando a concentração de SO_4^{2-} (12 g L^{-1}) e reduzindo a DQO (36 – 6 g L^{-1}) em reator EGSB. Houve uma diminuição da ER_{SO_4} (65 – 10%) durante o período operacional devido à redução na disponibilidade de doadores de elétrons. No entanto, o principal metabólito produzido foi o acetato devido ao predomínio das BRS oxidadoras incompletas.

Outro aspecto influenciado pela composição da água residuária é a quantidade de sulfeto produzido e seu potencial inibitório às comunidades microbianas, o qual pode interferir no desempenho do sistema. Desta forma, estratégias operacionais têm sido buscadas para a

otimização da transferência do sulfeto total dissolvido (STD) para a fase gasosa (*stripping*) em sistemas acidogênicos-sulfetogênicos. A aplicação do nitrogênio gasoso (N_2) em sistemas de fluxo ascendente e lodo granular é uma alternativa que tem sido aplicada em diversos estudos com êxito (LENS et al., 2003; LI et al., 2019; LOPES et al., 2007b, 2010; SIPMA et al., 1999). Em um reator UASB operado por Lopes et al. (2010), houve uma queda no desempenho ($ER_{SO_4} = 70 - 30\%$) quando o STD atingiu uma concentração de 100 mg L^{-1} . Para recuperação do sistema, foi aplicado N_2 e mantidos os mesmos parâmetros operacionais. A concentração de STD foi reduzida instantaneamente para 10 mg L^{-1} e a ER_{SO_4} se reestabeleceu em torno de 90%. No entanto, essa estratégia implica em maiores custos e complexidades operacionais. A aplicação de N_2 em grandes volumes representa uma fonte gasosa externa ao processo e induz à predominância do referido composto na composição do biogás (LOPES et al., 2007b, 2010).

A fim de atingir uma elevada produção de biogás no próprio sistema biológico para otimização do *stripping*, tem-se buscado aplicar elevadas COV em adição à recirculação do efluente para o aumento da Velocidade Ascensional (V_a) (LENS et al., 2001, 2003; SIPMA et al., 1999). Entretanto, os referidos estudos atingiram estabilidade operacional a partir de uma COV_a máxima na faixa de $25 - 35 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Por outro lado, Fuess et al. (2019) demonstraram a robustez do sistema AnSTBR ao estabelecer a sulfetogênese sob uma carga até 4 vezes superior ($COV_a = 100 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) a partir da vinhaça de cana-de-açúcar. Apesar de não ter sido monitorado o STD, o referido sistema demonstrou grande potencial para o *stripping* do STD a partir da elevada vazão de gás atingida ($\sim 10,5 \text{ L L}_{\text{reator}}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Adicionalmente, a estratégia de recirculação demonstrou-se efetiva na remoção do STD em AnSTBR. Gil-Garcia et al. (2018) reportaram baixa produção de biogás) devido às especificidades experimentais (efluente sintético; $DQO/SO_4^{2-} = 2,5 - 1,25$; $8 - 16 \text{ kg-SO}_4^{2-} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) adotada em um sistema acidogênico – sulfetogênico. Nesse caso, a condição ótima foi atingida através da maior taxa de recirculação aplicada e houve deslocamento de 70% do H_2S para a fase gasosa em adição à uma produção de $3111 \text{ mg-HAc L}^{-1}$.

Outro aspecto que merece destaque, porém pouco explorada na literatura, refere-se ao potencial de alcalinização proporcionado pela atividade sulfetogênica, sulfetogênese proporciona devido à produção de HCO_3^- nas reações de conversão dos compostos orgânicos (Tabela 2). Gil-Garcia et al. (2018) reportaram um aumento da alcalinidade parcial³ ($74 - 206 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) vinculado à otimização das condições operacionais para redução de sulfato

³ AP = Representa a alcalinidade proporcionada pela presença de bicarbonato no meio.

($\text{ER}_{\text{SO}_4} = 18 - 57\%$). Similarmente, Wang et al. (2008) reportaram um aumento da alcalinidade total⁴ afluyente ($\sim 600 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) para a efluente ($1500 - 2000 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$). Adicionalmente, a produção de sulfeto em sua forma ionizada induz ao consumo de H^+ do meio reacional e, sendo assim, com o aumento do pH (GODOI et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2021). Analogamente à agentes neutralizantes como o hidróxido de sódio (NaOH) utilizados para a correção da referida variável em sistemas biológicos para tratamento de efluentes. Tais características podem ser extremamente favorável do ponto de vista de redução do uso de alcalinizantes químicos no processo metanogênico subsequente à etapa acidogênica – sulfetogênica. No contexto da vinhaça de cana-de-açúcar, a alcalinização representa um dos principais custos operacionais do referido processo nas destilarias brasileiras (FUESS et al., 2017a, 2018b).

O processo sulfetogênico em fase ácida, de acordo com o que foi exposto, é extremamente promissor e poderia proporcionar diversas vantagens se aplicados em águas residuárias industriais ricas em sulfato. No contexto do tratamento da vinhaça proveniente de destilarias anexas, ganhos energéticos e ambientais poderiam ser alcançados. Entretanto, ainda é uma alternativa pouco explorada na literatura. A seguir, serão apresentados estudos acerca do processo de recuperação energética da vinhaça referentes às suas limitações de ser executado em uma única etapa devido à presença de sulfato e a otimização quando realizado em duas fases. Por fim, será abordada a potencialidade de remoção dos compostos sulfurosos na fase acidogênica e todas vantagens que tal processo poderia proporcionar para a biodigestão anaeróbia em duas fases nas destilarias brasileiras.

3.3. Biodigestão Anaeróbia da Vinhaça

No conceito de biorrefinaria, os resíduos orgânicos de elevado potencial poluidor são vistos como fontes renováveis de recursos para produzir uma gama de bio-produtos e bioenergia, analogamente à indústria petroquímica. Inerente a este conceito encontra-se a digestão anaeróbia (DA), que se caracteriza por ser a principal tecnologia de conversão de um passivo ambiental em produtos de valor agregado como metano, hidrogênio, ácidos orgânicos voláteis e álcoois (VENKATA MOHAN et al., 2016). Por definição, a indústria sucroalcooleira caracteriza-se por ser uma biorrefinaria, uma vez que transforma a cana-de-açúcar em etanol,

⁴ AT = Representa a alcalinidade proporcionada pelos ácidos voláteis totais + bicarbonato

açúcar e bioeletricidade. A aplicação do tratamento anaeróbio da vinhaça permite a diversificação na extração de recursos dentro do ciclo produtivo, além de garantir maior sustentabilidade ambiental ao processo.

A potencialidade de recuperação energética é proveniente do biogás que é composto, majoritariamente, por metano (CH_4) e, devido aos aspectos quantitativos em que a vinhaça é gerada, pode garantir diversos ganhos econômicos e ambientais às destilarias (MORAES et al., 2014). Apesar do CH_4 caracterizar-se como um gás indutor do efeito estufa e seu potencial de aquecimento global ser 84 vezes maior que o do CO_2 em um horizonte de 20 anos (IPCC, 2014), o seu poder calorífico garante a aplicabilidade para cogeração de energia térmica e elétrica, bem como utilização como combustível automotivo. As propriedades nutricionais da vinhaça são conservadas⁵ para posterior fertirrigação, ao mesmo tempo em que os possíveis impactos ambientais relacionados às emissões de GEE e H_2S são mitigados devido à redução da carga orgânica e remoção de compostos sulfurosos (FUESS et al., 2018c; MORAES et al., 2014, 2017).

No entanto, ainda se faz necessário otimizar algumas operações a fim de atingir maior viabilidade econômica e sustentabilidade ambiental das plantas de DA no contexto das destilarias de cana-de-açúcar. A alcalinização é apontada como um dos maiores custos operacionais (FUESS et al., 2017a, 2018b) e sua otimização visando à redução do uso de alcalinizantes químicos impactaria diretamente ambos os aspectos. Em termos ambientais, Fuess et al. (2018c) apontam o elevado risco de sodificação do solo ao utilizar-se a vinhaça biodigerida no processo de fertirrigação. De acordo com os autores, a aplicação de elevadas doses de compostos químicos alcalinos à base de sódio (NaOH e/ou NaHCO_3) induz à uma excessiva presença de Na^+ no efluente do processo anaeróbio, podendo atingir uma concentração até 200 vezes maior comparada à vinhaça bruta. Tal fato acarreta desestabilização dos agregados, entupimento dos poros e diminuição da condutividade hidráulica do solo. Ainda segundo os autores, a recirculação do efluente tende ser a melhor alternativa para alcançar uma alcalinização eficaz e de baixo custo. Nesse caso, a reintrodução do HCO_3^- gerado no próprio processo biológico reduziria a utilização de alcalinizantes químicos à base de Na^+ .

A presença do sulfato na vinhaça é outro aspecto que merece destaque devido ao seu potencial de inibição das comunidades microbianas e contaminação do biogás. Esse composto

⁵ Os principais nutrientes presentes na vinhaça (potássio, nitrogênio e fósforo) são majoritariamente conservados no processo de biodigestão anaeróbia.

induz à presença de H_2S na fração gasosa, que é caracterizado como uma substância corrosiva à qualquer sistema de aproveitamento energético (SUN et al., 2015). O processo de dessulfurização representa uma das principais barreiras econômicas para o aproveitamento energético do biogás nas destilarias brasileiras. Levando em conta a carência de tecnologias nacionais, o valor unitário (R\$/GJ) é impactado diretamente por tais sistemas devido às taxas de importação e poder de compra da moeda local (LEME & SEABRA, 2017). Adicionalmente, a presença de sulfato e sulfeto no processo biológico de conversão da matéria orgânica resulta na diminuição da produção de CH_4 (BARRERA et al., 2014; JIMÉNEZ et al., 2018; KIYUNA et al., 2017).

3.3.1. Fase Única: Limitações em Relação à Recuperação Energética

De acordo com o que foi discutido no item 3.2.1 desta presente revisão, devido a determinadas etapas do processo produtivo há um aumento na concentração de sulfato na vinhaça e, conseqüentemente, o potencial de recuperação energética pode ser afetado. Fuess et al. (2018) e Godoi et al. (2019) avaliaram a variação sazonal na composição da vinhaça durante diferentes safras (entre 2014 e 2017) da produção de etanol proveniente da cana-de-açúcar em destilarias anexas brasileiras. Através dos trabalhos citados anteriormente, pôde-se observar uma variação tanto na concentração de matéria orgânica quanto de sulfato. Os valores críticos da relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ encontrados nos distintos estudos foram similares (10,8 – 9).

Segundo Lens et al. (1998), para uma relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ maior que 10, a estabilidade do processo não sofre implicações, pois não há perigo de inibição pelo sulfeto, pois a concentração de H_2S estaria sempre abaixo de 150 mg L^{-1} , níveis críticos reportados na literatura para a comunidade metanogênica. Contudo, tal afirmação nem sempre é assertiva, pelo fato de a quantidade de sulfeto não ionizado variar à medida que ambos os parâmetros são alterados proporcionalmente. Para uma relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ fixada em 10, Barrera et al. (2014) relataram um aumento na concentração de sulfeto não dissociado ($\text{H}_2\text{S} = 100 - 190 \text{ mg L}^{-1}$) à medida que aumentou-se, aproximadamente, 20% a concentração de matéria orgânica ($\text{DQO} = 48 - 56 \text{ g L}^{-1}$) e sulfato ($\text{SO}_4^{2-} = 4,6 - 5,6 \text{ g L}^{-1}$). Sendo assim, o processo sofreu instabilidades indicada pelo acúmulo de AOVs, diminuição do pH e do rendimento da produção de CH_4 .

O grau de toxicidade varia em função dos diferentes grupos microbianos. Em um sistema alimentado com ácido propiônico (HPr) e sulfato, Maillacheruvu & Parkin (1996)

avaliaram a sensibilidade dos distintos grupos microbianos à inibição causada pelo sulfeto. As comunidades mais susceptíveis foram as BRS oxidadoras de acetato, acetogênicas consumidoras de HPr e as AM acetoclásticas, respectivamente; ao passo que as menos susceptíveis foram as AM hidrogenotróficas, BRS hidrogenotróficas e as BRS oxidadoras incompletas de HPr, respectivamente. Chen et al. (2008) afirmam que os níveis inibitórios reportados na literatura situam-se entre 100 – 800 mg L⁻¹ para o sulfeto total dissolvido e entre 50 – 400 mg L⁻¹ para o H₂S. Entretanto, tais níveis podem variar negativamente em função de alguns parâmetros operacionais, como pH e temperatura, estabelecidos no meio reacional.

Em um sistema mesofílico, Koster et al. (1986) constataram que houve inibição de 50% (CI₅₀⁶) da atividade das AM acetoclásticas submetidas a uma concentração de 250 mg H₂S L⁻¹ em uma faixa de pH de 6,4 – 7,2. Quando a faixa de pH foi alterada para 7,8 – 8, a CI₅₀ foi reduzida a 90 mg H₂S L⁻¹. Sob condições termofílicas, tem sido reportado sensibilidade ainda maior desse grupo microbiano e, também, em função do pH. Em um sistema UASB operado a 55°C, Visser et al. (1993) relataram uma diminuição da CI₅₀ de 75 para 24 mg H₂S L⁻¹ quando o pH operacional foi acrescido de 7,2 para 8. Pender et al. (2004) reportaram susceptibilidade mais acentuada das AM acetoclásticas, e as comparou com os níveis das AM hidrogenotróficas. Nesse caso, a CI₅₀ das acetoclásticas diminuiu de 65 para 8 mg H₂S L⁻¹ e a das hidrogenotróficas de 506 para 88 mg H₂S L⁻¹, simultaneamente ao aumento do pH (6,4 – 8).

A composição da vinhaça pode afetar o potencial de recuperação energética de um sistema metanogênico devido às instabilidades causadas no meio. Em um sistema de batelada sob condições termofílicas (55°C), Kiyuna et al. (2017) reportaram uma diminuição de 16 e 35% na produção de CH₄ quando a relação DQO/SO₄²⁻ foi variada de 12 (vinhaça bruta) para 10 e 7,5 (com adição de NaSO₄), respectivamente. No período inicial de cada condição do experimento há um desvio do fluxo de elétrons e a conversão da matéria orgânica também acontece através da sulfetogênese. A produção de CH₄, por sua vez, ocorre de modo eficiente passado esse período, onde a relação DQO/SO₄²⁻ atinge valores de 25 – 30. Na condição mais crítica, houve acúmulo de ácido acético devido à inibição causada pelo sulfeto às metanogênicas acetoclásticas.

Além da taxa proporcional em que é composta a vinhaça, a concentração de ambos parâmetros também influencia no potencial de recuperação energética. Para uma relação DQO/SO₄²⁻ = 10 em um reator UASB mesofílico (35°C), Barrera et al. (2014) reportaram uma

⁶ Concentração inibitória média

diminuição de 20% no rendimento de metano ($336 - 268 \text{ mg CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{removida}}$) à medida que aumentou-se, aproximadamente, 50% a DQO ($38 - 56 \text{ g L}^{-1}$) e SO_4^{2-} ($3,65 - 5,5 \text{ mg L}^{-1}$). Esta redução no rendimento de CH_4 se deu devido à inibição da comunidade sulfetogênica e metanogênica causada pelo acúmulo de sulfeto e AOVs. Tais instabilidades causadas no sistema ficaram ainda mais acentuadas quando submetido a uma relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-} = 5$ e o rendimento chegou a $238 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{removida}}$. Levando-se em consideração a escala volumétrica em que é gerada essa água residuária nas destilarias, tal redução na produção de CH_4 pode significar enormes perdas e, até mesmo, inviabilizar economicamente a utilização do biogás como fonte energética.

A variação na concentração de DQO e SO_4^{2-} , também, influi diretamente na presença de H_2S gasoso e, em consequência, no desempenho do sistema de tratamento de biogás (BARRERA et al., 2013, 2014), bem como nos custos vinculados a este processo (KHAN et al., 2017; SUN et al., 2015). No estudo desenvolvido por Barrera et al. (2014), foi reportado um deslocamento máximo do sulfeto em uma relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-} = 20$. Quando a concentração de ambos os parâmetros foi acrescida ($48 - 58 \text{ g DQO L}^{-1}$ e $2,2 - 2,65 \text{ g SO}_4^{2-} \text{ L}^{-1}$), houve um aumento (25 – 33%) do H_2S direcionado para a fase gasosa, referente ao enxofre afluente. Com isso, o processo de recuperação energética da vinhaça em uma única fase está susceptível à presença de compostos sulfurosos, seja sob elevadas ou baixas relações $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$, induzindo à redução da produção de CH_4 e/ou contaminação do biogás.

Ainda referente à condição de maior concentração de DQO e SO_4^{2-} para uma relação proporcional de 20. Barrera et al. (2014) relataram que houve acúmulo de ácido propiônico (HPr) devido à inibição das acetogênicas sintróficas causada pelo sulfeto não dissociado, bem como pela presença de elevadas concentrações de H_2 e do próprio HPr, fato que pode induzir a uma situação de colapso irreversível do sistema⁷ se estratégias operacionais não forem adotadas. No referido estudo, a relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ foi diminuída para 10 e houve redução de 90% do HPr ($1.800 - 180 \text{ mg L}^{-1}$) em 3 dias, devido ao aumento da disponibilidade de SO_4^{2-} que favoreceu atividade das BRS oxidadoras incompletas.

Uma das vantagens da sulfetogênese é realizar a conversão de ácido propiônico a acético, o principal precursor da formação do CH_4 , de forma extremamente favorável do ponto

⁷ A oxidação de ácido propiônico a acetato é considerada a etapa limitante da metanogênese, pois é a reação termodinamicamente mais desfavorável. Para que ocorra, é necessário uma pressão parcial de H_2 suficientemente baixa ($<10^{-4} \text{ atm}$), garantida através de relações sintróficas entre os diferentes grupos microbianos.

de vista termodinâmico (Reação 6 – Tabela 2). Barrera et al. (2014) e Kiyuna et al. (2017) reportaram aumento na produção de acetato vinculado a uma redução na concentração de ácido propiônico, para condições de baixa relação DQO/SO₄²⁻ (5 – 7,5) de uma vinhaça rica em sulfato. Todavia, esta conversão induz ao aumento de sulfeto no sistema e, também, pode resultar no colapso do mesmo. Em ambos os casos houve acúmulo de acetato devido à inibição da comunidade metanogênica acetoclástica causada pelo sulfeto. Desta forma, levando em consideração todas as limitações apresentadas ao tratamento da vinhaça na presença de sulfato e as potencialidades exploradas no Item 3.2.2, a separação de fases com redução de compostos sulfurosos na etapa acidogênica apresenta-se como alternativa promissora.

3.3.2 Duas fases: Versatilidade da etapa acidogênica

Estudos têm demonstrado a viabilidade técnica (FERRAZ JR. et al., 2016; FUESS et al., 2017a; LUO et al., 2011; RAMOS & SILVA, 2020) e econômica (FUESS et al., 2017b, 2018a) do tratamento da vinhaça em duas fases. Ademais, o efluente acidogênico apresenta maior biodegradabilidade, aumentando o potencial de produção de CH₄ na fase metanogênica. Ferraz Jr. et al. (2016) operou 2 reatores UASB sob condições termofílicas (55°C), um tratando a vinhaça bruta (UASB I) e outro a vinhaça acidificada (UASB II) proveniente de um APBR. O máximo rendimento da produção de metano foi de 250,9 e 316,0 ml-CH₄ g⁻¹ DQO_{removida}, respectivamente, representando um aumento de 25,7%. Entretanto a remoção de DQO foi de 60,7% (UASB I) e de 63,0% (UASB II), representando uma pequena diferença em relação à conversão de matéria orgânica. Considerando-se o sistema APBR-UASB II, a máxima remoção de DQO nas duas etapas atingiu 74,6%.

A configuração do reator pode otimizar, ainda mais, a eficiência da etapa metanogênica em um sistema com separação de fases. Fuess et al. (2017a) avaliaram a operação de um reator UASB e um AnSTBR sob condições termofílicas (55°C) tratando vinhaça acidificada proveniente de um APBR. A produção máxima de metano foi de 2880 e 5785 mL-CH₄ L⁻¹ d⁻¹, respectivamente, representando uma produção 2x maior no sistema AnSTBR submetido às condições operacionais idênticas. As cargas orgânicas volumétricas (COV) aplicadas aumentaram de maneira crescente no decorrer do período operacional e, com isso, o reator UASB apresentou instabilidades devido ao acúmulo de AOVs e consequente aumento na

relação AI/AP⁸. Por outro lado, o sistema AnSTBR apresentou estabilidade (AI/AP = 0,2 – 0,4) até mesmo quando submetido à maior carga orgânica (COV = 30 kg DQO m⁻³ d⁻¹) do estudo. A máxima remoção de DQO⁹ foi de 70,2% (UASB) e 83,5% (AnSTBR).

Ramos & Silva (2020) também relataram um aumento na produção de metano em um sistema de leito fluidificado de segunda fase¹⁰ (AFBR-S) comparado a um de fase única (AFBR-M) tratando vinhaça de cana-de-açúcar diluída sob condições termofílicas (55°C). A máxima produção atingiu 5570 e 3780 ml-CH₄ L⁻¹ d⁻¹, respectivamente. A remoção de DQO foi de 70,1% (AFBR-S) e 73,2% (AFBR-M), representando um leve decréscimo. Comparado com os resultados apresentados por Fuess et al. (2017a) em relação ao AnSTBR, a produção de CH₄ foi equivalente e a remoção de matéria orgânica inferior (83,5 – 70,1%). Adicionalmente, cabe destacar ainda que a diluição, apesar de reduzir a DQO e a concentração de compostos recalcitrantes, aumenta o volume total do efluente e isso implica em maiores gastos relacionados ao processo de tratamento (BARRERA et al., 2014; CHEN et al., 2008). Na condição operacional ótima do estudo realizado por Ramos & Silva (2020), a vinhaça bruta (32 g-DQO L⁻¹) foi diluída a uma concentração de 10 g-DQO L⁻¹. Em termos operacionais, isso representaria um volume 3x maior de água residuária a ser tratada e, devido ao elevado consumo energético vinculado a esse sistema (ANDALIB et al., 2014), possivelmente inviabilizaria sua aplicação.

Outra questão a ser levada em consideração é a diversificação da produção energética através do hidrogênio gasoso (H₂) gerado na etapa acidogênica (LUO et al., 2011). O potencial de redução das emissões de GEE¹¹ e sua versatilidade¹², garante ao H₂ um papel fundamental para atingir uma economia de baixo carbono no futuro (HANLEY et al. 2018). Dentre os processos aplicados para sua produção, a fermentação apresenta-se como a mais promissora e ambientalmente sustentável devido ao baixo requerimento energético, elevada disponibilidade de resíduos orgânicos e ao potencial de produção de metabólitos de valor agregado (FUESS et

⁸ De acordo com Ripley et al. (1986), a relação AI/AP (alcalinidade parcial/alcalinidade intermediária) é um indicativo de estabilidade de sistemas de alta taxa. Tal relação representa a proporção em que os AOVs (AI) e o HCO₃⁻ (AP) contribuem para o tamponamento do meio. Os autores indicaram uma relação AI/AP<0,3 para uma operação estável do referido estudo.

⁹ Referente à remoção de DQO nas duas fases do sistema (acidogênico + metanogênico)

¹⁰ A primeira etapa consistiu em um AFBR acidogênico processando a vinhaça diluída, com as mesmas propriedades em que o reator metanogênico (AFBR-M) foi alimentado.

¹¹ Devido ao seu elevado poder calorífico (142 kJ g⁻¹) vinculado a uma combustão limpa, em que o único subproduto gerado é a água (GUO et al., 2010).

¹² Tem potencialidade de ser utilizado para diversas finalidades: combustível automotivo, mistura na rede de gás natural, produção de energia elétrica, entre outras (HANLEY et al., 2018).

al., 2016; GUO et al., 2010; LUO et al., 2011). Diversos estudos tem demonstrado a viabilidade da aplicação de tal processo à vinhaça da cana-de-açúcar em sistemas de alta taxa e crescimento aderido: APBR (FERRAZ JR. et al., 2014, 2015a, 2015b; FUESS et al., 2016, 2018a), AFBR (RAMOS & SILVA, 2017, 2020; SANTOS et al., 2014a, 2014b, 2014c) e AnSTBR (FUESS et al., 2019; NIZ et al., 2019). Fluxograma hidromecânico – lista de equip. – lista instrumento

A3

Em termos de produção e rendimento de H_2 , o AnSTBR tem apresentado resultados promissores no emprego deste sistema para tal finalidade. Fuess et al. (2019) obtiveram um rendimento de $15,6 \text{ mmol-}H_2 \text{ g}^{-1} \text{ CH}$ e uma produção $2074 \text{ mL-}H_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ sob condições termofílicas (55°C) de elevada COV_A ($\sim 90 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) e TDH de 12h. Os autores também definiram uma faixa operacional ótima de $70 - 75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ para os referidos sistemas. A meio de comparação com o APBR, considerando o estudo que atingiu melhor desempenho dentre os disponíveis para o mesmo substrato, o rendimento foi de $3,4 \text{ mmol-}H_2 \text{ g}^{-1} \text{ CH}$ e a produção $1604 \text{ mL-}H_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, obtidos na fase inicial e final, respectivamente (FUESS et al., 2016). Comparando-se ao sistema de leito fluidificado em que foi utilizada a vinhaça bruta, o máximo rendimento atingiu $0,79 \text{ mmol-}H_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$ (SANTOS et al., 2014b), ao passo que no AnSTBR foi de $3,1 \text{ mmol-}H_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{aplicada}}$ (FUESS et al., 2019).

Algumas estratégias operacionais são essenciais de serem adotadas para otimizar o desempenho do processamento acidogênico da vinhaça em sistemas de leito fixo. Estudos realizados em APBR apontaram dificuldades de produção de hidrogênio em longo prazo. Devido ao crescimento excessivo da biomassa no leito e considerando uma concentração de substrato constante, a carga orgânica volumétrica específica¹³ (COV_E) é reduzida em consequência do excesso de microrganismos (FERRAZ JR. et al., 2014, 2015a, 2015b). Ademais, populações microbianas não produtoras e consumidoras de H_2 se estabelecem no meio ao longo do período operacional (FUESS et al., 2019). Para superar tais limitações, foi proposto por Fuess et al. (2016) que fosse realizada descargas de fundo no reator durante o período operacional para o controle do excesso de microrganismos e, assim sendo, da COV_E .

