LUCAS TADEU FUESS

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

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

Orientador: Prof. Tit. Marcelo Zaiat

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Loureiro Garcia

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2017

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

F955b Fuess, Lucas Tadeu
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 /
Lucas Tadeu Fuess; orientador Marcelo Zaiat;
coorientador Marcelo Loureiro Garcia. São Carlos, 2017.

Tese (Doutorado) - 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,
2017.

1. Biorrefinaria de cana-de-açúcar. 2.
Gerenciamento de vinhaça. 3. Biodigestão anaeróbia. 4.
ASTBR. 5. Recuperação de bioenergia. 6. Produção de
biohidrogênio. 7. Avaliação tecnológica. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **LUCAS TADEU FUESS**.

Título da tese: "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".

Data da defesa: 13.03.2017.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Titular **Marcelo Zaiat (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovado

Prof. Titular **Cláudio Augusto Oller do Nascimento**
(Escola Politécnica/EP-USP)

APROVADO

Profa. Dra. **Telma Teixeira Franco**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

Aprovado

Prof. Dr. **Sérgio Francisco de Aquino**
(Universidade Federal de Ouro Preto/UFOP)

Aprovado

Dr. **Antonio Maria Francisco Luiz Jose Bonomi**
(Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais/CNPEM)

APROVADO

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

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Associado **Luís Fernando Costa Alberto**

À Isabella, meu grande amor.
Aos meus pais, Fernando e Sônia, meus pilares.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida, por me inserir em um terno seio familiar e, sobretudo, por me fortalecer para buscar meus sonhos.

A minha “pequena grande” família: Sônia, Fernando, Isabella, Spike e Kiara. Aos meus pais, Fernando e Sônia, pelo apoio incondicional, investimento desmedido, carinho e confiança depositada em mim. A minha mulher, Isabella, pelo amor, companheirismo e inúmeras aventuras compartilhadas, mas, sobretudo, por aguentar minhas incontáveis manias e meu lado *workaholic*. As minhas crianças de quatro patas, Spike e Kiara, por me fazerem entender o significado do amor sincero a cada chegada em casa. Simplesmente obrigado por estarem presentes em minha vida.

Aos mestres “Marcelos”. Ao Garcia, o Marcelinho ou MG, pela valiosa contribuição em minha iniciação na ciência, pelas orientações competentes desde a IC e pela amizade construída em quase uma década de conversas com o mesmo fim: “*tinha mais alguma coisa para falar, mas não lembro agora...*”. Ao Zaiat, o chefe, pela confiança em meu trabalho, pela tranquilidade e paciência na orientação e pelo exemplo de competência e humanidade. E tudo isso acompanhado com uma (grande) dose de zoeira. Seu Marcelo, trabalhar em seu grupo é viciante, quem está dentro não quer sair. Obrigado por tudo!

Aos “Panquecados”: Leandro (rei das metodologias e pai mais fresco do LPB), Carol Gil (tia da cinética... ôôô!), Carla (profa. Helena), Rachel (técnica do íons), Priscila (também técnica do íons... couve-flor!), Tiago Palladino (rei da biomol), Eduardo (fazendeiro de MG e “zen” paciência), Natália (mamãe do ano) e Fabrício (marombeiro que só). Um grupo que transcendeu as afinidades científico-filosóficas para partilhar os ensinamentos adquiridos com os amigos de quatro patas. Obrigado por fazerem meu cotidiano mais alegre, pelas valorosas contribuições e discussões científicas, por aceitarem as intermináveis brincadeiras e, sobretudo, pela amizade construída à base de um esforço desmedido para “fazer ciência”. E viva o nosso lema: *The zoeira never ends...*

Aos irmãozinhos cientistas, também crias do mestre Zaiat: Guilherme Oliveira (monitor das multidões, exemplo de competência e dedicação), Adriana Maluf (perfeccionista que só), Vivian Carminato e Pilar (guerreiras do biohidrogênio), Ana Flávia (mãezona do laboratório), Rodrigo Carneiro (mééééé), Renata (brasileira que nunca desiste), Inês (Unesp no sangue!), Mirabelle (parente do Eduardo Cunha) e demais pesquisadoras extremamente competentes... Mirian, Jéssica “Zaiat”, Tainá. Um agradecimento especial às companheiras da terra do Fidel, Tania, Aimeé e Ania, pelas conversas descontraídas (muitas vezes

indecifráveis) e pelo carinho, e à Luma, minha primeira orientada, pela excelência no trabalho e competência.

Aos priminhos cientistas, crias de outros professores: Laís e Camila (sucessoras da Bernadete), Jéssica “Foresti” (contadora de “causos”), Marcus Vinicius (outro exemplo de competência e sucesso, amigo querido), Fiaz (como?), Mara Rúbia (hahahahaha bem alto), Alana (meu...), Rogério (você quis dizer Hidrogério?), Cristiane (a prima do Marcelinho – você quis dizer Rogéria?). Leonardo (Seu Léo), Elis (a verdadeira japonesa paraguaia) e Moara (queridíssima e Valerinha #2). Também à Lívia Botta, Thais Macedo, Vanessa, Bruno Giz, Elias, Thiago IQSC, Tiago Cebola, Fabrício Motteran, Alejandra (Shakira) Villa, Raissa e Carol Granatto. Agradeço pela amizade e pelo agradável convívio.

Ao grupinho da boa, velha e mal cheirosa vinhaça: Samuel (a confusão em pessoa, sócia do Zezé Di Camargo), Guilherme Vuitik (lorde inglês nascido na Rússia brasileira), Rodrigo Longo (intérprete do *House*), Inaê (Valerinha #1) e Valéria (a original... feliz aniversário!). Agradeço especialmente aos estimados Samuel e Vuitik, pelos papos (ora descontraídos ora científicos), pela cumplicidade na filtração da vinhaça (só para o Samuel essa) e pela amizade construída em torno de um objetivo comum: sujar o jaleco com vinhaça. A vida no laboratório ficou muito mais fácil ao lado de vocês.

Aos professores e ao corpo técnico do LPB: Eugenio Foresti, Márcia Damianovic, Maria Bernadete Varesche, Wiclef Marra (professores) e Janja Adorno, Carol Sabatini, Isabel Sakamoto e Elô Pozzi (técnicas). A troca de conhecimentos, seja em sala de aula ou no café, aliada a muitos risos, tornou mais aprazível a dura rotina de análises. Aqui vale uma menção especial aos professores Eugênio e Márcia, pelas estimadas contribuições na qualificação deste trabalho. Agradeço também à Silvana e ao Fernando, não só pela amizade, mas por resolverem inúmeros “pepinos” nesses quatro anos, bem como à dona Rosa, dona Fátima e Andreia, pela amizade e pela dedicação ao trabalho.

Àqueles que passaram pelo LPB e dividiram tão brilhantemente seus conhecimentos: Djalma, Simone Damasceno (oi amigo!), Gustavo Mockaitis, Moacir, Dagoberto, Theo, Paulo (a “véia”) e Tiago Martins (Bacão). Reforço os agradecimentos ao Djalma, à Simone e ao Moacir. Ao Djalma, pela tremenda ajuda no meu início como doutorando, pelo competente auxílio nas análises de biologia molecular e, sobretudo, pela amizade construída. À Simone, pelas horas de trabalho compartilhadas, conversas sobre os desafios da produção de hidrogênio, parcerias nos trabalhos, amizade e zelo, especialmente nos eventos pela América Latina. Finalmente, ao Moacir, pelo competente auxílio nos cálculos do escalonamento dos sistemas de biodigestão. Aprendi (e ainda aprendo) muito com todos vocês.

Ao pessoal do CTBE, pela recepção fantástica na Divisão de Avaliação Integrada de Biorrefinarias (AIB). Inicialmente agradeço à Mylene, pela supervisão competente, simpatia e doçura na lida com os problemas diários; ao Bruno Klein, pai do meu xarazinho, pelo imenso auxílio com o Aspen Plus® e pelos papos “cabeça”, e ao Mateus Chagas, pelo estimado auxílio na realização da análise do ciclo de vida. Agradeço também à Isabelle (desculpe pelos sustos recorrentes), Elisa, Charles, Vera, Tássia, Edvaldo (vai “Curintia”!), Tereza (vai “Cutintia”!), Otávio, Moisés, Alexandre, Marcos Watanabe (vai Bugre!), Djalma (sim, aqui também) e Bruna Moraes. Reforço o agradecimento à Bruna, sobretudo por compartilhar o interesse pelo estudo da vinhaça. Um agradecimento especial ao Dr. Antonio Bonomi (vai “Parmera”!), por permitir o desenvolvimento de meu projeto nas dependências do CTBE.

Já que estamos falando de Campinas, um agradecimento caloroso ao “pessoal da carona”: Ariovaldo Silva, Igor Jardim e Daniel Cardoso. Agradeço pela recepção no carro e pelos quase seis meses de aventuras na Zeferino Vaz, fugindo de caminhões, pegando engarrafamentos, testando novos caminhos, falando carinhosamente do Gigi, rezando para sobreviver às “barbeiradas” e rindo muito das palhaçadas.

Aos funcionários da Usina São Martinho, em especial ao Cláudio Araújo e à Michele Pires, pelo fornecimento das amostras de vinhaça e lodo.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos 2009/15984-0 e 2012/15606-9, pelo fornecimento da bolsa e auxílio financeiro complementar na realização da pesquisa.

A todos que de alguma forma me auxiliaram a concluir esta etapa acadêmica, mas cujos nomes me faltaram à memória.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), a qual me forneceu condições, a partir de uma formação de qualidade (graduação e mestrado), para ingressar no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Finalmente, indicando o encerramento de um ciclo, à família do Laboratório de Processos Biológicos, representando a Escola de Engenharia de São Carlos e a própria Universidade de São Paulo, por propiciar condições para minha titulação como Doutor em Ciências. Um sonho realizado, um dever assumido para com a disseminação da ciência.

Meus mais sinceros agradecimentos!

“O único modo de escapar da corrupção causada
pelo sucesso é continuar trabalhando”

Albert Einstein

“Ser feliz sem motivo é a mais autêntica
forma de felicidade”

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

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. 346 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

A produção de biocombustíveis apresenta-se como uma eficiente alternativa para superar as limitações econômico-ambientais inerentes à comercialização e utilização de combustíveis fósseis. O etanol caracteriza-se como um dos principais biocombustíveis alternativos, sendo as destilarias de cana-de-açúcar importantes exemplos de biorrefinarias, as quais, analogamente à indústria do petróleo, objetivam a obtenção de um espectro de (bio)produtos e/ou bioenergia a partir da biomassa vegetal. Embora nas atuais biorrefinarias de cana-de-açúcar a matéria-prima seja convertida em etanol, açúcar e eletricidade, uma fração considerável da energia da cana (como matéria orgânica) ainda é perdida na vinhaça. Potenciais impactos negativos da fertirrigação, i.e., aplicação direta da vinhaça no solo agrícola, também constituem outra relevante limitação do atual gerenciamento desta água residuária no Brasil. A biodigestão anaeróbia apresenta grande potencial de aplicação no tratamento da vinhaça, objetivando-se a redução de sua carga orgânica poluente concomitantemente à recuperação de bioenergia a partir do biogás. Embora tal processo potencialize a extração de energia da cana-de-açúcar na biorrefinaria, a literatura de referência ainda é escassa em termos da definição de parâmetros que viabilizem a implantação da biodigestão nas destilarias brasileiras. Neste contexto, neste estudo apresenta-se um panorama holístico da aplicação da biodigestão anaeróbia no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar, definindo-se condições operacionais para uma eficiente e estável conversão da matéria orgânica em hidrogênio e metano em sistemas em duas fases (acidogênico + metanogênico) termofílicos (55°C). Diferentes cenários para produção de energia a partir do biogás também foram estudados a partir da aplicação de ferramentas de simulação, buscando-se fornecer aspectos técnicos, econômicos e ambientais da implantação das plantas de biodigestão da vinhaça na indústria sucroalcooleira brasileira. Em termos experimentais, os resultados mostraram a habilidade do reator acidogênico para manter produções contínuas de biohidrogênio em longo prazo (240 dias), sendo a aplicação de estratégias operacionais específicas, p.ex. controle do pH e da concentração de biomassa no reator, imperativa para recuperação dos sistemas submetidos a perdas de desempenho. Na fase metanogênica, a aplicação de cargas orgânicas crescentes (até 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹) em um reator convencional de manta de lodo e um reator de leito fixo estruturado indicou um desempenho muito superior do sistema com células aderidas, especialmente em termos da estabilidade operacional em longo prazo (240 dias). Finalmente, com relação à avaliação tecnológica da biodigestão, demonstrou-se a viabilidade do escalonamento dos sistemas anaeróbios com separação de fases para o tratamento da vinhaça nas biorrefinarias de cana-de-açúcar, independentemente do tipo de uso proposto para o hidrogênio: não recuperação, venda como produto de valor agregado, produção de biohythane ou injeção no reator metanogênico. Os resultados também apontaram o papel determinante da alcalinização dos sistemas para melhorar o desempenho econômico-ambiental da biodigestão, podendo superar efeitos da redução dos custos de investimento em alguns casos. Em suma, espera-se que os resultados apresentados neste trabalho sirvam como referência aos tomadores de decisão da indústria sucroalcooleira, suprimindo lacunas de informações e destacando a viabilidade da implantação da biodigestão como tecnologia central para o processamento da vinhaça nas biorrefinarias de cana-de-açúcar no Brasil.

Palavras-chave: biorrefinaria de cana-de-açúcar, gerenciamento de vinhaça, biodigestão anaeróbia, ASTBR, recuperação de bioenergia, produção de biohidrogênio, avaliação tecnológica.

ABSTRACT

FUESS, L.T. **Thermophilic anaerobic biodigestion of vinasse in combined acidogenic-methanogenic systems to enhance bioenergy recovery in first generation sugarcane biorefineries**. 2017. 346 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

The production of biofuels comprises an efficient alternative to overcome the economic-environmental drawbacks inherent to the trade and use of fossil fuels. Ethanol is one of the main alternative biofuels, with sugarcane distilleries characterized as important examples of biorefineries, which, similarly to the oil industry, aim to obtain a spectrum of (bio)products and/or bioenergy from the vegetal biomass. Although the raw material is converted into ethanol, sugar and electricity in the current sugarcane biorefineries, a considerable fraction of the energy from sugarcane (as organic matter) is still wasted in vinasse. Potential negative impacts from fertirrigation, i.e., the direct application of vinasse into the agricultural soil, also comprise another relevant drawback of the current management of this wastewater in Brazil. Anaerobic biodigestion has great potential of application in the treatment of vinasse, aiming to reduce its polluting organic load concomitantly to the bioenergy recovery from biogas. Although this process enhances the energy extraction from sugarcane in the biorefinery, the reference literature still lacks on the definition of parameters that encourage the implementation of biodigestion in Brazilian distilleries. In this context, this study presents a holistic overview of the application of biodigestion in the treatment of sugarcane vinasse, defining operating conditions for an efficient and stable conversion of the organic matter into hydrogen and methane in two-phase (acidogenic + methanogenic) thermophilic systems (55°C). Different scenarios for the production of bioenergy from biogas were also studied by using simulation tools, aiming to provide technical, economic and environmental aspects of the implementation of vinasse biodigestion plants in the Brazilian sucro-alcohol industry. In experimental terms, the results showed the ability of the acidogenic reactor to maintain a continuous long-term (240 days) biohydrogen production, characterizing the application of specific operating strategies, e.g. control of the pH and biomass concentration inside the reactor, as imperative for the recovery of systems subjected to performance losses. In the methanogenic phase, the application of increasing organic loadings (up to 30 kgCOD m⁻³ d⁻¹) to a conventional sludge blanket reactor and a structured-bed reactor indicated a much superior performance of the adhered cell system, especially in terms of the long-term operating stability (240 days). Finally, regarding the technological assessment of the biodigestion, the feasibility of scaling-up anaerobic systems with phase separation to the treatment of vinasse in sugarcane biorefineries was demonstrated, regardless of the type of use proposed for hydrogen: non-recovery, sale as a value-added product, biohythane production or injection into the methanogenic reactor. The results also pointed out the determining role of the alkalization of the systems to improve the economic-environmental performance of biodigestion, in order to overcome the effects of the reduction of investment costs in some cases. In short, it is expected that the results presented in this study will serve as reference to decision-makers in the sucro-alcohol industry, filling information gaps and highlighting the feasibility of implementing biodigestion as the core technology for the processing of vinasse in sugarcane biorefineries in Brazil.