Outro fator de fundamental importância para atingir-se uma elevada produção de $bioH_2$ é o controle do pH efluente. Quando estabelecido um pH no meio reacional em torno de 5 ($5,1 - 5,2$) a rota fermentativa do ácido acético (Reação 21) e butírico (Reação 22) é favorecida. Por outro lado, quando atinge valores superiores ($\text{pH} > 5,3$) a rota predominante é a do ácido

¹³ Representa a relação da quantidade de substrato disponível por microrganismo ($A/M - \text{g-DQO g}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$).

propiónico (Reação 23), a qual induz ao consumo de H_2 no meio e, em consequência, reduz sua produção (FUESS et al., 2016). Adicionalmente, o ácido láctico (HLA) também é considerado uma precursor de extrema importância em tais sistemas, uma vez que as bactérias produtoras de HLa são identificadas em grandes proporções na vinhaça bruta (CASSMAN et al., 2018) e em reatores acidogênicos termofílicos (FERRAZ JR. et al., 2015a; FUESS et al., 2018a). Em um sistema AnSTBR, Fuess et al. (2019) identificaram como principal rota de produção a fermentação do HLa e do HAc (Reação 24), resultando na predominância de HBU no efluente acidificado. Ainda segundo os autores, quando comprometida produção de $bioH_2$ ($pH < 5$) o principal produto da fermentação foi o HLa, como resultado da inibição das bactérias consumidoras de HLa devido ao pH desfavorável.

No entanto, os aspectos qualitativos da vinhaça podem afetar negativamente o potencial energético de um sistema de duas fases concebido para produção de H_2 e CH_4 . Fuess et al. (2018c) realizaram um estudo comparativo entre o tratamento em uma única etapa e com separação de fases em relação à capacidade de recuperação energética de uma destilaria anexa levando em consideração as variações sazonais desta água residuária. Segundo os autores, na maior parte da safra estudada (2014) o tratamento em fases separadas manteve-se favorável. Contudo, no período que a relação DQO/SO_4^{2-} atingiu valor crítico ($\sim 10,8$) o sistema de fase única apresentou maior potencial. Devido ao consumo de uma fração da matéria orgânica durante a acidogênese, houve uma diminuição ainda maior desta relação ($\sim 8,7$) no efluente acidificado, desfavorecendo a metanogênese na etapa posterior.

Ademais, os estudos a respeito do tratamento anaeróbio desta água residuária em duas etapas indicam baixa contribuição do H_2 (menor que 5%) em relação à recuperação energética total do sistema (FERRAZ JR. et al., 2016; FUESS et al., 2017b; 2018c, 2019; LUO et al., 2011). O rendimento ($mL-H_2 \text{ g}^{-1} DQO_{\text{removida}}$) e a remoção de matéria orgânica na fase acidogênica são extremamente inferiores aos atingidos na etapa metanogênica. Sendo assim, a otimização da produção de CH_4 devido ao aumento da biodegradabilidade do efluente acidificado deve ser considerado a premissa de um sistema com separação de fases. Nesse

contexto, devido às vantagens expostas no item 3.2.2. e levando em consideração as características composicionais da vinhaça, a remoção de compostos sulfurosos na fase ácida tende proporcionar mais vantagens ao processo.

Fuess et al. (2019) comprovaram a versatilidade do processamento acidogênico da vinhaça de cana-de-açúcar. Durante o período operacional, foram identificadas pelos autores as diferentes rotas metabólicas estabelecidas em função do pH através da aplicação de COV_A crescentes, variando-se o TDH à medida que os aspectos qualitativos variaram durante a safra de 2017. A utilização de uma vinhaça menos concentrada ($DQO = 24,8 \text{ g-L}^{-1}$ e $SO_4^{2-} = 1 \text{ g-L}^{-1}$) resultou no acúmulo de ácido láctico (HLA) devido ao decréscimo do pH efluente ($\sim 4,5$) e, em consequência, redução do desempenho do processo. Como estratégia operacional para recuperação do sistema operado sob elevada COV_A ($100 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), aplicou-se bicarbonato de sódio ($0,1 - 0,05 \text{ g-NaHCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}$) e o pH atingiu uma faixa de $6 - 6,5$. Desta forma, além de recuperar a produção de H_2 , a comunidade sulfetogênica se estabeleceu no meio, resultando na remoção completa do SO_4^{2-} afluente e presença de 2% de H_2S no biogás, mesmo sob condições adversas de baixo TDH (6h) e elevada COV_A .

Entretanto, o principal metabólito formado na referida condição operacional foi o ácido butírico (HBu) devido à rota preferencial estabelecida (Reação 24). Ademais, também houve acúmulo de HPr durante a redução de SO_4^{2-} , possivelmente induzido pelas condições favoráveis ($pH > 6$) para a referida rota metabólica (FUESS et al., 2019). Nesse caso, a sulfetogênese não aparentou exercer influência direta nos metabólitos formados. Por outro lado, em estudos a respeito do mesmo processo sob condições termofílicas foi reportado o estabelecimento das BRS oxidadoras incompletas apontado pelo favorecimento de produção do HAc vinculado à ER_{SO_4} (LOPES et al., 2007b, 2010)

Nesse caso, dois fatores podem ter sido determinantes para as diferenças constatadas: o inóculo e a elevada carga orgânica volumétrica aplicada (COV_A). A fermentação natural da vinhaça, uma vez concebida para produção de $bioH_2$, pode resultar em um restrito grupo de BRS quando estabelecida a sulfetogênese. Em adição, a elevada disponibilidade de H_2 em sistemas acidogênicos termofílicos submetidos à elevada COV_A favorece a rota das BRS hidrogenotróficas, a qual resulta apenas na produção de HS^- e H_2O (Reação R – Tabela 2). Outro parâmetro que poderia otimizar a produção de acetato é a operação de sistemas mesofílicos. Estudos apontam a predominância de HAc em sistemas acidogênicos – sulfetogênicos

submetidos à referida faixa de temperatura e vinculado à ER_{SO_4} (LI et al., 2019; LOPES et al., 2008; REIS et al., 1988, 1991; WANG et al., 2008).

Em termos tecnológicos e econômicos, o referido processo biológico ainda traria diversos ganhos para as biorrefinarias de cana-de-açúcar. A qualidade composicional do biogás é um aspecto que influi diretamente em seu potencial energético e resulta em implicações econômicas vinculadas à geração de energia elétrica e térmica nas turbinas de gás com ciclo combinado. O baixo poder calorífico (% CH_4) representa a maior barreira para o referido processo e os requisitos mínimos de H_2S variam na faixa de 200 – 1000 ppm em função do tamanho da turbina (KHAN et al., 2017; SUN et al., 2015). Levando em consideração a carência tecnológica a nível nacional, o processo de dessulfurização caracteriza-se como uma das principais barreiras econômicas para o aproveitamento energético do biogás nas destilarias brasileiras (LEME & SEABRA, 2017). Reis et al. (1988) aplicaram a vinhaça acidificada após remoção dos compostos sulfurosos em um APBR, nesse caso foi relatado uma concentração de 0,1% H_2S (1.000 ppm) e 76% CH_4 no biogás, apresentando um elevado poder calorífico e concentração de H_2S dentro da faixa dos requisitos mínimos. A fim de comparação, na condição de rendimento máximo de CH_4 em um sistema UASB tratando vinhaça bruta, a composição gasosa foi de 4% H_2S (40.000 ppm) e 62,2% CH_4 (CABRERA-DÍAZ et al., 2017).

Como abordado no Item 3.2.2 da presente revisão, a sulfetogênese ainda proporciona potencial de alcalinização devido à geração de HCO_3^- (Tabela 2) através da redução de SO_4^{2-} e de neutralização referente à produção de HS^- . Tal aspecto poderia garantir maior sustentabilidade financeira para a implantação de sistemas com separação de fases na indústria sucroalcooleira, uma vez que haveria potencial de redução do uso de alcalinizantes químicos na etapa seguinte. A estratégia de alcalinização é considerada a principal variável que define sua viabilidade econômica, em específico o agente químico utilizado ($NaOH$ ou $NaHCO_3$) em adição ou não à recirculação (FUESS et al., 2017a, 2018b). Nesse contexto, é fundamental a compreensão do papel da alcalinização no desempenho da fase acidogênica e como a etapa metanogênica é afetada por tal parâmetro operacional. Visto que o aumento da biodegradabilidade deve ser considerado a principal premissa para otimização do potencial de recuperação energética do sistema com separação de fases.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa buscou avaliar a influência exercida por diferentes estratégias de alcalinização no processamento acidogênico da vinhaça de cana-de-açúcar em reatores de leito fixo estruturado (AnSTBR). A fim de atingir o estabelecimento da sulfetogênese (R1), otimização da produção de bioH_2 (R2) e ácido láctico (R3). Adicionalmente, avaliou-se como tais rotas metabólicas impactam a fase metanogênica, o potencial global de recuperação energética e os custos operacionais vinculados à aplicação de alcalinizantes químicos nas duas fases. A segunda etapa foi avaliada com base nos parâmetros cinéticos da fração líquida e da produção de metano, bem como as características composicionais do biogás produzido. Por fim, também buscou-se avaliar a potencialidade do processo acidogênico – sulfetogênico para redução do uso de alcalinizantes químicos na etapa metanogênica. Para obtenção dos resultados almejados, a fase experimental foi dividida em duas etapas, as quais são resumidas no fluxograma apresentado na Figura 4 e serão detalhadas nos itens subsequentes do presente capítulo.

Figura 1 - Fluxograma da metodologia

Fonte: Autor

4.1. Vinhaça

A origem de coleta da vinhaça foram duas destilarias anexas localizadas no interior do estado de SP durante a safra 2020/21. Devido às especificidades de cada processo produtivo, bem como as distintas frações de caldo direcionado à produção de etanol e açúcar, houve variação nos aspectos qualitativos. Foram realizadas duas coletas na Usina da Pedra (UP) e apenas uma na Usina São Martinho (USM). A caracterização composicional das referidas águas residuárias são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Características composicionais da vinhaça de cana-de-açúcar coletada

Parâmetros	UP-I (08/2020)	USM (10/2020)	UP (11/2020)
pH	4,9	4,41	4,69
DQOt (mg L⁻¹)	81.600	33.539	54.383
DQOs (mg L⁻¹)	71.700	28.644	48.317
SO₄²⁻ (mg L⁻¹)	4.986	2.371	3.490
Carboidratos (mg L⁻¹)	19.982 (29,5%) ^(A)	5.367 (19,9%) ^(A)	10.758 (23,6%) ^(A)
Glicerol (mg L⁻¹)	3.295 (5,6%) ^(A)	1.131 (4,8%) ^(A)	3.096 (7,8%) ^(A)
Ac. Lático (mg L⁻¹)	1.803 (2,7%) ^(A)	2.056 (7,7%) ^(A)	2.380 (5,3%) ^(A)
Ac. Acético (mg L⁻¹)	409 (0,6%) ^(A)	561 (2,1%) ^(A)	564 (1,25%) ^(A)
Ac. Propiônico (mg L⁻¹)	38 (0,08%) ^(A)	0	26 (0,08%) ^(A)
Ac. Butírico (mg L⁻¹)	0	0	0
Etanol (mg L⁻¹)	362 (1%) ^(A)	1.122 (8,2%) ^(A)	293 (1,27%) ^(A)
Metanol (mg L⁻¹)	122 (0,25%) ^(A)	0	0
Fenóis Totais (mg L⁻¹)	5.940 (11,3%) ^(A)	2.353 (11,2%) ^(A)	3.619 (10,2%) ^(A)
DQOt/SO₄²⁻	16,36	14,15	15,58
DQOs/SO₄²⁻	14,38	12,08	13,84
SSV (g L⁻¹)	8,56	4,59	7,81
SST (g L⁻¹)	10,27	4,92	9,27

Siglas: SSV = Sólidos Suspensos Voláteis; SST = Sólidos Suspensos Totais.

Legendas: ^(A)Valores entre parênteses representam a contribuição do composto em termos de DQOs

O melaço caracterizou-se por ser o principal componente utilizado para fermentação na UP e, como consequência, a vinhaça apresentou aspectos semelhantes ao de uma usina de primeira geração proveniente apenas desse substrato (Tabela 1). Uma variação composicional também pôde ser observada entre a coleta realizada no meio (agosto/2020) e no fim (novembro/2020) da safra, havendo redução na concentração de compostos orgânicos solúveis mas, ainda assim, permanecendo elevada em comparação à composição comumente observada nas destilarias brasileiras. Já no caso da USM, a vinhaça apresentou características semelhantes às de outras usinas anexas reportadas na literatura (Tabela 1). A vinhaça UP-I foi utilizada para inoculação do sistema, ao passo que a UP e USM para alimentação.

As amostras coletadas foram congeladas (-20°C) até que fossem utilizadas para alimentação, a qual foi acondicionada em uma geladeira à 4°C . A fim de inibir sua degradação que possivelmente ocorreria em temperatura ambiente, preservando-se, assim, seus principais aspectos qualitativos.

4.2. Fase Acidogênica

Utilizou-se um sistema composto por 3 reatores anaeróbios de leito estruturado (*Anaerobic Structure Bed Reactor* – AnSTBR) com volume útil de 2,0 litros e submetidos a condições termofílicas (55°C). A biomassa foi imobilizada em cilindros de polietileno de baixa densidade (PEBD), pois diversos trabalhos aplicaram esse material para operação de AnSTBR acidogênicos com êxito (ANZOLA-ROJAS et al., 2016; FUESS et al, 2019, 2020; GIL-GARCIA et al., 2018; NIZ et al., 2019). O volume de biogás foi medido de maneira contínua através de gasômetros acoplados ao selo hídrico. A representação esquemática é apresentada na Figura 5 e o a imagem do sistema em funcionamento na Figura 6.

Com base nos resultados obtidos por Fuess et al. (2019) foram definidas diferentes faixas de pH operacionais para os reatores, a serem alcançadas através de distintas estratégias de alcalinização. O ajuste do pH foi realizado através da aplicação de Bicarbonato de Sódio (NaHCO_3) e/ou solução com concentração de 50% (m/V) de Hidróxido de Sódio (NaOH). A fim de estabelecimento da sulfetogênese ($\text{pH} > 6$), a vinhaça foi alcalinizada com $\text{NaOH} + \text{NaHCO}_3$ (R1): ajustando-se o pH inicial até 6,5 com NaOH e, posteriormente, adicionando $0,05 - 0,15 \text{ g-NaHCO}_3 \cdot \text{g-DQOt}^{-1}$. Para otimização da produção de bioH_2 ($\text{pH} = 5 - 5,5$) o ajuste do pH inicial ($6,5 - 8,5$) foi realizado apenas com a adição de NaOH (R2). Por fim, visando a

produção de HLa, AOVs e solventes ($\text{pH} < 5$) não houve nenhum ajuste de pH e o reator foi alimentado com a vinhaça bruta ou diluída (R3).

Os reatores foram operados de modo paralelo e contínuo durante 60 dias e submetidos à uma COV_A otimizada de aproximadamente $75 \text{ kg-DQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ (FUESS et al., 2019). O sistema foi alimentado com bombas peristálticas e as vazões ajustadas a fim de manter um TDH necessário para atingir a referida COV nas diferentes concentrações de DQOt afluyente. Nos primeiros 30 dias de operação, o sistema foi alimentado com a vinhaça da USM ($33,5 \pm 1,3 \text{ g-DQO L}^{-1}$ – TDH $\sim 10,5$ horas). Do dia 30 em diante, o sistema foi alimentado com a água residuária proveniente da UP. Entretanto, entre os dias 30 e 40 a estratégia de diluição ($39,5 \pm 2,8 \text{ g-DQO L}^{-1}$ – TDH $\sim 12,5$ horas) foi adotada para reduzir a quantidade de sólidos afluyente e manter a DQOt dentro de uma faixa reportada em trabalhos anteriores referentes às destilarias anexas (Tabela 1). Nos 20 dias finais de operação, foi utilizado o efluente bruto ($54,4 \pm 4,2 \text{ g-DQO L}^{-1}$ – TDH ~ 17 horas) para testar a robustez do AnSTBR com relação a uma vinhaça de elevada concentração de compostos orgânicos solúveis e de SST ($\sim 9 \text{ g L}^{-1}$).

Figura 5 - Representação esquemática do sistema AnSTBR acidogênico

Fonte: Autor

Figura 6 - Foto do sistema AnSTBR acidogênico em operação

Fonte: Autor

Para inoculação do sistema, empregou-se processo de auto-fermentação para os 3 reatores, seguindo o protocolo descrito por Leite et al. (2008). Nesse processo, o pH da vinhaça é ajustado até 6,5 (NaOH-50%) e, na sequência, é mantida em repouso e exposta à atmosfera durante três dias em câmara escura sob condições termofílicas (55°C). Posteriormente, o efluente previamente fermentado é recirculado no sistema por 5 dias com a finalidade de aderência da comunidade microbiana ao meio suporte. Após esse período, cada reator foi

alimentado dentro das especificidades de alcalinização descritas anteriormente. Uma vez que a vinhaça utilizada nessa etapa foi referente à coleta UP-I, se fez necessário uma diluição em 50% previamente à fermentação para atingir uma concentração de matéria orgânica (DQOt) e SST equivalentes aos de uma água residuária de uma destilaria anexa.

As principais variáveis de resposta utilizadas para avaliar o desempenho de conversão da fração solúvel foram: Eficiência de remoção de sulfato (ER_{SO_4} ; %), DQOt e DQOs (ER_{DQO} ; %); conversão de carboidratos totais (EC_{CH} ; %), de glicerol (EC_{GLY} ; %), ácido láctico (EC_{HLA} ; %) e a DQO convertida (DQO_C ; %) equivalente aos 3 substratos; Carga de sulfato volumétrica convertida (CSV; $kg-SO_4^{2-} m^{-3} d^{-1}$); A relação entre o Sulfeto Total Dissolvido (STD; $mg L^{-1}$) presente no meio líquido (método analítico) e o teórico assumindo que 1g de SO_4^{2-} reduzido produz 0,33 g de STD (GIL-GARCIA et al., 2018). A fração gasosa foi monitorada através da Vazão de Biogás (VBG; $mL.d^{-1}$) e Taxa de Biogás (TBG – $m^3 m^{-2} d^{-1}$; $L Lreat.^{-1} d^{-1}$); Produção Volumétrica de Hidrogênio (PVH; $mL H_2.L^{-1}.dia^{-1}$) e rendimento (*hydrogen yield* – HY) em função da conversão de carboidratos ($mmol-H_2 g-CH^{-1}$); DQO aplicada ($mmol-H_2.g-DQO_{AP}^{-1}$) e convertida ($mmol-H_2.g-DQO_C^{-1}$). Os cálculos para a produção e rendimento são apresentados a seguir:

$$PVH \left(\frac{mL H_2}{L . d} \right) = \frac{VBG \left(\frac{mL}{d} \right) * H_2(\%)}{V_U (L)} \quad [Equação 1]$$

A partir da Lei dos Gases Ideais ($P V = n R T$) é possível calcular a quantidade de mmols de H_2 produzidos no dia ($mmol-H_2 d^{-1}$) em função da PVH ($mL-H_2 L^{-1} d^{-1}$) levando em consideração: a pressão atmosférica local ($\sim 0,91$ atm), a constante dos gases ideais ($0,082$ atm $mL mmol^{-1} K^{-1}$) e a temperatura do reator $55^\circ C$ ($328,15^\circ K$). Posteriormente, divide-se esse valor pela aplicação ou conversão de substratos por litro de reator no dia e obtém-se o rendimento (HY).

$$n \left(\frac{mmol H_2}{L . d} \right) = \frac{P (atm) * PVH \left(\frac{mL H_2}{L . d} \right)}{R \left(\frac{atm . mL}{mmol . K} \right) * T (K)} \quad [Equação 2]$$

$$HY \left(\frac{mmol H_2}{g CH} \right) = \frac{n \left(\frac{mmol H_2}{L \cdot d} \right)}{CH_{conv} \left(\frac{g}{L \cdot d} \right)} \quad [Equação 3]$$

$$HY \left(\frac{mmol H_2}{g DQOc} \right) = \frac{n \left(\frac{mmol H_2}{L \cdot d} \right)}{1,06 * CH_{conv} + 1,07 * HLa_{conv} + 1,22 * GLY_{conv}} \quad [Equação 4]$$

$$HY \left(\frac{mmol H_2}{g DQO_{AP.}} \right) = \frac{n \left(\frac{mmol H_2}{L \cdot d} \right)}{DQO_{AP.} \left(\frac{g}{L \cdot d} \right)} \quad [Equação 5]$$

O monitoramento do acúmulo de biomassa no leito dos reatores e as respectivas Cargas Orgânicas Volumétricas Específicas (COV_E) foram realizados baseado na metodologia descrita por Anzola-Rojas et al. (2015). Porém, com algumas adaptações no que se refere ao acúmulo inicial de biomassa (X₀) e à COV_A. Os procedimentos de cálculo serão detalhados e justificados a seguir. Inicialmente determinou-se o coeficiente de rendimento celular (Y_{X/S}), em gSSV/gDQOc, de acordo com a Equação 6. Os termos X_A, X_S e X_E presentes na referida equação representam, em gSSV, respectivamente, a quantidade de biomassa aderida (meio suporte + paredes do reator), a quantidade de biomassa suspensa presente na mistura líquida, ambos ao final do período operacional e a quantidade total de biomassa presente no efluente durante o monitoramento periódico. O termo S_{DQOc} representa o valor total de matéria orgânica convertida pela biomassa acidogênica durante todo o período operacional, levando em consideração o consumo dos 3 principais substratos diretos presentes na vinhaça (CH, HLa e GLY) em termos equivalentes de DQOc.

$$Y_{X/S} \left(\frac{g SSV}{g DQOc} \right) = \frac{X_A + X_S + X_E}{S_{DQOc}} \quad [Equação 6]$$

Ao final do período operacional, o líquido presente no leito de cada reator foi drenado e armazenado, bem como a biomassa aderida no meio suporte e paredes foi lavada com um

volume conhecido de água destilada e, também, armazenada. Uma vez conhecido o volume da mistura líquida referente à biomassa suspensa e aderida, alíquotas foram coletadas e determinou-se a quantidade de sólidos suspensos voláteis presentes por gravimetria e calcinação (APHA, 2005), sendo assim, a quantidade total de biomassa aderida (X_A) e suspensa (X_S) presente em cada reator. A determinação de X_E se deu através do cálculo da integral da vazão mássica de sólidos eliminados na corrente efluente dos reatores, de acordo com a Equação 7. Onde os termos SSV_E , Q e t representam, respectivamente, a quantidade de sólidos suspensos presentes no efluente dos reatores ($gSSV L^{-1}$), a vazão de vinhaça aplicada ($L d^{-1}$) e o período operacional do sistema (60 dias).

$$X_E = \int_0^t (SSV_E \cdot Q) dt \quad [\text{Equação 7}]$$

A expressão S_{DQOc} foi calculada de acordo com a Equação 8, onde as expressões $S_{DQO(CH)}$, $S_{DQO(HLa)}$ e $S_{DQO(GLY)}$ representam, respectivamente, a quantidade consumida de carboidratos, ácido láctico e glicerol ao longo de toda operação. A fim de obter uma unidade comum, foi utilizado os fatores de conversão dos substratos considerados para gramas de DQO. O cálculo dos referidos parâmetros foi realizado através das Equações 13, 14 e 15 onde foi levado em consideração a quantidade de substrato (CH, HLa e GLY) afluyente e efluente ($g L^{-1}$), a vazão de vinhaça ($L d^{-1}$) e a quantidade equivalente em gramas de DQO por grama de substrato convertido.

$$S_{DQOc} = S_{DQO(CH)} + S_{DQO(HLa)} + S_{DQO(GLY)} \quad [\text{Equação 8}]$$

$$S_{DQO(CH)} = \int_0^t Q(CH_{Af.} - CH_{Ef.}) * 1,06 \left(\frac{g^{DQO}}{g^{CH}} \right) dt \quad [\text{Equação 9}]$$

$$S_{DQO(HLa)} = \int_0^t Q(HLa_{Af.} - HLa_{Ef.}) * 1,07 \left(\frac{g^{DQO}}{g^{HLa}} \right) dt \quad [\text{Equação 10}]$$

$$S_{DQO(GLY)} = \int_0^t Q(GLY_{Af.} - GLY_{Ef.}) * 1,22 \left(\frac{g^{DQO}}{g^{GLY}} \right) dt \quad [\text{Equação 11}]$$

A partir do cálculo de $Y_{X/S}$ definiu-se a produção de biomassa por consumo de substrato em um determinado intervalo de tempo (P_x), de acordo com a Equação 12. Em seguida, de

acordo com a Equação 13, calculou-se a quantidade de biomassa no interior do reator em um dado intervalo de tempo. Onde V_u , X_t , X_n e X_{n-1} representam, respectivamente, o volume útil do reator (L), a quantidade total de biomassa produzida durante todo o período operacional (gSSV), a quantidade total de biomassa no interior do reator no tempo n e no tempo $n - 1$ (g-SSV L_{reator}^{-1}).

$$Px = Q * DQO_c * Y_{X/S} \quad [\text{Equação 12}]$$

$$X_n = \left[\frac{\int_{n-1}^n Px \, dt}{V_u} * \left(\frac{X_A + X_S}{X_t} \right) \right] + X_{n-1} \quad [\text{Equação 13}]$$

No tempo $t = 0$ a quantidade de biomassa no interior do reator (X_0 ; g-SSV L_{reator}^{-1}) foi definida de forma experimental (6,21 g-SSV L_{reator}^{-1}) por gravimetria e calcinação (APHA, 2006) a partir de uma alíquota da vinhaça fermentada ao final dos 5 dias de recirculação no processo de inoculação. No presente estudo optou-se por esta adaptação na definição de X_0 pois o cálculo deste parâmetro está vinculado ao coeficiente de rendimento celular $Y_{X/S}$, que variou dentre as 3 condições em função das diferentes estratégias de alcalinização adotada após o processo de auto-fermentação da vinhaça. Uma vez que o procedimento de inoculação e o sistema AnSTBR foram idênticos, pressupõe-se que a quantidade de biomassa inicial presente nos três reatores sejam iguais e não tenham sofrido interferência das distintas estratégias de alcalinização adotada após abertura do sistema.

Por fim, calcula-se a Carga Orgânica Volumétrica Específica (COV_E ; g-DQO g-SSV $^{-1}$ d $^{-1}$) através da divisão da Carga Orgânica Volumétrica Aplicada (COV_A ; g-DQO L_{reator}^{-1} d $^{-1}$) pela quantidade de biomassa aderida no interior do sistema (g-SSV L_{reator}^{-1}), de acordo com a Equação 14. Diferentemente de Anzola-Rojas et al. (2015), utilizou-se no presente estudo a COV em termos de DQO levando em consideração a diversidade de compostos orgânicos (sólidos e líquidos) presente na vinhaça de cana-de-açúcar.

$$COV_E = \frac{COV_A}{X_n} \quad [\text{Equação 14}]$$

4.3. Fase Metanogênica

Para realização dessa etapa, um volume de 1L de vinhaça acidificada de cada reator foi coletado e congelado (-20°C) para conservação de suas características até que fossem realizados os ensaios. A coleta foi realizada 22 dias após o início da operação do sistema, consistindo na vinhaça referente à coleta da USM a fim de comparação com outros trabalhos relativos a destilarias anexas. Previamente à caracterização das amostras, o efluente foi centrifugado (5 min – 9.000 rpm) para remoção da biomassa acidogênica e possível interferência no desempenho da metanogênese. As características composicionais de cada amostra são apresentadas na Tabela 5. Posteriormente à caracterização, as referidas águas residuárias acidificadas foram diluídas à uma concentração aproximada de 10 g-DQOt L⁻¹ com a finalidade de comparação da influência composicional dos distintos substratos na cinética da fração solúvel e gasosa.

Tabela 5 - Características composicionais da vinhaça (São Martinho) acidificada

Parâmetros	R1	R2	R3
pH	7,21	4,8	4,07
DQOt (mg L⁻¹)	26.967	26.875	29.283
DQOs (mg L⁻¹)	26.083	26.800	28.450
SO₄²⁻ (mg L⁻¹)	832	2.305	2.305
Carboidratos (mg L⁻¹)	2.217 (9%) ^(A)	2.567 (10,2%) ^(A)	4.400 (16,4%) ^(A)
Ac. Lático (mg L⁻¹)	130 (0,5%) ^(A)	5.008 (19,9%) ^(A)	4.227 (15,9%) ^(A)
Ac. Acético (mg L⁻¹)	949 (3,9%) ^(A)	839 (3,3%) ^(A)	487 (1,8%) ^(A)
Ac. Propiônico (mg L⁻¹)	487 (2,8%) ^(A)	76 (0,4%) ^(A)	10 (0,05%) ^(A)
Ac. Butírico (mg L⁻¹)	2.390 (16,7%)	639 (4,3%) ^(A)	13 (0,08%) ^(A)
Etanol (mg L⁻¹)	1.183 (9,5%) ^(A)	1.324 (10,3%) ^(A)	1.136 (8,3%) ^(A)
Metanol (mg L⁻¹)	174 (1%) ^(A)	209 (1,2%) ^(A)	0
Fenóis Totais (mg L⁻¹)	2.353 (12,3%) ^(A)	2.353 (11,9%) ^(A)	2.353 (11,2%) ^(A)
DQOt/SO₄²⁻	36	11,66	12,7
DQOs/SO₄²⁻	31,3	11,63	12,34

Legendas: ^(A)Valores entre parênteses representa a contribuição do composto em termos de DQOs

O inóculo utilizado nos experimentos foi um lodo com concentração de 10,36% de SV obtido em uma planta piloto de um reator de leito fixo tratando vinhaça sob condições mesofílicas. Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyer (250 mL) preenchidos com 80mL de vinhaça diluída, mantidos sob condições mesofílicas (37°C) e agitação de 100 rpm. Foi aplicada uma relação A/M de 0,5 (AQUINO et al., 2007) e 0,3 g-NaHCO₃.g-DQO⁻¹ (AQUINO et al., 2017; DEL NERY et al., 2018) para ajuste do pH. A fim de avaliar o potencial de alcalinização que a sulfetogênese na fase acidogênica pode proporcionar ao sistema com separação de fases, uma condição sem a adição de NaHCO₃ (R1-0) foi realizada para comparação do desempenho. A representação esquemática da presente etapa é apresentada a seguir na Figura 7.

Figura 7 - Representação esquemática da fase metanogênica

Fonte: Autor

Inicialmente os reatores foram preenchidos com o lodo e a vinhaça diluída referente a cada condição (R1-0, R1, R2, R3). Para garantir um ambiente anaeróbico ao meio reacional, houve fluxionamento de gás N₂ por 5 minutos. Na sequência, os frascos foram acondicionados em mesa agitadora com controle de temperatura (modelo Multitron PRO Incubator Shaker – Infors HT, Infors AG, Bottmingen-Basel, Switzerland) sob condições anteriormente descritas.

Os ensaios foram realizados e monitorados em triplicata no que diz respeito à fase líquida (DQOs) e gasosa (pressão e composição do biogás), bem como à caracterização composicional final de cada condição.

O período operacional do experimento (10 dias – 240h) foi definido com base na estabilização da produção de CH₄, ou seja, quando o coeficiente de variação¹⁴ dos últimos 3 pontos monitorados atingiu valor menor que 5% para todas condições. A produção e composição de biogás foi monitorada 1 – 3x ao dia, com maior frequência nas primeiras 48h para determinação da fase exponencial de produção de CH₄ e, após esse período, foi determinada diariamente. Amostras líquidas de 1 mL foram coletadas do meio reacional a fim de definir o perfil de consumo do substrato (DQOs) e posterior obtenção dos parâmetros cinéticos. Para preservar um volume superior a 90% do meio reacional, adotou-se frequência diária de coleta até o 6º dia (144h) de operação e, após esse período, apenas mais uma amostra no 8º dia (192h).

Com relação ao monitoramento da fração gasosa, seguiu-se o protocolo descrito por Santos et al. (2019), onde o volume de biogás foi determinado pelo monitoramento de pressão (MDD50, T&S Equipamentos Eletrônicos, Brasil) no headspace antes e depois de cada injeção (VP_{BG-n} – Equação 15). A diferença entre a pressão pré-injeção P₀ (n) e pós-injeção P (n – 1) representa a produção (atm) no referido intervalo de tempo. Através da proporção de metano (%CH₄), obteve-se o volume produzido (VP_{CH4-n} – Equação 16) e acumulado (VPA_{CH4-n} – Equação 17). Posteriormente, calculou-se o número de mols (n_{CH4-n} – Equação 18) através da Lei dos Gases Ideais pelo: volume do headspace (V_{headspace}; L), volume acumulado de CH₄ (VPA_{CH4-n}; atm), constante R (0,082 atm L mol⁻¹ K⁻¹) e temperatura de 37°C (T; 310,15 K). Por fim, foi obtido o volume de CH₄ (V_{CH4-n} – Equação 19) nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP) através do: número de mols (n_{CH4-n} – Equação 13), temperatura de 0°C (T₀; 273,15 K) e pressão atmosférica local (P₀; ~ 0,91 atm). Os cálculos são representados a seguir:

$$VP_{BG-n} \text{ (atm)} = P_0 \text{ (n)} - P \text{ (n-1)} \quad \text{[Equação 15]}$$

¹⁴ Coeficiente de variação = (Desvio Padrão / Média)

$$PV_{CH_4-n} (atm) = V_{B-n} * \%CH_4 \quad [Equação 16]$$

$$PVA_{CH_4-n} (atm) = \sum_{t \rightarrow 0}^{t \rightarrow n} PV_{CH_4-t} \quad [Equação 17]$$

$$n_{CH_4-n} (mol) = \frac{PVA_{CH_4-n} * V_{headspace}}{R * T} \quad [Equação 18]$$

$$V_{CH_4-n} (NmL) = \frac{n_{CH_4-n} * R * T_0}{P_0} \quad [Equação 19]$$

Os parâmetros cinéticos da fração gasosa foram obtidos através do modelo de Gompertz Modificado (ZWIETERING et al., 1990) ajustado aos dados experimentais referentes à V_{CH_4-n} . Através do referido modelo (Equação 20), obteve-se o potencial de produção de metano (P_{CH_4} ; NmL), velocidade máxima de produção de metano (R_m ; NmL h⁻¹) e o período de adaptação ou fase lag (λ ; horas). Ainda referente à Equação 15, o termo $V_{CH_4}(t)$ representa o volume acumulado de metano num dado intervalo de tempo (t) e o termo “ e ” refere-se ao número de Euler (2,71828).

$$V_{CH_4}(t) = P_{CH_4} \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_{CH_4} \cdot e}{P_{CH_4}} (\lambda - 1) + 1 \right] \right\} \quad [Equação 20]$$

A constante cinética (k_1 ; h⁻¹), referente ao consumo de substrato (DQOs), foi obtida através do ajuste dos dados experimentais ao modelo de decaimento de primeira ordem com residual de matéria orgânica (RODRIGUES et al., 2003), expresso na Equação 21. Em função da concentrações de matéria orgânica (mg L⁻¹) em termos de DQOs inicial (C_0^{DQOs}) e residual (C_R^{DQOs}), ao passo que $C^{DQOs}(t)$ representa a concentração num dado intervalo de tempo (t) em horas. Ambos os cálculos de modelos cinéticos (fração gasosa e solúvel) foram realizados no

software OriginPro 8 (OriginLab Corporation, USA) através do algoritmo Levenberg-Marquardt.

$$C^{DQOs}(t) = C_R^{DQOs} + (C_0^{DQOs} - C_R^{DQOs}) \cdot \exp(-k_1^{DQOs} \cdot t) \quad [Equação 21]$$

Por fim, calculou-se o rendimento de metano (MY; NmL-CH₄ g-DQOs⁻¹) em função do consumo de matéria orgânica obtido experimentalmente para cada ponto de coleta de amostra líquida e gasosa, indicado na Equação 22. Em que V_{CH₄} representa o volume acumulado de CH₄ (N-mL), DQOs⁰ e DQOs^f representam a concentração inicial e final de matéria orgânica (g L⁻¹), respectivamente, e V_{líquido} representa o volume (L) de água residuária presente no reator.

$$MY(t) = \frac{V_{CH_4}}{(DQOs^0 - DQOs^f) \cdot V_{líquido}} \quad [Equação 22]$$

Para os resultados de produção, rendimento e porcentagem de CH₄ (poder calorífico), análises estatísticas foram realizadas através do software SigmaPlot 14.0 (Systat Software, USA), assumindo um fator de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Inicialmente, realizou-se a análise de variância através do teste Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade de distribuição dos dados. Uma vez indicado como dados não-paramétricos, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis para verificar se os resultados apresentam diferença estatisticamente significativa. Caso apresentem, a comparação entre os grupos se deu através do teste de Mann-Whitney, indicando quais foram estatisticamente significativos.

4.4. Potencial de Recuperação Energética e Valor Unitário

Os resultados obtidos experimentalmente na fase metanogênica (ER_{DQOs}; MY; PCI e f-CH₄) foram empregados para realização de uma simulação do Potencial Global de Recuperação Energética (PGRE – GWh) proporcionado por cada condição durante uma safra. A fim de

avaliar o impacto econômico de cada estratégia de alcalinização adotada, foi calculado o valor total por safra (US\$) e unitário (US\$ GWh⁻¹) gastos em alcalinizante por unidade de energia produzida. Para isso, será considerado tanto a alcalinização do processo acidogênico quanto do metanogênico.

A estimativa do volume de biogás produzido (V_{Biogas} ; m³) durante uma safra foi calculado de acordo com a Equação 23. O volume de vinhaça ($V_{Vinhaça} = 1837,5 \times 10^3$ m³) foi determinado com base em uma usina anexa com capacidade de produção de, aproximadamente, 200×10^3 toneladas de açúcar e m³ de etanol (FUESS et al., 2018b). A fração de metano (f-CH₄; %) utilizada foi a mediana de cada condição obtida durante todo o período operacional. A fim de simplificação do modelo simulado, não foi considerada a presença de H₂S no biogás e adotou-se como o remanescente composicional sendo apenas CO₂. Posteriormente, calculou-se o PGRE (GWh) de acordo com a Equação 24. O poder calorífico inferior do biogás (PCI_{Biogas} ; MJ Nm⁻³) foi calculado multiplicando-se o PCI_{CH_4} (35,82 MJ Nm⁻³) (LARSON et al., 1994) pela f-CH₄ (%). Por fim, considerou-se uma eficiência global (η_{el+th} ; adimensional) de 94,5% considerando o potencial de produção de energia elétrica ($\eta_{el} = 43\%$) e térmica ($\eta_{th} = 51,5\%$), de acordo com as especificações do fabricante para o modelo GE Jenbacher, modelo JMS 620 GS – F12.

$$V_{Biogas}(m^3) = \frac{V_{Vinhaça} * DQO_S * ER_{DQOs} * MY}{f - CH_4} \quad [Equação 23]$$

$$PGRE (GWh) = V_{Biogas} * \eta_{el+th} * PCI_{Biogas} * 10^{-3} \quad [Equação 24]$$

Para o cálculo do valor unitário investido em alcalinizante por unidade de energia produzida (US\$ GWh⁻¹), foi estimada a quantidade de NaHCO₃ e/ou NaOH necessária para alcalinização de ambas as fases e estipulou-se os custos vinculados ao processo. Por fim, dividiu-se o valor calculado (US\$) pelo potencial global de recuperação energética (PGRE em GWh). Os valores de mercado utilizados no presente estudo são referentes ao mês de Maio/2020 e foram extraídos da revista Química e Derivados (2020): 0,32 US\$ kg-NaOH⁻¹ e 0,87 US\$ kg-

NaHCO_3^{-1} . Para a estimativa do volume de hidróxido de sódio (NaOH), considerou-se uma aplicação de 4×10^{-3} g-NaOH g-DQOt⁻¹ para correção inicial do pH afluente ao processo acidogênico (FUESS et al., 2017a). Ademais, na condição acidogênica – sulfetogênica, considerou-se uma aplicação de 0,05 g- NaHCO_3 g-DQOt⁻¹, além da correção prévia feita com o NaOH. Por fim, a proporção de 0,3 g- NaHCO_3 g-DQOt⁻¹ da vinhaça acidificada foi considerada quando aplicado.

4.5. Métodos Analíticos

Os métodos analíticos utilizados no presente trabalho e suas respectivas referências bibliográficas são listados na Tabela 6. Em síntese, foram realizadas análises físico-químicas e foto-enzimática para o monitoramento da fração líquida e de cromatografia gasosa para avaliação da composição do biogás, bem como determinação dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs) e solventes. Com exceção da DQOt, todas as amostras foram previamente filtradas em filtros de 0,45 μm para realização das análises.

A quantidade de sulfeto presente em sua forma ionizada (HS^- ou S^{2-}) e não-ionizada (H_2S) foi calculada conforme a Equação 26. O valor do pKa utilizado foi de 6,6 (55°C) e foi calculado de acordo com a Equação 25. (CALLADO; DAMIANOVIC; FORESTI, 2015).

$$\text{pKa} = 7,257 * \exp(-0,00172 \cdot T) \quad [\text{Equação 25}]$$

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \log \frac{\text{HS}^-}{\text{H}_2\text{S}}$$

[Equação 26]

Para realização das análises de sulfato (SO_4^{2-}) e sulfeto total dissolvido (STD) as amostras foram coletadas ao final do leito reacional a partir dos septos presentes e passaram por um pré-tratamento a fim de preservar o composto na fração líquida e evitar erros analíticos. No caso do SO_4^{2-} , utilizou-se uma solução de HCl^- , ao passo que para o STD utilizou-se uma solução de NaOH.

O monitoramento da proporção de H₂ no biogás foi realizado em cromatógrafo gasoso com detector de condutividade térmica modelo GC-2010 (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, EUA) usando argônio como gás de arraste (PERNA et al., 2013). Ao passo que para detecção de CH₄ e/ou H₂S foi utilizado GC/TCD modelo GC-2014 (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, EUA) usando hidrogênio como gás de arraste (LEBRERO et al., 2016).

Tabela 6 - Parâmetros monitorados e métodos analíticos utilizados

Parâmetro	Método	Referência
DQOt e DQOs	Espectrofotometria	APHA (2005)
pH	Potenciometria	APHA (2005)
Sulfato (SO ₄ ²⁻)	Turbidimetria	APHA (2005)
Sulfeto Total Dissolvido (STD)	Espectrofotometria	APHA (2005)
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	Gravimetria/Calcinação	APHA (2005)
Carboidratos (CH)	Carboidratos Totais	Dubois et al. (1956)
Glicerol (GLY)	Foto-enzimático	Greenhill (2003)
Ácido Lático (HLA)	Espectrofotometria	Taylor (1996)
Fenóis Totais	Espectrofotometria	Buchanan & Nicell, (1997)
Alcalinidade Parcial (AP)	Titulação Potenciométrica	Ripley et al. (1986)
Ácidos Voláteis Totais (AVT)	Titulação Potenciométrica	Kapp (1984)
AOVs e Solventes	Cromatografia Gasosa	Adorno et al. (2014)
Composição Biogás (H ₂ , CO ₂)	Cromatografia Gasosa	Perna et al. (2013)
Composição Biogás (CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S)	Cromatografia Gasosa	Lebrero et al. (2016)

Fonte: Autor

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa seção serão discutidos os resultados obtidos em ambas etapas. A influência do processo de alcalinização empregado na fase acidogênica no desempenho (produção bioH_2 , redução de SO_4^{2-} e conversão de compostos orgânicos) do sistema contínuo (AnSTBR). Posteriormente, será discutida o impacto de cada no processo metanogênico em termos cinéticos (produção de CH_4 e degradação da DQOs), bem como as características composicionais do biogás produzido. Por fim, será realizado a avaliação do potencial global de recuperação energética proporcionado pelas quatro condições metanogênicas, bem como uma avaliação econômica em termos de valor unitário ($\text{US\$ GWh}^{-1}$) referente aos custos operacionais vinculados ao processo de alcalinização.

5.1.Fase Acidogênica

5.1.1. Alcalinização: estabelecimento da sulfetogênese, produção de bioH_2 e conversão de compostos orgânicos

A estratégia de alcalinização utilizada para as diferentes condições demonstrou exercer impacto direto no desempenho do sistema em termos de conversão de compostos orgânicos solúveis e produção de bioH_2 . A aplicação do bicarbonato de sódio (NaHCO_3) em adição ao hidróxido de sódio (NaOH) no processo de alcalinização (R1) proporcionou capacidade de tamponamento ($\text{pH}_{\text{afl.}} \sim \text{pH}_{\text{efl.}}$) vinculado ao estabelecimento da sulfetogênese. Por outro lado, a utilização apenas de NaOH (R2) apresentou dificuldades em manter o pH operacional na faixa preestabelecida (5 – 5,5), induzindo a um elevado consumo deste agente químico no preparo das alimentações ($\text{pH}_{\text{afl.}} = 6,5 - 8,5$). Por fim, a vinhaça bruta (R3 – sem alcalinizante) resultou em menor conversão de matéria orgânica solúvel (DQOc), porém suficiente para geração de ácido láctico e solventes (Item 5.1.2.), bem como maior solubilização de SSVs ($\Delta\text{DQOs/DQOt}$). As referidas constatações serão discutidas no presente item e podem ser observadas na Figuras 8 – 9 e Tabela 7.

Inicialmente, aplicou-se em R1 uma quantidade 0,1 g- NaHCO_3 /g-DQOt para abertura do sistema após o período de inoculação a fim de fornecer condições adequadas às bactérias redutoras de sulfato (BRS) (FUESS et al., 2019; PIFFER et al., 2021). Após um período de 5

dias o grupo de BRS já estava estabelecido ao meio reacional ($\text{ER-SO}_4^{2-} = 45\%$) e o pH efluente (7,5) em uma faixa elevada para o processo acidogênico. Sendo assim, optou-se em reduzir a

Figura 8 - Desempenho sulfetogênico e hidrogenogênico do processo em função do pH

Legendas: (a) pH afluente R1 (—□—), R2 (—○—) e R3 (—△—); pH efluente R1 (—■—), R2 (—●—) e R3 (—▲—). (b) Eficiência de remoção de SO_4^{2-} (ER_{SO_4} ; —■—); $\text{g-NaHCO}_3/\text{g-DQOt}$ (—○—). (c) Vazão de Biogás (VBG): R1 (—□—) e R2 (—○—); Produção Volumétrica de Hidrogênio (PVH): R1 (—■—) e R2 (—●—).

concentração de bicarbonato de sódio ($0,1 - 0,05 \text{ g-NaHCO}_3/\text{g-DQOt}$) a partir do 8º dia de operação para atingir uma redução do pH ($6 - 6,5$) e consequente aumento da eficiência do processo (LOPES et al., 2007a, 2008; REIS et al., 1988). A referida estratégia operacional foi eficiente para redução do pH ($6,85 \pm 0,09$) porém a ER_{SO_4} manteve-se na mesma faixa ($52 \pm 4\%$) até o 30º dia, fim do período operacional de alimentação com a vinhaça USM. Posteriormente (dia 30 – 40), a fim de evitar distúrbios causados ao processo em função da elevada concentração de compostos orgânicos e sólidos suspensos presentes na vinhaça UP, foi adotada a estratégia de diluição ($39,5 \pm 2,7 \text{ g-DQOt L}^{-1}$) e aumento progressivo na suplementação de bicarbonato ao meio ($0,075 - 15 \text{ g-NaHCO}_3 \text{ L}^{-1}$). Entretanto, devido à maior presença de compostos orgânicos e consequente maior acidificação, o pH efluente foi reduzido ($6,72 - 6,04$) e resultou na queda da ER_{SO_4} ($51 - 16\%$) (Figura 8A – B).

Uma vez apresentado sinais de recuperação e a fim de avaliar a robustez do AnSTBR submetido à vinhaça proveniente do melaço (elevada DQOt e SST), a alimentação foi realizada sem diluição a partir do 40º dia. Contudo, o pH reestabeleceu-se em níveis muito elevados ($7,58 - 7,34$) assim que a ER_{SO_4} foi recuperada ($53 - 57\%$). Novamente, em busca de um pH efluente mais adequado ao processo acidogênico, a concentração de bicarbonato foi reduzida ($0,15 - 0,1 \text{ g-NaHCO}_3 \text{ g-DQOt}^{-1}$) no 46º dia de operação. Entretanto, dessa vez, a referida estratégia não foi suficientemente capaz de reduzir o pH sem comprometer a atividade sulfetogênica (Figura 8A – B). Ambos parâmetros foram rapidamente comprometidos e o pH efluente atingiu seu valor mínimo ($5,96$) durante o período operacional. Adotou-se, mais uma vez, o aumento progressivo de NaHCO_3 ($0,1 - 0,15 \text{ g-DQOt}^{-1}$) visando a recuperação do processo. Ao fim do período operacional, a sulfetogênese havia se reestabelecido ($ER_{SO_4} \sim 50\%$), porém com $\text{pH}_{\text{effl.}} < 7$ e uma concentração 3x superior de NaHCO_3 , em comparação ao período referente à vinhaça SM. A variação das características composicionais demanda diferentes concentrações de NaHCO_3 para que a atividade sulfetogênica não seja afetada em decorrência da maior acidificação dos compostos orgânicos disponíveis e, consequentemente, queda do pH. Os resultados obtidos Fuess et al. (2019) e Piffer et al. (2021) corroboram os relatados a respeito do estabelecimento da sulfetogênese na presente etapa. Os referidos autores também reportaram a susceptibilidade das BRS em decorrência das variações de pH básico para ácido em sistemas AnSTBR inoculados a partir da fermentação natural da vinhaça.

Tabela 7 - Desempenho geral do sistema AnSTBR

Parâmetros	R1			R2			R3		
	(01 – 29d) ^(A)	(30 – 39d) ^(B)	(40 – 60d) ^(C)	(01 – 29d) ^(A)	(30 – 39d) ^(B)	(40 – 60d) ^(C)	(01 – 29d) ^(A)	(30 – 39d) ^(B)	(40 – 60d) ^(C)
TDH (h)	10,3 ± 0,6	12,8 ± 1	17 ± 1,2	10,6 ± 0,5	13,3 ± 1,9	16,9 ± 1	10,6 ± 0,5	12,4 ± 0,7	16,7 ± 1,3
COV_A (kg-DQO m⁻³ d⁻¹)	78,3 ± 6,1	76,9 ± 6	77,1 ± 4,8	76,4 ± 5,6	76,4 ± 9,4	77,6 ± 6,4	76,3 ± 5	77 ± 8,1	78,5 ± 5,3
pH (-)	6,96 ± 0,23	6,55 ± 0,4	6,94 ± 0,58	4,95 ± 0,16	4,81 ± 0,14	5,02 ± 0,09	4,2 ± 0,09	4,51 ± 0,05	4,46 ± 0,09
ER_{DQOt} (%)	10,6 ± 3,5	20,7 ± 17,9	11,7 ± 3,1	12,5 ± 4,2	13,5 ± 13,4	7,6 ± 2,6	10,7 ± 4,5	12,5 ± 12,2	5,8 ± 3,3
ER_{DQOs} (%)	10,1 ± 7,1	17,4 ± 17,6	11,9 ± 2,6	9,8 ± 14,8	5,3 ± 17,5	7,6 ± 5,2	3,1 ± 9,3	1,1 ± 10,8	-1,2 ± 5,3
DQOs/DQOt	0,86 ± 0,05	0,81 ± 0,04	0,88 ± 0,02	0,88 ± 0,14	0,85 ± 0,06	0,89 ± 0,05	0,93 ± 0,07	0,88 ± 0,02	0,95 ± 0,04
EC_{CH} (%)	58,2 ± 7,6	71,8 ± 0,7	75,9 ± 1,6	47,4 ± 11,3	46,3 ± 10,6	58,9 ± 4,1	14,4 ± 7,4	16,4 ± 9,2	5,4 ± 8,3
EC_{GLY} (%)	98,1 ± 0,3	98,9 ± 0,2	99 ± 0,1	98,1 ± 0,2	99,1 ± 0,2	99,1 ± 0,2	98,3 ± 0,2	99,2 ± 0,3	99,3 ± 0,1
EC_{HLa} ^(D) (%)	82,5 ± 13,7	93,7 ± 0,5	92,4 ± 1,2	-83,3 ± 32,3	-172,9 ± 48,8	-89,6 ± 21,5	-58,7 ± 16,9	-53 ± 39,8	-58,6 ± 26,9
ER_{SO4} (%)	47,9 ± 12,3	23,9 ± 9,1	39,5 ± 15,6	-	-	-	-	-	-
DQOc (%)	70 ± 7,0	80,8 ± 0,7	83,2 ± 1,0	43,8 ± 6,5	50,7 ± 7,4	59 ± 2,5	23,5 ± 4,4	31,6 ± 5,5	25,6 ± 3,6
VBG (mL d⁻¹)	10603 ± 1893	16380 ± 1456	15826 ± 1131	4591 ± 3356	5276 ± 3349	14497 ± 2760	-	-	-
PVH (mL-H₂ L_R⁻¹ d⁻¹)	786 ± 243	1154 ± 238	883 ± 278	1001 ± 728	1120 ± 833	3477 ± 788	-	-	-
HY (mmol-H₂ g-CH)	3,4 ± 1,1	3,5 ± 0,6	2,6 ± 0,8	5,3 ± 4,1	4,9 ± 2	13,1 ± 2,9	-	-	-
HY (mmol-H₂ g-DQO_{ap.})	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,4	1,5 ± 0,4	-	-	-
HY (mmol-H₂ g-DQO_{conv.})	1,6 ± 0,5	1,9 ± 0,4	1,4 ± 0,5	3,5 ± 2,7	2,8 ± 1,4	7,9 ± 1,7	-	-	-

Siglas: TDH = Tempo de Detenção Hidráulica; COV_A = Carga Orgânica Volumétrica Aplicada ; ER-DQOt = Eficiência de Remoção de DQOt; ER-DQOs = Eficiência de Remoção de DQOs; EC-CH = Eficiência de Conversão de Carboidratos; EC-GLY = Eficiência de Conversão de Glicerol; EC-HLa = Eficiência de Conversão de Ácido Lático; EP-HLa = Eficiência de Produção de Ácido Lático; ER-SO₄²⁻ = Eficiência de Remoção de sulfato; DQOc = DQO convertida em termos de CH, GLY e HLa; VBG = Vazão de Biogás; PVH = Produção Volumétrica de Hidrogênio; HY = Rendimento da produção de metano (hydrogen yield).