Keywords: sugarcane biorefinery, vinasse management, anaerobic biodigestion, ASTBR, bioenergy recovery, biohydrogen production, technological assessment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rotas tecnológicas para produção de etanol considerando diferentes matérias-primas.....	50
Figura 2. Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na bioconversão anaeróbia da matéria orgânica.....	57
Figura 3. Comparativo entre reatores de leito fixo empacotado (APBR) e leito fixo estruturado (ASTBR).....	66
Figura 4. Rotas para o aproveitamento da matéria-prima e resíduos em biorrefinarias de cana-de-açúcar de (a) primeira e (b) segunda geração.....	79
Figura 5. Possíveis rotas tecnológicas para o aproveitamento da vinhaça de cana-de-açúcar considerando o emprego da biodigestão com separação de fases.....	82
Figura 6. Rotas tecnológicas para o aproveitamento do biogás gerado na etapa acidogênica (biogás-H ₂) no contexto da biodigestão anaeróbia com separação de fases.....	87
Figura 7. Inserção das hipóteses de trabalho nas diferentes etapas da pesquisa.....	99
Figura 8. Representação esquemática do aparato experimental utilizado.....	104
Figura 9. Detalhes do aparato experimental utilizado.....	105
Figura 10. Detalhes do reator de leito fixo empacotado (APBR) utilizado na fase acidogênica.....	106
Figura 11. Detalhes do reator de leito fixo estruturado (ASTBR) utilizado na fase metanogênica.....	108
Figura 12. Inoculação dos reatores metanogênicos.....	109
Figura 13. Fluxograma simplificado da usina anexa padrão implementada na BVC.....	128
Figura 14. Fluxograma da biodigestão anaeróbia da vinhaça em duas fases implementado no ambiente da BVC utilizando-se o <i>software</i> Aspen Plus®.....	129
Figura 15. Fluxograma do motor de combustão interna implementado no ambiente da BVC utilizando-se o <i>software</i> Aspen Plus®.....	132
Figura 16. Fluxograma da turbina a gás implementada no ambiente da BVC utilizando-se o <i>software</i> Aspen Plus®.....	137
Figura 17. Fluxograma do ciclo combinado (turbina a gás + turbina a vapor) implementado no ambiente da BVC utilizando-se o <i>software</i> Aspen Plus®.....	138
Figura 18. Fronteiras do sistema destinado à produção de etanol anidro, açúcar e eletricidade a partir da cana-de-açúcar, incluindo as etapas de biodigestão da vinhaça e	

recuperação de energia a partir do biogás, considerando a abordagem do “berço ao portão da fábrica”.....	146
Figura 19. Produção de biogás e hidrogênio na fase acidogênica (APBR).....	152
Figura 20. Dinâmica da retenção de biomassa no reator acidogênico (APBR).....	154
Figura 21. Monitoramento da fase líquida do reator acidogênico (APBR).....	155
Figura 22. Influência de diferentes parâmetros operacionais sobre a produção volumétrica (PVH) e o rendimento (HY) de hidrogênio.....	168
Figura 23. Influência da carga orgânica volumétrica específica (COVe) sobre a produção volumétrica de hidrogênio (PVH).....	175
Figura 24. Influência da carga orgânica volumétrica específica (COVe) sobre o rendimento de hidrogênio (HY).....	176
Figura 25. Metabólitos solúveis quantificados na vinhaça (bruta) afluente ao APBR ao longo da operação da fase acidogênica.....	180
Figura 26. Metabólitos solúveis quantificados na vinhaça fermentada ao longo da operação da fase acidogênica.....	182
Figura 27. Razão HBU/HAC na vinhaça fermentada (-○-) e (a) produção volumétrica de hidrogênio (PVH, -■-) e (b) rendimento de hidrogênio (HY, -◆-) observados ao longo da operação do APBR.....	184
Figura 28. Porcentagem de hidrogênio recuperado (■) no biogás e produção volumétrica de hidrogênio (PVH, -■-) ao longo da operação do APBR.....	186
Figura 29. Balanço de massa para fase solúvel (a) da vinhaça bruta e (b) vinhaça acidificada e (c) balanço de massa global da fase acidogênica.....	189
Figura 30. Produção e acúmulo de substâncias poliméricas extracelulares ao longo da operação do APBR.....	191
Figura 31. Composição microbiana das amostras obtidas a partir da operação da fase acidogênica (APBR) no nível de gênero (abundâncias relativas >1% são apresentadas).....	193
Figura 32. Árvore filogenética da comunidade microbiana nas amostras obtidas durante a operação do APBR baseando-se no 16S RNAr (região V4).....	194
Figura 33. Análise de componentes principais considerando dados de monitoramento (desempenho do reator + composição microbiana) da fase acidogênica.....	198
Figura 34. Monitoramento da fase líquida dos reatores metanogênicos (ASTBR e UASB).....	203

Figura 35. Monitoramento da fase líquida do reator UASB.....	204
Figura 36. Monitoramento da fase líquida do ASTBR.....	205
Figura 37. Lodo termofílico utilizado na inoculação dos reatores metanogênicos.....	206
Figura 38. Perfis temporais obtidos ao longo da operação dos reatores metanogênicos para a concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) afluente e efluente aos sistemas.....	211
Figura 39. Eficiência de remoção de DQO (a) total (ER_{DQOt}) e (b) solúvel (ER_{DQOs}), (c) produção volumétrica de metano (PVM) e (d) rendimento de metano (MY) em função da carga orgânica volumétrica aplicada (COVa) no ASTBR.....	213
Figura 40. Variação temporal da composição do biogás nos reatores metanogênicos.....	217
Figura 41. Produção de biogás e metano na fase metanogênica (ASTBR e UASB).....	219
Figura 42. Metabólitos solúveis quantificados no efluente do reator UASB.....	226
Figura 43. Metabólitos solúveis quantificados no efluente do ASTBR.....	227
Figura 44. Perfis temporais da razão HPr/HAc na vinhaça acidificada ($-\diamond-$) e nos efluentes do ASTBR ($-\blacksquare-$) e do reator UASB ($-\square-$).....	229
Figura 45. Balanço de massa para fase solúvel do efluente (a) do ASTBR e (b) do reator UASB e balanço de massa global para o (c) ASTBR e (d) reator UASB.....	233
Figura 46. Composição microbiana das amostras obtidas a partir do inóculo (IN) e dos reatores UASB e ASTBR baseando-se no 16S RNAr (região V4) – dados derivados do DNA metagenômico.....	239
Figura 47. Composição microbiana das amostras obtidas a partir do inóculo (IN) e dos reatores UASB e ASTBR baseando-se no 16S RNAr (região V4) – dados derivados do DNA metagenômico.....	241
Figura 48. Produção total de energia (PTE) na (a) safra e (b) entressafra, produtividade de energia pela vazão de vinhaça (PRE^{vin}) na (c) safra e (d) entressafra e produtividade de energia pela vazão de biogás (PRE^{biog}) na (e) safra e (f) entressafra para diferentes acionadores primários.....	254
Figura 49. Eficiência de conversão total e elétrica nos diferentes acionadores primários simulados.....	255
Figura 50. Potencial energético (PE) estimado para a vinhaça nos diferentes cenários avaliados para os períodos de (a) e (b) safra e (c) e (d) entressafra.....	260
Figura 51. Comparativo entre a produção de energia elétrica no presente estudo e trabalhos correlatos consultados na literatura.....	261

Figura 52. Contribuição da eletricidade recuperável a partir da biodigestão da vinhaça em relação à geração (a) hidro- e (b) e (c) termoelétrica brasileira.....	265
Figura 53. (a) Investimento total com as plantas de biodigestão e de geração de energia e (b) distribuição relativa do investimento segundo os diferentes componentes das plantas.....	270
Figura 54. VPL, investimento total e TIR estimados para os cenários com (a) e (b) motor de combustão interna, (c) e (d) turbina a gás, e (e) e (f) ciclo combinado.....	273
Figura 55. Custos estimados para a produção de etanol e eletricidade nas biorrefinarias nos cenários com (a) e (b) motor de combustão interna, (c) e (d) turbina a gás e (e) e (f) ciclo combinado.....	275
Figura 56. Análise da sensibilidade do VPL à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “NaHCO ₃ -total” usada como referência para a alcalinização.....	279
Figura 57. Análise da sensibilidade da TIR à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “NaHCO ₃ -total” usada como referência para a alcalinização.....	280
Figura 58. Níveis de variação no preço da eletricidade e nos custos de alcalinização necessários para se obter desempenho econômico equivalente ao cenário base em termos do (a) e (c) VPL e da (b) e (d) TIR – estratégia “NaHCO ₃ -total” usada como referência para a alcalinização.....	281
Figura 59. Análise da sensibilidade do VPL à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “NaHCO ₃ -partida” usada como referência para a alcalinização.....	282
Figura 60. Análise da sensibilidade da TIR à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “NaHCO ₃ -partida” usada como referência para a alcalinização.....	283
Figura 61. Níveis de variação no preço da eletricidade e nos custos de alcalinização necessários para se obter desempenho econômico equivalente ao cenário base em termos do (a) e (c) VPL e da (b) e (d) TIR – estratégia “NaHCO ₃ -partida” usada como referência para a alcalinização.....	285

Figura 62. Comparação relativa dos impactos em categorias selecionadas nos diferentes cenários.....	286
Figura 63. Detalhamento dos impactos ambientais para as categorias (a) mudanças climáticas e (b) toxicidade humana nos diferentes cenários avaliados.....	288
Figura 64. Detalhamento dos impactos ambientais para as categorias (a) acidificação e (b) eutrofização nos diferentes cenários avaliados.....	289
Figuras 65. Detalhamento dos impactos ambientais para as categorias (a) ocupação da área agrícola e (b) depleção de recursos fósseis nos diferentes cenários avaliados.....	290

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características composicionais de vinhaças de cana-de-açúcar.....	52
Tabela 2. Potenciais impactos adversos da fertirrigação com vinhaça.....	54
Tabela 3. Reatores anaeróbios de alta taxa convencionalmente aplicados no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar e beterraba.....	60
Tabela 4. Sistemas anaeróbios acidogênicos aplicados no tratamento de vinhaças de diferentes matérias-primas.....	73
Tabela 5. Estimativas do potencial energético da vinhaça de cana-de-açúcar segundo diferentes autores.....	92
Tabela 6. Caracterização físico-química das amostras de vinhaça de cana-de-açúcar utilizadas na alimentação dos reatores.....	101
Tabela 7. Condições operacionais aplicadas na operação do APBR – fase acidogênica.....	107
Tabela 8. Condições operacionais aplicadas na operação dos reatores metanogênicos.....	110
Tabela 9. Frequência de análise e métodos analíticos empregados no monitoramento dos reatores.....	112
Tabela 10. Equacionamento empregado no cálculo das variáveis-resposta utilizadas no monitoramento dos reatores.....	114
Tabela 11. Fatores de equivalência utilizados no cálculo dos balanços de massa.....	120
Tabela 12. Descrição do cenário base e dos cenários energéticos avaliados para produção de energia a partir da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar.....	126
Tabela 13. Especificações técnicas das tecnologias de geração de energia elétrica consideradas nas simulações.....	131
Tabela 14. Equacionamento empregado no cálculo das variáveis-resposta utilizadas na avaliação da produção de energia a partir da vinhaça.....	139
Tabela 15. Premissas econômicas, investimentos, preços de insumos e de produtos considerados na avaliação econômica.....	141
Tabela 16. Desempenho do APBR em termos da produção de biogás e hidrogênio, conversão de carboidratos e remoção de matéria orgânica.....	153
Tabela 17. Comparativo entre reatores acidogênicos contínuos aplicados na fermentação da vinhaça com foco na produção de hidrogênio.....	161
Tabela 18. Modelos matemáticos ajustados aos dados experimentais, condições operacionais ótimas e produção máxima de hidrogênio estimada.....	169

Tabela 19. Balanço de massa da fase solúvel e balanço de massa global calculados para a fase acidogênica.....	188
Tabela 20. Características do ajuste de pH e/ou alcalinização de vinhaças de cana-de-açúcar em sistemas anaeróbios.....	208
Tabela 21. Desempenho dos reatores metanogênicos em termos da estabilidade operacional, produção de biogás e metano, e remoção de matéria orgânica.....	214
Tabela 22. Eficiência de remoção global de DQO nos sistemas anaeróbios combinados....	220
Tabela 23. Comparativo entre reatores metanogênicos de alta taxa aplicados no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar.....	222
Tabela 24. Concentrações médias e máximas de ácidos orgânicos voláteis no efluente dos reatores metanogênicos.....	228
Tabela 25. Balanço de massa da fase solúvel e balanço de massa global calculados para o reator UASB.....	234
Tabela 26. Balanço de massa da fase solúvel e balanço de massa global calculados para o ASTBR.....	235
Tabela 27. Compilação dos resultados das análises moleculares para a fase metanogênica.....	238
Tabela 28. Parâmetros de entrada e resultados obtidos (produção de biogás) para os cenários energéticos a partir da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar.....	247
Tabela 29. Alternativas consideradas para a alcalinização da vinhaça na fase metanogênica na avaliação tecnológica.....	249
Tabela 30. Compilação dos resultados obtidos para geração de energia a partir da vinhaça de cana-de-açúcar simulando-se diferentes acionadores primários.....	252
Tabela 31. Obras de engenharia e equipamentos necessários para instalação da planta de biodigestão com separação de fases na biorrefinaria.....	266
Tabela 32. Obras de engenharia e equipamentos necessários para instalação da planta de biodigestão em fase única na biorrefinaria.....	268
Tabela 33. Indicadores econômicos e custos de produção obtidos a partir da análise econômica da biodigestão da vinhaça segundo diferentes cenários.....	271
Tabela 34. Custo anual dos alcalinizantes nos cenários energéticos avaliados.....	274
Tabela 35. Valores de referência (0%) usados na análise de sensibilidade.....	278