Legendas: ^(A)Alimentação referente à vinhaça da USM (destilaria anexa); ^(B)Alimentação referente à vinhaça UP (melaço) diluída; ^(C)Alimentação referente à vinhaça UP (melaço); ^(D)Valores em negativo (-) referem-se à produção de HLa proporcional à concentração afluente.

Já em relação ao processo concebido para otimização da produção de bioH₂ (R2), o período inicial (dia 0 – 20) apresentou dificuldade de estabelecimento de uma comunidade hidrogenogênica (Figuras 8 – 9) como consequência de uma combinação de fatores. A vinhaça aplicada no processo de fermentação natural (UP-I), mesmo diluída em 50%, ainda apresentou uma elevada concentração de compostos orgânicos solúveis (CH, GLY e HLa), especialmente de carboidratos ($\sim 10\text{g-CH L}^{-1}$), fato que resultou numa queda de pH (6,5 – 4,9) logo nos 3 dias iniciais em que foi submetida à fermentação em câmara escura. Como consequência do pH < 5 e elevada concentração de CH, houve condições adequadas para o estabelecimento do grupo de bactérias produtoras de ácido láctico (BAL – Bactérias Ácido Lácticas) (FUESS et al., 2020b) desde o início da etapa de recirculação. Adicionalmente, a elevada carga aplicada ($\text{COV}_A = 75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) no presente estudo induziu uma sobrecarga da comunidade microbiana a partir da abertura do sistema ($\text{COV}_E = 12 \text{ g-DQO g-SSV}^{-1}$) (Figura 9B), resultando em um pH efluente durante o referido período inferior a 5 ($4,88 \pm 0,08$) e, conseqüentemente, predominância das BAL. A concentração máxima de $4.800 \text{ g-HLa L}^{-1}$ (Figura 10 – Item 5.1.2), baixo rendimento ($2,87 \pm 0,72 \text{ mmol-H}_2 \text{ g-CH}^{-1}$) e produção ($569 \pm 214 \text{ mL-H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) de bioH₂ corrobora tais constatações.

Uma vez operado sob carga constante e à medida que houve o crescimento microbiano, a COV_E atingiu o limite superior da faixa ótima ($6 \text{ g-DQO g-SSV}^{-1}$) para produção de bioH₂ (ANZOLA-ROJAS et al., 2015; FUESS et al., 2016, 2019) por volta do dia 20 (Figura 9B). A partir do qual e até o final da alimentação com a vinhaça da USM (dia 21 – 30) houve uma recuperação do sistema em termos de pH ($5,15 \pm 0,17$) e redução de HLa efluente ($4.800 - 3.275 \text{ mg L}^{-1}$), sem nenhum aumento no pH afluente (7,5). Desta forma, a produção de bioH₂ foi estabelecida (Figura 8 – 9), atingindo um máximo de $2.273 \text{ mL-H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Figura 8) e rendimento de $14,08 \text{ mmol-H}_2 \text{ g-CH}^{-1}$. Os resultados obtidos por Fuess et al. (2019) tanto no aspecto de produção/rendimento máximo de bioH₂ ($\text{PVH} = 2.074 \pm 258 \text{ mL-H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$; $\text{HY} = 15,6 \text{ mmol-H}_2 \text{ g-CH}^{-1}$), quanto de produção de HLa (pH < 5) em AnSTBR termofílico processando vinhaça proveniente da mesma destilaria anexa corrobora com os obtidos até a presente etapa.

Similarmente à R1, o processo foi afetado assim que houve a troca de vinhaça na etapa de transição (dia 30 – 40). Apontado pela queda do pH efluente ($5,02 - 4,69$) e conseqüente redução da PVH ($2.354 - 533 \text{ mL-H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ – Figura 8), bem como acúmulo de HLa (5.760 g L^{-1}). Optou-se pelo aumento gradual do pH afluente ($7,5 - 8,5$) como estratégia para recuperação da atividade hidrogenogênica. Sendo assim, o pH efluente atingiu a faixa desejada

($5,02 \pm 0,9$ – Figura 8A) durante o período subsequente (dia 41 – 60). Como consequência, uma elevada produção de bioH_2 ($3.477 \pm 788 \text{ mL-H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ – Figura 8B) foi atingida, que alcançou um máximo de $4.545 \text{ mL-H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ no 55º dia de operação. A produção atingida na presente etapa foi muito superior à obtida no período estável (dia 21 – 30) da fase inicial e aos reportados na literatura para sistemas de alta taxa e leito fixo (FERRAZ JR. et al., 2014, 2015a; FUESS et al., 2019). Apesar de apresentarem um rendimento (HY) equivalente durante a operação com a vinhaça de distintas fontes (Figura 9A), maior PVH foi alcançada na fase operacional com efluente proveniente do melaço (UP). Suas características composicionais de maior concentração de matéria orgânica, induziu um aumento do TDH (10,3 – 17h) a fim de manter a mesma COV_A . Com isso, houve melhores condições de aproveitamento do substrato disponível indicado pela DQOc ($43,9 \pm 6,6\%$ vs. $59 \pm 2,5\%$). Entretanto, vale ressaltar também a maior demanda por alcalinizante ($\text{pH} \sim 8,5$) na fase operacional em que foi aplicada uma vinhaça de maior concentração de compostos orgânicos (UP). Observa-se, também, uma baixa variação composicional do biogás com elevada proporção de H_2 ($45 \pm 4\%$) (Figura 10B), mesmo quando a PVH e o HY foram comprometidos devido ao estabelecimento de um pH desfavorável ao processo

Na condição acidogênica-sulfetogênica (R1) houve maior consumo de compostos orgânicos devido às características intrínsecas do grupo BRS em utilizar uma grande diversidade de substratos com elevado favorecimento termodinâmico (Tabela 2 – Reação F-R). Através do monitoramento dos principais substratos diretos (CH, HLa e GLY) presentes na vinhaça, pôde-se observar um elevado grau de DQOc (70 – 83%) durante todo o período operacional. Adicionalmente, o baixo rendimento de bioH_2 (Figura 9A) comparados a sistemas termofílicos semelhantes indica um desvio do H_2 produzido no processo para a redução de SO_4^{2-} através da rota hidrogenotrófica (Tabela 2 – Reação 18). Em oposição à R2, o VBG gerado não está vinculado ao desempenho do processo (Figura 8C) e é produzido em grandes volumes do início ao fim da operação. Entretanto, caracteriza-se por ser composto majoritariamente de CO_2 ($\sim 83 \pm 4\%$) e pela presença de H_2S ($3,4 \pm 1,9\%$), sendo apenas $13,2 \pm 3\%$ H_2 (Figura 10A). Em termos volumétricos ($786 - 1154 \text{ L-H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), mesmo que haja uma produção equivalente (FERRAZ JR. et al., 2015a) e, até mesmo, superior (FERRAZ JR. et al., 2014) à estudos anteriormente reportados para reatores de leito fixo e mesma água residuária sob condições termofílicas. A elevada proporção de CO_2 e a presença de H_2S em adição ao alto volume de biogás gerado, demandaria unidades de tratamento do biogás robustas e custosas que

possivelmente inviabilizariam seu aproveitamento como biocombustível (KHAN et al., 2017; SUN et al., 2015).

Figura 9 - Desempenho geral (líquido, sólido e gasoso)

Legendas: (a) Rendimento de H₂ (HY; mmol-H₂-g-DQO_{conv.}⁻¹): R1 (□) e (○) R2; Consumo de compostos orgânicos solúveis (DQO_{conv.}): R1 (■), R2 (●) e R3 (▲); (b) Carga Orgânica Volumétrica Específica (COV_E): R1 (□), (○) R2 e (△) R3; (c) Acúmulo de Biomassa: R1 (■), R2 (●) e R3 (▲).

Figura 10 - Características Composicionais do Biogás da fase Ácida

Legendas: (a) R1; (b) R2 e (c) R3

Por um outro lado, a DQOc em R3 foi a mais baixa (Figura 9A) devido à falta de alcalinização e manteve-se dentro de uma mesma faixa (~25%) durante todo o período operacional, independente da vinhaça aplicada. O principal substrato consumido no referido processo foi o glicerol (Tabela 7), o qual manteve-se dentro da faixa 98 – 99% de conversão durante todo o período operacional. Observa-se a maior parcela desses compostos sendo convertidos à HLa e parte à solventes (Figura 10 e 11 – Item 5.1.2), discutidos no item posterior. Todavia, o desempenho dessa condição indicou um maior grau de solubilização (DQOs/DQOt) com relação às outras condições (Tabela 7), uma vez que houve um elevado acúmulo de SSV apontado pela baixa presença no monitoramento do efluente e elevada concentração no leito

em suspensão ($\sim 50\text{g-SSV/L}_{\text{reator}}$) na desmontagem do sistema. Tais constatações inferem no estabelecimento das bactérias acidogênicas hidrolíticas na degradação dos compostos sólidos orgânicos. Levando em consideração o fato de que a hidrólise é a etapa limitante da digestão anaeróbia, tal configuração pode contribuir para maior efetividade no aproveitamento energético de todos os compostos orgânicos (sólidos e líquidos) no sistema com separação de fases (EASTMAN & FERGUSON, 1981; UENO et al., 2007). Entretanto, não houve uma produção volumétrica de biogás suficientemente capaz de superar a pressão exercida pelo selo hídrico, impossibilitando sua quantificação. Adicionalmente, o monitoramento composicional da fração gasosa (Figura 10C) presente no *headspace* indica um gás composto majoritariamente por CO_2 ($96 \pm 2,4\%$) e o remanescente por H_2 ($3,9 \pm 2,4\%$).

Em síntese, a condição neutralizada apenas com NaOH (R2) apresentou, apesar de elevada produção de bioH_2 , dificuldades em manter um pH operacional adequado ($5 - 5,5$) e baixa capacidade de tamponamento. Uma vez que o referido composto atua apenas como um forte agente neutralizante, ao disponibilizar íons de OH^- para o meio reacional (FUESS et al., 2017a). Sendo assim, o pH afluente ($7,5 - 8,5$) utilizado em grande parte do estudo demandou elevado consumo de NaOH e resultou em um pH efluente próximo ao da vinhaça bruta, com períodos de instabilidades da comunidade hidrogenogênica ($\text{pH} < 5$). Ademais, a contribuição do bioH_2 em termos de recuperação energética total de um sistema de duas fases é extremamente baixa (menor que 5%) (FERRAZ JR. et al., 2016; FUESS et al., 2017b; 2018c, 2019; LUO et al., 2011). Por outro lado, quando alimentado com a vinhaça sem correção do pH (R3), o efluente acidificado resultou em um menor grau de biodegradabilidade ($\text{DQOc} \sim 25\%$) porém maior capacidade de solubilização (DQOs/DQOt) dos SSV presentes.

A operação em condição acidogênica – sulfetogênica, por sua vez, demonstrou cumprir um papel fundamental em desempenhar tal função (tamponamento) e indica como promissora na otimização do processo de DA com separação de fases no contexto de biorrefinarias de cana-de-açúcar. Quando estabelecida na presente condição, o pH afluente permaneceu na mesma faixa após ser acidificado e, quando comprometida, houve uma elevada queda no pH de saída, corroborando com os resultados apresentados por Piffer et al. (2021). Diversas reações tem potencial de geração de bicarbonato (HCO_3^-) por vias sulfetogênicas (Tabela 2 – Reação E à K), de acordo com o que foi abordado na presente revisão bibliográfica (GIL-GARCIA et al., 2018; WANG et al., 2008). Entretanto, dentre os estudos disponíveis na literatura, poucos são os trabalhos que abordam o potencial alcalinizante do processo acidogênico – sulfetogênico. No contexto do processamento da vinhaça de cana-de-açúcar em duas fases, esse aspecto ganha

ainda mais importância. O seu estabelecimento na fase ácida pode garantir uma redução, ou até mesmo eliminação, do uso de alcalinizantes químicos na etapa seguinte, garantindo grandes vantagens econômicas e ambientais (discutido no Item 5.2.3).

Outro aspecto que merece destaque foi a robustez que o AnSTBR apresentou dentro das especificidades do presente estudo. Não houve problemas operacionais de entupimento do leito mesmo quando utilizada uma vinhaça proveniente da fermentação do melaço, com elevada concentração de sólidos suspensos ($\sim 9 \text{ g-SST L}^{-1}$) e compostos orgânicos ($\sim 54,4 \text{ g-DQOt L}^{-1}$). Fato que comprova as vantagens que a utilização de um sistema de leito fixo estruturado proporciona em detrimento ao empacotado. Uma vez que não há relatos prévios sobre o processamento acidogênico da vinhaça proveniente do melaço em sistemas AnSTBR, o presente estudo demonstrou sua viabilidade de aplicação nas condições estudadas. Entretanto, vale salientar a necessidade de operações em longo prazo para comprovação de sua aplicabilidade.

5.1.2. Metabólitos solúveis: produção de ácidos voláteis e solventes

Em termos de produção de ácidos orgânicos voláteis (AOVs) e solventes, a estratégia de alcalinização e a fonte da vinhaça de alimentação impactaram os aspectos quantitativos (Figura 11) e/ou qualitativos (Figura 12). A condição acidogênica – sulfetogênica (R1) caracterizou-se pela elevada concentração de ácidos voláteis de cadeia curta (AVCC), com maiores concentrações de HBU, em adição ao HAc e HPr. As condições estritamente acidogênicas (R2 e R3) apresentaram características composicionais similares, porém maior concentração de compostos na proveniente do processo hidrogenogênico (R2 – NaOH). O ácido láctico (HLA) foi o principal metabólito produzido, ao passo que em R1 o referido composto caracterizou-se como um substrato direto para a sulfetogênese e/ou fermentação à HBU e bioH_2 . A troca para uma vinhaça mais concentrada, apesar dos distúrbios causados ao processo (discutidos no previamente no Item 5.1.1.) induziu maior produção de compostos orgânicos. Pôde-se notar, também, capacidade para produção de solventes (EtOH; MeOH; BuOH) e para alongamento de cadeia (HV_a e HC_a) nas condições alcalinizadas (R1 e R2).

Figura 11 - Concentração de metabólitos solúveis da fase ácida

Figura 12 - Características composicionais da fração solúvel (DQO equivalente)

Legenda: (a) R1; (b) R2; (c) R3. **Nota:** Porcentagem composicional dos compostos monitorados.

Na condição sulfetogênica (R1), o principal AVCC foi o ácido butírico (26 – 55%; Figura 12), seguido pelo ácido acético (3 – 18%; Figura 12) e propiônico (1 – 11%; Figura 12). Ao passo que o HLa afluente foi consumido quase que totalmente ($EC_{HLa} = 87,7 \pm 11\%$) possivelmente por diferentes vias. A predominância de HBU em adição a concentrações intermediárias de HAC indica o estabelecimento da sulfetogênese pela via hidrogenotrófica (Reação R – Tabela 2) e BRS oxidadoras incompletas (Reação I – Tabela 2). O bioH_2 é formado principalmente pela fermentação de HLa e HAC à HBU (Reação 4) em sistemas acidogênicos

termofílicos no processamento da vinhaça de cana-de-açúcar (FUESS et al., 2018a, 2019; PIFFER et al., 2021). Há disponibilização de H_2 para o meio reacional e consequente redução do SO_4^{2-} pelas BRS hidrogenotróficas, resultando no prevalecimento do HBU. Adicionalmente, uma outra parcela do HLa é oxidada à HAc (Reação I – Tabela 2) que, por sua vez, é consumido parcialmente na fermentação do HLa à $bioH_2$ (Reação 4). O baixo rendimento de $bioH_2$ (Figura 9A) em adição à predominância de HBU e presença em menores concentrações de HAc corrobora com a hipótese apresentada.

Adicionalmente, é válido destacar a presença do ácido propiônico (HPr) na atual condição, principalmente na fase alimentada com a vinhaça proveniente do melaço, onde se fez necessário maior proporção de $NaHCO_3$ e houve instabilidades da comunidade sulfetogênica. A fim de comparação, a proporção de HPr variou de $3,4 \pm 1,6\%$ para $7,7 - 2,2\%$ na alimentação realizada com a vinhaça da destilaria anexa (dia 1 – 30) e proveniente do melaço (dia 31 – 60), respectivamente. Adicionalmente, o HAc também apresentou uma variação proporcional referente ao mesmo período ($7,4 \pm 3\% - 13,6 \pm 2,9\%$). Tal comportamento se deu, possivelmente, devido ao desvio do fluxo de elétrons da oxidação incompleta do HLa à HAc pelas BRS para a via fermentativa de produção de HAc e HPr (Reação 25) quando afetada a atividade sulfetogênica. Ademais, quando estável, a necessidade de um pH mais elevado ($7,4 \pm 0,14$ vs. $6,96 \pm 0,23$) para o desempenho sulfetogênico aos níveis atingidos na primeira fase possivelmente tenham induzido à geração de HPr e consumo de $bioH_2$ (Reação 23) (CASTELLÓ et al., 2020; ELBESHBISHY et al., 2017).

É válido ressaltar ainda a similaridade dentre o perfil obtido (R1) e os apresentados em processos acidogênicos – sulfetogênicos similares (vinhaça; AnSTBR; 55°C ; inoculação) (FUESS et al., 2019; PIFFER et al., 2021). Outros estudos referentes ao mesmo processo reportam uma predominância do HAc em detrimento a todos os outros metabólitos vinculados exclusivamente à uma elevada atividade sulfetogênica das BRS oxidadoras incompletas (LOPES et al., 2007b, 2008, 2010; REN et al., 2007a; WANG et al., 2008). Entretanto, notáveis diferenças em termos de COV_A ($5 - 20 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), relação DQO/SO_4 ($0,9 - 4,5$), substrato e inoculação são apresentados nos referidos estudos. Tais características garantem alta carga de sulfato em adição à baixas cargas orgânicas, favorecendo o grupo sulfetogênico em detrimento ao acidogênico. No contexto da vinhaça de cana-de-açúcar tais parâmetros operacionais seriam

impraticáveis devido aos próprios aspectos qualitativos da água residuária e dos atuais sistemas acidogênicos que suportam altas COV_A .

Todavia, a operação sob temperatura mesofílica pode representar uma estratégia adequada para o aumento na concentração proporcional de HAc no presente sistema. Reis et al. (1988) reportam a predominância do referido metabólito em um sistema acidogênico – sulfetogênico de leito fixo (APBR) mesofílico (35°C), alimentado com vinhaça proveniente do melaço ($DQO/SO_4^{2-} = 8,8$) sob uma COV_A de aproximadamente $45 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, condições mais próximas às estudadas no presente trabalho do que os citados anteriormente, com exceção da temperatura. Similarmente, em processo concebido para produção de AOVs a partir da vinhaça de cana-de-açúcar e inoculação através da auto-fermentação. Sánchez et al. (2021) constataram a predominância de diferentes rotas em função da temperatura operacional: sob condições mesofílicas (30 – 40°C) predominou-se a fermentação do HAc ao passo que para faixa termofílica (50 – 60°C) o principal metabólito foi o HBu. Ademais, algumas adaptações no processo de fermentação natural da vinhaça podem ser adotadas para o favorecimento da atividade sulfetogênica desde o processo de inoculação (discutido posteriormente no Item 5.1.3.).

Nos reatores R2 e R3 o ácido láctico (HLa) foi o principal metabólito produzido, do início até o fim do período operacional. De acordo com o exposto no item anterior a respeito da fonte utilizada na inoculação do sistema, as condições oferecidas pela vinhaça (melaço) aplicada no processo de fermentação natural favoreceram a atividade das Bactérias Ácido Lácticas (BAL). Em estudos prévios, as BAL representam um grupo microbiano constantemente detectado em sistemas acidogênicos no processamento de vinhaça de cana-de-açúcar (FERRAZ JR. et al., 2014, 2015a; FUESS et al., 2018a; SANTOS et al., 2014a), bem como na própria água residuária (CASSMAN et al., 2018). Adicionalmente, produziu-se em menor proporção etanol (EtOH) em ambos os processos. A rota metabólica estabelecida possivelmente foi a fermentação heterolática de carboidratos (Reação 26), frequentemente reportada em sistemas acidogênicos (FUESS et al., 2018a; REN et al., 2007b; SREELA-OR et al., 2011).

Apesar da menor concentração de metabólitos solúveis, a condição R3 demonstrou capacidade para produção de HLa ($+ 58 \pm 24\%$) sob condições ácidas (sem alcalinizante). É válido destacar a possível contribuição do glicerol (GLY), o qual foi convertido quase que

totalmente ($EC_{GLY} = 98 - 99\%$) do início até o fim de todo o período operacional. Os carboidratos totais (CH), por sua vez, atingiram baixa conversão ($EC_{CH} = 12 \pm 9\%$). Usualmente o CH é indicado como a fonte de carbono na rota heterolática realizada pelo grupo *Lactobacillus sp.* (BAL) (FUESS et al., 2018a; PIFFER et al., 2021; REN et al., 2007b; SREELA-OR et al., 2011). Entretanto, Prada-Palomo et al. (2012) reportaram um elevado rendimento de produção de HLa proveniente da conversão de GLY ($0,71 \text{ g g}^{-1}$) associado ao mesmo grupo microbiano (*Lactobacillus sp.*). Outro metabólito comum entre as duas condições foi o Ácido Acético (HAc), todavia este permaneceu na mesma faixa da vinhaça bruta aplicada na alimentação durante todo o período.

O perfil apresentado pelo processo R2, apesar das similaridades com R3, indicou algumas características específicas provenientes da adição de NaOH e do estabelecimento das Bactérias Produtoras de Hidrogênio (BPH). A geração de HLa foi favorecida ($100 \pm 45\%$ vs. $58 \pm 24\%$) em decorrência de melhores condições para conversão de CH ($51 \pm 11\%$) proporcionada pela alcalinização do processo. Ademais, foi indicada a presença de ácido butírico (HBu), com elevadas concentrações quando estabelecida a produção de bioH_2 ($\text{pH} > 5 \sim 2,2 \pm 0,7 \text{ g L}^{-1}$) e em menores quando desfavorecida ($\text{pH} < 5 \sim 0,37 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$). O comprometimento da atividade hidrogenogênica causado pela troca de vinhaça (dia 30) resultou em uma notável redução na presença de HBu ($1.354 - 142 \text{ mg L}^{-1}$), em adição ao aumento na concentração de HLa ($3.275 - 5.760 \text{ mg L}^{-1}$) e HAc ($400 - 880 \text{ mg L}^{-1}$). No período subsequente, uma vez reestabelecida a produção de bioH_2 , a concentração atingiu seu valor máximo durante todo período operacional ($\sim 3\text{g-HBu L}^{-1}$) à medida que o HLa e o HAc foram consumidos (Figura 11B), evidenciando que a principal rota metabólica para produção de bioH_2 foi a fermentação do HLa (Reação 4). Tais contatações corroboram os resultados reportados previamente na literatura (CHOJNACKA et al., 2011; DAREIOTI et al., 2014; FUESS et al., 2019; GRAUSE et al., 2012; MATSUMOTO & NISHIMURA, 2007).

Similarmente, Fuess et al. (2019) relatam a mesma rota metabólica onde houve predominância da geração de HBu e, quando afetada a comunidade hidrogenogênica ($\text{pH} < 5$), acúmulo de HLa. Apesar das similaridades (reator, temperatura, água residuária, HY) vale destacar alguns pontos. No referido estudo as condições de estabilidade que sucederam as de instabilidade houve um rápido consumo de HLa e sua concentração foi reduzida em comparação ao afluente ($EC_{HLA} > 0$). No presente estudo, mesmo nos períodos de geração otimizada de bioH_2 houve produção do referido metabólito ($EC_{HLA} < 0$). Nesse caso, a atividade das BPH e das BAL não demonstraram serem excludentes entre si e que diante do pH

operacional de aproximadamente 5 é possível que haja produção otimizada de bioH_2 em adição à geração de HLa. Dois fatores podem ter contribuído para o referido comportamento: as vinhaças de diferentes fontes (Melaço vs. Anexa) aplicadas no processo de fermentação natural e a partida do reator sob COV_A otimizada ($\sim 75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) no presente estudo. O processo de auto-fermentação (LEITE et al., 2008) especifica quais procedimentos adotar para a inoculação dos sistemas acidogênicos, resultando no estabelecimento de culturas mistas. Entretanto, como discutido no presente trabalho, há grande variação nos aspectos qualitativos da vinhaça proveniente de diferentes fontes e especificidades de cada destilaria, fato que possivelmente induz a uma certa variabilidade na comunidade microbiana. Ademais, partida do reator sob COV_A otimizada ($\sim 75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) teria induzido a uma certa sobrecarga ($\text{COV}_E > 6 \text{ g-DQO g-SSV}^{-1}$) e resultou em uma elevada comunidade de BAL (discutido previamente no Item 5.1.1.).

Diversos estudos reportam a inibição da atividade hidrogenogênica devido ao estabelecimento das BAL, pois determinadas espécies competem pelos mesmos substratos e/ou são responsáveis pela geração de bacteriocinas (ELBESHBISHY et al., 2017; NOIKE et al., 2002). Entretanto, na presente etapa e no estudo referido anteriormente (FUESS et al., 2019), o acúmulo de HLa pode ser considerado mais como uma consequência de condições ambientais adversas para as BPH (pH e/ou COV_E) do que propriamente uma causa na instabilidade do processo. García-Depraect et al. (2021) discorrem sobre o papel das BAL na produção de bioH_2 e que é fundamental um conhecimento mais profundo das interações de ambos os grupos microbianos para extrair todas as vantagens fornecidas. Ainda segundo os autores, há uma lacuna sobre os fatores bióticos e abióticos, principalmente tratando-se do processamento de substratos complexos por culturas mistas, a única abordagem que pode ser economicamente viável para produção de hidrogênio por processos biotecnológicos. Sendo assim, análises de biologia molecular podem contribuir para maior compreensão do impacto das especificidades composicionais da vinhaça e operacionais do sistema na comunidade microbiana gerada durante a auto-fermentação e estabelecida na operação, respectivamente.

A proporção composicional de solventes (EtOH; BuOH e MeOH) em termos de DQOs recuperada permaneceu na mesma faixa nas três condições (R1: $21 \pm 7\%$; R2: $16 \pm 8\%$ e R3: $16 \pm 9\%$). Entretanto, vale destacar algumas especificidades apresentadas por cada fase e/ou processo. No primeiro período (1 – 30d) uma grande parcela do EtOH é possivelmente advinda da própria alimentação (USM) do que propriamente do processo. Uma vez que a vinhaça bruta apresentou concentração de aproximadamente 1 g-EtOH L^{-1} . Ainda sobre o referido período,

todas as condições apresentaram um padrão de variação positivo e negativo no decorrer da primeira fase, indicando consumo e/ou produção em R1 ($1.377 \pm 418 \text{ mg-EtOH L}^{-1}$), R2 ($1.089 \pm 238 \text{ mg-EtOH L}^{-1}$) e R3 ($1.151 \pm 523 \text{ mg-EtOH L}^{-1}$). Por outro lado, na etapa subsequente (UP – Melaço) as condições apresentaram menor concentração e maior dispersão: R1 ($906 \pm 448 \text{ mg-EtOH L}^{-1}$), R2 e R3 ($\sim 730 \pm 600 \text{ mg-EtOH L}^{-1}$). Porém, apresentou maior atividade solvetogênica, uma vez que baixa presença de EtOH (292 mg L^{-1}) foi detectada na vinhaça UP. Atingiu-se uma concentração máxima de aproximadamente $1.740 \text{ mg-EtOH L}^{-1}$ ($\sim 5x$ maior) nas 3 condições. A condição R1 apresentou maior produção média em ambas as etapas, fato que sugere que o etanol não foi utilizado como fonte de carbono pela comunidade sulfetogênica (Reação 8 e 14 – Tabela 2). Nesse caso, o favorecimento da produção de EtOH aparentou ser influenciado mais pela estratégia de alcalinização e, conseqüentemente, pH operacional.

Apesar de estudos apontarem uma faixa ácida de pH (4,3 – 4,5) sendo mais apropriada para a produção de solventes em sistemas acidogênicos/solvetogênicos (TASHIRO et al., 2013), há relatos na literatura no que se refere ao favorecimento da produção de etanol e bioH_2 sob pH inicial de neutro à básico ($\sim 6,8 - 8$) utilizando o glicerol como substrato (Reação 27) (ITO et al., 2005; REUNGSANG et al., 2013; VARRONE et al., 2012). A rota estabelecida em R1 possivelmente foi a de fermentação do glicerol, uma vez que a vinhaça é composta parcialmente por esse composto e o pH afluente manteve-se na faixa de 6,9 – 7,5. Similarmente, outros estudos do processo acidogênico – sulfetogênico proveniente da vinhaça (FUESS et al., 2019; PIFFER et al., 2021) e do melaço (WANG et al., 2008) indicam a presença de etanol dentre os metabólitos produzidos para uma mesma faixa de pH. Ademais, Silva et al. (2015) relatam um aumento de 33,6% na produção de álcoois vinculado à suplementação de NaHCO_3 .

[Reação 27]

O processo acidogênico – sulfetogênico (R1) ainda apresentou capacidade de produção de Metanol (MeOH) e n-Butanol (BuOH). Maior capacidade de produção de MeOH foi apontada, também, na alimentação realizada com a vinhaça proveniente do melaço (348 ± 145 vs. $147 \pm 55 \text{ mg L}^{-1}$). Além disso, o BuOH foi produzido de forma constante apenas a partir do dia 36 (vinhaça UP) e permaneceu na faixa de $118 - 272 \text{ mg L}^{-1}$ até o fim do período operacional. A condição hidrogenogênica (R2) apresentou, em menores concentrações, apenas

o metanol no período proveniente da vinhaça anexa (106 ± 88 mg-MeOH L⁻¹) e do melaço (138 ± 12 mg-MeOH L⁻¹). Ao passo que a condição sem alcalinizante (R3) foi a mais desfavorável com relação ao referido solvente (68 ± 47 mg-MeOH L⁻¹). A presença de BuOH no processo sulfetogênico possivelmente ocorreu devido à elevada disponibilidade de HBU e HAc, principais precursores da fermentação acetona-butanol-etanol (SILVA et al., 2015). Assim sendo, a condição acidogênica – sulfetogênica apresenta maior capacidade de produção de solventes pois, além de atingir concentrações de EtOH mais elevadas, ainda demonstrou potencial de produção de outros álcoois (MeOH e BuOH).

Por fim, as condições alcalinizadas (R1 e R2) ainda apresentaram capacidade para alongamento de cadeia carboxílica indicado pela presença de ácidos voláteis de cadeia longa (AVCL), especialmente a partir da troca de vinhaça no dia 31. No presente estudo, a geração de ácido capróico (HCA) foi estimulada (329 ± 118 mg-HCA L⁻¹) quando atingida uma produção otimizada e estável de bioH₂ (R2; dia 41 – 57). Sua produção ocorre através da reação de β -oxidação reversa do HBU e/ou HAc, em adição à disponibilidade de doadores de elétrons (HLA ou EtOH) (CAVALCANTE et al., 2017). Nesse caso, a elevada presença de HBU quando estável a atividade hidrogenogênica em adição à disponibilidade de HLA possivelmente tenha estimulado o alongamento de cadeia carboxílica. A condição acidogênica – sulfetogênica (R1) apresentou em menores concentrações o referido metabólito (164 ± 27 mg-HCA L⁻¹) a partir da maior disponibilidade de HBU (dia 31 – 60). Nesse caso, o doador de elétrons possivelmente foi o EtOH devido à sua maior disponibilidade em detrimento ao HLA que, por sua vez, foi direcionado para outras rotas (discutido anteriormente). Sánchez et al. (2021) relatam o papel determinante do HLA para β -oxidação reversa e geração de AVCL, demonstrando maior capacidade de assimilação pela comunidade microbiana em comparação ao EtOH. Justificando a maior presença de HCA na condição hidrogenogênica.

Adicionalmente, também foi atingida a produção de ácido valérico (HVA) e Iso-Valérico (i-HVA) nas duas condições (R1 e R2). Vale destacar que no presente estudo considerou-se ambos sendo apenas HVA, a fim de simplificação gráfica no perfil metabólico. Nesse caso, a condição sulfetogênica (R1) apresentou maior capacidade de produção tanto para a vinhaça anexa (133 ± 21 vs. 40 ± 14 mg-HVA L⁻¹) quanto pela proveniente do melaço (227 ± 27 vs. 115 ± 7 mg-HVA L⁻¹). A principal rota reportada na literatura é o alongamento do HPr à HVA utilizando-se o EtOH como doador de elétrons (CANDRY et al., 2020; GANIGUÉ et al., 2019; SÁNCHEZ et al., 2021), fato que corrobora com a maior geração de HVA em R1, onde os dois substratos estiveram presentes. Na condição hidrogenogênica houve escassez de HPr devido ao

seu pH operacional ($< 5,5$) e, sendo assim, baixas quantidades de HVa foram atingidas, possivelmente provenientes do alongamento de outros AVCC menos favoráveis para tal rota.

Vale ressaltar ainda que no presente estudo buscou-se avaliar o desempenho apenas de processos acidogênicos visando a otimização da etapa metanogênica. Todavia, foi constatado a presença de alguns compostos amplamente estudados na literatura (BuOH; EtOH; MeOH; HCa; HVa) a partir de um efluente real e uma cultura mista proveniente de um processo relativamente simples de fermentação natural da própria água residuária. Diversos estudos dentre as áreas de sistemas solvetogênicos e de produção de AVCL utilizam efluentes sintéticos e cultura pura. Portanto, há viabilidade de adaptações no presente processo para o favorecimento de diferentes rotas metabólicas e, em consequência, geração de distintos produtos de valor agregado.

5.1.3. Sulfetogênese: inóculo, competição e inibição

Além das vantagens de alcalinização apresentadas anteriormente, alguns aspectos específicos ao processo acidogênico – sulfetogênico merecem destaque. De acordo com o que foi discutido no Item 3.2.2 da revisão bibliográfica, o referido sistema possui potencial de reduzir a competição, inibição e contaminação do biogás na fase subsequente (LOPES et al., 2007b; REIS et al., 1988). A eficiência do processo apresentou algumas limitações possivelmente vinculadas à comunidade sulfetogênica estabelecida proveniente da fermentação natural da vinhaça (melaço). Entretanto, alguns ajustes no referido processo de inoculação podem favorecer o estabelecimento de uma comunidade ainda mais rica em BRS. Todavia, mesmo com uma limitada ER_{SO_4} o processo atingiu um nível suficientemente capaz de reduzir a competição na fase metanogênica. Ademais, resultados promissores foram obtidos no que tange a remoção de sulfeto total dissolvido (STD). Apresentando reduzidas concentrações no meio líquido vinculados à elevada e constante produção de biogás. Os dados referentes à referidas constatações são apresentados na Tabela 8 e serão discutidos a seguir.

Em termos de remoção de SO_4^{2-} (Figura 13), os resultados obtidos no presente estudo (ER_{SO_4} máxima de 57%) foram inferiores aos reportados na literatura referente à mesma água residuária, protocolo de inoculação (LEITE et al., 2008) e configuração de reator (AnSTBR)

(FUESS et al., 2019; PIFFER et al., 2021). Entretanto, as especificidades composicionais da vinhaça empregada no processo de fermentação natural aparentam exercer uma forte influência na comunidade microbiana e, possivelmente, tenha limitado a atividade sulfetogênica aos níveis estabelecidos no presente estudo. Piffer et al. (2021) relataram o estabelecimento de um pH adequado para o estímulo da sulfetogênese anterior à abertura do sistema, fim do processo de inoculação ($\text{pH} = 7,15$; $\text{ER}_{\text{SO}_4} = 60,8\%$). Tal parâmetro estimulou desde o início a redução de SO_4^{2-} mesmo com a alcalinização realizada apenas com NaOH ($\text{pH}_{\text{afl}} = 6,5$) e estendeu-se durante toda primeira fase operacional e parte da subsequente. Ainda de acordo com os autores, a elevada presença de Na^+ (700 mg L^{-1}) na vinhaça aplicada ao processo de inoculação e utilizada durante toda primeira fase operacional, estimulou a geração de alcalinidade “*in loco*”. Nesse caso, ao combinar-se com o HCO_3^- produzido nas reações sulfetogênicas durante a auto-fermentação houve geração de NaHCO_3 no próprio processo.

Tabela 8 - Desempenho do processo acidogênico – sulfetogênico (R1)

Parâmetros	Unidades	R1		
		[An] 01 - 29	[dM] 30 - 39	[M] 40 - 60
CSV _{ap.}	$\text{kg-SO}_4^{2-} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$5,5 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$	$4,9 \pm 0,4$
ER _{SO4}	%	$47,9 \pm 12,3$	$23,9 \pm 9,1$	$39,5 \pm 15,6$
CSV _{conv.}	$\text{kg-SO}_4^{2-} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$2,7 \pm 0,7$	$1,1 \pm 0,4$	$2 \pm 0,9$
STD	mg L^{-1}	73 ± 15	26 ± 6	44 ± 34
HS ⁻	mg L^{-1}	47 ± 10	12 ± 8	36 ± 32
H ₂ S	mg L^{-1}	27 ± 7	14 ± 6	9 ± 3
STD _{teórico}	mg L^{-1}	406 ± 42	194 ± 65	463 ± 193
STD/STD _{teórico}	%	$18,4 \pm 5,1$	$14,7 \pm 6,4$	$8,2 \pm 3,9$
TBG	$\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	$2,75 \pm 0,49$	$4,25 \pm 0,38$	$4,11 \pm 0,29$
TBG	$\text{L L}_{\text{reator}}^{-1} \text{ d}^{-1}$	$5,3 \pm 0,95$	$8,19 \pm 0,73$	$7,91 \pm 0,57$
H ₂ S (biogás)	%	$5,1 \pm 0,9$	$1 \pm 0,8$	$2,1 \pm 1,1$
CO ₂ (biogás)	%	$80,2 \pm 2,2$	$84,5 \pm 3,3$	$86,7 \pm 2,4$

Siglas: CSV_{ap.}= Carga de Sulfato Volumétrica Aplicada; CSV_{conv.}= Carga de Sulfato Volumétrica Convertida; STD = Sulfeto Total Dissolvido; HS⁻ = Sulfeto Ionizado; H₂S = Sulfeto não-ionizado; STD_{teórico} = Estimativa da geração de sulfeto total dissolvido; TBG = Taxa de Biogás.

Figura 13 - pH efluente e Sulfato (entrada e saída)

Legendas: Sulfato (SO_4^{2-}) Afluente (—□—) e Efluente (—○—); pH efluente (▲).

No presente estudo, utilizou-se uma água residuária com características específicas de vinhaça proveniente da fermentação do melaço para inoculação e, mesmo com a estratégia de diluição adotada, permaneceu com elevadas concentrações de compostos orgânicos. Nesse contexto, houve uma elevada acidificação inicial e consequente redução do pH (6,5 – 4,9) já nos 3 dias iniciais de fermentação natural em câmara escura sob condições termofílicas, previamente ao processo de recirculação. A fim de comparação, o presente estudo apresentou uma disponibilidade 2x maior (13.565 vs. 7.256 mg-DQOs L⁻¹) dos principais compostos orgânicos (CH, GLY e HLa) comparando-se à vinhaça utilizada por Piffer et al. (2021). Entretanto, mesmo sob as referidas condições, ao disponibilizar uma fonte externa de bicarbonato (NaHCO_3) na abertura do sistema a sulfetogênese foi estabelecida em 5 dias e a ER_{SO_4} manteve-se na faixa de 50% durante toda fase (5 – 30d). Ademais, o processo atingiu uma conversão volumétrica máxima ($\text{CSV}_{\text{conv.}}$) de 3,6 kg- SO_4^{2-} m⁻³ d⁻¹. Comparando-se aos estudos similares e de maior eficiência citados anteriormente, Piffer et al. (2021) obtiveram uma ER_{SO_4} de 100% quando a carga volumétrica aplicada de SO_4^{2-} ($\text{CSV}_{\text{ap.}}$) foi de apenas 1,5 kg- SO_4^{2-} m⁻³ d⁻¹. Ao passo que Fuess et al. (2019) atingiram uma CSV_{conv} média de aproximadamente 3 kg- SO_4^{2-} m⁻³ d⁻¹, entretanto sob condições mais críticas de TDH (6 vs. 10 – 17 horas).

Os estudos disponíveis na literatura indicam um certo grau de complexidade no processo de inoculação de sistemas acidogênicos-sulfetogênicos, pois dependem de duas (LENS et al., 2003; LOPES et al., 2008; SIPMA et al., 1999) ou até mesmo três (LENS et al., 2001) fontes externas de inóculos e não atingem inibição total da comunidade metanogênica. Em outros casos, necessitam de um período de aclimação do lodo sob condições específicas e controladas (GIL-GARCIA et al., 2018; LI et al., 2019; LOPES et al., 2007b; REN et al., 2007; WANG et al., 2008) para o favorecimento da atividade das BRS. Comparando-se aos estudos citados anteriormente, a fermentação natural da vinhaça apresenta grandes vantagens, por caracterizar-se como uma metodologia relativamente simples e suficientemente capaz de inibir a comunidade metanogênica, de baixo custo (elevada disponibilidade) e duração (8 dias). Todavia, tratando-se de uma constatação relativamente recente (FUESS et al., 2019) e o protocolo de inoculação ter sido concebido para a produção de bioH₂ (LEITE et al., 2008), ainda se faz necessário alguns ajustes para otimização da atividade sulfetogênica.

As características composicionais e as condições de alcalinização em que são submetidas a vinhaça durante o processo de auto-fermentação, de acordo com o que foi discutido anteriormente, aparentam definir o favorecimento de determinados grupos microbianos, da mesma forma que origem do inóculo apresenta-se como uma variável que otimiza ou limita a eficiência do processo acidogênico – sulfetogênico (LOPES et al., 2007b). Portanto, algumas estratégias como a suplementação com uma fonte externa de sulfato e variações na alcalinização inicial podem garantir uma comunidade microbiana rica em BRS. A adição de sulfato de sódio (Na₂SO₄) pode ser uma delas que proporcionaria duas vantagens ao processo. Além de enriquecer o meio com uma fonte externa de SO₄²⁻, e consequente redução da relação DQO/SO₄²⁻, também disponibiliza íons Na⁺ que proporciona propriedades alcalinizantes ao processo sulfetogênico (PIFFER et al., 2021). Outro aspecto que pode ser considerado em estudos futuros, é a aplicação de uma fração de NaHCO₃⁻ no ajuste inicial do pH e/ou à recirculação, uma vez relatado todas as vantagens do referido composto à sulfetogênese (FUESS et al., 2019; PIFFER et al., 2021). Nesse contexto, uma condição otimizada para a comunidade sulfetogênica e passível de ser replicada em trabalhos futuros seria obtida.

Ainda que o processo tenha apresentado instabilidades e não tenha atingido patamares elevados para remoção total de SO₄²⁻, o desempenho foi suficientemente capaz de manter o efluente acidificado dentro dos limites de segurança. A Figura 14 apresenta a relação DQO/SO₄²⁻ afluente e efluente de cada condição (R1, R2 e R3). Tal relação referente à vinhaça

bruta manteve-se na faixa de 15, resultando em efluente acidificado sem redução de SO_4^{2-} (R2 e R3) com uma proporção de 13 ($\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$) e mínimo de aproximadamente 10. Nesse caso, caracterizando-se como desfavorável do ponto de vista da metanogênese, uma vez que para tais condições Lens et al. (1998) considera uma região crítica em termos de geração de H_2S solúvel, podendo comprometer a atividade da comunidade metanogênica. Ademais, a produção de CH_4 também é reduzida devido à competição pelos mesmos substratos com as BRS (KIYUNA et al., 2017). Por outro lado, a relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ do efluente acidogênico-sulfetogênico (R1) permaneceu em torno de 25. Valor a partir do qual a produção de CH_4 não é afetada pela redução de SO_4^{2-} (KIYUNA et al., 2017).

Figura 14 - Relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ (afluente e efluente)

Outro aspecto que apresentou resultados promissores para o sistema estudado, foi a baixa presença de sulfeto total dissolvido (STD) no meio líquido. Nesse caso a concentração de STD manteve-se abaixo de 100 mg L^{-1} representando, no máximo, 25% do STD teórico produzido. Valores abaixo dos níveis inibitórios ($100 - 800 \text{ mg L}^{-1}$) reportados na literatura para as comunidades microbianas anaeróbias (CHEN et al., 2008). A reduzida presença desse elemento (Figura 15) pode ser atribuída à alta taxa de produção de biogás (Tabela 8) e

consequente *stripping* do sulfeto entre as fases líquida-gasosa, bem como à precipitação de sulfeto metálico devido ao seu prevailecimento em sua forma ionizada ($\text{pH} > \text{pKa}$).

Em estudos acerca de sistemas acidogênicos-sulfetogênicos diversas estratégias operacionais foram adotadas para otimização da transferência do sulfeto gerado no processo da fase líquida para a gasosa: injeção de N_2 gasoso no meio reacional (LENS et al., 2003; LI et al., 2019; LOPES et al., 2007b, 2010; SIPMA et al., 1999); elevada COVa visando a otimização da produção de biogás (LENS et al., 2001, 2003; SIPMA et al., 1999) e recirculação do efluente para aumento da velocidade ascensional (V_{asc}) (GIL-GARCIA et al., 2018; LENS et al., 2001, 2003; SIPMA et al., 1999). No presente estudo, as condições estabelecidas proporcionaram uma acentuada e constante produção de biogás através do próprio sistema biológico. Sendo assim, não houve necessidade de nenhuma fonte gasosa externa ou recirculação do efluente para o *stripping* do H_2S do meio líquido. As propriedades de alcalinização do NaHCO_3 , como fonte externa de bicarbonato, em adição à elevada COVa ($\sim 75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) e DQOc (70 – 83%) resultou em uma excessiva presença de CO_2 no meio reacional. Da qual parte desse composto foi direcionado constantemente para a fração gasosa, indicado por sua predominância (80 – 87%) no monitoramento composicional (Figura 10 – Tabela 8) e baixa variação volumétrica (Figura 8C). A taxa de produção no sistema foi de 2,75 e 4,25 $\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ para a vinhaça USM e UP, respectivamente. A maior proporção de CO_2 e produção de biogás são referentes à fase de maior aplicação de bicarbonato e conversão de compostos orgânicos (UP).

Figura 15 - Concentração de Sulfeto Total Dissolvido: real e proporcional ao teórico

Legenda: Sulfeto ionizado (HS^- ■) e não-ionizado (H_2S ■).

Nota: Valores em porcentagem (%) representa o valor proporcional de $\text{STD}/\text{STD}_{\text{teórico}}$.

A fim de comparação, Lopes et al. (2007b) empregaram a mesma CSV ($\sim 5 \text{ kg-SO}_4^{2-} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) em um sistema UASB operado sob condições acidogênicas-sulfetogênicas e a influência da taxa de biogás foi evidente em termos de acúmulo de sulfeto no meio líquido. Inicialmente, a ER_{SO_4} ficou limitada em 33% devido à baixa produção de biogás pelo sistema que resultou numa concentração de $200 \text{ mg-STD L}^{-1}$. Como estratégia operacional, os autores aplicaram taxas progressivas de N_2 ($2,5 - 15 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), resultando na recuperação do processo em termos de ER_{SO_4} (33 – 96%) e redução de STD ($200 - 45 \text{ mg L}^{-1}$). Na fase inicial do referido estudo, mesmo com uma $\text{CSV}_{\text{conv.}}$ inferior ($1,56$ vs. $2,66 \text{ kg-SO}_4^{2-} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), houve maior presença de STD (200 vs. 73 mg L^{-1}) em comparação aos resultados apresentados (Tabela 8). A aplicação de taxas de N_2 equivalentes às produzidas no presente estudo ($2,5 - 5 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) proporcionaram condições adequadas para o aumento da atividade sulfetogênica ($\text{ER}_{\text{SO}_4} = 60 - 75\%$) em consequência à remoção de sulfeto ($\text{STD} = 125 - 80 \text{ mg L}^{-1}$) do meio líquido. Nesse caso, foi evidenciado o grau de influência exercido pelos níveis de taxa de biogás produzido no sistema biológico estudado.

Em termos de carga orgânica aplicada, os reatores de alta taxa termofílicos e crescimento auto-aderido indicam uma COVa máxima limitada na faixa de $25 - 35 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Fato que limita a produção de biogás em $2 - 4,3$ e $8,7 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ para reatores UASB e EGSB, respectivamente (LENS et al., 2001, 2003; SIPMA et al., 1999). Por outro lado, os reatores de crescimento aderido e leito fixo (AnSTBR) demonstram-se mais robustos ao suportarem cargas até 4 vezes superior às citadas. No presente estudo foi aplicado $75 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ e atingiu-se uma produção na faixa de $5 - 8 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Fuess et al. (2019) obtiveram uma produção de aproximadamente $10,5 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ($\text{COVa} = 100 \text{ kg-DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) para um sistema similar quando estabelecida a sulfetogênese. Entretanto, a produção de STD não foi monitorada pois o objetivo foi de avaliar a produção de bioH_2 . Vale salientar ainda que os sistemas de crescimento auto-aderidos supracitados aplicaram a recirculação do efluente para o aumento da Vasc e, consequentemente, o deslocamento dos compostos solúveis para a fase gasosa. A exemplo disso está a produção de biogás em níveis mais elevados do sistema EGSB ($\text{Vasc} = 6,8 \text{ m h}^{-1}$) (LENS et al., 2001) em comparação aos reatores UASB ($\text{Vasc} = 1,0 \text{ m h}^{-1}$) submetidos à mesma faixa de COVa (LENS et al., 2001, 2003; SIPMA et al., 1999).

Mesmo sem aplicação da recirculação, o presente processo e o apresentado por Fuess et al. (2019) atingiram resultados promissores em termos de elevada produção de biogás vinculado à elevada COVa e NaHCO_3 como alcalinizante. Entretanto, a aplicação de referida estratégia operacional pode significar uma otimização ainda maior da remoção de sulfeto do meio líquido

e, mais do que isso, maior capacidade sulfetogênica e a reintrodução do HCO_3^- gerado no processo sulfetogênico. Adicionalmente, o consumo de substrato é favorecido devido ao aumento do grau de mistura e consequente redução da resistência à transferência de massa (líquido – biofilme), característica em sistemas de leito fixo (GIL-GARCIA et al., 2018). Gil-Garcia et al. (2018) atingiram a condição operacional ótima em função do aumento da recirculação e, em consequência, da Vasc ($3,35 \text{ m h}^{-1}$) em um AnSTBR acidogênico-sulfetogênico submetido à elevada CSV ($8 - 16 \text{ kg-SO}_4^{2-} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) e baixa relação DQO/ SO_4^{2-} ($1,25 - 2,5$). Os autores reportaram um aumento não só no *stripping* do H_2S , como também da atividade sulfetogênica (ER_{SO_4}) e da alcalinidade parcial (AP). Similarmente, Bertolino et al. (2015) atribuem um desempenho superior ao AFBR em detrimento ao UASB operado sob condições similares devido às condições hidrodinâmicas mais favoráveis proporcionada pelas elevadas taxas de recirculação. Ainda de acordo com os autores, o desempenho do UASB também foi favorecido quando adotada a recirculação para o aumento da Vasc ($0,024 - 1,75 \text{ m h}^{-1}$). Sendo assim, pesquisas futuras devem ser realizadas para avaliar a influência da recirculação em sistemas AnSTBR acidogênicos - sulfetogênicos aplicados à vinhaça de cana-de-açúcar.

Outro fator que também pode ter contribuído para a redução do STD é sua precipitação na forma de sulfetos metálicos. É relatado na literatura a presença de metais traço na vinhaça proveniente da indústria sucroalcooleira brasileira, principalmente Ferro (Fe) e Manganês (Mn). (FUESS et al., 2018c; GODOI et al., 2019). A referida característica, em adição à predominância do sulfeto em sua forma ionizada ($\text{pH} > \text{pKa}$) possivelmente induziu à formação/precipitação de sulfetos metálicos no meio reacional (GODOI et al., 2017), o qual não é considerado como um composto potencialmente tóxico. Porém, em elevada presença, pode resultar à formação de uma camada externa e agir como barreira física, impedindo a assimilação de substrato pela comunidade microbiana estabelecida (UTGIKAR et al., 2002). No presente estudo não foi monitorado tais parâmetros, portanto é recomendado que seja realizado em trabalhos futuros para melhor compreensão da precipitação de sulfetos metálicos através dos metais traços presentes na vinhaça de cana-de-açúcar. A fim de compreensão do balanço do sulfeto produzido em sistemas acidogênico-sulfetogênicos de leito fixo.

Por fim, além de todas vantagens proporcionadas ao sistema biológico (inoculação, competição e inibição), a presente configuração pode contribuir para superar as limitações econômicas vinculadas ao sistema de tratamento do biogás. Os custos de instalação, operação e manutenção do sistema de dessulfurização representa uma das principais barreiras para seu

aproveitamento energético na indústria sucroalcooleira brasileira. Devido à carência de tais tecnologias a nível nacional, há uma susceptibilidade do valor unitário (R\$/GJ) às taxas de importação e poder de compra da moeda local (LEME & SEABRA, 2017). Atingindo-se uma otimização e capacidade de remoção total da carga de SO_4^{2-} aplicada na etapa acidogênica, a fração gasosa gerada na fase posterior poderia ser direcionada diretamente para geração de energia elétrica e térmica em turbinas de gás com ciclo combinado. Com relação às referidas tecnologias, o baixo poder calorífico do biogás representa a maior barreira para sua aplicação e os requisitos mínimos de H_2S variam na faixa de 200 – 1000 ppm em função do tamanho da turbina (KHAN et al., 2017; SUN et al., 2015).