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 1G:** primeira geração (biorrefinarias e produtos relacionados)
- 2G:** segunda geração (biorrefinarias e produtos relacionados)
- ABE:** fermentação solventogênica (acetona-butanol-etanol)
- ACP:** análise de componentes principais
- ACV:** análise do ciclo de vida
- AFBR:** *anaerobic fluidized-bed reactor* (reator anaeróbio de leito fluidizado)
- AGUA-1, AGUA-2, AGUA-3:** correntes de água (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)
- AGV:** ácido graxo volátil
- AI:** alcalinidade intermediária
- ANEEL:** Agência Nacional de Energia Elétrica
- AP:** Alcalinidade Parcial
- APBR:** *anaerobic packed-bed reactor* (reator anaeróbio de leito empacotado)
- APHA:** *American Public Health Association* (Associação Americana de Saúde Pública)
- APR:** acionador primário
- AR, AR-1, AR-2:** correntes de ar (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)
- AR-BIOG1, AR-BIOG2:** correntes da mistura ar + biogás (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)
- ART:** açúcares redutores totais
- ASBR:** *anaerobic sequencing batch reactor* (reator anaeróbio em bateladas sequenciais)
- ASTBR:** *anaerobic structured-bed reactor* (reator anaeróbio de leito estruturado)
- ATR:** açúcar total recuperado
- AWWA:** *American Water Works Association* (Associação Americana de Serviços de Água)
- BC-01, BC-02, BC-03:** bombas centrífugas (plantas de biodigestão – Apêndices)
- BD-01, BD-02:** bombas dosadoras (plantas de biodigestão – Apêndices)
- BD-MIX-1, BD-MIX-2, BD-MIX-3, BD-MIX-4, BD-MIX-5:** blocos representando misturas de correntes materiais (fluxograma da biodigestão – BVC)
- BIOGAS, BIOGAS-1, BIOGAS-2:** correntes de biogás (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)
- Biogás-CH₄:** biogás rico em metano (fase metanogênica)
- Biogás-H₂:** biogás rico em hidrogênio (fase acidogênica)
- BIOG-CH₄-1, BIOG-CH₄-2:** correntes de biogás-CH₄ (fluxograma da biodigestão – BVC)
- BIOG-H₂-1, BIOG-H₂-2:** correntes de biogás-H₂ (fluxograma da biodigestão – BVC)

BioH₂: biohidrogênio

BMFS: balanço de massa da fase solúvel

BMG: balanço de massa global

BNDES: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social

BOMBA: bloco representando o bombeamento de água (fluxograma do ciclo combinado – BVC)

BPH: bactérias produtoras de hidrogênio

BPNS: bactérias púrpuras não sulfurosas

BRS: bactérias redutoras de sulfato

BVC: Biorrefinaria Virtual da Cana-de-Açúcar

BY: rendimento de biogás

CC: ciclo combinado

CEPCI: *Chemical Engineering Plant Cost Index* (Índice de Custo de Plantas de Engenharia Química)

CEPEA: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

CETESB: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CGEE: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos

CH: concentração de carboidratos totais

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

CNPEM: Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

CNTPs: condições normais de temperatura e pressão (0°C, 1 atm)

COMB: bloco representando a etapa de combustão (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

COMBUS: *design-spec* para determinação da pressão na saída do combustor (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

COMP, COMP-AR, COMP-BG: blocos representando a etapa de compressão (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

COMPR: *design-spec* para determinação da pressão na saída do compressor (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento

CONDENS: bloco representando a condensação do vapor (fluxograma do ciclo combinado – BVC)

COT: carbono orgânico total

COVa: carga orgânica volumétrica aplicada

COVe: carga orgânica volumétrica específica

CP: capacidade produtiva (usina)

CSLL: Contribuição Social sobre o Lucro Líquido

CSTR: *continuously stirred-tank reactor* (reator anaeróbio continuamente agitado)

CTBE: Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol

CTC: capacidade de troca catiônica

DBO: demanda bioquímica de oxigênio

DGGE: *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* (Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante)

DOE: *US Department of Energy* (Departamento de Energia dos Estados Unidos)

DPM: Departamento de Petrologia e Metalogenia (IGCE/Unesp)

DQO, DQOt: demanda química de oxigênio total

DQOs: demanda química de oxigênio solúvel

EE-BOMBA: corrente de energia elétrica consumida no bombeamento de água (fluxograma do ciclo combinado – BVC)

EE-COMP, ECOMP-BG, ECOMP-AR: correntes de energia elétrica consumida na compressão (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

EE-EXPAN, EE-TBV1: correntes de energia elétrica produzida na expansão (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

EE-MCI, EE-TBG, EE-TBV2: correntes de energia elétrica líquida gerada (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

EE-PROD, EE-PROD1: blocos para determinação da energia elétrica líquida gerada (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

EESC: Escola de Engenharia de São Carlos (USP)

EGSB: *expanded granular sludge-bed reactor* (reator de leito expandido granular)

EIA: *US Energy Information Administration* (Agência de Informação sobre Energia dos Estados Unidos)

ENA: *European Nucleotide Archive* (Arquivo Europeu de Nucleotídeos)

ENT-MCI: bloco representando a admissão de ar e biogás (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

EPA: *US Environmental Protection Agency* (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

EPE: Empresa de Pesquisa Energética

EtOH: etanol

EXAUST: bloco representando a exaustão de gases (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

EXPAN, TURBVAP: blocos representando a etapa de expansão (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

EXPANS: *design-spec* para determinação da pressão na saída da turbina de expansão (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FID: *flame ionization detector* (detector por ionização de chama)

FN: fermentação natural (inóculo)

GASES-1: corrente de gases da combustão (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

GASES-2, GASES-3, GASES-4: correntes de gases da exaustão (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

GEE: gás de efeito estufa

GNC: gás natural comprimido

GRA: gene de resistência a antibióticos

GV: geração de vinhaça

HAc: ácido acético

HBu: ácido butírico

HLa: ácido láctico

HMa: ácido málico

HPr: ácido propiônico

HRSG: *heat recovery steam generator* (gerador de vapor de recuperação de calor)

HSu: ácido succínico

HUASB: *hybrid upflow anaerobic sludge blanket reactor* (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo híbrido)

HY: rendimento de hidrogênio

ICV: inventário do ciclo de vida

IGCE: Instituto de Geociências e Ciências Exatas (Unesp)

IPCA: Índice Nacional de Preços ao Consumidor Amplo

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

IRPJ: Imposto de Renda sobre Pessoa Jurídica

ISO: *International Organization for Standardization* (Organização Internacional para Padronização)

LM-TT: lodo metanogênico submetido a tratamento térmico (inóculo)

LMT-TT: lodo metanogênico termofílico submetido a tratamento térmico (inóculo)

LPB: Laboratório de Processos Biológicos (EESC/USP)

MCI: motor de combustão interna

MME: Ministério de Minas e Energia

mTBG: microturbina a gás

MTC: milhões de toneladas de cana

MY: rendimento de metano

nd: dado/valor não disponível

ndf: dado/valor não definido

NGS: *Next-Generation Sequencing* (Sequenciamento de Nova Geração)

NREL: *National Renewable Energy Laboratory* (Laboratório Nacional de Energia Renovável)

NTK: nitrogênio total Kjeldahl

OD: oxigênio dissolvido

OTU: *operational taxonomic unit* (unidade taxonômica operacional)

PCI: poder calorífico inferior

PCR: *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)

PE: potencial energético

PEBD: polietileno de baixa densidade

PHA: polihidroxialcanoato

PHB: poli- β -hidroxibutirato

PHE: potência hidrelétrica

PHV: poli- β -hidroxivalerato

PPE: Plano Paulista de Energia

PPG-SHS: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento (EESC/USP)

PRO-ÁLCOOL: Programa Nacional do Alcool

PTM: potência termoelétrica

PU: poliuretano

PVH: produção volumétrica de hidrogênio

PVM: produção volumétrica de metano

Q-AR: *design-spec* para a vazão de entrada de ar (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

Q-BIOG-CH₄: *design-spec* para a vazão de biogás-CH₄ (fluxograma da biodigestão – BVC)

Q-BIOG-H₂: *design-spec* para a vazão de biogás-H₂ (fluxograma da biodigestão – BVC)

Q-DISS1, Q-DISS2: correntes de calor dissipado (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

Q-H₂O: *calculator* para a vazão de água (fluxograma da biodigestão – BVC)

Q-NaHCO₃: *calculator* para a vazão de bicarbonato de sódio (fluxograma da biodigestão – BVC)

Q-NaOH: *calculator* para a vazão de hidróxido de sódio (fluxograma da biodigestão – BVC)

Q-RECUP: corrente de calor recuperado (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

RCTM: reator contínuo de tubos múltiplos

RE-01, RE-02: reatores anaeróbios (plantas de biodigestão – Apêndices)

RNAr: RNA ribossômico

SH-01, SH-02: selos hídricos (plantas de biodigestão – Apêndices)

SPE: substâncias poliméricas extracelulares

SPLIT: bloco para separação das correntes de calor (fluxograma do motor de combustão interna – BVC)

SSV: sólidos suspensos voláteis

SV: sólidos voláteis

T-AGUA, TP-AGUA: *design-specs* para determinação da temperatura da água (fluxogramas dos acionadores primários – BVC)

TAV: taxa de aplicação de vinhaça

TBG: turbina a gás

TBV: turbina a vapor

TC: tonelada de cana limpa

TC-1, TC-2: trocadores de calor (fluxogramas do motor de combustão interna e da turbina a gás – BVC)

TCD: *thermal conductivity detector* (detector de condutividade térmica)

TDH: tempo de detenção hidráulica

TIR: taxa interna de retorno

TL: tela de aço inoxidável (planta de biodigestão)

TMA: taxa mínima de atratividade

TP-GAS: *design-spec* para determinação da temperatura dos gases (fluxogramas da turbina a gás e do ciclo combinado – BVC)

TRC: tempo de retenção celular

T-RFLP: *Terminal Fragment Length Polymorphism* (Polimorfismo do Tamanho e Composição de Bases de Fragmentos Terminais de Restrição)

UASB: *upflow anaerobic sludge blanket reactor* (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo)

Unesp: Universidade Estadual Paulista

USD: *US Dollar* (dólar norte americano – moeda)

USP: Universidade de São Paulo

VAP-1, VAP-2: correntes de vapor (fluxograma do ciclo combinado – BVC)

VBG: vazão de biogás

VIN-ACD1, VIN-ACD2: correntes de vinhaça acidificada (fluxograma da biodigestão – BVC)

VIN-BRUT: corrente de vinhaça bruta (fluxograma da biodigestão – BVC)

VIN-DEST: corrente de vinhaça proveniente da destilaria (fluxograma da biodigestão – BVC)

VIN-MET1, VIN-MET2: correntes de vinhaça biodigerida (fluxograma da biodigestão – BVC)

VMH: vazão molar de hidrogênio

VMM: vazão molar de metano

VPL: valor presente líquido

WEF: *Water Environment Federation* (Federação Ambiental de Águas)

LISTA DE SÍMBOLOS

%CH₄: fração de metano no biogás
%CO₂: fração de gás carbônico no biogás
%H₂: fração de hidrogênio no biogás
(Q_{ar})_{esteq}: vazão de ar estequiométrica
€: euro (moeda)
ΔG: variação da energia livre de Gibbs
1,4-DB-eq: equivalente de 1,4-diclorobenzeno
C/N: relação carbono/nitrogênio
C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7: coletas de vinhaça
C₁₂H₂₂O₁₁: sacarose
C₆H₁₂O₆: glicose
C₆H₆O: fenóis
CaCl₂: cloreto de cálcio
CaCO₃: carbonato de cálcio
CaO: óxido de cálcio
CB-O: cenário base
CE-1, CE-2, CE-3, CE-4, CE-5: cenários energéticos
CH₃(CH₂)₂COOH, C₄H₈O₂: ácido butírico
CH₃CH(OH)COOH: ácido láctico
CH₃CH₂COOH, C₃H₆O₂: ácido propiônico
CH₃CH₂OH, C₂H₅OH, C₂H₆O: etanol
CH₃COCOOH: ácido pirúvico, piruvato
CH₃COO⁻: íon acetato
CH₃COOH, C₂H₄O₂: ácido acético
CH₃COSCoA: acetilcoenzima A
CH₄: metano
CH_{af}: concentração de carboidratos totais no afluente
CH_{ef}: concentração de carboidratos totais no efluente
CH₀: concentração de carboidratos totais no tempo zero (0)
Cl⁻: íon cloreto
CO₂: dióxido de carbono, gás carbônico
CO₂-eq: equivalente de gás carbônico
CoASH: coenzima A

COV_a^{CH}: carga de carboidratos volumétrica aplicada

D: massa de sólidos (SSV) descartada no tempo “n”

DQO_{af}: concentração de matéria orgânica (DQO) no afluente

DQO_{CARBÓIDRATOS}: fração da DQO referente aos carboidratos totais

DQO_{ef}: concentração de matéria orgânica (DQO) no efluente

DQO_{FENÓIS}: fração da DQO referente aos fenóis

DQO_{GÁS}: fração da DQO referente à produção de biogás

DQO_{METABÓLITOS}: fração da DQO referente aos metabólitos

DQO_{sefluente}^{medida}: DQO solúvel efluente determinada analiticamente

DQO_s^{medida}: DQO solúvel determinada analiticamente

DQO_{SSV}: fração da DQO referente aos sólidos suspensos voláteis

DQO_t^{medida}_{afluente}: DQO total afluente determinada analiticamente

EC_{CH}: eficiência de conversão de carboidratos totais

ER_{DBO}: eficiência de remoção de DBO

ER_{DQO}: eficiência de remoção de DQO

ERG_{DQOs}: eficiência de remoção global de DQO solúvel

ERG_{DQOt}: eficiência de remoção global de DQO total

FC_t: fluxo de caixa no período “t”

Fd⁺: ferredoxina (forma reduzida)

Fd²⁺: ferredoxina (forma oxidada)

H⁺: próton

H₂: hidrogênio molecular

H₂CO₃: ácido carbônico

H₂O: água

H₂S: sulfeto de hidrogênio (forma não ionizada), gás sulfídrico

H₂SO₄: ácido sulfúrico

HCO₃⁻: íon bicarbonato

HS⁻, S²⁻: íon sulfeto (formas ionizadas)

i: taxa de desconto

I₀: investimento inicial do empreendimento

K, K⁺: potássio, íon potássio

K_{solo}: concentração de potássio no solo

K_{vinhaça}: concentração de potássio na vinhaça

m/v: percentual massa/volume

m²a: metro quadrado por ano

Mg²⁺: íon magnésio

M_{sacarose}: massa molar da sacarose

N: nitrogênio

N₂: nitrogênio molecular

N₂O: óxido nitroso

Na⁺: íon sódio

Na₂CO₃: carbonato de sódio

NaCl: cloreto de sódio

NAD⁺: nicotinamida adenina dinucleotídeo (forma oxidada)

NADH: nicotinamida adenina dinucleotídeo (forma reduzida)

NaHCO₃: bicarbonato de sódio

NaOH: hidróxido de sódio

nCH₄: número de mols de metano

nCO₂: número de mols de gás carbônico

nH₂: número de mols de hidrogênio

NH₃: amônia

NH₄Cl: cloreto de amônio

n_{total}: número de mols total

Ø: diâmetro

O₂: oxigênio molecular

P: fósforo

PE_{biog}^{2014/2015}: potência elétrica do biogás na safra 2014/2015

P-eq: equivalente de fósforo

petróleo-eq: equivalente de petróleo

PRE_{el}^{biog}: produtividade de energia elétrica pela vazão de biogás

PRE_{el}^{vin}: produtividade de energia elétrica pela vazão de vinhaça

PRE_{tm}^{biog}: produtividade de energia térmica pela vazão de biogás

PRE_{tm}^{vin}: produtividade de energia térmica pela vazão de vinhaça

PRE_{EtOH}: produtividade de etanol

PTE_{el}: produção total de energia elétrica

PTE_{tm}: produção total de energia térmica

P_{total}: fósforo total

P_X: produção de biomassa

Q_{af}, Q: vazão

Q_{ar}: vazão de ar

$Q_{\text{biogás}}$: vazão de biogás
 $Q_{\text{biogás-CH}_4}$: vazão de biogás-CH₄
 $Q_{\text{biogás-H}_2}$: vazão de biogás-H₂
 Q_{CH_4} : vazão de metano
 Q_{EtOH} : vazão de etanol
 Q_{H_2} : vazão de hidrogênio
 $Q_{\text{vinhaça}}$: vazão de vinhaça
 $R\$$: real (moeda)
 R : constante universal dos gases perfeitos
 R^2 : coeficiente de determinação
 S_{CH} : massa total de carboidratos consumida
 SO_2 : dióxido de enxofre
 $\text{SO}_2\text{-eq}$: equivalente de dióxido de enxofre
 SO_4^{2-} : íon sulfato
 SSV_e : concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente do reator
 T : temperatura
 t : tempo após a implantação do projeto
 $t_{\text{medição}}$: tempo de medição
 v/v : percentual volume/volume
 $V_{\text{gasômetro}}$: volume de gás medido no gasômetro
 V_i : volume de gás injetado no cromatógrafo
 V_r, V_u : volume útil do reator
 X_a : quantidade de biomassa aderida
 X_d : quantidade total de biomassa descartada (descartes de fundo)
 X_e : quantidade total de biomassa lavada (descartada naturalmente)
 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 total de biomassa produzida
 y_o, ω, A, x_c : coeficientes da equação da curva de Gauss
 $Y_{X/S}$: coeficiente de rendimento celular
 ϵ : razão de compressão (motor de combustão interna)
 η, η_{el} : eficiência de conversão elétrica
 η_{total} : eficiência de conversão total
 λ : razão de equivalência

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	41
1.1 Estrutura da Tese.....	43
2. HIPÓTESES DE TRABALHO E OBJETIVOS PROPOSTOS.....	45
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	47
3.1 Indústria Sucroalcooleira no Brasil: da Cana à Vinhaça.....	47
3.1.1 Vinhaça: Aspectos Qualitativos e Quantitativos.....	51
3.2 Digestão Anaeróbia: Fundamentos e Aplicação no Tratamento de Vinhaça.....	56
3.2.1 Biodigestão Anaeróbia da Vinhaça: Sistemas de Alta Taxa e Potencialidades da Separação de Fases.....	59
3.2.2 Produção Biológica de Hidrogênio via Processos Fermentativos.....	70
3.3 Biorrefinarias: Conceitos e Potencialidades da Biodigestão Anaeróbia.....	78
3.3.1 Biodigestão Anaeróbia como Etapa Central nas Biorrefinarias de Resíduos.....	81
3.3.1.1 Recuperação de Bioenergia a partir da Biodigestão da Vinhaça.....	90
3.4 Considerações Finais – Revisão de Literatura.....	98
4. MÉTODOS E ETAPAS DA PESQUISA.....	99
4.1 Coleta e Caracterização das Amostras de Vinhaça.....	100
4.2 Aplicação da Biodigestão Anaeróbia em Duas Fases no Tratamento de Vinhaça: Reatores, Monitoramento e Procedimentos Analíticos.....	102
4.2.1 Fase Acidogênica: Reator, Inóculo e Condições Operacionais.....	102
4.2.2 Fases Metanogênica: Reatores, Inóculo e Condições Operacionais.....	106
4.2.3 Avaliação do Desempenho dos Reatores: Métodos Analíticos e Cálculos.....	110
4.2.3.1 Cálculo da Carga Orgânica Volumétrica Específica (COVe) – Fase Acidogênica.....	117
4.2.4 Cálculo do Balanço de Massa para os Reatores.....	119
4.2.5 Caracterização da Biomassa – Análises Moleculares.....	121
4.2.5.1 Amostragem e Preparação das Amostras para Extração de DNA.....	121
4.2.5.2 Extração de DNA, Construção da Biblioteca e Sequenciamento.....	122
4.2.5.3 Análises de Bioinformática.....	123

4.3 Avaliação Tecnológica da Biodigestão: Rotas para o Aproveitamento do Biogás.....	124
4.3.1 Avaliação Tecnológica: Simulação da Biodigestão e Produção de Energia.....	127
4.3.1.1 <i>Simulação do Motor de Combustão Interna.....</i>	<i>131</i>
4.3.1.2 <i>Simulação da Turbina a Gás.....</i>	<i>134</i>
4.3.1.3 <i>Simulação do Ciclo Combinado.....</i>	<i>135</i>
4.3.1.4 <i>Avaliação da Produção de Energia a partir da Vinhaça.....</i>	<i>139</i>
4.3.2 Avaliação Tecnológica: Aspectos Econômicos.....	140
4.3.2.1 <i>Determinação do Valor Presente Líquido.....</i>	<i>143</i>
4.3.2.2 <i>Determinação da Taxa Interna de Retorno.....</i>	<i>144</i>
4.3.2.3 <i>Determinação do Período de Retorno (Payback) Descontado e dos Custos de Produção.....</i>	<i>144</i>
4.3.3 Avaliação Tecnológica: Aspectos Ambientais.....	145
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	149
5.1 Fase Acidogênica: Conversão de Matéria Orgânica e Produção de Hidrogênio.....	149
5.1.1 Influência de Diferentes Parâmetros sobre a Produção de Hidrogênio.....	167
5.1.2 Avaliação dos Produtos Intermediários da Fermentação.....	179
5.1.2.1 <i>Estimativa da Produção Teórica de Hidrogênio.....</i>	<i>185</i>
5.1.3 Balanço de Massa para a Fase Acidogênica.....	187
5.1.4 Estrutura e Dinâmica Microbiana na Fase Acidogênica.....	192
5.1.4.1 <i>Dinâmica e Correlação Metabólica das Populações Microbianas na Fase Acidogênica.....</i>	<i>197</i>
5.1.5 Considerações Finais – Fase Acidogênica.....	201
5.2 Fase Metanogênica: Estabilidade Operacional, Remoção de Matéria Orgânica e Produção de Metano.....	202
5.2.1 Desempenho Global dos Sistemas Combinados: Remoção de Matéria Orgânica e Produção de Metano.....	220
5.2.2 Distribuição de Metabólitos Solúveis na Fase Metanogênica.....	225
5.2.3 Balanço de Massa para a Fase Metanogênica.....	232
5.2.4 Estrutura e Dinâmica Microbiana nos Reatores Metanogênicos.....	237

5.2.4.1 Distribuição Taxonômica de Bactérias e Arqueias em Nível de Filo/Gênero....	240
5.2.5 Considerações Finais – Fase Metanogênica.....	245
5.3 Avaliação Tecnológica da Biodigestão da Vinhaça em Biorrefinarias de Açúcar e Etanol de Primeira Geração.....	246
5.3.1 Avaliação Tecnológica: Aspectos Energéticos da Biodigestão da Vinhaça.....	251
5.3.1.1 Recuperação de Energia a partir do Biogás Gerado nas Destilarias.....	259
5.3.2 Avaliação Tecnológica: Aspectos Econômicos.....	264
5.3.1.2 Análise de Sensibilidade: Impactos sobre o Desempenho Econômico da Biorrefinaria.....	276
5.3.3 Avaliação Tecnológica: Aspectos Ambientais.....	284
5.3.3.1 Vinhaça Biodigerida: Implicações da Alcalinização com Compostos de Sódio.....	292
5.3.4 Considerações Finais – Avaliação Tecnológica da Biodigestão.....	294
6. CONCLUSÕES.....	297
7. RECOMENDAÇÕES, SUGESTÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	301
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	305
APÊNDICE A: Caracterização inorgânica das amostras de vinhaça utilizadas na etapa experimental.....	331
APÊNDICE B: Planta de biodigestão anaeróbia com separação de fases para o tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar.....	335
APÊNDICE C: Planta de biodigestão anaeróbia em fase única para o tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar.....	341

1. INTRODUÇÃO

A presente pesquisa aborda aspectos do gerenciamento da vinhaça, principal água residuária gerada na cadeia produtiva do etanol, estudando-se uma alternativa para redução de sua carga poluente simultaneamente à recuperação de bioenergia. Embora a produção de etanol apresente importantes vantagens ambientais, inerentes à cadeia produtiva dos biocombustíveis, tais como o caráter renovável e o potencial para redução das emissões de gases de efeito estufa (GEEs), o correto gerenciamento da vinhaça caracteriza-se como etapa primordial para adequação ambiental desta indústria.

Baseando-se no contexto da indústria sucroalcooleira brasileira, a principal forma de reaproveitamento da vinhaça ocorre por meio da fertirrigação das lavouras de cana-de-açúcar, prática que tem por objetivo o reciclo de água e nutrientes ao campo. De fato, concentrações apreciáveis de cálcio, magnésio e, sobretudo potássio, são usualmente observadas na vinhaça, característica usada como justificativa para sua aplicação agrícola. Entretanto, concomitantemente ao potencial fertilizante, alguns aspectos tendem a conferir um expressivo caráter poluente a esta água residuária, tendo em vista elevados teores de matéria orgânica e de sólidos, características ácidas e corrosivas e, particularmente no caso da vinhaça de cana-de-açúcar, concentrações apreciáveis de sulfato.

Embora estudos associem resultados positivos à fertirrigação em curto prazo, a aplicação contínua da vinhaça na lavoura, muitas vezes associada à falta de critérios técnicos adequados, tende a comprometer a capacidade produtiva dos solos, a produtividade da lavoura e a qualidade dos corpos d'água do entorno, potencializando, inclusive, a liberação de GEEs a partir da degradação não controlada da vinhaça na lavoura, canais e tanques de estocagem. Nesse contexto, baseando-se na expressividade da produção brasileira de etanol em escala global, ocupando o Brasil atualmente o segundo lugar entre os maiores produtores (e o primeira ao se considerar o emprego da cana-de-açúcar como matéria-prima), é imprescindível a aplicação de tecnologias que possibilitem um adequado reuso da vinhaça, a qual deve ser considerada como um subproduto, e não apenas um resíduo do processo.

Os teores apreciáveis de matéria orgânica (biodegradável) presentes na vinhaça de cana-de-açúcar tendem a conferir-lhe grande potencial para aplicação em sistemas anaeróbios, dentre as diversas tecnologias de tratamento disponíveis, buscando-se a redução de sua carga poluidora a partir da recuperação de energia por meio do biogás. Tal alternativa ganha ainda mais importância ao se verificar a potencialização do aproveitamento da matéria-prima original, i.e., cana-de-açúcar, minimizando e, eventualmente eliminando, a subutilização energética da vinhaça por meio da fertirrigação. Desta forma, a introdução da digestão

anaeróbia na cadeia produtiva do etanol ratifica a importância desta no contexto das biorrefinarias, baseadas no emprego de diferentes processos (bio)tecnológicos para obtenção de uma gama de diferentes produtos de valor agregado, com ênfase nos biocombustíveis e na recuperação de bioenergia.

Apesar da potencialidade da aplicação dos processos anaeróbios como tecnologia central no gerenciamento/tratamento da vinhaça, é sensato considerar a literatura de referência como escassa em termos da definição de parâmetros que tornem atrativa a instalação de plantas de biodigestão nas usinas, utilizando-se o caso brasileiro como referência. Alguns poucos estudos desenvolvidos nas décadas de 1980 e 1990 abordaram aspectos relevantes ao tema, apresentando a operação de reatores pilotos com potencial para escalonamento. Entretanto, alguns fatores relevantes, em especial a carência de um conhecimento mais profundo sobre parâmetros do processo, a resistência do próprio setor sucroenergético e a falta de incentivo governamental, levaram ao desencorajamento de estudos sobre a aplicação da biodigestão no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar. Particularmente, a proibição da venda de eletricidade imposta às usinas até meados década de 1990 constituiu fator preponderante para desestimular a recuperação de energia por meio do biogás da vinhaça nas biorrefinarias, apesar da comprovada eficiência da biodigestão como processo para adequação ambiental de efluentes.

Desta forma, destaca-se a necessidade do estudo criterioso de aspectos que viabilizem o acoplamento da digestão anaeróbia na cadeia produtiva do etanol, tendo em vista a criteriosa definição de parâmetros de projeto, condições operacionais adequadas, configurações de reatores, opções para o reaproveitamento do biogás e sua viabilidade econômica, dentre outros fatores. Particularmente, no presente estudo é dada ênfase na avaliação da aplicação da biodigestão anaeróbia com separação de fases no tratamento da vinhaça, buscando-se aliar a obtenção de processos estáveis com uma eficiente recuperação de energia por meio das correntes de biogás ricas em hidrogênio e metano. A aplicação de uma nova configuração de reator de leito fixo também é considerada, tendo em vista a definição das melhores condições operacionais para potencialização da produção de metano. Diferentes cenários para produção de energia a partir do biogás também são estudados, porém, diferentemente de trabalhos correlatos, ferramentas de simulação são aplicadas para verificação do real potencial energético resultante da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar.

Em suma, nesta pesquisa procura-se apresentar uma visão holística da aplicação do processo anaeróbio como biotecnologia para maximizar a extração de energia a partir da vinhaça, com ênfase em aspectos operacionais que contemplem a definição de condições ótimas para o eventual escalonamento dos sistemas estudados. Em um sentido mais amplo, a

presente tese tem por objetivo servir como uma referência para tomadores de decisão do setor sucroalcooleiro, suprimindo uma lacuna de informações e, essencialmente, procurando destacar a viabilidade da implantação da biodigestão como tecnologia central para o processamento da vinhaça nas biorrefinarias de açúcar e etanol a partir de aspectos técnicos, econômicos e ambientais.

1.1 Estrutura da Tese

Os capítulos introdutórios da tese abordam aspectos relacionados à contextualização do tema da pesquisa, incluindo a presente introdução (capítulo 1), a definição das hipóteses de trabalho e os respectivos objetivos (capítulo 2) e a apresentação de informações visando ao embasamento teórico para o entendimento do tema (capítulo 3). São introduzidos conceitos referentes [i] à produção de etanol e geração de vinhaça, [ii] aos fundamentos e aplicação da biodigestão anaeróbia e [iii] à concepção de biorrefinarias na indústria de etanol, sempre se utilizando o potencial dos processos para recuperação de bioenergia como plano de fundo.

No capítulo 4, apresenta-se a metodologia empregada nas etapas desenvolvidas no trabalho, tendo em vista o cumprimento dos objetivos propostos, sendo os resultados obtidos posteriormente descritos a partir do capítulo 5, de modo a incluir, resumidamente: [i] aspectos da operação e monitoramento de reatores em escala de bancada aplicados no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar em sistemas combinados (fases acidogênica e metanogênica), discutindo-se as potencialidades do processo estudado; e, [ii] aspectos da geração de energia a partir do biogás, procurando-se identificar as melhores condições para a implantação do processo anaeróbio em plantas industriais em termos técnicos, econômicos e ambientais.