Sendo assim, o sistema AnSTBR acidogênico-sulfetogênico apresentou diversos aspectos positivos que necessitam de investigações futuras para definição de parâmetros operacionais ótimos. O processo de inoculação através da auto-fermentação da vinhaça pode ser investigado em termos de suplementação com uma fonte externa de SO_4^{2-} e/ou alcalinização inicial com NaHCO_3 para otimização da atividade sulfetogênica. Uma vez que a referida estratégia foi concebida para produção de bioH_2 , é possível que haja adaptações para favorecimento das BRS. Com base no potencial de *stripping* do STD associado à elevada taxa de produção de biogás, é fundamental que seja analisada aplicação de cargas orgânicas volumétricas (COVa) progressivas em operações de longo prazo, visando avaliar o limite que os sistemas estudados suportam sem comprometimento do desempenho da sulfetogênese. Adicionalmente, a recirculação do efluente deve ser investigada para analisar a influência da Vasc. Por fim, o balanço do sulfeto gerado no sistema em termos de *stripping* e precipitação de sulfeto metálico pelos metais traços presentes na vinhaça.

5.2. Fase metanogênica

5.2.1. Desempeho geral: cinética, consumo de DQOs e rendimento de CH_4

A produção de metano ao longo do período operacional nas distintas condições (Figura 15) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($\alpha = 0,788$). Entretanto, diferentes padrões cinéticos (Tabela 9) foram obtidos dentre as condições (R1-0/R1 vs. R2/R3) em função das especificidades composicionais do efluente acidificado, sobretudo os principais metabólitos e maior ou menor atividade sulfetogênica. A alcalinização também influenciou nos parâmetros cinéticos das condições R1-0 e R1. Especificamente no favorecimento de rotas oxidativas ou redutoras que, como consequência, impactou a produção acumulada de CH_4 e o período de aclimação (λ).

Figura 16 - Dados experimentais e modelo cinético ajustado para a produção de CH_4

Legenda: (a) R1-0: efluente proveniente do processo acidogênio – sulfetogênico sem correção do pH na presente etapa; (b) R1: efluente proveniente do processo acidogênio – sulfetogênico; (c) R2: efluente proveniente do processo hidrogenogênico; (d) R3: efluente proveniente da etapa acidogênica sem correção do pH na etapa anterior.

Tabela 9 - Parâmetros cinéticos de produção de CH₄

Condição	Período (h)	P _{CH₄} (NmL-CH ₄)	R _{CH₄} (NmL h ⁻¹)	λ (h)	R ²
R1-0	0 - 72	34,77 ± 2,81	0,95 ± 0,17	8,16 ± 3,16	0,9856
	72 - 240	127,71 ± 6,34	1,15 ± 0,18	0	0,9784
R1	0 - 72	41,21 ± 2,77	0,99 ± 0,12	13,12 ± 2,38	0,9938
	72 - 240	142,82 ± 5,27	1,53 ± 0,22	0	0,9812
R2	0 - 48	51,17 ± 0,89	1,86 ± 0,06	10,85 ± 0,43	0,9998
	48 - 240	159,05 ± 4,52	0,84 ± 0,05	0	0,9967
R3	0 - 48	53,3 ± 3,49	1,58 ± 0,13	10,63 ± 1,2	0,9982
	48 - 240	152,17 ± 5,18	0,72 ± 0,04	0	0,9965

Siglas: P_{CH₄} = Potencial de produção de CH₄; R_{CH₄} = Velocidade máxima de produção; λ = Fase lag; R² = coeficiente de determinação referente ao ajuste do modelo cinético aos dados experimentais. **Nota:** R1-0 (efluente proveniente do processo acidogênio – sulfetogenico sem correção do pH na presente etapa); R1 (efluente proveniente do processo acidogênio – sulfetogenico); R2 (efluente proveniente do processo hidrogenogênico); R3 (efluente proveniente da etapa acidogênica sem correção do pH na etapa anterior).

As condições R2 e R3 apresentaram velocidade máxima (R_{CH₄}: 1,86 – 1,58 NmL h⁻¹) e potencial (P_{CH₄} ~ 52 NmL) de produção de metano maiores no período inicial (0 – 48h). O ácido láctico (HLa) foi o principal metabólito formado em ambas condições e o sulfato (SO₄²⁻) não foi consumido previamente, garantindo condições favoráveis para o estabelecimento da atividade das BRS oxidadoras incompletas. A conversão de HLa à acetato (HAc) por vias sulfetogênicas ocorre sob condições termodinâmicas favoráveis ($\Delta G^0 = -160,1 \text{ kJ mol}^{-1}$; Reação 9 – Tabela 2) e, em consequência, proporciona um substrato direto para as AM acetoclásticas (Reação 19 – Tabela 2). Nesse caso, a maior disponibilidade de ambos os compostos na condição R2 (5.008 vs. 4.227 mg-HLa L⁻¹ – 839 vs. 487 mg-HAc L⁻¹) garantiu uma velocidade máxima ligeiramente superior em detrimento à R3. Já com relação ao segundo período (48 – 240h), as referidas condições continuaram seguindo o mesmo padrão. O potencial de produção permaneceu a níveis próximos (159 – 152 NmL-CH₄) com redução da velocidade máxima (R_{CH₄}: 0,84 – 0,72 NmL h⁻¹) em relação ao período anterior e com R_{CH₄} em R2 ligeiramente superior à R3 devido à presença de outros AOVs (639 mg-HBu L⁻¹). Por outro lado, a condição R3 foi afetada pelo

menor grau de acidificação (maior CH) que dependeu da atividade acidogênica para conversão à compostos intermediários da fermentação durante o presente período operacional.

Nas condições R1-0 e R1 houve uma reduzida velocidade máxima ($R_{CH_4} \sim 0,97 \text{ NmL h}^{-1}$) seguida de um platô, resultando em um baixo potencial de produção (P_{CH_4} : 34,77 – 41,21 NmL) ao final da primeira fase (0 – 72h), de maior duração e menor produção em relação às discutidas anteriormente. Nesse caso, como houve uma baixa presença de SO_4^{2-} e o principal metabólito formado na fase acidogênica foi o ácido butírico (HBu), o processo dependeu em grande parte da atividade acetogênica, onde o referido composto é oxidado à acetato através de uma reação termodinamicamente desfavorável ($\Delta G^0 = +48,1 \text{ kJ mol}^{-1}$; Reação 2 – Tabela 2). Sendo assim, a fase exponencial de máxima velocidade (R_{CH_4} : 1,15 – 1,53 NmL h^{-1}) e potencial de produção (P_{CH_4} : 127,7 – 142,8 NmL-CH₄) foram atingidos no período subsequente (72 – 240h), a partir da disponibilização de HAc ao meio reacional.

Ademais, a alcalinização realizada na condição R1 demonstrou uma otimização na produção de CH₄ (maior R_{CH_4} e P_{CH_4}) em detrimento à condição sem adição de um alcalinizante químico (R1-0). A hipótese levantada nesse caso é do estabelecimento de rotas redutivas/autotróficas como a metanogênica hidrogenotrófica (Reação 20 – Tabela 2) e a homoacetogênese (Reação 5 – Tabela 2), simultaneamente às rotas oxidativas. O excesso de carbono inorgânico ($AP = 931 \text{ mg-CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) pode traduzir-se em elevada disponibilidade de doadores de elétrons para ambas as vias. Ademais, o período de adaptação (λ – Fase Lag) foi uma constante afetada positivamente pelo favorecimento da rota oxidativa em detrimento à redutiva. Na condição R1-0 foi atingido a menor fase lag (8,16 horas) dentre todas, ao passo que R1 apresentou a maior (13,12 horas). Tal comportamento pode ser justificado em termos cinéticos de afinidade de consumo do substrato (K_s). A baixa concentração de carbono inorgânico no meio ($AP = 282 \text{ mg-CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) representa falta de doadores de elétrons para a via hidrogenotrófica ocorrer, assim sendo a rota acetoclástica (oxidativa) é favorecida. Nesse caso, a comunidade microbiana responsável pela referida rota (*Methanosaeta*) possui elevada afinidade¹⁵ ($K_s = 30 \text{ mg L}^{-1}$) em termos de oxidação do acetato à metano (MAILLACHERUVU & PARKIN, 1996; ZEHNDER & GUJER, 1983). Com relação ao mesmo parâmetro (λ), as condições R2 e R3 apresentaram valores equivalentes ($\sim 10,7$ horas), uma vez que dependem da mesma rota metabólica para o início da atividade metanogênica.

Já em relação à cinética da fração solúvel e ao consumo de matéria orgânica, os efluentes

¹⁵ Para o modelo de Monod a constante K_s representa a constante cinética de afinidade pelo substrato de diferentes grupos microbianos. Quanto menor for o valor da constante, maior será a afinidade.

da condição acidogênica – sulfetogênica (R1-0 e R1) indicaram 2 fases de degradação com comportamentos totalmente distintos na primeira em função da maior disponibilidade de carbono inorgânico. Nesse contexto, a hipótese de favorecimento da rota redutiva e/ou oxidativa é reforçada. Por outro lado, as condições R2 e R3 apresentaram comportamentos cinéticos similares em função das características composicionais de elevada disponibilidade de HLa e SO_4^{2-} , favorecendo a conversão do referido metabólito à acetato. Entretanto, obteve-se um consumo de compostos orgânicos mais elevado na condição R3 em função da maior disponibilidade de carboidratos. As especificidades da vinhaça utilizada no presente estudo limitaram a remoção de DQOs em função da elevada concentração de compostos recalcitrantes (fenólicos e melanoidinas). O perfil de degradação da DQOs é apresentado na Figura 16, ao passo que as características composicionais afluente e efluente na Figura 17. A Tabela 10 indica as constantes cinéticas (k_1) bem como o desempenho da fração solúvel.

Figura 17 - Perfil de degradação da DQOs

Legendas: (a) R1-0: efluente proveniente do processo acidogênio – sulfetogênico sem correção do pH na presente etapa; (b) R1: efluente proveniente do processo acidogênio – sulfetogênico; (c) R2: efluente proveniente do processo hidrogenogênico; (d) R3: efluente proveniente da etapa acidogênica sem correção do pH na etapa anterior.

Tabela 10 - Desempenho da fração solúvel metanogênica

Parâmetro	Condição/ Período	R1-0	R1	R2	R3
k_1 (h^{-1}) $\times 10^{-2}$	0 - 96h	$3,19 \pm 0,8$	$0,61 \pm 0,12$	$1,5 \pm 0,11$ ^(A)	$1,7 \pm 0,21$ ^(A)
	96 - 240h	$4,71 \pm 0,63$	$4,22 \pm 1,14$		
R^2	0 - 96h	0,9883	0,9891	$0,9959$ ^(A)	$0,9861$ ^(A)
	96 - 240h	0,9893	0,9783		
ER-DQOs (%)	-	$69,9 \pm 0,3$	$72,1 \pm 2,8$	$71,8 \pm 0,6$	$76,5 \pm 1,8$
pH (-)		$7,87 \pm 0,01$	$8,11 \pm 0,02$		$7,16 \pm 0,05$
	Afluente	(B)	(B)	$7,5 \pm 0,05$ ^(B)	(B)
		$7,29 \pm 0,01$	$7,31 \pm 0,02$		$7,07 \pm 0,01$
	Efluente	(B)	(B)	$7,2 \pm 0,02$ ^(B)	(B)
AP ($\text{mg-CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	Afluente	282 ^(C)	931 ^(C)	483 ^(C)	308 ^(C)
	Efluente	1810 ± 73	2152 ± 57	1924 ± 52	1681 ± 37
ER _{SO4} (%)	-	100	100	90 ± 1	89 ± 1
STD (mg L^{-1})	Efluente	64 ± 1	69 ± 3	121 ± 12	103 ± 8

Símbolos: k_1 = constante cinética de degradação da matéria orgânica; R^2 = coeficiente de determinação referente ao ajuste do modelo cinético aos dados experimentais; AVTs = ácidos voláteis totais; AP = Alcalinidade Parcial; STD = Sulfeto Total Dissolvido.

Legendas: ^(A) Refere-se a todo o período operacional (0 – 240h); ^(B) pH do meio reacional (vinhaça + lodo);

^(C) Alcalinidade parcial da solução mãe (vinhaça diluída e alcalinizada) previamente à montagem dos reatores.

No efluente acidificado proveniente do processo sulfetogênico, a adição de uma fonte externa de bicarbonato demonstrou exercer influência direta na ordem da reação e na constante cinética (k_1) de consumo da matéria orgânica (DQOs) durante a primeira fase (0 – 96h). Na condição com a adição de NaHCO_3 (R1), o perfil observado caracterizou-se pela reação de ordem zero e baixa constante de velocidade ($k_1 = 0,61 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$). Apontando menor consumo de compostos orgânicos e um desvio do fluxo de elétrons para a via autotrófica como resultado da maior disponibilidade de carbono inorgânico (AP = $931 \text{ mg-CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), uma vez que há maior favorecimento termodinâmico para tais (Reação E & T – Tabela 2). Ao passo que em R1-0 (sem NaHCO_3) o perfil apresentou-se como cinética de primeira ordem e elevada constante de velocidade ($k_1 = 3,19 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$). Onde há reduzida presença de doadores de elétrons

para a via autotrófica/redutiva ($AP = 282 \text{ mg-CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) e os compostos orgânicos são prontamente consumidos para manutenção da atividade microbiana envolvida no processo. No que se refere à segunda fase (96 – 240h), ambos os processos apresentaram comportamento similares ($k_1 = 4,22 - 4,71 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$) com uma velocidade de reação superior à condição mais dependente das vias oxidativas (R1-0).

Já em R2 e R3 o perfil de degradação seguiu um comportamento similar e constante durante todo o período operacional (0 – 240h). Uma vez que ambos apresentaram HLa como principal produto da fermentação e não houve remoção prévia de SO_4^{2-} , as BRS oxidadoras incompletas garantiram a conversão do referido metabólito à acetato para a via metanogênica acetoclástica de forma eficiente. Nesse caso, a maior constante cinética ($k_1 = 1,7 \text{ vs. } 1,5 \times 10^{-2} \text{ d}^{-1}$) é referente à condição de menor grau de acidificação (R3) e, em consequência, presença de carboidratos totais em maiores proporções (Figura 18). Sendo assim, houve maior dependência da atividade acidogênica para conversão do referido composto à substratos passíveis de serem consumidos pela comunidade metanogênica. Uma vez caracterizadas como microrganismos de crescimento rápido (acidogênicos), a referida condição apresenta uma constante cinética ligeiramente superior (R3 vs. R2).

Em termos de eficiência de remoção da matéria orgânica, todas as condições apresentaram um desempenho similar ($ER\text{-}DQOs = 70 - 76\%$) e uma $DQOs$ efluente composta majoritariamente por compostos fenólicos totais (50 – 58%) (Figura 17). Justificando a limitação de remoção da matéria orgânica solúvel em comparação à outros estudos com vinhaça da indústria sucroalcooleira nacional proveniente de destilarias anexas ($ER\text{-}DQOs \sim 81 - 87\%$) (KIYUNA et al., 2017; SANTOS et al., 2019). A vinhaça utilizada no presente estudo foi proveniente de uma safra atípica (2020 – 2021) onde houve elevadas proporções de melão misturado ao caldo para a fermentação alcoólica. Fato que afeta diretamente seus aspectos qualitativos e induz à maiores concentrações de compostos inibidores e recalcitrantes (sulfato, fenóis e melanoidinas) (FUESS et al., 2017c, 2018c). As melanoidinas não foram monitoradas, entretanto são compostos usualmente identificados posterior à fermentação do melão e garantem uma coloração mais escura à essa água residuária (CHANDRA et al., 2008), características presentes nesta água residuária.

Figura 2 - Características composicionais da DQOs (Afluente e Efluente)

Nota: Valores à esquerda representam as concentrações afluentes e à direita efluentes

A demanda reduzida pelo consumo de combustíveis diante da pandemia Covid-19 e as condições favoráveis de mercado para o açúcar induziram a alterações no padrão de produção na safra 2020 – 2021 em território nacional (CONAB, 2021). A fim de comparação, os fenóis totais (2.353 mg L^{-1}) compõem em torno de 11% da DQOs da vinhaça bruta utilizada, ao passo que esse mesmo parâmetro foi de aproximadamente 5% em estudo realizado com vinhaça proveniente da mesma usina (SANTOS et al., 2019) porém de safras anteriores. Adicionalmente, identificou-se em menor proporção no efluente final os ácidos voláteis totais (AVTs). Nesse caso, com exceção de R1-0 onde os AVTs foram totalmente consumidos, houve uma quantidade remanescente equivalente à aproximadamente 10% da DQOs final para todas as condições. Tal aspecto corrobora a hipótese do favorecimento da rota acetoclástica (heterotrófica) em detrimento à autotrófica na condição sem NaHCO_3 (R1-0), a única a atingir 100% de consumo dos referidos compostos orgânicos.

Já com relação aos compostos sulfurosos, o sulfato (SO_4^{2-}) foi totalmente consumido apenas nas condições de menor concentração deste composto (R1 e R1-0) ao passo que nas

demais (R2 e R3) a remoção situou-se em 90%.

Como consequência do estabelecimento da sulfetogênese na fase ácida, a presença de Sulfeto Total Dissolvido (STD) foi menor ($64 - 69$ vs. $103 - 121 \text{ mg L}^{-1}$) nas condições R1-0 e R1 em comparação a R2 e R3. Sendo assim, situando-se abaixo e no limite inferior, respectivamente, da faixa de inibição ($100 - 800 \text{ mg L}^{-1}$) das comunidades microbianas reportada por Chen et al. (2008). Entretanto, vale ressaltar que foi necessário adotar a estratégia de diluição para padronização da concentração de matéria orgânica inicial. Portanto, o valor real de STD num processo sem diluição atingiria concentrações de aproximadamente 3x mais do reportado na presente etapa, onde até as condições de reduzida concentração (R1-0 e R1) estariam dentro da faixa de inibição. Desta forma, uma vez mais, se faz necessário otimizar parâmetros operacionais para o favorecimento de uma comunidade sulfetogênica na fase ácida que seja capaz de remover todos os compostos sulfurosos garantindo, assim, todas as vantagens que o processo acidogênico – sulfetogênico previamente ao metanogênico pode proporcionar.

Outro aspecto que merece destaque entre as condições R1-0 e R1 é o mesmo pH efluente (7,3) independente da adoção ou não de alcalinização prévia com NaHCO_3 . Nesse caso, a alcalinidade parcial (AP) inicial representaram os dois extremos (282 vs. $931 \text{ mg-CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) dentre as quatro condições, resultando numa notável diferença no pH afluente ($7,87 - 8,11$). Entretanto, ao comparar a AP produzida no processo ($\text{AP}_{\text{efluente}} - \text{AP}_{\text{afluente}}$), observa-se uma geração de alcalinidade mais elevada em R1-0 (1.528 vs. $1.221 \text{ mg-CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), corroborando, novamente, a hipótese da predominância da rota acetoclástica em detrimento à hidrogenotrófica. Uma vez que o bicarbonato é produzido na oxidação do acetato à metano (Tabela 2 – Reação S), ao passo que na via autotrófica este é utilizado como fonte de carbono para a redução do H_2 à CH_4 (Tabela 2 – Reação T). Desta forma, estratégias de alcalinização alternativas como a recirculação do efluente podem ser adotadas em sistemas metanogênicos contínuos na sequência de reatores acidogênicos – sulfetogênicos.

Em termos de produção de metano por consumo de DQOs (Figura 18; MY), os valores obtidos não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($\alpha = 0,18$). Entretanto, pôde-se observar uma diferença de aproximadamente $20 \text{ mL-CH}_4 \text{ g-DQOs}^{-1}$ dentre as condições ao fim do período operacional em função das especificidades composicionais do efluente acidificado e alcalinizantes de cada. Adicionalmente, as condições não atingiram a produção teórica ($350 \text{ NmL-CH}_4 \text{ g-DQOs}^{-1}$) possivelmente devido à elevada presença de compostos recalcitrantes (fenólicos e melanoidinas) em decorrência das especificidades da safra 2020 – 2021. Fuess et al. (2021) também reportaram um valor próximo ($\text{MY} \sim 270 \text{ NmL-CH}_4$

g-DQOs⁻¹) aos obtidos no presente estudo para biometanização de uma vinhaça acidificada com elevada concentração proporcional de fenóis totais (~ 9% da DQOs).

Figura 19 - Perfil do rendimento de metano (Methane Yield – MY)

A condição de maior rendimento (MY) foi a R2 (296 ± 8 NmL-CH₄ g-DQOs⁻¹). A elevada concentração de HLa (~ 5g L⁻¹) em adição à presença de SO₄²⁻ garantiu a conversão dos referidos compostos orgânicos à acetato através da atividade das BRS oxidadoras incompletas. Em R3, apesar da similaridade apresentada em relação à R2 no comportamento cinético, atingiu o menor MY (239 ± 15 NmL-CH₄ g-DQOs⁻¹) como consequência da reduzida acidificação na etapa anterior devido à não-adição de alcalinizante. O efluente acidificado apresentou elevada concentração relativa de carboidratos (~17% da DQOs) que necessita da atividade acidogênica para conversão dos referidos compostos e, como consequência, resulta no desvio do fluxo de elétrons para o crescimento microbiano. A maior conversão de matéria orgânica (ER-DQOs = $76 \pm 2\%$) em adição ao menor rendimento (MY) corrobora a hipótese apresentada. Por fim, as condições provenientes da etapa acidogênica – sulfetogênica apesar de apresentarem as diferenças já discutidas com relação às vias heterotróficas e autotróficas em

função da adição ou não de alcalinizante, indicaram um rendimento final similar e ligeiramente superior à R1 (278 vs. 260 NmL-CH₄ g-DQOs⁻¹).

Em R2 e R3, apesar de um comportamento cinético similar, representaram as condições de maior e menor rendimento, respectivamente. Nesse caso, a adição de alcalinizante químico (NaOH) na fase anterior (R2) demonstrou ter sido favorável para o processo metanogênico. Tal aspecto demandou menor atividade acidogênica na presente etapa e, em consequência, menos desvio do fluxo de elétrons para crescimento microbiano. Nas condições provenientes do processo acidogênico – sulfetogênico, a maior disponibilidade de carbono inorgânico (R1) demonstrou ter sido favorável para produção de CH₄ pela rota hidrogenotrófica simultaneamente à oxidativa, ao passo que na condição R1-0, a menor presença do referido composto induziu uma predominância da rota acetoclástica, menor período de adaptação (λ) e geração de alcalinidade no processo biológico (AP). Apesar da menor produção/rendimento (R1-0 vs. R1) atingidos, os resultados não apresentaram diferenças significativas, demonstrando o potencial de alcalinização proporcionado pela condição acidogênica – sulfetogênica sem impactar significativamente a produção de CH₄.

5.2.2. Aspectos energéticos e econômicos do sistema

Por fim, as características composicionais do biogás produzido (Figura 20) demonstraram sofrer forte influência da estratégia de alcalinização adotadas na fase ácida e, conseqüentemente, do grau de acidificação atingido. Nesse caso, o poder calorífico inferior (PCI) apresenta maior ou menor capacidade de recuperação energética da fração gasosa produzida na presente fase. Adicionalmente, a alcalinização da fase acidogênica em R2 também influenciou positivamente tanto o potencial global de recuperação energética (PGRE) quanto o valor unitário (VU) em termos de gastos operacionais do sistema com alcalinização (Figura 21) comparando-se à condição menos acidificada (sem alcalinizante). A condição acidogênica – sulfetogênica, por sua vez, demonstrou seu grande impacto econômico ao ser concebida como etapa geradora de alcalinidade e potencial estratégia para superar as barreiras econômicas do presente sistema (duas fases) nas biorrefinarias de cana-de-açúcar.

Em termos composicionais, a etapa acidogênica – sulfetogênica proporcionou vantagens ao biogás gerado, reduzindo sua toxicidade (menor presença de H_2S) e aumentando seu poder calorífico (% CH_4). O teste estatístico indicou diferença significativa ($\alpha < 0,05$) com relação à proporção de metano e os diagramas de box-plot referentes aos aspectos composicionais (CH_4 , CO_2 e H_2S) são apresentados na Figura 20. As condições R1 e R1-0 foram estatisticamente equivalentes ($P_{\text{value}} = 0,505$) e superiores ($P_{\text{value}} < 0,05$) às demais, indicando que a adição ou não de alcalinizante químico na presente etapa não afetou o poder calorífico, mas que a remoção de compostos sulfurosos na etapa acidogênica demonstrou-se vantajosa nesse aspecto. Adicionalmente, o biogás da condição R2 apresentou maior proporção de CH_4 em comparação à R3 ($P_{\text{value}} < 0,05$), explicitando o impacto positivo que um maior nível de acidificação dos compostos solúveis na fase acidogênica pode proporcionar em termos de aumento do poder calorífico.

A melhora proporcionada aos aspectos qualitativos do biogás pode representar grandes avanços tecnológicos e econômicos para seu aproveitamento como fonte energética. O baixo poder calorífico representa uma das maiores barreiras vinculadas à geração de energia elétrica e térmica nas turbinas de gás com ciclo combinado (KHAN et al., 2017; SUN et al., 2015). Além disso, o processo de dessulfurização é apontado como uma das principais limitações econômicas na indústria sucroalcooleira nacional para o aproveitamento energético do biogás, pois o mercado interno carece de opções tecnologias locais e, assim sendo, o referido processo é susceptível ao poder de compra da moeda local e às taxas de importação (LEME & SEABRA, 2017). Entretanto, com as concentrações atingidas de H_2S na referida condição ainda não seria possível eliminar a etapa de remoção deste composto do biogás metanogênico. Nesse contexto, ainda se faz necessário investigações futuras no processo acidogênico – sulfetogênico a fim de remoção dos compostos sulfurosos (SO_4^{2-} e STD) em sua totalidade.

Na Figura 21 e Tabela 11 são apresentados o potencial de recuperação energética e os custos vinculados ao processo de alcalinização de cada condição estudada. A estratégia de alcalinização, tanto na etapa acidogênica quanto na etapa metanogênica, apresenta grande impacto no desempenho energético e econômico do sistema estudado. Em especial a condição acidogênica – sulfetogênica, apesar de não ter sido a mais favorável energeticamente, traz diversas possibilidades de exploração em estudos futuros e demonstra seu grande potencial para redução de custos operacionais e impactos ambientais. Outro aspecto que merece destaque é o impacto do PCI do biogás na capacidade energética proporcionada ao sistema. Na condição de menor acidificação prévia (R3), resulta em grandes volumes de biogás para um PGRE equivalente à condição de maior acidificação (R1).

Figura 20 - “Box-plot” das características composicionais do biogás metanogênico

Legendas: (a) %-CH₄; (b) %-CO₂; (c) %-H₂S.

Notas: (◇) Média; (X) “Outliers”.

Figura 21 - Desempenho energético e custos vinculados à alcalinização do processo

Tabela 11 - Potencial Global de Recuperação Energética (PGRE) e Valor Unitário (VU)

Parâmetro	Unidade	Condição			
		R1-0	R1	R2	R3
MY	Nm ³ kg-DQO ⁻¹	259,69	278,44	296,36	239,43
DQOs	kg m ⁻³	26,1	26,1	26,8	28,5
ER _{DQOs}	%	69,9	72,1	71,8	76,5
f-CH ₄	%	75,4	73,7	69,3	63,4
Q _(biogás)	Nm ³ ^(A)	11.538.409	13.055.223	15.120.736	15.102.901
PCI	MJ Nm ⁻³	27,0	26,4	24,8	22,7
PGRE ^(B)	GWh ^(A)	294.411	325.603	354.603	324.030
NaOH	kg ^(A)	246.225	246.225	246.225	-
	US\$ ^(A)	78.792	78.792	78.792	-
NaHCO ₃	kg ^(A)	3.077.813	19.339.688	16.261.875	16.261.875
	US\$ ^(A)	2.677.697	16.825.528	14.147.831	14.147.831
VU	US\$ GWh ⁻¹	9,4	51,9	40,1	43,7

Siglas: MY = rendimento de metano; PGRE = potencial de recuperação energética; VU = valor unitário.