Nos capítulos finais são reportadas as principais conclusões observadas (capítulo 6) a partir dos resultados obtidos, bem como considerações para futuros estudos sobre o tema (capítulo 7). Também são apresentadas as referências bibliográficas consultadas e citadas no texto, bem como apêndices que complementam pontos específicos do texto principal.

2. HIPÓTESES DE TRABALHO E OBJETIVOS PROPOSTOS

A condução do presente trabalho esteve pautada em uma hipótese central, na qual se afirma que **“a biodigestão anaeróbia termofílica com separação de fases compreende a rota tecnológica mais adequada para o processamento da vinhaça de cana-de-açúcar, tendo em vista o aumento na eficiência de utilização da matéria-prima base nas biorrefinarias”**. Neste contexto, o objetivo geral definido buscou **“avaliar as potencialidades da aplicação da biodigestão anaeróbia com separação de fases, em condições termofílicas, como etapa central do gerenciamento da vinhaça nas biorrefinarias de cana-de-açúcar de primeira geração a partir de aspectos técnicos, econômicos e ambientais”**.

Baseando-se na sucinta contextualização apresentada no capítulo introdutório e, principalmente, no referencial teórico obtido por meio da pesquisa bibliográfica contemplada no próximo capítulo, foram elencadas três sub-hipóteses de trabalho, relacionando-se, a cada uma, um objetivo específico da pesquisa:

Sub-hipótese 1: O emprego de rotinas operacionais específicas na operação do reator anaeróbio acidogênico, principalmente com relação à adoção de procedimentos para o descarte do excesso de biomassa e controle do pH, permite a obtenção de produções contínuas de hidrogênio em longo prazo.

Objetivo: Analisar diferentes estratégias/rotinas operacionais, aplicadas especificamente no reator acidogênico, buscando-se a obtenção de produções contínuas de hidrogênio a partir da vinhaça de cana-de-açúcar.

Sub-hipótese 2: A aplicação do reator de leito fixo estruturado no tratamento da vinhaça na fase metanogênica tende a apresentar melhor desempenho em termos da estabilidade operacional, remoção de matéria orgânica e produção de metano, em comparação à utilização do reator de fluxo ascendente e manta de lodo, configuração convencionalmente aplicada em sistemas de alta taxa.

Objetivo: Avaliar o desempenho, em termos da estabilidade operacional, remoção de matéria orgânica e produção de metano, de reatores anaeróbios de leito fixo estruturado e de fluxo ascendente e manta de lodo, operados em condições metanogênicas, aplicados no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar.

Sub-hipótese 3: A recuperação e utilização do biogás rico em hidrogênio produzido na etapa acidogênica do processo de biodigestão com separação de fases potencializa a recuperação de energia e, conseqüentemente, o retorno financeiro a partir da vinhaça, independentemente da rota tecnológica empregada no seu uso.

Objetivo: Avaliar diferentes cenários para o aproveitamento das correntes de biogás provenientes da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar, tendo em vista o emprego de diferentes acionadores primários para geração de energia e o estudo de diferentes rotas para uso do biogás da fase acidogênica, rico em hidrogênio.

Dois objetivos específicos adicionais, embora não diretamente relacionados às sub-hipóteses, podem ser relacionados à operação dos reatores nas fases acidogênica e metanogênica, incluindo [i] a caracterização da estrutura e dinâmica dos micro-organismos envolvidos na produção de hidrogênio e metano e [ii] a definição de condições operacionais ótimas para os reatores estudados, buscando-se a maximização da recuperação de energia a partir da vinhaça.

3. REVISÃO DE LITERATURA

O presente capítulo apresenta informações consultadas na literatura de referência, baseando-se em temas pertinentes às hipóteses e objetivos propostos na execução deste trabalho. Os temas selecionados foram julgados relevantes para a contextualização da pesquisa, servindo de base para a comparação e discussão dos resultados e formulação das conclusões, incluindo:

- i. Aspectos gerais da produção de etanol e da geração de vinhaça, sobretudo no Brasil, destacando-se o potencial poluente e algumas alternativas tecnológicas para o gerenciamento/tratamento desta água residuária;
- ii. Fundamentos da digestão anaeróbia, destacando-se as potencialidades da aplicação da separação de fases em sistemas utilizados no tratamento de vinhaça, especialmente quanto à redução da carga poluente da água residuária e ao potencial de geração de energia a partir do biogás; e,
- iii. Concepção de biorrefinarias na indústria do etanol, tendo em vista a possibilidade do aproveitamento global de subprodutos e resíduos na geração de energia e outros produtos com valor agregado.

3.1 Indústria Sucroalcooleira no Brasil: da Cana à Vinhaça

A indústria do etanol no Brasil, alavancada a partir das crises relacionadas à produção de petróleo em países do Oriente Médio, consolidou-se rapidamente em meados da década de 1970, com a implantação do Programa Nacional do Alcool (PRO-ÁLCOOL) pelo governo federal (van Haandel, 2005; Rodrigues, 2011). O etanol ou álcool etílico pode ser considerado um dos principais biocombustíveis automotivos, concentrando importantes vantagens sobre outras fontes alternativas de energia, considerando sua consolidação tecnológica em escala global e a possibilidade de utilização de uma grande variedade de matérias-primas em sua produção. Baseando-se no caso brasileiro, a cana-de-açúcar compreende a principal matéria-prima empregada nas destilarias, embora empreendimentos localizados estudem o emprego de materiais alternativos, como o sorgo sacarino e o milho, tendo em vista tanto o complemento da produção regular quanto o suprimento do mercado no período de entressafra da cana-de-açúcar. Estudos recentes também têm considerado a utilização da cana energia no período de

entressafra, variedade que difere da cana convencional por apresentar maior teor de fibras¹ e menor teor de açúcares.

Na safra 2014/2015, período no qual foi realizada a etapa experimental do presente trabalho, a área total de cultivo de cana-de-açúcar no Brasil compreendeu pouco mais de 9 milhões de hectares, observando-se uma produção total de 634,8 milhões de toneladas para uma produtividade média de 70.495 kg ha⁻¹, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2015). Ainda segundo dados da CONAB, as produções totais de etanol e de açúcar atingiram, respectivamente, 28,66 bilhões de litros e 35,56 milhões de toneladas, utilizando-se, para tanto, respectivamente 56,9 e 43,1% do açúcar total recuperado (ATR) na safra. Em termos gerais, a produção e a produtividade de cana-de-açúcar nesta safra apresentaram ligeiro decréscimo (respectivamente 3,7 e 5,7%) em comparação à safra anterior (2013/2014), considerando efeitos adversos da restrição hídrica nos canaviais da região Centro-Sul, na qual se concentra a produção sucroalcooleira no Brasil². Entretanto, ainda sim foi observado um incremento (2,5%) na produção brasileira de etanol durante a safra 2014/2015 (CONAB, 2015), considerando um maior direcionamento do ATR para tal fim.

Em termos globais, o Brasil ocupa a segunda posição entre os maiores produtores de etanol, sendo superado apenas pela produção dos Estados Unidos (EUA), principalmente a partir do milho. Considerando dados da produção de 2015, até o mês de setembro, a produção de etanol norte-americana chegou a expressivos 10.992 milhões de galões³ (41,61 bilhões de litros) (EIA, 2015), aproximadamente 45% superior à brasileira. Utilizando-se dados de 2014, a produção total nos EUA atingiu 14.313 milhões de galões (54,18 bilhões de litros), ou seja, praticamente 90% superior à brasileira em 2015. Segundo dados do Departamento de Energia norte-americano, ainda utilizando-se dados de 2014, Brasil e EUA foram responsáveis por 83,1% da produção mundial de etanol (93 bilhões de litros), ficando o Brasil com 25,2% do total (DOE, 2016).

A produção de etanol, independentemente do tipo de matéria-prima utilizada, ocorre a partir de duas etapas principais: fermentação da fonte de açúcar e destilação da solução alcoólica produzida durante o processo fermentativo (Figura 1), ressaltando-se que o emprego de cada tipo de matéria-prima envolve alguma etapa específica de processamento. No caso de

¹O aumento no teor de fibras confere importantes vantagens à cana-de-açúcar em termos de resistência a condições menos favoráveis ao cultivo, tais como disponibilidade de água e nutrientes, condições climáticas, características do solo, dentre outros aspectos (Carvalho-Netto et al., 2014; Junqueira et al., 2016). Tais características favorecem o cultivo da cana energia no período de entressafra, no qual não se observam condições adequadas para o cultivo da cana convencional.

²Apenas o Estado de São Paulo concentra cerca de 52% da área total cultivada de cana no Brasil (4.685,7 milhões de hectares), sendo responsável por praticamente 50% da produção nacional de etanol (49,4%) (CONAB, 2015).

³Conversão: 1 galão = 3,785 litros.

materiais ricos em açúcares, tais como a cana-de-açúcar, a beterraba açucareira e o sorgo sacarino, o caldo extraído pode ser diretamente levado às dornas de fermentação (Figura 1), mediante algumas adequações prévias em termos do teor de açúcares, nutrientes, pH, dentre outros fatores. O emprego de materiais ricos em amido (p.ex. milho e mandioca) e lignocelulose (p.ex. bagaço e palha de cana-de-açúcar) na fermentação requer uma etapa de pré-tratamento, normalmente ácido ou enzimático (Figura 1), a partir do qual os açúcares redutores tornam-se disponíveis. Novamente considerando o caso brasileiro, as destilarias podem utilizar tanto o caldo de cana (usinas autônomas), extraído diretamente da cana-de-açúcar por meio de moendas, como uma mistura do caldo com o melaço (usinas anexas), solução residual da produção de açúcar, consequência da concentração e da precipitação dos açúcares presentes no caldo. O alto valor de mercado do açúcar exerce influência considerável na utilização do açúcar recuperado (ATR) a partir da cana, normalmente limitando o emprego direto do caldo na produção do etanol (Wilkie et al., 2000; BNDES e CGEE, 2008).

No âmbito das questões ambientais, alguns benefícios importantes devem ser destacados com relação à produção de etanol, enfatizando-se seu caráter renovável e seu potencial intrínseco para reduzir a emissão de GEEs, baseando-se tanto no sequestro de carbono na fase agrícola como na combustão mais limpa do biocombustível⁴. Esta característica se deve ao elevado teor de oxigênio na constituição do etanol (aproximadamente 35% em massa). O expressivo aproveitamento das matérias-primas nas destilarias, sobretudo no emprego da cana-de-açúcar, a partir da produção de etanol, açúcar, vapor e eletricidade, também compreende outro aspecto positivo da indústria sucroalcooleira, uma vez que as plantas industriais podem ser caracterizadas como biorrefinarias (Dias et al., 2013), conforme abordado ao longo do presente texto.

A caracterização da produção de etanol como “ambientalmente amigável” também depende, entretanto, do correto gerenciamento das águas residuárias e resíduos gerados no processo. Quanto aos resíduos sólidos, as atuais práticas utilizadas no manejo destes apresentam bons resultados. O bagaço e parte da palha resultantes do processamento da cana-de-açúcar são queimados em caldeiras para geração de vapor e eletricidade, suprimindo o consumo energético na planta industrial e produzindo excedentes de eletricidade passível de comercialização com as concessionárias de energia. Futuramente pretende-se aplicar tais resíduos lignocelulósicos na produção de etanol de segunda geração, buscando-se um aumento da produção sem aumento da área de cultivo de cana-de-açúcar (Dias et al., 2012, 2013; Moraes et al., 2015). A torta de filtro, resultante de etapas de tratamento do caldo,

⁴Comparativamente ao uso da gasolina como combustível, estima-se uma redução da ordem de 90% nas emissões de carbono a partir do etanol, assumindo-se desempenho idêntico dos motores (BNDES e CGEE, 2008).

apresenta concentrações apreciáveis de nutrientes (Nandy et al., 2002), sendo utilizada na adubação dos canaviais. Por outro lado, com relação às águas residuárias, especificamente a vinhaça, a atual prática de gerenciamento utilizada (fertirrigação), embora técnica- e economicamente viável, apresenta importantes limitações ambientais, considerando tanto o elevado caráter poluente desta água residuária quanto seu potencial para recuperação de energia a partir da aplicação de processos anaeróbios, conforme abordado nas próximas seções.

Figura 1. Rotas tecnológicas para produção de etanol considerando diferentes matérias-primas.

Fonte: Elaboração própria, com base em BNDES e CGEE (2008).

3.1.1 Vinhaça: Aspectos Qualitativos e Quantitativos

A vinhaça, também denominada de vinhoto e restilo, compreende a principal água residuária do processo produtivo do etanol, gerada especificamente na etapa de destilação a uma taxa média de 13 L por litro de etanol produzido (BNDES e CGEE, 2008). Em termos gerais, a vinhaça apresenta elevado conteúdo orgânico, bem como concentrações significativas de potássio e sulfato, características ácidas e corrosivas, as quais resultam de processos relacionados ao preparo da matéria-prima para a fermentação (p.ex. adição de ácido sulfúrico – H_2SO_4 – para controle do pH e prevenção da floculação de leveduras, elevada temperatura, dentre outros fatores).

A elevada concentração de matéria orgânica usualmente quantificada nas vinhaças resulta da presença de: [i] açúcares residuais não convertidos na etapa de fermentação, [ii] compostos orgânicos intermediários formados em rotas metabólicas paralelas na mesma etapa de fermentação, principalmente ácidos orgânicos e glicerol e [iii] frações residuais de etanol não recuperadas na etapa de destilação (Wilkie et al., 2000; España-Gamboa et al., 2011). Na Tabela 1 são apresentadas características composicionais básicas de vinhaças de cana-de-açúcar, tendo em vista o emprego de caldo e melaço. Destaca-se os expressivos valores da demanda química de oxigênio (DQO) nos trabalhos de Karhadkar et al. (1990), Driessen et al. (1994), Goyal et al. (1996), Banu et al. (2006), característica tipicamente verificada em vinhaças provenientes da indústria sucroalcooleira indiana. Diferentemente do processo produtivo brasileiro, na Índia a produção de etanol ocorre unicamente a partir do melaço residual da produção de açúcar (Nandy et al., 2002; Soam et al., 2015), a qual consome 100% do caldo de cana extraído. Consequentemente, observa-se uma maior concentração de matéria orgânica residual, bem como maiores concentrações de sulfato e outros sais como resultado direto do acúmulo destes durante o processo de fabricação do açúcar.

A literatura aponta várias alternativas para o gerenciamento da vinhaça, que englobam o despejo em corpos d'água (prática comum no início do PRO-ÁLCOOL e atualmente proibida no Brasil), a concentração para reduzir custos com transporte, a incineração para produção de cinzas potencialmente aplicáveis em campos agrícolas, dentre outros (Willington e Marten, 1982, Nandy et al., 2002; Cruz et al., 2013; Akram et al., 2015). Particularmente no setor sucroalcooleiro brasileiro, praticamente toda vinhaça gerada nas destilarias é direcionada à fertirrigação dos campos, buscando-se o reciclo de água e de nutrientes. Embora esta prática possibilite a obtenção de benefícios em curto prazo, a aplicação contínua de vinhaça na lavoura tem potencial para gerar inúmeros impactos adversos ao solo, recursos hídricos e produtividade da lavoura (Tabela 2).

Tabela 1. Características composicionais de vinhaças de cana-de-açúcar.

Referência	Matéria-prima	DBO (g L ⁻¹)	DQO (g L ⁻¹)	NTK (mg L ⁻¹)	P _{total} (mg L ⁻¹)	K (mg L ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	pH
Costa et al. (1986)	Caldo	16,5	33	700	91	1.742	760	3,7-4,6
Craveiro et al. (1986)		17,1	31,3	412	109	1.473	nd	3,9
Driessen et al. (1994)		15	22	400	58	nd	400	3,5
Prada et al. (1998)		6-16,5	15-33	150-700	10-120	1.200-2.100	600-700	3,7-4,6
Ferreira et al. (2011)		11,3	42	70	200	2.300	1.300	3,9
Costa et al. (1986)	Caldo+melaço	19,8	45	710	87	3.817	3.730	4,4-4,6
Souza et al. (1992)		nd	31,5	370	24	1.300	420	3,9
Prada et al. (1998)		19,8	45,8	480-710	9-200	3.340-4.600	3.700-3.730	4,4-4,6
Siqueira et al. (2013)		nd	36,0-49,0	570-1603	35-111	2.334-3.147	2.300-2.900	4,3-4,6
Ferraz Jr. et al. (2014b)		16,7	35,2	700	160	nd	1.400	4,6
Santos et al. (2014a)		nd	30,4-33,8	436-861	147-181	nd	1.400-2.600	4,6-5,1
Santos et al. (2014b)		nd	32,1-33,9	1.354-1.619	208-236	4.200-4.800	2.100-2.900	4,3
Sheehan e Greenfield (1980)	Melaço	35,7	77,7	1.780	168	8.904	4.360	4,2
Bories et al. (1988)		20,5	51,2	nd	nd	4.530	3.500	nd
Costa et al. (1986)		25	65	1.610	127	6.497	6.400	4,2-5,0
Karhadkar et al. (1990)		55-65	102-130	1.200-3.000	43-290	9.100-10.000	1.100-3.000	4,3-4,5
Driessen et al. (1994)		39	100	1.030	33	7.000	9.500	3,4-4,5

Tabela 1. Características composicionais de vinhaças de cana-de-açúcar (cont.).

Referência	Matéria-prima	DBO (g L ⁻¹)	DQO (g L ⁻¹)	NTK (mg L ⁻¹)	P _{total} (mg L ⁻¹)	K (mg L ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	pH
Goyal et al. (1996)	Melaço	60	98	1.200	1.500	1.200	5.000	3,8-4,4
Prada et al. (1998)		25	65	450-1.610	100-290	3.740-7.830	6.400	4,5
Banu et al. (2006)		nd	82-101,5	1.300-1.850	250-750	7.000-7.200	1.800-3.000	4-4,7
Searmsirimongkol et al. (2011)		40	150	nd	nd	8.800	7.000	4,4
España-Gamboa et al. (2012)		nd	121	1.341	141	7.262	5.336	4,0

Siglas: DBO = demanda bioquímica de oxigênio, DQO = demanda química de oxigênio, NTK = nitrogênio total Kjeldahl, P_{total} = fósforo total, K = potássio, SO₄²⁻ = sulfato, nd = dado não disponível.

Tabela 2. Potencias impactos adversos da fertirrigação com vinhaça. **Fonte:** Fuess e Garcia (2014b).

Efeito adverso	Implicações
Salinização do solo (risco elevado)	Redução do potencial osmótico do solo Toxicidade de íons específicos (SO_4^{2-} , Cl^- , Na^+ , K^+) Redução na absorção de água e nutrientes pelas plantas Destruição da estrutura do solo Lixiviação de sais para água subterrânea
Sodificação do solo (risco baixo)	Destruição da estrutura do solo Redução severa da taxa de infiltração de água Queimaduras e necrose do tecido foliar em plantas
Sobrecarga orgânica (risco elevado)	Depleção dos níveis de oxigênio dissolvido (OD) Geração de condições anaeróbias Redução da atividade microbiana Aumento da instabilidade estrutural do solo
Superfertilização do solo - excesso de N e P (risco elevado)	Aumento da suculência ^a nas plantas Depleção dos níveis de OD por bactérias nitrificantes Liberação de óxidos de nitrogênio (N_2O) Toxicidade por nitrogênio amoniacal (biota aquática) Lixiviação de nitratos ^b Eutrofização de corpos d'água (excesso de P)
Acidificação permanente - solo e água (risco elevado)	Alteração do poder tampão do solo Solubilização de metais tóxicos às plantas Redução na produtividade da lavoura Redução da atividade microbiana

Notas: ^aArmazenamento excessivo de água nos tecidos dos vegetais, podendo levar ao acamamento (perda da posição vertical das culturas); ^bA contaminação de mananciais usados para o abastecimento público pode estar relacionada a casos de meta-hemoglobinemia na população, doença a partir da qual a oxigenação dos tecidos fica comprometida (Batalha e Parlature, 1993).

A fertirrigação das lavouras com vinhaça objetiva, principalmente, o retorno de potássio ao solo, nutriente usualmente mais abundante em sua composição (Tabela 1). No Estado de São Paulo, principal produtor de etanol no Brasil e, por consequência, maior gerador de vinhaça, a definição da taxa de aplicação desta baseia-se unicamente na concentração de potássio em sua composição⁵ (CETESB, 2006) desprezando outros aspectos

⁵O cálculo da taxa de aplicação de vinhaça (TAV, $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) nas lavouras de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo baseia-se na seguinte equação, tendo em vista instrução normativa publicada pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). Na equação os termos CTC, K_{solo} e $K_{\text{vinhaça}}$ representam, respectivamente, a capacidade de troca catiônica do solo (cmolc dm^{-3}) e as concentrações de potássio no solo e na vinhaça (cmolc dm^{-3}).

$$\text{TAV} = \frac{(0,05 \cdot \text{CTC} - K_{\text{solo}}) \cdot 3744 + 185}{K_{\text{vinhaça}}}$$

importantes, principalmente as elevadas concentrações de matéria orgânica e sulfato e o elevado nível de acidez deste efluente (Tabela 1). Além disso, baseando-se no raio econômico para o transporte da vinhaça (cerca de 30 km a partir da destilaria), sua aplicação não ocorre em toda a área de cultivo de cana-de-açúcar (Silva, 2012; Poveda, 2014), fato que favorece a concentração dos compostos supracitados no solo, desencadeando impactos como a salinização do meio (Fuess e Garcia, 2014b) e a liberação de maus odores devido à decomposição da fração orgânica biodegradável presente na vinhaça (Moraes et al., 2015). Este cenário caracteriza a importância da instalação de plantas de tratamento de efluentes nas destilarias, buscando-se viabilizar ambientalmente a fertirrigação com vinhaça.

À parte da problemática ambiental, os elevados valores observados para a DQO da vinhaça (superiores a 30 g L^{-1} , valor representativo para o caso brasileiro, considerando o emprego de caldo e melaço, Tabela 1) indicam a presença de substrato com potencial para aplicação em processos (bio)tecnológicos complementares, visando à recuperação de energia e/ou obtenção de outros produtos de interesse. Utilizando-se como referência a composição da cana-de-açúcar em termos energéticos, 1 tonelada de cana limpa (TC) possui cerca de $1.718 \cdot 10^3 \text{ kcal}$ distribuídas entre açúcares (153 kg, $608 \cdot 10^3 \text{ kcal}$), bagaço – 50% de umidade (216 kg, $598 \cdot 10^3 \text{ kcal}$) e palha – 15% de umidade (165 kg, $512 \cdot 10^3 \text{ kcal}$) (Palacio et al., 2012). Baseando-se na produtividade de usinas autônomas – $82,9 \text{ L}_{\text{EtOH}} \text{ TC}^{-1}$ (Moraes et al., 2014), a energia recuperável a partir da produção de etanol corresponde a $420,5 \cdot 10^3 \text{ kcal}$, ou seja, cerca de 30% da energia contida nos açúcares ou 10% da energia total da cana são desperdiçados⁶. De maneira similar, para usinas anexas – $50,8 \text{ kg}_{\text{açúcar}} \text{ TC}^{-1}$ e $53,4 \text{ L}_{\text{EtOH}} \text{ TC}^{-1}$ (Moraes et al., 2014) – a quantidade de energia não aproveitada na produção de etanol corresponde a pouco mais de 30% da energia contida nos açúcares, descontando-se a fração utilizada na produção de açúcar. Portanto, a aplicação da vinhaça *in natura* nas lavouras caracteriza-se como uma subutilização de uma matéria-prima com potencial energético atrativo.

Considerando as opções tecnológicas aplicáveis ao tratamento da vinhaça, estudos indicam uma ampla gama de alternativas, incluindo processos físico-químicos convencionais – p.ex. coagulação-floculação (Zayas et al., 2007; Rodrigues et al., 2014); processos biológicos – p.ex. digestão anaeróbia (Costa et al., 1986; Craveiro et al., 1986; Souza et al., 1992; Döll e Foresti, 2010; Ferraz Jr. et al., 2016), digestão aeróbia (de Bazúa et al., 1991; Ferreira et al., 2011) e fitorremediação (Olguín et al., 2008; Sohsalam e Sirianuntapiboon, 2008); e, até mesmo processos oxidativos avançados – p.ex. ozonização e eletrocoagulação

⁶Essa estimativa não leva em consideração a quantidade de energia direcionada para o crescimento celular na etapa de fermentação, por isso, os valores apresentados podem ser considerados ligeiramente superestimados.

(Sangave et al., 2007; Asaithambi et al., 2012). A seleção da tecnologia mais adequada depende de um balanço global, levando-se em consideração aspectos técnicos, energéticos, econômicos e ambientais, os quais variam de acordo com as características de cada planta produtiva de etanol. Entretanto, em uma análise preliminar, destaca-se que a digestão anaeróbia concentra importantes vantagens em relação às demais opções, considerando a possibilidade do acoplamento entre a redução da carga poluidora da vinhaça e a recuperação de energia a partir do biogás, aumentando a eficiência das plantas produtoras de açúcar e etanol, enquanto biorrefinarias, com relação ao aproveitamento da matéria-prima base, i.e., a cana-de-açúcar. Nas próximas seções são apresentadas características básicas de fundamentos e aplicações do processo anaeróbio, bem como de sua importância no contexto das biorrefinarias.

3.2 Digestão Anaeróbia: Fundamentos e Aplicação no Tratamento de Vinhaça

A (bio)digestão anaeróbia compreende um processo biológico natural que ocorre na ausência de oxigênio livre, no qual a matéria orgânica é convertida em uma mistura gasosa a partir da atividade sintrófica de diversas populações de micro-organismos. Esta mistura gasosa, conhecida como biogás, é formada principalmente por metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), além de menores frações de hidrogênio (H_2), nitrogênio (N_2) e sulfeto de hidrogênio (H_2S), apresentando grande potencial energético devido à presença do CH_4 .

O emprego do processo anaeróbio no tratamento de águas residuárias e resíduos é reportado há várias décadas, contudo, somente a partir da crise energética ocorrida na década de 1970 e do consequente avanço tecnológico observado no setor passou-se a verificar a implantação de inúmeras plantas de tratamento em escala global, visando à adequação dos mais variados tipos de resíduos. O interesse pelo processo de tratamento anaeróbio se deve, basicamente, ao potencial de aplicação do CH_4 gerado no processo associado à adequação ambiental dos efluentes tratados (Kennedy e Droste, 1986; Borzacconi et al., 1995; Rajeshwari et al., 2000; Khanal, 2008; van Lier et al., 2015).

Resumidamente, a conversão anaeróbia da matéria orgânica pode ser dividida em quatro etapas principais, de acordo com as transformações bioquímicas às quais os compostos orgânicos são submetidos: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, de modo que pelo menos cinco grupos de micro-organismos participam do processo (Figura 2). Nas etapas de hidrólise e acidogênese, bactérias hidrolíticas e fermentativas convertem compostos de cadeia longa (polímeros, tais como carboidratos, lipídeos e proteínas) em compostos de cadeia curta facilmente absorvidos através da parede celular, produzindo ácidos graxos voláteis

(AGVs), álcoois, CO_2 e H_2 . Na etapa seguinte (acetogênese), bactérias acetogênicas transformam ácidos orgânicos e álcoois em ácido acético, H_2 e CO_2 . Tais compostos correspondem aos substratos utilizados pelas arqueias metanogênicas na produção de metano (metanogênese). As arqueias metanogênicas hidrogenotróficas convertem H_2 e CO_2 em CH_4 , enquanto as metanogênicas acetoclásticas utilizam o acetato. Convencionalmente, a maior parte da produção de CH_4 (cerca de 70% do conteúdo de CH_4 presente no biogás) provém das reações de transformação realizadas pelas arqueias metanogênicas acetoclásticas.

Figura 2. Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na bioconversão anaeróbica da matéria orgânica. **Fonte:** Elaboração própria, com base em McCarty e Smith (1986).

É importante ressaltar que a reação de conversão de acetato em H_2 e CO_2 não é termodinamicamente favorável em equilíbrio, uma vez que seu ΔG° apresenta valor positivo ($+104 \text{ kJ mol}^{-1}$, Thauer et al., 1977; Amend e Shock, 2001). Desta forma, a presença das arqueias metanogênicas hidrogênótóricas é fundamental para ocorrência das reações, uma vez que estes micro-organismos mantêm a pressão parcial de hidrogênio em níveis

extremamente baixos, o que favorece o deslocamento do sentido da reação para a produção de H_2 e CO_2 . Esta relação sintrófica particular descrita entre organismos oxidadores de acetato e consumidores de H_2 também se aplica a outras reações do processo anaeróbio que envolvem organismos produtores e consumidores de H_2 .

A mediação das etapas de hidrólise, acidogênese e acetogênese engloba tanto bactérias anaeróbias obrigatórias (ou estritas) quanto facultativas, ou seja, cujo metabolismo funciona na ausência de oxigênio (O_2), mas caso este gás esteja presente, não há inibição (Annachhatre, 1996; Rosa, 2009). Micro-organismos não metanogênicos isolados em reatores anaeróbios englobam *Clostridium spp.*, *Peptococcus anaerobus*, *Bifidobacterium spp.*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Desulphovibrio spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli*, dentre outros (Tchobanoglous et al., 2003; Chernicharo, 2007). Quanto às arqueias metanogênicas, são micro-organismos estritamente anaeróbios, isto é, a presença de O_2 inibe seu crescimento. Segundo Tchobanoglous et al. (2003), muitos dos micro-organismos metanogênicos identificados em reatores anaeróbios assimilam-se àqueles encontrados no estômago de ruminantes e em sedimentos depositados em corpos d'água. Os principais grupos de arqueias metanogênicas incluem *Methanobacterium*, *Methanobacillus*, *Methanococcus*, *Methanospirillum*, *Methanosaeta*, *Methanothrix* e *Methanosarcina*, sendo os três últimos formados por micro-organismos acetoclásticos (Tchobanoglous et al., 2003; Chernicharo, 2007).