Legendas: ^(A) Valores referentes à uma safra (200 dias); ^(B) Refere-se ao potencial de geração de energia elétrica + térmica.

Apesar de não apresentarem diferenças estatisticamente significativas em termos de rendimento (MY), o potencial de recuperação energética por safra apresentou variações em função das especificidades de cada condição, como o volume e a proporção de CH_4 (PCI) do biogás. A partir do mesmo volume produzido, a condição R2 atingiu um potencial global de recuperação energética (PGRE) superior em 30,6 TWh em comparação à R3 (354,6 vs. 324 TWh). Similarmente, o PGRE da condição R1 foi 1.570 GWh superior (325,6 TWh) a partir de um volume de 2 milhões de Nm^3 de biogás a menos (13 vs. 15 mi-Nm^3). Nesse caso, corroborando a hipótese do desfavorecimento da condição de menor PCI em termos de recuperação energética. Vale salientar ainda que motores e turbinas a gás conseguem atingir melhores eficiências quando o CH_4 é presente em maiores concentrações (SUN et al., 2015). Porém no presente estudo foi utilizado uma eficiência ($\eta_{\text{el+th}}$) constante para todas as condições, preconizado pelo manual do fabricante, mas esse valor há de variar em função do PCI. A condição R1-0 atingiu o menor PGRE (294,41 TWh) e, também, 10% inferior à condição R1 (com NaHCO_3). Apontando o impacto causado pela escassez de carbono inorgânico no processo biológico para o estabelecimento da rota metanogênica autotrófica simultaneamente à oxidativa (acetoclástica).

Entretanto, os gastos vinculados ao uso de alcalinizante químico (NaHCO_3 e/ou NaOH) por unidade de energia produzida (Figura 21 – US\$ GWh^{-1}) indicam maior viabilidade econômica ao processo que atingiu menor capacidade de aproveitamento energético. Se por um lado houve uma redução de apenas 17% ($354,6 \times 294,41$ TWh) entre a condição que apresentou maior e menor PGRE (R2 vs. R1-0), por outro o desempenho econômico atingido em R1-0 é extremamente promissor e representa uma redução de 76,5% no valor unitário (40,1 vs. 9,4 US\$ GWh^{-1}) da condição de maior desempenho energético (R2). Supondo que a condição R2 tivesse produzido o mesmo montante de energia durante a safra (294,41 TWh), haveria uma economia de aproximadamente 9,1 milhões de US\$ a partir de uma redução de 13,2 toneladas de NaHCO_3 . Outro aspecto que também merece destaque, é a melhora do desempenho energético proporcionado pela adição de NaOH em R2 e, ainda, um valor unitário mais favorável em comparação à condição R3 (sem NaOH). Tal favorecimento se deve devido ao aumento da biodegradabilidade do efluente na condição acidogênica através do uso de NaOH . Tanto as características composicionais do biogás (maior PCI) quanto o rendimento (MY) são melhorados a partir de um aumento marginal que representa apenas 0,5% dos custos totais vinculados à alcalinização do sistema e se reflete em uma otimização do desempenho energético (354,6 vs. 324 TWh) e econômico (40,1 vs. 43,7 US\$ GWh^{-1}).

Vale salientar ainda os benefícios ambientais que o referido sistema proporciona ao reduzir o uso de alcalinizantes ao contribuir para superar a única limitação da utilização da vinhaça biodigerida na fertirrigação: a sodificação. Como abordado na presente revisão bibliográfica (Item 3.3), a aplicação de agentes alcalinizantes a base de sódio (NaOH e NaHCO_3) na DA resulta em uma vinhaça biodigerida com concentração de Na^+ até 200 vezes superior à bruta. Tal fato acarreta desestabilização dos agregados, entupimento dos poros e diminuição da condutividade hidráulica do solo (FUESS et al., 2018c). Outra questão que merece destaque, são os danos ambientais vinculado ao processo produtivo de alcalinizantes químicos e, quanto menor sua utilização nas referidas plantas, menor será o impacto negativo. O processo produtivo dos referidos compostos apresentam potencial de aquecimento global, toxicidade humana, induz ao consumo de combustíveis fósseis e eutrofização de corpos hídricos (FUESS et al., 2018b). Sendo assim, diversas possibilidades de exploração em estudos tecno – econômicos e ambientais também são apresentadas.

6. CONCLUSÕES

Com base nos objetivos estabelecidos, bem como a partir dos resultados obtidos e discutidos no decorrer do presente estudo, pôde-se concluir:

I) Fase acidogênica:

- A estratégia de alcalinização induz a distintas rotas metabólicas sob forte influência do pH operacional, proporcionando condições ambientais adequadas para diferentes grupos microbianos no processo acidogênico;
- O bicarbonato de sódio (NaHCO_3), além de permitir o estabelecimento da comunidade sulfetogênica, cumpre um papel fundamental no “*stripping*” do sulfeto produzido ao produzir um volume elevado e constante de biogás durante todo o período operacional;
- As Bactérias Ácido Lácticas (BAL) e as Produtoras de Hidrogênio (BPH) podem coexistir no mesmo meio reacional sem causar todos os danos extensivamente relatados na literatura, uma vez que foi atingida a produção otimizada de bioH_2 em adição à produção de HLa;
- O ácido láctico é o principal produto com potencial de exploração na fermentação da vinhaça sem a dosagem de alcalinizantes/ ajuste de pH;
- Os reatores anaeróbios de leito estruturado (AnSTBR) suportam vinhaça de maior concentração de sólidos e matéria orgânica (advinda do melaço) sem problemas de entupimento do leito fixo, salientando uma das grandes vantagens do referido reator em detrimento aos de leito empacotado convencionais (APBR).

II) Fase metanogênica

- A cinética da etapa metanogênica é diretamente influenciada pela estratégia de alcalinização adotada na etapa acidogênica: seja pelo estabelecimento da sulfetogênese e eliminação do uso de alcalinizantes químicos que resulta em menor fase lag (λ) e menor potencial de produção de CH_4 (P_{CH_4}) ou pela consequente menor disponibilidade de SO_4^{2-} que resulta em menores taxas máximas de produção (R_{CH_4}) em consequência da dependência da atividade acetogênica para disponibilização de acetato para a comunidade metanogênica;
- O rendimento de metano (MY) está diretamente relacionado à estratégia de alcalinização adotada na etapa acidogênica, seja pelo menor (R3) ou maiores (R1 e R2) MY atingidos nas condições não-alcalinizada e alcalinizadas, respectivamente.
- O poder calorífico inferior (PCI) do biogás produzido na etapa metanogênica é diretamente influenciado pela estratégia de alcalinização adotada na etapa acidogênica e, em consequência, pelo grau de acidificação atingido;
- O potencial global de recuperação energética (PGRE) está diretamente vinculado ao PCI do biogás e não necessariamente ao volume de biogás produzido;
- O processo acidogênico – sulfetogênico, além de todas as vantagens abordadas na literatura, proporciona um potencial de alcalinização à fase metanogênica. No presente estudo, foi provada a capacidade de biometanização sem adição de uma fonte de alcalinização externa. Fato que garante grandes ganhos econômicos para as biorrefinarias de cana-de-açúcar quando aplicada a separação de fases.

7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nas constatações realizadas no decorrer do presente trabalho, algumas sugestões para trabalhos futuros são deixadas:

- **Adaptação do processo de fermentação natural da vinhaça a fim de enriquecimento da comunidade sulfetogênica desde o início do processo:** suplementação com uma fonte externa de SO_4^{2-} (Na_2SO_4) e/ou utilização de NaHCO_3 previamente à fermentação em câmara escura e/ou à recirculação;
- **Estratégias para otimização da produção de acetato como principal metabólito em processos acidogênicos – sulfetogênicos submetidos à elevada COV_A :** testar temperatura mesofílica e/ou recirculação do efluente;
- **Compreensão do mecanismo de remoção do sulfeto produzido pela redução do sulfato na fase ácida:** realizar o balanço da fração gasosa e sólida retida na biomassa, bem como estimular diferentes vazões de biogás em função de crescentes COV_A para compreender o papel do “*stripping*”;
- **Compreensão da influência dos parâmetros operacionais na geração de HCO_3^- :** testar diferentes COV_A , relações $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ e taxas de recirculação para monitoramento constante da alcalinidade parcial e definição de estratégias operacionais que otimizem a produção de AP;
- **Operação de um sistema de duas fases contínuo visando a eliminação/redução do uso de alcalinizantes químicos na etapa metanogênica:** compreender a influência do processo acidogênico – sulfetogênico em regime contínuo e operação por longos períodos (uma safra), visando a comprovação das hipóteses e otimização das limitações até então constatadas;
- **O impacto tecno-econômico e ambiental do processo acidogênico – sulfetogênico em sistemas com separação de fases no processamento da vinhaça:** provar o potencial de superação das limitações em termos de custos de implantação (dessulfurização) e operação (alcalinização), bem como os danos ambientais provenientes do uso de alcalinizantes químicos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADORNO, M.; HIRASAWA, J.; VARESCHE, M. Development and validation of two methods to quantify volatile acids. **American Journal of Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 5, n. May, p. 406–414, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4236/ajac.2014.57049>>

AMORIM, H. V.; LOPES, M. L.; DE CASTRO OLIVEIRA, J. V.; BUCKERIDGE, M. S.; GOLDMAN, G. H. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 91, n. 5, p. 1267–1275, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-011-3437-6>>

ANDALIB, M.; ELBESHBISHY, E.; MUSTAFA, N.; HAFEZ, H.; NAKHLA, G.; ZHU, J. Performance of an anaerobic fluidized bed bioreactor (AnFBR) for digestion of primary municipal wastewater treatment biosolids and bioethanol thin stillage. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 71, p. 276–285, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2014.05.039>>

ANZOLA-ROJAS, M. D. P.; FONSECA, S. G. Da; SILVA, C. C. Da; OLIVEIRA, V. M. De; ZAIAT, M. The use of the carbon/nitrogen ratio and specific organic loading rate as tools for improving biohydrogen production in fixed-bed reactors. **Biotechnology Reports**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 46–54, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2014.10.010>>

ANZOLA-ROJAS, M. del P.; ZAIAT, M.; DE WEVER, H. Improvement of hydrogen production via ethanol-type fermentation in an anaerobic down-flow structured bed reactor. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 202, p. 42–49, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.084>>

APHA, AWWA, WEF. Standard methods for examination of water and wastewater. 22 nd. ed., APHA. Washington, D.C., 2012.

AQUINO, S. De; FUESS, L. T.; PIRES, E. C. Bioresource Technology Media arrangement impacts cell growth in anaerobic fixed-bed reactors treating sugarcane vinasse : Structured vs . randomic biomass immobilization. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 235, p. 219–228, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.120>>

AQUINO, S. F. .; MONTEGGGIA, L. O. .; DOS SANTOS, M. de L. F.; FORESTI, E.; CHERNICHARO, C. A. L. . M etanogênica E específica (AME) em L odos A naeróbios M et methodologies for determining the S pecific M ethanogenic A ctivity (SMA) in A naerobic S ludges. **Eng. Sanit. Ambient.**, [s. l.], v. 12, p. 192–201, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010>>

BARRERA, E. L.; SPANJERS, H.; DEWULF, J.; ROMERO, O.; ROSA, E. The sulfur chain in biogas production from sulfate-rich liquid substrates: A review on dynamic modeling with vinasse as model substrate. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v.

88, n. 8, p. 1405–1420, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jctb.4071>>

BARRERA, E. L.; SPANJERS, H.; ROMERO, O.; ROSA, E.; DEWULF, J. Characterization of the sulfate reduction process in the anaerobic digestion of a very high strength and sulfate rich vinasse. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 248, p. 383–393, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.03.057>>

BERTOLINO, S. M.; SILVA, L. A. M.; AQUINO, S. F.; LEÃO, V. A. Comparison of UASB and fluidized-bed reactors for sulfate reduction. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 59–71, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0104-6632.20150321s000003158>>

BLANCO, V. M. C.; FUESS, L. T.; ZAIAT, M. Calcium dosing for the simultaneous control of biomass retention and the enhancement of fermentative biohydrogen production in an innovative fixed-film bioreactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 42, n. 17, p. 12181–12196, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.02.180>>

BLANCO, V. M. C.; OLIVEIRA, G. H. D.; ZAIAT, M. Dark fermentative biohydrogen production from synthetic cheese whey in an anaerobic structured-bed reactor: Performance evaluation and kinetic modeling. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 139, p. 1310–1319, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.03.029>>

BUCHANAN, I. D., NICELL, J. A. Model Development for Horseradish Peroxidase Catalyzed Removal of Aqueous Phenol, **Biotechnology and Bioengineering**, v.54, n.3, p.251-261, 1997.

CABRERA-DÍAZ, A.; PEREDA-REYES, I.; OLIVA-MERENCIO, D.; LEBRERO, R.; ZAIAT, M. Anaerobic Digestion of Sugarcane Vinasse Through a Methanogenic UASB Reactor Followed by a Packed Bed Reactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 183, n. 4, p. 1127–1145, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-017-2488-2>>

CALLADO, N.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Resilience of methanogenesis in an anaerobic reactor subjected to increasing sulfate and sodium concentrations. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 7, p. 203–209, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2015.06.011>>

CAMILOTI, P. R.; MOCKAITIS, G.; DOMINGUES RODRIGUES, J. A.; RISSATO ZAMARIOLLI DAMIANOVIC, M. H.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 89, n. 7, p. 1044–1050, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jctb.4199>>

CANDRY, P.; ULCAR, B.; PETROGNANI, C.; RABAEY, K.; GANIGUÉ, R.

Ethanol:propionate ratio drives product selectivity in odd-chain elongation with *Clostridium kluyveri* and mixed communities. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 313, n. June, p. 123651, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123651>>

CARRILHO, E. N. V. M.; LABUTO, G.; KAMOGAWA, M. Y. **Destination of Vinasse, a Residue From Alcohol Industry: Resource Recovery and Prevention of Pollution**. Amsterdam: Elsevier Inc., 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803837-6.00002-0>>

CASSMAN, N. A.; LOURENÇO, K. S.; DO CARMO, J. B.; CANTARELLA, H.; KURAMAE, E. E. Genome-resolved metagenomics of sugarcane vinasse bacteria. **Biotechnology for Biofuels**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–16, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13068-018-1036-9>>

CASTELLÓ, E.; NUNES FERRAZ-JUNIOR, A. D.; ANDREANI, C.; ANZOLA-ROJAS, M. del P.; BORZACCONI, L.; BUITRÓN, G.; CARRILLO-REYES, J.; GOMES, S. D.; MAINTINGUER, S. I.; MORENO-ANDRADE, I.; PALOMO-BRIONES, R.; RAZO-FLORES, E.; SCHIAPPACASSE-DASATI, M.; TAPIA-VENEGAS, E.; VALDEZ-VÁZQUEZ, I.; VESGA-BARON, A.; ZAIAT, M.; ETCHEBEHERE, C. Stability problems in the hydrogen production by dark fermentation: Possible causes and solutions. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 119, n. November 2019, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109602>>

CAVALCANTE, W. de A.; LEITÃO, R. C.; GEHRING, T. A.; ANGENENT, L. T.; SANTAELLA, S. T. Anaerobic fermentation for n-caproic acid production: A review. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 54, p. 106–119, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2016.12.024>>

CAVALETT, O.; JUNQUEIRA, T. L.; DIAS, M. O. S.; JESUS, C. D. F.; MANTELATTO, P. E.; CUNHA, M. P.; FRANCO, H. C. J.; CARDOSO, T. F.; FILHO, R. M.; ROSSELL, C. E. V.; BONOMI, A. Environmental and economic assessment of sugarcane first generation biorefineries in Brazil. **Clean Technologies and Environmental Policy**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 399–410, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10098-011-0424-7>>

CHANDRA, R.; BHARAGAVA, R. N.; RAI, V. Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses based distillery effluent and its degradation. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 99, n. 11, p. 4648–4660, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.057>>

CHANDRA, R.; KUMAR, V. Detection of *Bacillus* and *Stenotrophomonas* species growing in an organic acid and endocrine-disrupting chemical-rich environment of distillery spent wash and its phytotoxicity. **Environmental Monitoring and Assessment**, [s. l.], v. 189, n. 1, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10661-016-5746-9>>

CHAUDHARI, P. K.; MISHRA, I. M.; CHAND, S. Effluent treatment for alcohol distillery:

Catalytic thermal pretreatment (catalytic thermolysis) with energy recovery. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 136, n. 1, p. 14–24, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.03.006>>

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 99, n. 10, p. 4044–4064, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>>

CHEN, Y. T.; YU, N.; SUN, Z. Y.; GOU, M.; XIA, Z. Y.; TANG, Y. Q.; KIDA, K. Acclimation Improves Methane Production from Molasses Wastewater with High Salinity in an Upflow Anaerobic Filter Reactor: Performance and Microbial Community Dynamics. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 185, n. 1, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-020-03236-7>>

CHERNICHARO, C. A. L.; BRESSANI-RIBEIRO, T. **Anaerobic Reactors for Sewage Treatment: Design, Construction and Operation**. [s.l.] : IWA Publishing, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/9781780409238>>

CHOJNACKA, A.; BŁASZCZYK, M. K.; SZCZESNY, P.; NOWAK, K.; SUMIŃSKA, M.; TOMCZYK-ZAK, K.; ZIELENKIEWICZ, U.; SIKORA, A. Comparative analysis of hydrogen-producing bacterial biofilms and granular sludge formed in continuous cultures of fermentative bacteria. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 21, p. 10057–10064, 2011.

CONAB (2019). Perfil do Setor do Açúcar e do Etanol no Brasil – Edição para safra 2015/2016. Brasília 2019, CONAB. p.32 Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>>. Acesso: 02 jan. 2020.

CONAB (2021). Acompanhamento da Safra brasileira: cana de açúcar. V. 7. – Safra 2020/2021. N. 4 – Quarto Levantamento. Maio/2021. Brasília, CONAB. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>>. Acesso: 4 jul. 2021.

DAREIOTI, M. A.; VAVOURAKI, A. I.; KORNAROS, M. Effect of pH on the anaerobic acidogenesis of agroindustrial wastewaters for maximization of bio-hydrogen production: A lab-scale evaluation using batch tests. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 162, p. 218–227, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.149>>

DEL NERY, V.; ALVES, I.; ZAMARIOLLI DAMIANOVIC, M. H. R.; PIRES, E. C. Hydraulic and organic rates applied to pilot scale UASB reactor for sugar cane vinasse degradation and biogas generation. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 119, n. March, p. 411–417, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.10.002>>

DIAS, M. O. de S.; MACIEL FILHO, R.; MANTELATTO, P. E.; CAVALETT, O.; ROSSELL, C. E. V.; BONOMI, A.; LEAL, M. R. L. V. Sugarcane processing for ethanol and sugar in

Brazil. **Environmental Development**, [s. l.], v. 15, p. 35–51, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envdev.2015.03.004>>

DORNELLES, H. de S.; MOTTERAN, F.; SAKAMOTO, I. K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. 4-Nonylphenol degradation changes microbial community of scale-up Anaerobic Fluidized Bed Reactor. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 267, n. March, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110575>>

DRIESSEN, W. J. B. M.; TIELBAARD, M. H.; VEREIJKEN, T. L. F. M. **Experience on anaerobic treatment of distillery effluent with the UASB process**, 1994. Disponível em: <<https://search.proquest.com/docview/1943310430?accountid=14643>>

DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

EASTMAN, J. A.; FERGUSON, J. F. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, [s. l.], v. 53, n. 3 I, p. 352–366, 1981. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/25041085>>

EL-KAMAH, H.; TAWFIK, A.; MAHMOUD, M.; ABDEL-HALIM, H. Treatment of high strength wastewater from fruit juice industry using integrated anaerobic/aerobic system. **Desalination**, [s. l.], v. 253, n. 1–3, p. 158–163, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.11.013>>

ELBESHBISHY, E.; DHAR, B. R.; NAKHLA, G.; LEE, H. S. A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 79, n. May, p. 656–668, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.075>>

FERRAZ JR., A. D. N.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. High organic loading rate on thermophilic hydrogen production and metagenomic study at an anaerobic packed-bed reactor treating a residual liquid stream of a Brazilian biorefinery. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 186, p. 81–88, 2015. a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.035>>

FERRAZ JR., A. D. N.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. Mesophilic hydrogen production in acidogenic packed-bed reactors (APBR) using raw sugarcane vinasse as substrate: Influence of support materials. **Anaerobe**, [s. l.], v. 34, p. 94–105, 2015. b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.04.008>>

FERRAZ JR., A. D. N.; WENZEL, J.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. Effect of organic loading rate on hydrogen production from sugarcane vinasse in thermophilic acidogenic packed bed reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 39, n. 30, p. 16852–16862, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.08.017>>

FERRAZ JR., D. N. A.; KOYAMA, M. H.; DE ARAÚJO JÚNIOR, M. M.; ZAIAT, M. Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 89, p. 245–252, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.11.064>>

FITO, J.; TEFERA, N.; VAN HULLE, S. W. H. Adsorption of distillery spent wash on activated bagasse fly ash: Kinetics and thermodynamics. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 5, n. 6, p. 5381–5388, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.10.009>>

FOX, P.; POHLAND, F. G. Anaerobic treatment applications and fundamentals: substrate specificity during phase separation. **Water Environment Research**, [s. l.], v. 66, n. 5, p. 716–724, 1994. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/25044469>>

FUESS, L. T. **Biodigestão Anaeróbia Termofílica De Vinhaça Em Sistemas Combinados Do Tipo Acidogênico-Metanogênico Para Potencialização Da Recuperação De Bioenergia Em Biorrefinarias De Cana-De-Açúcar De Primeira Geração**. 2017. Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, [s. l.], 2017.

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Implications of stillage land disposal : A critical review on the impacts of fertigation. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 145, p. 210–229, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.07.003>>

FUESS, L. T.; KIYUNA, L. S. M.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Operational strategies for long-term biohydrogen production from sugarcane stillage in a continuous acidogenic packed-bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 41, n. 19, p. 8132–8145, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.10.143>>

FUESS, L. T.; DE ARAÚJO JÚNIOR, M. M.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Designing full-scale biodigestion plants for the treatment of vinasse in sugarcane biorefineries: How phase separation and alkalization impact biogas and electricity production costs? **Chemical Engineering Research and Design**, [s. l.], v. 119, p. 209–220, 2017. a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2017.01.023>>

FUESS, L. T.; KIYUNA, L. S. M.; FERRAZ, A. D. N.; PERSINOTI, G. F.; SQUINA, F. M.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. **Applied Energy**, [s. l.], v. 189, p. 480–491, 2017. b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.071>>

FUESS, L. T.; RODRIGUES, I. J.; GARCIA, M. L. Fertirrigation with sugarcane vinasse: Foreseeing potential impacts on soil and water resources through vinasse characterization. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, [s. l.], v. 52, n. 11, p. 1063–1072, 2017. c. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1338892>>

FUESS, L. T.; FERRAZ, A. D. N.; MACHADO, C. B.; ZAIAT, M. Temporal dynamics and metabolic correlation between lactate-producing and hydrogen-producing bacteria in sugarcane vinasse dark fermentation: The key role of lactate. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 247, n. July 2017, p. 426–433, 2018. a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.121>>

FUESS, L. T.; KLEIN, B. C.; CHAGAS, M. F.; ALVES FERREIRA REZENDE, M. C.; GARCIA, M. L.; BONOMI, A.; ZAIAT, M. Diversifying the technological strategies for recovering bioenergy from the two-phase anaerobic digestion of sugarcane vinasse: An integrated techno-economic and environmental approach. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 122, p. 674–687, 2018. b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.02.003>>

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Seasonal characterization of sugarcane vinasse: Assessing environmental impacts from fertirrigation and the bioenergy recovery potential through biodigestion. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 634, p. 29–40, 2018. c. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.326>>

FUESS, L. T.; ZAIAT, M.; NASCIMENTO, C. A. O. Novel insights on the versatility of biohydrogen production from sugarcane vinasse via thermophilic dark fermentation: Impacts of pH-driven operating strategies on acidogenesis metabolite profiles. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 286, n. March, p. 121379, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121379>>

FUESS, L. T.; ZAIAT, M.; NASCIMENTO, C. A. O. Molasses vs. juice: Maximizing biohydrogen production in sugarcane biorefineries to diversify renewable energy generation. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 37, n. July, p. 101534, 2020. a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101534>>

FUESS, L. T.; DOS SANTOS, G. M.; DELFORNO, T. P.; DE SOUZA MORAES, B.; DA SILVA, A. J. Biochemical butyrate production via dark fermentation as an energetically efficient alternative management approach for vinasse in sugarcane biorefineries. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 158, p. 3–12, 2020. b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.063>>

FUESS, L. T.; CRUZ, R. B. C. M.; ZAIAT, M.; NASCIMENTO, C. A. O. Diversifying the portfolio of sugarcane biorefineries: Anaerobic digestion as the core process for enhanced resource recovery. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 147, n. May, p. 111246, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111246>>

FURTADO, A. T.; SCANDIFFIO, M. I. G.; CORTEZ, L. A. B. The Brazilian sugarcane innovation system. **Energy Policy**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 156–166, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.enpol.2010.09.023>>

GANIGUÉ, R.; NAERT, P.; CANDRY, P.; DE SMEDT, J.; STEVENS, C. V.; RABAEY, K.