Por fim, é pertinente fazer uma ressalva com relação à interferência do sulfato na biodigestão da vinhaça. A aplicação da biodigestão no tratamento de águas residuárias ricas em sulfato estimula o processo de sulfetogênese, no qual o sulfato é reduzido principalmente a sulfeto por um grupo específico de micro-organismos, as bactérias redutoras de sulfato (BRS) (Lens et al., 1998; Vilela et al., 2014; Godoi et al., 2015). As BRS constituem um grupo microbiano extremamente versátil, podendo competir com as arqueias metanogênicas por substratos comuns, tais como o acetato e o H_2 (Chen et al., 2008; Vilela et al., 2014), fato que limita a extração de energia a partir do CH_4 . A toxicidade do H_2S também pode comprometer a atividade metanogênica em sistemas anaeróbios, seja pela permeação da forma não ionizada (H_2S) nas células, desnaturando proteínas específicas, ou pela precipitação de metais essenciais pelas formas ionizadas (HS^- e S^{2-}) (Vela et al., 2002; Chen et al., 2008; Camiloti et al., 2014). Por outro lado, sob condições de escassez de sulfato, populações de BRS já estabelecidas nos digestores podem atuar como bactérias acetogênicas (Damianovic e Foresti, 2009; van Lier et al., 2008; Vilela et al., 2014), oxidando parcialmente ácidos orgânicos a acetato e consequentemente favorecendo a atividade das arqueias metanogênicas em uma associação sintrófica (Vela et al., 2002). De qualquer forma, a literatura de referência ainda é

escassa com relação à influência do sulfato na digestão anaeróbia da vinhaça, sendo necessários estudos, tanto fundamentais quanto aplicados, para entender tal processo com maior riqueza de detalhes. Adianta-se que no presente trabalho não se avaliou a interferência do sulfato no processo anaeróbio, fazendo-se, entretanto, algumas ressalvas ao longo do texto.

3.2.1 Biodigestão Anaeróbia da Vinhaça: Sistemas de Alta Taxa e Potencialidades da Separação de Fases

A aplicação da digestão anaeróbia no tratamento de vinhaça, assim como de outras águas residuárias com alta carga orgânica, está intimamente relacionada ao aperfeiçoamento deste processo nas últimas décadas, considerando o desenvolvimento de tecnologias que permitiram o aumento do tempo de retenção de sólidos (biomassa) nos reatores (Bories et al., 1988; Khanal, 2008; van Lier et al., 2015). Considerando que as populações microbianas atuantes no processo anaeróbio apresentam diferentes taxas de crescimento, em especial ao se considerar as fases acidogênica e metanogênica, o aumento da idade da biomassa nos reatores confere uma maior estabilidade ao processo, levando a melhoras na eficiência de tratamento, associadas a uma maior atividade metanogênica.

O desenvolvimento dos processos de alta taxa, especialmente a partir da década de 1970 (van Lier et al., 2015), permitiu desvincular o tempo de detenção hidráulica (TDH) do tempo de retenção celular (TRC) nos reatores, por meio de mecanismos de imobilização da biomassa, tais como (Rajeshwari et al., 2000; Khanal, 2008; van Lier et al., 2015):

- i. Formação de grânulos altamente sedimentáveis (auto-imobilização), combinada com estruturas que possibilitem a separação do biogás e a sedimentação do lodo granular;
- ii. Adesão de micro-organismos a materiais suporte de alta densidade, os quais sofrem fluidização a partir da aplicação de velocidades ascensionais adequadas; e,
- iii. Retenção de agregados de lodo e formação de biofilme em meio suporte fixado ao corpo do reator.

Os principais reatores de alta taxa usualmente aplicados no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar (Tabela 3) incluem o reator de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB, do inglês *upflow anaerobic sludge blanket reactor*) e reatores de leito fixo, particularmente o de leito fixo empacotado (APBR, do inglês *anaerobic packed-bed reactor*). Alguns trabalhos também consideram o uso de reatores de leito fluidizado (AFBR, do inglês *anaerobic fluidized-bed reactor*), porém em menor proporção (Tabela 3).

Tabela 3. Reatores anaeróbios de alta taxa convencionalmente aplicados no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar e beterraba.

Referência	Características da vinhaça	Sistema de tratamento		Desempenho do sistema
		Reator	Condições operacionais	
Russo et al. (1985)	Caldo (cana-de-açúcar) DQO = 21,5 g L ⁻¹	APBR (21 L)	T = 35°C COVa = 1,2-3,4 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 15-6 d	ER _{DQO} = 89-93% MY = 0,33-0,52 m ³ kg ⁻¹ DQO
Sánchez Riera et al. (1985)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 42,4-53,6 g L ⁻¹	UASB (120 L)	T = 40°C COVa = 11,2-23,3 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 4-2 d	ER _{DQO} = 68,6-72,2% MY = 0,19-0,24 m ³ kg ⁻¹ DQO
Costa et al. (1986)	Caldo (cana-de-açúcar) DQO = 33 g L ⁻¹ DBO = 16,5 g L ⁻¹	UASB (11 m ³)	T = nd COVa = 18,3 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 20 h	ER _{DQO} = 76% MY = 0,28 m ³ kg ⁻¹ DQO
Craveiro et al. (1986)	Caldo (cana-de-açúcar) DQO = 31,3 g L ⁻¹ DBO = 17,1 g L ⁻¹	UASB (11 m ³)	T = 28-33°C COVa = 6,4 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 4,9 d	ER _{DQO} = 88,5% ER _{DBO} = 94,6% MY = 0,22 m ³ kgDQO ⁻¹
Athanasopoulos (1987)	Melaço (beterraba) ^a DQO = 65-80 g L ⁻¹ DBO = 25-35 g L ⁻¹	APBR (5 m ³)	T = 37°C COVa = 8 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 9,1 d	ER _{DQO} = 70% MY = nd
Bories et al. (1988)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 47,4-53,4 g L ⁻¹ DBO = 21,3 g L ⁻¹	APBR (10 m ³)	T = 37°C COVa = 9,2-20,4 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 3,3-2,5 d	ER _{DQO} = 65,1-73,8% ER _{DBO} = 84,8-97,1% MY = 0,21-0,29 m ³ kg ⁻¹ DQO
Shrihari e Tare (1989)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 50 g L ⁻¹	APBR (nd)	T = 35°C COVa = 25 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 10 d	ER _{DQO} = 78,1% MY = 0,17 m ³ kg ⁻¹ DQO
Rintala (1991)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 0,4-2,6 g L ⁻¹	UASB (5,8 L)	T = 38-40°C COVa = 5-20 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 3,8 d	ER _{DQO} = 65% MY = nd

Tabela 3. Reatores anaeróbios de alta taxa convencionalmente aplicados no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar e beterraba (cont.).

Referência	Características da vinhaça	Sistema de tratamento		Desempenho do sistema
		Reator	Condições operacionais	
Rintala (1991)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 0,2-3,8 g L ⁻¹	UASB (5,8 L)	T = 55°C COVa = 2-20 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 3,8 d	ER _{DQO} = 20% MY = nd
Souza et al. (1992)	Caldo + melaço (cana-de-açúcar) DQO = 31,5 g L ⁻¹	UASB (75 m ³)	T = 55-57°C COVa = 26,5 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 2 d	ER _{DQO} = 71,7% MY = 0,22 m ³ kg ⁻¹ DQO
Vlissidis e Zouboulis (1993)	Melaço (beterraba) ^a DQO = 43,2 g L ⁻¹ DBO = 35 g L ⁻¹	UASB (2.000 m ³)	T = 50-55°C COVa = 6,57 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 10,5 d	ER _{DQO} = 86% ER _{DBO} = 88% MY = 0,34 m ³ kg ⁻¹ DQO
Driessen et al. (1994)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 100 g L ⁻¹ DBO = 39 g L ⁻¹	UASB (42,5 L)	T = nd COVa = 10 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 10 d	ER _{DQO} = 67% ER _{DBO} = 87% MY = nd
Shivayogimath e Ramanujan (1999)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 80-125 g L ⁻¹ DBO = 35-45 g L ⁻¹	HUASB (5 L)	T = 30°C COVa = 36 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 6 h	ER _{DQO} = 80% MY = 0,4 m ³ kg ⁻¹ DQO
Kumar et al. (2007)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 36-44 g L ⁻¹	HUASB (15 L)	T = nd COVa = 4,53-11,13 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 8,5-4 d	ER _{DQO} = 62-80% MY = 0,34 m ³ kg ⁻¹ DQO
Fernández et al. (2008)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 63 g L ⁻¹	AFBR (1,65 L)	T = 30°C COVa = 3-20 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 11 h	ER _{DQO} = 60-80% MY = 0,29 m ³ kg ⁻¹ DQO
España-Gamboa et al. (2012)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 121 g L ⁻¹	UASB (3 L)	T = 30°C COVa = 7,27-22,16 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 15-6 d	ER _{DQO} ^b = 69% MY ^b = 0,26 m ³ kg ⁻¹ DQO

Tabela 3. Reatores anaeróbios de alta taxa convencionalmente aplicados no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar e beterraba (cont.).

Referência	Características da vinhaça	Sistema de tratamento		Desempenho do sistema
		Reator	Condições operacionais	
Siqueira et al. (2013)	Caldo + melaço (cana-de-açúcar) DQO = 36-49 g L ⁻¹	AFBR (4,2 L)	T = 30°C COVa = 3,33-26,19 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 24 h	ER _{DQO} = 51-70% MY = 0,29 m ³ kg ⁻¹ DQO
Ferraz Jr. et al. (2016)	Caldo + melaço (cana-de-açúcar) DQO = 35,2 g L ⁻¹	UASB (10 L)	T = 55°C COVa = 15-25 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 2,3-1,4 d	ER _{DQO} = 50,2-60,7% MY = 0,18-0,23 m ³ kg ⁻¹ DQO

Notas: ^aVinhaças de melaço de cana-de-açúcar e beterraba apresentam composição semelhante, por isso foram considerados os dois tipos de matéria-prima para fins de comparação;

^bValores obtidos para a COVa de 17,05 kgDQO m⁻³ d⁻¹, caracterizada como ótima no experimento; nd = dado não disponível.

Siglas: Reator: AFBR = reator anaeróbio de leito fluidizado (*anaerobic fluidized-bed reactor*), APBR = reator de leito fixo empacotado (*anaerobic packed-bed reactor*), HUASB = reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo híbrido (manta de lodo + filtro) (*hybrid upflow anaerobic sludge blanket reactor*), UASB = reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*upflow anaerobic sludge blanket reactor*); Condições operacionais: T = temperatura, COVa = carga orgânica volumétrica aplicada, TDH = tempo de detenção hidráulica; Desempenho do sistema: ER_{DQO(DBO)} = eficiência de remoção de DQO (DBO), MY = rendimento de metano.

Na operação dos reatores UASB, o fluxo de água residuária segue por uma trajetória ascendente, atravessando inicialmente uma camada⁷ de lodo no fundo do reator – formada pelo acúmulo de sólidos suspensos e pela biomassa. Nesta camada ocorrem todos os processos biológicos, resultando na produção do biogás e no crescimento dos micro-organismos. O biogás gerado e a fração líquida seguem em trajetória ascendente até atingir o separador trifásico, ocorrendo a deposição dos sólidos carregados na porção externa e a coleta do biogás na parte interna do separador. Reatores UASB em escala plena permitem a aplicação de cargas orgânicas volumétricas na faixa de 4-15 kgDQO m⁻³ d⁻¹ (Moletta, 2005; van Lier et al., 2015). O impulso na aplicação da biodigestão no tratamento de efluentes de alta carga esteve diretamente vinculado ao desenvolvimento do reator UASB, considerando vantagens como sua simplicidade construtiva e operacional e reduzida perda de biocatalisadores (biomassa), mesmo com a ausência de meio suporte para forçar a retenção destes (Jhung e Choi, 1995; Seghezzo et al., 1998; Rajeshwari et al., 2000).

Dentre as desvantagens do reator UASB, a mais evidente está associada a fatores que interfiram no processo de granulação da biomassa, característica indispensável para sucesso no tratamento dos efluentes em reatores de manta de lodo. Elevadas concentrações de sólidos suspensos e/ou elevada salinidade nas águas residuárias compreendem fatores que prejudicam severamente este processo (Wiegant et al., 1985; Jhung e Choi, 1995; Syutsubo et al., 1998; van Lier et al., 2015), limitando a aplicação de elevadas cargas orgânicas nos sistemas de tratamento, uma vez que a lavagem da biomassa não granulada (suspensa) é favorecida. A aplicação de águas residuárias com concentrações muito elevadas de matéria orgânica (DQO de algumas dezenas de gramas por litro) também pode dificultar o processo de granulação, uma vez que a aplicação de elevados TDHs reduz a pressão hidráulica seletiva no interior do reator, não havendo o estímulo necessário para granulação do lodo (van Lier et al., 2015). Particularmente no caso da vinhaça, as três características composicionais supracitadas são observadas, fato que pode inviabilizar a operação de reatores UASB com o desempenho desejado, i.e., aplicação de elevadas cargas orgânicas em TDHs relativamente baixos, o que idealmente permitiria a operação de sistemas compactos.

Com relação aos reatores de leito fixo, os sistemas possuem um material de empacotamento ou meio suporte estacionário que permite a imobilização da biomassa a partir da adesão dos micro-organismos e da retenção de lodo nos interstícios. Tradicionalmente, o meio suporte é acomodado aleatoriamente nos filtros, fato que dá origem ao termo “leito

⁷A concentração de sólidos no perfil do reator UASB permite distinguir duas zonas, sendo a primeira localizada próxima ao fundo do tanque e formada por grânulos de elevada capacidade de sedimentação (leito de lodo), e a segunda localizada próxima ao topo do reator, sendo formada por um lodo mais disperso e leve (manta de lodo) (Chernicharo, 2007).

empacotado”. Os materiais mais comuns utilizados como meio suporte compreendem partículas de carvão ativado e de rochas, espuma de poliuretano, anéis plásticos e de cerâmica (Rajeshwari et al., 2000), sendo que propriedades como a carga de superfície, rugosidade, área superficial e molhabilidade governam a adesão dos micro-organismos. O funcionamento dos filtros anaeróbios é extremamente simples, englobando a entrada da água residuária na parte superior ou inferior do tanque (respectivamente, fluxo descendente e fluxo ascendente), a passagem do efluente pelo meio suporte, no qual ocorrerão as reações de degradação e produção do biogás, e a posterior recuperação deste na parte superior do reator. Nos reatores de fluxo ascendente o efluente é recolhido na parte superior do tanque, enquanto nos de fluxo descendente o descarte ocorre na parte inferior. Em geral, o escoamento em reatores de leito fixo e fluxo ascendente apresenta maior uniformidade.

Além do simples *design* construtivo, os reatores de leito fixo permitem uma rápida partida operacional, tendo em vista a não necessidade de granulação da biomassa, bem como a rápida recuperação da atividade metanogênica após períodos sem alimentação do sistema (Rajeshwari et al., 2000; Chan et al., 2009; van Lier et al., 2015). O mecanismo mais simples de retenção de biomassa, em comparação à granulação, garante a permanência de elevada densidade celular nos reatores de leito fixo, permitindo a aplicação de cargas orgânicas da ordem de $20 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ em sistemas em escala plena (Moletta, 2005). Contudo, a principal limitação deste tipo de tecnologia de tratamento inclui a suscetibilidade do leito ao entupimento em operações em longo prazo devido ao espessamento do biofilme e ao acúmulo de sólidos suspensos, levando à formação de caminhos preferenciais e zonas mortas e ao aumento da pressão no reator (Rajeshwari et al., 2000; van Lier et al., 2015). Novamente baseando-se nas características composicionais da vinhaça, as elevadas concentrações de sólidos suspensos tendem a restringir a aplicação de reatores de leito fixo (empacotado) em plantas industriais. Limitações na transferência de massa e a menor porosidade, resultante do preenchimento do reator com meio suporte, também constituem desvantagens do APBR.