Fruity flavors from waste: A novel process to upgrade crude glycerol to ethyl valerate. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 289, n. April, p. 121574, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121574>>

GARCÍA-DEPRAECT, O.; CASTRO-MUÑOZ, R.; MUÑOZ, R.; RENE, E. R.; LEÓN-BECERRIL, E.; VALDEZ-VAZQUEZ, I.; KUMAR, G.; REYES-ALVARADO, L. C.; MARTÍNEZ-MENDOZA, L. J.; CARRILLO-REYES, J.; BUITRÓN, G. A review on the factors influencing biohydrogen production from lactate: The key to unlocking enhanced dark fermentative processes. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 324, n. December 2020, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-67649/v1>>

GIL-GARCIA, C.; DE GODOI, L. A. G.; FUESS, L. T.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Performance improvement of a thermophilic sulfate-reducing bioreactor under acidogenic conditions: Effects of diversified operating strategies. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 207, p. 303–312, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.043>>

GOBI, K.; MASHITAH, M. D.; VADIVELU, V. M. Development and utilization of aerobic granules for the palm oil mill (POM) wastewater treatment. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 174, n. 1, p. 213–220, 2011. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2011.09.002>>

GODOI, L. A. G.; CAMILOTI, P. R.; BERNARDES, A. N.; SANCHEZ, B. L. S.; TORRES, A. P. R.; DA CONCEIÇÃO GOMES, A.; BOTTA, L. S. Seasonal variation of the organic and inorganic composition of sugarcane vinasse: main implications for its environmental uses. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 26, n. 28, p. 29267–29282, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11356-019-06019-8>>

GODOI, L. A. G.; DOS SANTOS, C. E. D.; FORESTI, E.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Evaluating and Refining Alkalinity Calculations Due to Sulfide and Bicarbonate Accessed by Titration in Anaerobic Sulfate-Reducing Bioreactors. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s. l.], v. 228, n. 9, p. 1–12, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11270-017-3518-y>>

GODOI, L. A. G.; FORESTI, E.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Down-flow fixed-structured bed reactor: An innovative reactor configuration applied to acid mine drainage treatment and metal recovery. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 197, p. 597–604, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.027>>

GODOI, L. A. G.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Sulfidogenesis interference on methane production from carbohydrate-rich wastewater. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 72, n. 9, p. 1644–1652, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.2015.383>>

GOLDEMBERG, J.; COELHO, S. T.; GUARDABASSI, P. The sustainability of ethanol production from sugarcane. **Energy Policy**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 2086–2097, 2008. Disponível

em: <<https://doi.org/10.1016/j.enpol.2008.02.028>>

GRAUSE, G.; IGARASHI, M.; KAMEDA, T.; YOSHIOKA, T. Lactic acid as a substrate for fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 37, n. 22, p. 16967–16973, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.08.096>>

GREENHILL, S. Method for determination of free and combined glycerin in biodiesel. U.S. Patent Application 10/744,272, 22 dez. 2003.

GUO, X. M.; TRABLY, E.; LATRILLE, E.; CARRRE, H.; STEYER, J. P. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 35, n. 19, p. 10660–10673, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.03.008>>

HAMZA, R. A.; IORHEMEN, O. T.; TAY, J. H. Advances in biological systems for the treatment of high-strength wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 10, p. 128–142, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2016.02.008>>

HANLEY, E. S.; DEANE, J. P.; GALLACHÓIR, B. P. Ó. The role of hydrogen in low carbon energy futures—A review of existing perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 82, n. January 2017, p. 3027–3045, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.10.034>>

HARPER, S. R.; POHLAND, F. G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 585–602, 1986. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/bit.260280416>>

HÖÖK, M.; TANG, X. Depletion of fossil fuels and anthropogenic climate change-A review. **Energy Policy**, [s. l.], v. 52, p. 797–809, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enpol.2012.10.046>>

IPCC (2014). Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.

ITO, T.; NAKASHIMADA, Y.; SENBA, K.; MATSUI, T.; NISHIO, N. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, [s. l.], v. 100, n. 3, p. 260–265, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1263/jbb.100.260>>

JERIS, J. S.; MCCARTY, P. L. The Biochemistry of Methane Fermentation Using C14 Tracers. **Water Pollution Control Federation**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 178–192, 1965. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/25035234>>

JIMÉNEZ, J.; BARRERA, E. L.; DE VRIEZE, J.; BOON, N.; DEMEESTER, S.; SPANJERS, H.; ROMERO, O. R.; DEWULF, J. Microbial community dynamics reflect reactor stability during the anaerobic digestion of a very high strength and sulfate-rich vinasse. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 93, n. 4, p. 975–984, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jctb.5449>>

JONES, G. A.; WARNER, K. J. The 21st century population-energy-climate nexus. **Energy Policy**, [s. l.], v. 93, p. 206–212, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.enpol.2016.02.044>>

JOSHI, G. V.; NAIK, G. R. Response of sugarcane to different types of salt stress. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 255–263, 1980. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02205854>>

KAPP, H. Schlammfaulung mit hohem Feststoffgehalt. Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft (Sludge with a High Solids Content, Stuttgart reports for Urban Water Management), Band 86, Oldenbourg Verlag, München, p.300, 1984.

KHAN, I. U.; OTHMAN, M. H. D.; HASHIM, H.; MATSUURA, T.; ISMAIL, A. F.; REZAEI-DASHTARZHANDI, M.; AZELEE, I. W. Biogas as a renewable energy fuel – A review of biogas upgrading, utilisation and storage. [s. l.], v. 150, n. May, p. 277–294, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.08.035>>

KIYUNA, L. S. M.; FUESS, L. T.; ZAIAT, M. Unraveling the influence of the COD/sulfate ratio on organic matter removal and methane production from the biodigestion of sugarcane vinasse. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 232, p. 103–112, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.028>>

KOSTER, I. W.; RINZEMA, A.; DE VEGT, A. L.; LETTINGA, G. Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels. **Water Research**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 1561–1567, 1986. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0043-1354\(86\)90121-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(86)90121-1)>

LARSON, D. C.; WEINBERGER, C. B.; LAWLEY, A.; THOMAS, D. H.; MOORE, T. W. **Fundamentals Of Engineering Energy**. [s.l.: s.n.]. v. 83 Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/j.2168-9830.1994.tb00126.x>>

LEBRERO, R.; TOLEDO-CERVANTES, A.; MUÑOZ, R.; DEL NERY, V.; FORESTI, E. Biogas upgrading from vinasse digesters: a comparison between an anoxic biotrickling filter and an algal-bacterial photobioreactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 91, n. 9, p. 2488–2495, 2016.

LEITE, J. A. C.; FERNANDES, B. S.; POZZI, E.; BARBOZA, M.; ZAIAT, M. Application of an anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 579–586, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.10.009>>

LEME, R. M.; SEABRA, J. E. A. Technical-economic assessment of different biogas upgrading routes from vinasse anaerobic digestion in the Brazilian bioethanol industry. **Energy**, [s. l.], v. 119, p. 754–766, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2016.11.029>>

LENS, P. N. L.; KLIJN, R.; VAN LIER, J. B.; LETTINGA, G. Effect of specific gas loading rate on thermophilic (55°C) acidifying (pH 6) and sulfate reducing granular sludge reactors. **Water Research**, [s. l.], v. 37, n. 5, p. 1033–1047, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00459-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00459-1)>

LENS, P. N. L.; KORTHOUT, D.; VAN LIER, J. B.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. Effect of the liquid upflow velocity on thermophilic sulphate reduction in acidifying granular sludge reactors. **Environmental Technology (United Kingdom)**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 183–193, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09593332208618294>>

LENS, P. N. L.; VISSER, A.; JANSSEN, A. J. H.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 41–88, 1998. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10643389891254160>>

LENS, P.; VALLERO, M.; ESPOSITO, G.; ZANDVOORT, M. Perspectives of sulfate reducing bioreactors in environmental biotechnology. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 311–325, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/A:1023207921156>>

LETTINGA, G.; F.M., Van V.; S.W., H.; W.J., De Z.; A., K. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment. **Biotechnology and bioengineering**, [s. l.], v. 22, p. 699–734, 1980. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/bit.260220402>>

LI, J.; CAI, M. H.; MIAO, Y.; LUO, G.; LI, W. T.; LI, Y.; LI, A. M. Bacterial community structure and predicted function in an acidogenic sulfate-reducing reactor: Effect of organic carbon to sulfate ratios. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 293, n. June, p. 122020, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122020>>

LIN, C. Y.; CHANG, F. Y.; CHANG, C. H. Toxic effect of sulfur compounds on anaerobic biogranule. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 87, n. 1–3, p. 11–21, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(01\)00262-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(01)00262-X)>

LOPES, M. L.; PAULILLO, S. C. de L.; GODOY, A.; CHERUBIN, R. A.; LORENZI, M. S.;

GIOMETTI, F. H. C.; BERNARDINO, C. D.; DE AMORIM NETO, H. B.; DE AMORIM, H. V. Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 47, p. 64–76, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.003>>

LOPES, S. I. C.; CAPELA, M. I.; LENS, P. N. L. Sulfate reduction during the acidification of sucrose at pH 5 under thermophilic (55 °C) conditions. II: Effect of sulfide and COD/SO₄²⁻ ratio. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 101, n. 12, p. 4278–4284, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.010>>

LOPES, S. I. C.; DREISSEN, C.; CAPELA, M. I.; LENS, P. N. L. Comparison of CSTR and UASB reactor configuration for the treatment of sulfate rich wastewaters under acidifying conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 43, n. 7, p. 471–479, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2008.08.001>>

LOPES, S. I. C.; LENS, P. N. L. **Anaerobic Treatment of Organic Sulfate-Rich Wastewaters**. Second ed. [s.l.] : Elsevier B.V., 2011. v. 6 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00469-4>>

LOPES, S. I. C.; SULISTYAWATI, I.; CAPELA, M. I.; LENS, P. N. L. Low pH (6, 5 and 4) sulfate reduction during the acidification of sucrose under thermophilic (55 °C) conditions. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 580–591, 2007. a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.11.004>>

LOPES, S. I. C.; WANG, X.; CAPELA, M. I.; LENS, P. N. L. Effect of COD/SO₄²⁻ ratio and sulfide on thermophilic (55 °C) sulfate reduction during the acidification of sucrose at pH 6. **Water Research**, [s. l.], v. 41, n. 11, p. 2379–2392, 2007. b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.023>>

LUO, G.; XIE, L.; ZHOU, Q.; ANGELIDAKI, I. Enhancement of bioenergy production from organic wastes by two-stage anaerobic hydrogen and methane production process. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 18, p. 8700–8706, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.012>>

MACEDO, T. Z.; DE SOUZA DORNELLES, H.; DO VALLE MARQUES, A. L.; PALLADINODELFORNO, T.; CENTURION, V. B.; DE OLIVEIRA, V. M.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. The influence of upflow velocity and hydraulic retention time changes on taxonomic and functional characterization in Fluidized Bed Reactor treating commercial laundry wastewater in co-digestion with domestic sewage. **Biodegradation**, [s. l.], 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10532-020-09895-x>>

MAILLACHERUVU, K. Y.; PARKIN, G. F. Kinetics of growth, substrate utilization and sulfide toxicity for propionate, acetate, and hydrogen utilizers in anaerobic systems. **Water Environment Research**, [s. l.], v. 68, n. 7, p. 1099–1106, 1996. Disponível em:

<<https://doi.org/10.2175/106143096X128126>>

MAILLACHERUVU, K. Y.; PARKIN, G. F.; PENG, C. Y.; KUO, W.-C.; OONGE, Z. I.; LEBDUSCHKA, V. Sulfide toxicity in anaerobic systems fed sulfate and various organics. **Water Environment Research**, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 100–109, 1993. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/25044274>>

MATSUMOTO, M.; NISHIMURA, Y. Hydrogen production by fermentation using acetic acid and lactic acid. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, [s. l.], v. 103, n. 3, p. 236–241, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1263/jbb.103.236>>

MCCARTY, P. L. The development of anaerobic filter and its future. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 44, n. 8, p. 149–156, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.2001.0487>>

MORAES, B. S.; JUNQUEIRA, T. L.; PAVANELLO, L. G.; CAVALETT, O.; MANTELATTO, P. E.; BONOMI, A.; ZAIAT, M. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense? **Applied Energy**, [s. l.], v. 113, p. 825–835, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.07.018>>

MORAES, B. S.; PETERSEN, S. O.; ZAIAT, M.; SOMMER, S. G.; TRIOLO, J. M. Reduction in greenhouse gas emissions from vinasse through anaerobic digestion. **Applied Energy**, [s. l.], v. 189, n. 2017, p. 21–30, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.009>>

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 44, p. 888–903, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.023>>

MOREIRA, J. R.; GOLDEMBERG, J. The alcohol program. **Energy Policy**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 229–245, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0301-4215\(99\)00005-1](https://doi.org/10.1016/S0301-4215(99)00005-1)>

MUYZER, G.; STAMS, A. J. M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. 441–454, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrmicro1892>>

NANDY, T.; SHASTRY, S.; KAUL, S. N. Wastewater management in a cane molasses distillery involving bioresource recovery. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 25–38, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1006/jema.2001.0505>>

NIZ, M. Y. K.; ETCHELET, I.; FUENTES, L.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. Extreme

thermophilic condition: An alternative for long-term biohydrogen production from sugarcane vinasse. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 44, n. 41, p. 22876–22887, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.07.015>>

NOGUEIRA, E. W.; GOUVÊA DE GODOI, L. A.; MARQUES YABUKI, L. N.; BRUCHA, G.; ZAMARIOLLI DAMIANOVIC, M. H. R. Sulfate and metal removal from acid mine drainage using sugarcane vinasse as electron donor: Performance and microbial community of the down-flow structured-bed bioreactor. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 330, n. March, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124968>>

NOGUEIRA, E. W.; LICONA, F. M.; GODOI, L. A. G.; BRUCHA, G.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Biological treatment removal of rare earth elements and yttrium (REY) and metals from actual acid mine drainage. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 80, n. 8, p. 1485–1493, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.2019.398>>

NOIKE, T.; TAKABATAKE, H.; MIZUNO, O.; OHBA, M. Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 27, n. 11–12, p. 1367–1371, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00120-9](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00120-9)>

OLIVEIRA, C. A.; FUESS, L. T.; SOARES, L. A.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Thermophilic biomethanation of sugarcane molasses comparing single and two-stage systems: Process performance and energetic potential. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 12, n. August, p. 1–10, 2020. a.

OLIVEIRA, C. A.; FUESS, L. T.; SOARES, L. A.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Thermophilic biohydrogen production from sugarcane molasses under low pH: Metabolic and microbial aspects. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 45, n. 7, p. 4182–4192, 2020. b.

PENDER, S.; TOOMEY, M.; CARTON, M.; EARDLY, D.; PATCHING, J. W.; COLLERAN, E.; O'FLAHERTY, V. Long-term effects of operating temperature and sulphate addition on the methanogenic community structure of anaerobic hybrid reactors. **Water Research**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 619–630, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.055>>

PERNA, V.; CASTELLÓ, E.; WENZEL, J.; ZAMPOL, C.; FONTES LIMA, D. M.; BORZACCONI, L.; VARESCHE, M. B.; ZAIAT, M.; ETCHEBEHERE, C. Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 54–62, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.10.022>>

PIFFER, M. A.; ZAIAT, M.; NASCIMENTO, C. A. O. Do; FUESS, L. T. Dynamics of sulfate reduction in the thermophilic dark fermentation of sugarcane vinasse: A biohydrogen-independent approach targeting enhanced bioenergy production. **Journal of Environmental**

Chemical Engineering, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 105956, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105956>>

POHLAND, F. G.; GHOSH, S. Developments in anaerobic stabilization of organic wastes - the two-phase concept. **Environmental Letters**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 255–266, 1971. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00139307109434990>>

PRODANOVIĆ, J. M.; VASIĆ, V. M. Application of membrane processes for distillery wastewater purification-a review. **Desalination and Water Treatment**, [s. l.], v. 51, n. 16–18, p. 3325–3334, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/19443994.2012.749178>>

Química e Derivados (2020). Ano LV (nº 612). Disponível em: <<https://www.quimica.com.br/revistas/qd612/index.html#p=1>>. Acesso: 19 jul. 2021.

RAJESHWARI, K. V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K.; KISHORE, V. V. N. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable & sustainable energy reviews**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 135–156, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1364-0321\(99\)00014-3](https://doi.org/10.1016/S1364-0321(99)00014-3)>

RAMOS, L. R.; SILVA, E. L. Continuous Hydrogen Production from Agricultural Wastewaters at Thermophilic and Hyperthermophilic Temperatures. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 182, n. 2, p. 846–869, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-016-2366-3>>

RAMOS, L. R.; SILVA, E. L. Thermophilic hydrogen and methane production from sugarcane stillage in two-stage anaerobic fluidized bed reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 45, n. 8, p. 5239–5251, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.05.025>>

REIS, M. A. M.; GONCALVES, L. M. D.; CARRONDO, M. J. T. Sulphate removal in acidogenic phase anaerobic digestion. **Environmental Technology Letters**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 775–784, 1988. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09593338809384632>>

REN, N. Q.; CHUA, H.; CHAN, S. Y.; TSANG, Y. F.; SIN, N. Effects of COD/SO₄²⁻ ratios on an acidogenic sulfate-reducing reactor. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 46, n. 6, p. 1661–1666, 2007. a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ie060589w>>

REN, N.; XING, D.; RITTMANN, B. E.; ZHAO, L.; XIE, T.; ZHAO, X. Microbial community structure of ethanol type fermentation in bio-hydrogen production. **Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 1112–1125, 2007. b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01234.x>>

REUNGSANG, A.; SITTIJUNDA, S.; ANGELIDAKI, I. Simultaneous production of

hydrogen and ethanol from waste glycerol by *Enterobacter aerogenes* KKU-S1. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 1813–1825, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.11.062>>

RIERA, F. S.; CÓRDOBA, P.; SIÑERIZ, F. Use of the UASB reactor for the anaerobic treatment of stillage from sugar cane molasses. **Biotechnology and Bioengineering**, [s. l.], v. 27, n. 12, p. 1710–1716, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/bit.260271212>>

RIPLEY, A. L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. alkalimetric Improved for anaerobic digestion wastes monitoring of. **Water Pollution Control Federation**, [s. l.], v. 58, n. 5, p. 406–411, 1986. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/25034391>>

RITTMANN, B. E.; MCCARTY, P. L. **Environmental biotechnology: principles and applications**. [s.l.] : McGraw-Hill, 2001.

RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CAMARGO, E. F. M. De; ZAIAT, M. Influence of agitation rate on the performance of an anaerobic sequencing batch reactor containing granulated biomass treating low-strength wastewater. **Advances in Environmental Research**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 405–410, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(02\)00008-4](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(02)00008-4)>

RODRIGUEZ, R. P.; OLIVEIRA, G. H. D.; RAIMUNDI, I. M.; ZAIAT, M. Assessment of a UASB reactor for the removal of sulfate from acid mine water. **International Biodeterioration and Biodegradation**, [s. l.], v. 74, p. 48–53, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.07.012>>

SALADINI, F.; PATRIZI, N.; PULSELLI, F. M.; MARCHETTINI, N.; BASTIANONI, S. Guidelines for energy evaluation of first, second and third generation biofuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 66, n. September 2015, p. 221–227, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.073>>

SÁNCHEZ, F. E.; FUESS, L. T.; CAVALCANTE, G. S.; ADORNO, M. Â. T.; ZAIAT, M. Value-added soluble metabolite production from sugarcane vinasse within the carboxylate platform: An application of the anaerobic biorefinery beyond biogas production. **Fuel**, [s. l.], v. 286, n. January 2020, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119378>>

SANTOS, F. S.; RICCI, B. C.; FRANÇA NETA, L. S.; AMARAL, M. C. S. Sugarcane vinasse treatment by two-stage anaerobic membrane bioreactor: Effect of hydraulic retention time on changes in efficiency, biogas production and membrane fouling. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 245, p. 342–350, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.126>>

SANTOS, P. S.; ZAIAT, M.; OLLER DO NASCIMENTO, C. A.; FUESS, L. T. Does sugarcane vinasse composition variability affect the bioenergy yield in anaerobic systems? A dual kinetic-energetic assessment. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 240, p. 118005,

2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118005>>

SANTOS, S. C.; FERREIRA ROSA, P. R.; SAKAMOTO, I. K.; AMÂNCIO VARESCHE, M. B.; SILVA, E. L. Continuous thermophilic hydrogen production and microbial community analysis from anaerobic digestion of diluted sugar cane stillage. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 39, n. 17, p. 9000–9011, 2014. a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.03.241>>

SANTOS, S. C.; ROSA, P. R. F.; SAKAMOTO, I. K.; AMÂNCIO VARESCHE, M. B.; SILVA, E. L. Hydrogen production from diluted and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 39, n. 18, p. 9599–9610, 2014. b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.04.104>>

SANTOS, S. C.; ROSA, P. R. F.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A.; SILVA, E. L. Organic loading rate impact on biohydrogen production and microbial communities at anaerobic fluidized thermophilic bed reactors treating sugarcane stillage. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 159, p. 55–63, 2014. c. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.051>>

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H. V. M.; LETTINGA, G. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 65, n. 3, p. 175–190, 1998. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00046-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00046-7)>

SERRA, L. M.; LOZANO, M. A.; RAMOS, J.; ENSINAS, A. V.; NEBRA, S. A. Polygeneration and efficient use of natural resources. **Energy**, [s. l.], v. 34, n. 5, p. 575–586, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.energy.2008.08.013>>

SHAYEGAN, J.; GHAVIPANJEH, F.; MIRJAFARI, P. The effect of influent COD and upward flow velocity on the behaviour of sulphate-reducing bacteria. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 40, n. 7, p. 2305–2310, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.09.005>>

SILVA, A. J.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea. **Anaerobe**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 93–98, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2005.12.003>>

SILVA, A. J.; POZZI, E.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. The Influence of the Buffering Capacity on the Production of Organic Acids and Alcohols from Wastewater in Anaerobic Reactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 175, n. 4, p. 2258–2265, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-014-1424-y>>

SIPMA, J.; LENS, P.; VIEIRA, A.; MIRON, Y.; VAN LIER, J. B.; HULSHOFF POL, L. W.;

LETTINGA, G. Thermophilic sulphate reduction in upflow anaerobic sludge bed reactors under acidifying conditions. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 509–522, 1999.

SIQUEIRA, L. M.; DAMIANO, E. S. G.; SILVA, E. L. Influence of organic loading rate on the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and biogás production in fluidized bed reactor. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, [s. l.], v. 48, n. 13, p. 1707–1716, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10934529.2013.815535>>

SPEECE, R. E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. **Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 17, n. 9, p. 416A-427A, 1983. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/es00115a001>>

SREELA-OR, C.; IMAI, T.; PLANGKLANG, P.; REUNGSANG, A. Optimization of key factors affecting hydrogen production from food waste by anaerobic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 36, n. 21, p. 14120–14133, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.04.136>>

SUN, Q.; LI, H.; YAN, J.; LIU, L.; YU, Z.; YU, X. Selection of appropriate biogas upgrading technology-a review of biogas cleaning, upgrading and utilisation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 51, p. 521–532, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.06.029>>

TASHIRO, Y.; YOSHIDA, T.; NOGUCHI, T.; SONOMOTO, K. Recent advances and future prospects for increased butanol production by acetone-butanol-ethanol fermentation. **Engineering in Life Sciences**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 432–445, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/elsc.201200128>>

TAYLOR, K. A. C. C. A simple colorimetric assay for muramic acid and lactic acid. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 49–58, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02787869>>

UENO, Y.; TATARA, M.; FUKUI, H.; MAKIUCHI, T.; GOTO, M.; SODE, K. Production of hydrogen and methane from organic solid wastes by phase-separation of anaerobic process. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 98, n. 9, p. 1861–1865, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.12.080>>

UTGIKAR, V. P.; HARMON, S. M.; CHAUDHARY, N.; TABAK, H. H.; GOVIND, R.; HAINES, J. R. Inhibition of sulfate-reducing bacteria by metal sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage. **Environmental Toxicology**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 40–48, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002%2Ftox.10031>>

VALLERO, M. V. G.; SIPMA, J.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. High-Rate Sulfate Reduction at High Salinity (up to 90 mS.cm⁻¹) in Mesophilic UASB Reactors. **Biotechnology**

and Bioengineering, [s. l.], v. 86, n. 2, p. 226–235, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/bit.20040>>

VAN DEN BERG, L.; KENNEDY, K. J.; SAMSON, R. Anaerobic Downflow Stationary Fixed Film Reactors: Performance Under Steady-State and Non-Steady State Conditions. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 89–102, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.1985.0007>>

VAN DER LAST, A. R. M.; LETTINGA, G. Anaerobic treatment of domestic sewage under moderate climatic (Dutch) conditions using upflow reactors at increased superficial velocities. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 25, n. 7, p. 167–178, 1992. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.1992.0149>>

VAN HAANDEL, A.; VAN DER LUBBE, J. **Anaerobic Sewage Treatment: Optimization of Process and Physical Design of Anaerobic and Complementary Processes**. [s.l.] : IWA Publishing, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2166/9781780409627_xi>

VAN LIER, J. B. High-rate anaerobic wastewater treatment: Diversifying from end-of-the-pipe treatment to resource-oriented conversion techniques. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 57, n. 8, p. 1137–1148, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.2008.040>>

VAN LIER, J. B.; VAN DER ZEE, F. P.; FRIJTERS, C. T. M. J.; ERSAHIN, M. E. Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 681–702, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11157-015-9375-5>>

VARRONE, C.; GIUSSANI, B.; IZZO, G.; MASSINI, G.; MARONE, A.; SIGNORINI, A.; WANG, A. Statistical optimization of biohydrogen and ethanol production from crude glycerol by microbial mixed culture. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 37, n. 21, p. 16479–16488, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.02.106>>

VENKATA MOHAN, S.; NIKHIL, G. N.; CHIRANJEEVI, P.; NAGENDRANATHA REDDY, C.; ROHIT, M. V.; KUMAR, A. N.; SARKAR, O. Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: Critical review and future perspectives. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 215, p. 2–12, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.130>>

VILELA, R. S.; FUESS, L. T.; SAIA, F. T.; SILVEIRA, C. R. M.; OLIVEIRA, C. A.; ANDRADE, P. A.; LANGENHOFF, A.; ZAAAN, B. Van Der; COP, F.; GREGORACCI, G. B.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Biofuel production from sugarcane molasses in thermophilic anaerobic structured-bed reactors. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 144, n. April 2020, p. 110974, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.110974>>

VILELA, R.; SAIA, F. T.; GREGORACCI, G. B.; DUARTE, R.; ANDRADE, P.; VAN DER ZAAAN, B.; LANGENHOFF, A.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Hydrogen production in reactors: The influence of organic loading rate, inoculum and support material. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 44, n. 50, p. 27259–27271, 2019.

VISSER, A.; GAO, Y.; LETTINGA, G. Effects of pH on methanogenesis and sulphate reduction in thermophilic (55°C) UASB reactors. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 113–121, 1993. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0960-8524\(93\)90184-D](https://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90184-D)>

WANG, A.; REN, N.; WANG, X.; LEE, D. Enhanced sulfate reduction with acidogenic sulfate-reducing bacteria. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 154, n. 1–3, p. 1060–1065, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.022>>

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 63–102, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00017-9](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00017-9)>

YANG, Z.; KONG, L.; WANG, S. The emission of biogenic sulphur gases from incubated Chinese paddy soil and its relationship with carbon dioxide. **Toxicological and Environmental Chemistry**, [s. l.], v. 64, n. 1–4, p. 33–43, 1997. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/02772249709358538>>

ZEHNDER, A. J. B.; GUJER, W. Conversion Processes in Anaerobic Digestion. **Water, Science and Technology**, [s. l.], v. 15, n. August, p. 127–167, 1983. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.1983.0164>>

ZHOU, J.; XING, J. Effect of electron donors on the performance of haloalkaliphilic sulfate-reducing bioreactors for flue gas treatment and microbial degradation patterns related to sulfate reduction of different electron donors. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 96, p. 14–22, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2014.12.015>>

ZWIETERING, M. H.; JONGENBURGER, I.; ROMBOUTS, F. M.; VAN'T RIET, K. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 56, n. 6, p. 1875–1881, 1990. Disponível em: <[10.1128/AEM.56.6.1875-1881.1990](https://doi.org/10.1128/AEM.56.6.1875-1881.1990)>