Na Tabela 3 são compilados dados de desempenho de reatores de alta taxa usualmente utilizados na biodigestão de vinhaça de cana-de-açúcar, destacando-se novamente o predomínio de reatores do tipo UASB e APBR. Embora valores de eficiência de remoção de DQO superiores a 70% para a aplicação de cargas superiores a $20\text{-}25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ sejam reportados, as restrições à aplicação de vinhaça nestes sistemas podem acarretar sérios problemas operacionais em plantas em escala plena. Além disso, na grande maioria dos casos reportados o TDH empregado nos reatores é da ordem de dias, fato que tende a inviabilizar o escalonamento dos sistemas, dependendo da vazão de vinhaça gerada na destilaria. Neste ponto são discutidos gargalos com relação à aplicação da biodigestão no tratamento da

vinhaça de cana-de-açúcar, levando-se em consideração dois aspectos: [i] a configuração de reator e [ii] as condições de operação mais adequadas para obtenção de sistemas compactos e eficientes, tanto em termos da remoção de matéria orgânica quanto da recuperação de bioenergia por meio do biogás.

Baseando-se na configuração de reator, alternativas tecnológicas poderiam incluir o uso de reatores de leito de lodo de segunda geração, tais como o reator de leito expandido granular (EGSB, do inglês *expanded granular sludge-bed reactor*) e reatores UASB híbridos, que combinam o crescimento celular auto-imobilizado (granular) com o aderido (Shivayogimath e Ramanujan, 1999; Kumar et al., 2007; van Lier et al., 2015). Contudo, assim como no reator UASB convencional, a obtenção de desempenhos satisfatórios em tais sistemas depende de uma eficiente granulação da biomassa, de modo que falhas neste processo potencializam a lavagem da biomassa em reatores como o EGSB, caracterizado por velocidades ascensionais consideravelmente maiores às aplicadas nos reatores UASB. Desta forma, destaca-se o reator anaeróbio de leito fixo estruturado (ASTBR, do inglês *anaerobic structured-bed reactor*), desenvolvido e recentemente aplicado em trabalhos no âmbito do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

Diferentemente do APBR, no ASTBR verifica-se o ordenamento do meio suporte, utilizando-se hastes para fixar elementos de espuma ou outros materiais (Figura 3). Tal arranjo combina as vantagens do crescimento celular aderido, incluindo a menor sensibilidade a variações ambientais (p.ex. pH, temperatura e carga orgânica) e maiores velocidades de conversão de substrato (Chan et al., 2009), com uma maior porosidade do leito, prevenindo o acúmulo de polímeros extracelulares e sólidos suspensos (Camiloti et al., 2014; Mockaitis et al., 2014). Em Camiloti et al. (2014) e Mockaitis et al. (2014) os autores reportaram porosidades de 98% em reatores de leito estruturado utilizando espuma de poliuretano como material suporte. Neste contexto, o emprego do ASTBR no tratamento da vinhaça apresenta grande potencial, de modo a se evitar problemas operacionais como o entupimento do leito e a lavagem da biomassa durante a aplicação de elevadas cargas hidráulicas e orgânicas.

Trabalhos recentes avaliaram o desempenho do ASTBR aplicado no tratamento de águas residuárias de baixa carga orgânica e baixo teor de sólidos em sistemas metanogênicos, considerando diferentes abordagens. Mockaitis et al. (2012) avaliaram efeitos da toxicidade do cádmio sobre a remoção de matéria orgânica. A capacidade de remoção de matéria orgânica do ASTBR também foi estudada em Mockaitis et al. (2014) e Camiloti et al. (2014), sendo que neste último exemplo a redução de sulfato foi avaliada simultaneamente. Em outros estudos, Moura et al. (2012) e Santos et al. (2016) avaliaram a capacidade do leito estruturado

para remoção biológica de nitrogênio a partir do esgoto sanitário, enquanto que Anzola-Rojas e Zaiat (2016) e Anzola-Rojas et al. (2016) estudaram sua aplicabilidade na produção de H_2 em sistemas acidogênicos alimentados com água residuária sintética a base de sacarose. Resultados promissores foram obtidos nos trabalhos supracitados, independentemente do tipo de aplicação estudada, sendo necessário, neste momento, avaliar o potencial de aplicação do ASTBR no tratamento de águas residuárias de alta carga, como a vinhaça. Espera-se, nesta situação, aplicar elevadas cargas orgânicas – superiores às usualmente utilizadas em reatores UASB e de leito fixo empacotado, i.e., $15-20 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ – em TDHs relativamente curtos, mantendo-se, para tanto, uma elevada densidade celular no reator. Ressalta-se, contudo, a importância da seleção de condições operacionais adequadas para o tratamento da vinhaça, buscando-se principalmente a redução do TDH aplicado nos sistemas anaeróbios.

Figura 3. Comparativo entre reatores de leito fixo empacotado (APBR) e leito fixo estruturado (ASTBR). **Fonte:** Elaboração própria.

Em termos das condições operacionais, inicialmente destaca-se a influência da temperatura no processo, de modo que para o caso específico da vinhaça a aplicação de condições termofílicas ($50-55^{\circ}\text{C}$) caracteriza-se como uma opção atrativa, baseando-se em dois aspectos:

- i. A corrente de vinhaça na saída dos destiladores atinge aproximadamente 90°C, não sendo necessária a utilização de equipamentos que promovam o resfriamento do efluente, como normalmente é feito para condições mesofílicas (Nandy et al., 2002). A vinhaça atinge naturalmente a temperatura requerida para o tratamento, seja em tanques de equalização ou em trocadores para o aproveitamento de sua energia térmica em outros processos da própria usina; e,
- ii. Sistemas termofílicos tendem a apresentar desempenho similar ao de reatores mesofílicos, mesmo com a aplicação de cargas orgânicas maiores (Willington e Marten, 1982; Wilkie et al., 2000). Esta característica decorre do aumento das velocidades de reação com o aumento da temperatura, o que também favorece a hidrólise de substratos orgânicos complexos (Amani et al., 2015). Consequentemente, plantas termofílicas⁸ permitem a instalação de unidades de tratamento mais compactas, levando a reduções nos custos de implantação e operação.

Em associação ao emprego de condições termofílicas de temperatura, a separação de fases compreende uma opção tecnológica com grande potencial para aplicação no tratamento anaeróbio da vinhaça em escala industrial. Neste caso, o processo de biodigestão (Figura 2) é dividido em duas etapas principais, i.e., acidogênese e metanogênese, de modo que cada uma é conduzida separadamente, buscando-se as melhores condições para os grupos microbianos específicos envolvidos na conversão da matéria orgânica. Na etapa acidogênica são fornecidas condições ótimas para bactérias hidrolíticas e fermentativas converterem os substratos orgânicos complexos em ácidos orgânicos e solventes, considerando usualmente a aplicação de elevadas cargas orgânicas em reduzidos TDHs. Na etapa subsequente, o controle operacional é feito de maneira similar à utilizada em reatores metanogênicos de fase única, buscando-se potencializar a atividade metanogênica a partir do substrato pré-fermentado. Na fase metanogênica também se observa atividade acetogênica, a partir da conversão de intermediários metabólicos a acetato.

Embora a condução da biodigestão em reatores separados quebre as relações sintróficas entre as populações microbianas atuantes no processo de degradação (Ke et al., 2005) (Figura 2), uma série de vantagens pode ser verificada neste caso. A separação de fases permite isolar e otimizar etapas potencialmente limitantes da digestão anaeróbia,

⁸Outra vantagem da aplicação de condições termofílicas recai sobre a produção de H₂, tema abordado nas próximas seções do presente trabalho. O aumento da temperatura favorece termodinamicamente a produção biológica de H₂, direcionando as rotas metabólicas da biomassa acidogênica para sua síntese e, consequentemente, melhorando o rendimento do processo (Luo et al., 2010a; Pawar e van Niel, 2013; Ferraz Jr. et al. 2014b; Amani et al., 2015). Além disso, a solubilidade dos gases diminui com o aumento da temperatura, fato que favorece a liberação do biogás nos reatores.

especificamente a hidrólise de materiais complexos no primeiro estágio e a metanogênese no segundo (Ke et al., 2005; Hallenbeck, 2009; Liu et al., 2013). Bactérias hidrolíticas e fermentativas apresentam velocidade específica de crescimento consideravelmente maior do que as arqueias metanogênicas⁹, as quais também são mais sensíveis, o que potencializa o acúmulo de ácidos orgânicos em sistemas anaeróbios submetidos a perturbações – p.ex. sobrecargas hidráulicas e orgânicas, aporte de compostos tóxicos, dentre outros fatores (Marchaim e Krause, 1993; Ahring et al., 1995). Entre os benefícios da separação de fases, observa-se:

- i. Aumento da biodegradabilidade das águas residuárias, uma vez que a pré-acidificação da matéria orgânica favorece a atuação das arqueias metanogênicas. Por consequência, observa-se uma maior estabilidade operacional da etapa metanogênica, minimizando eventuais limitações associadas ao acúmulo de ácidos orgânicos e também permitindo reduzir a quantidade de compostos alcalinizantes aplicados no sistema de tratamento, quando pertinente (Goyal et al., 1996; Ke et al., 2005; Liu et al., 2013; Sarma et al., 2015; Yu et al., 2015). Ferraz Jr. et al. (2016) observaram um aumento de 32% (66 para 87,4%) na biodegradabilidade da vinhaça de cana-de-açúcar a partir da separação de fases, bem como uma redução de 50% no emprego de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) como agente alcalinizante (12,5 para 6,25 g L⁻¹);
- ii. Melhor aproveitamento energético dos resíduos associado a um aumento na eficiência do sistema de tratamento, como consequência direta dos benefícios supracitados (Goyal et al., 1996; Liu et al., 2013; Poggi-Varaldo et al., 2014; Ferraz Jr. et al., 2016). A pronta disponibilidade de acetato às arqueias favorece cinética e termodinamicamente a produção de CH_4 aumentando a eficiência de extração de energia da matéria orgânica. A produção de H_2 na fase acidogênica, conforme detalhadamente discutido nas próximas seções, também pode ser um fator-chave para o aumento da recuperação de energia na biodigestão (Massanet-Nicolau et al., 2015), embora grande parte do potencial energético de processos em duas fases resulte de uma conversão mais eficiente da matéria orgânica a CH_4 (Ferraz Jr. et al., 2016);
- iii. Redução no tempo de partida da fase metanogênica e aumento da capacidade dos sistemas, i.e., aplicação de maiores cargas orgânicas, também consequências diretas da maior estabilidade operacional (Ke et al., 2005; Liu et al., 2013). Embora a separação de fases implique a instalação de uma unidade de tratamento adicional, estima-se que

⁹O tempo mínimo de duplicação estimado para bactérias acidogênicas é da ordem de 30 minutos, enquanto que para arqueias metanogênicas acetoclásticas o valor aproximado é de 2-3 dias (Mosey, 1983).

para a aplicação de uma mesma carga orgânica, o sistema metanogênico pode ser reduzido por um fator de até três (Ke et al., 2005). Novamente utilizando-se o trabalho de Ferraz Jr. et al. (2016), os autores observaram um incremento de 23% na eficiência global de remoção de DQO (60,7 para 74,6%) a partir da aplicação de uma carga de 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹ em reator UASB precedido de etapa acidogênica, utilizando-se como comparação um reator UASB operado em fase única, porém sob as mesmas condições de carga. Em termos do rendimento de metano, o incremento foi superior a 30% (0,234 para 0,306 m³ kg⁻¹DQO).

A literatura apresenta poucos relatos baseados na aplicação da biodigestão em duas fases no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar, podendo-se destacar três casos. Além do trabalho de Ferraz Jr. et al. (2016), conforme previamente apresentado, Seth et al. (1995) e Goyal et al. (1996) também avaliaram o desempenho de sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico, utilizando, entretanto, reatores de leito fixo (APBR) como digestor na fase metanogênica em condições mesofílicas (24-33°C). Os autores verificaram decréscimos na eficiência de remoção de DQO (72,0 para 61,0% em Seth et al., 1995; e, 84,5 para 67,1% em Goyal et al., 1996) a partir do aumento da carga orgânica na aplicação de vinhaças de melaço com DQO na faixa de 65 a 85 g L⁻¹. Para tanto, o TDH foi reduzido de 15 para 2-4 d. Os resultados pouco satisfatórios nestes casos provavelmente decorrem de sobrecargas orgânicas nos sistemas, considerando concentrações de matéria orgânica pelo menos duas vezes superiores às observadas na vinhaça da agroindústria brasileira.

Diferentemente, no trabalho de Ferraz Jr. et al. (2016) os autores verificaram melhora no desempenho do reator UASB utilizado no sistema em duas fases após aumento da carga aplicada (15-25 kgDQO m⁻³ d⁻¹), relatando incrementos na eficiência de remoção de matéria orgânica e rendimento de CH₄. Os autores utilizaram condições termofílicas de temperatura (55°C). Destaca-se, neste caso, a expressiva redução no TDH aplicado no sistema metanogênico a partir da separação de fases, chegando a 23 h¹⁰ na maior carga, ou seja, valor 50% inferior ao menor TDH testado por Seth et al. (1995) – 2 dias. A título de comparação, baseando-se na Tabela 3, a aplicação de cargas semelhantes (20-26 kgDQO m⁻³d⁻¹) em reatores operados em fase única foi baseada na aplicação de TDHs na faixa de 2 a 10 dias (Bories et al., 1988; Shrihari e Tare, 1989; Rintala, 1991; Souza et al., 1992). Este resultado corrobora a hipótese da utilização da separação de fases em sistema termofílico como opção tecnológica mais adequada ao tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar. Entretanto, dadas as

¹⁰O TDH global do sistema combinado (reator acidogênico + reator metanogênico) compreendeu 33 h (1,4 dias, COVa de 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹), valor ainda inferior à maioria dos reatores submetidos a elevadas cargas descritos na Tabela 3.

limitações dos reatores UASB, destacando-se que o aporte de sólidos formados na etapa acidogênica tende a potencializar efeitos adversos à granulação (van Lier et al., 2015), acredita-se que a aplicação do ASTBR nestas condições operacionais pode propiciar resultados ainda mais satisfatórios, possibilitando a aplicação de cargas iguais ou superiores para TDHs menores.

3.2.2 Produção Biológica de Hidrogênio via Processos Fermentativos

O interesse na utilização do H_2 como fonte energética se deve basicamente a dois fatores, considerando suas excelentes propriedades combustíveis¹¹ associadas a uma combustão extremamente limpa, produzindo apenas vapor de água como “resíduo” (Hallenbeck, 2009; Hafez et al., 2010; Karthic e Shiny, 2012; Show et al., 2012; Pawar e van Niel, 2013; Anzola-Rojas et al., 2015). Embora tais características confirmem grande potencialidade ao emprego do H_2 como combustível alternativo, deve-se ressaltar algumas limitações observadas na sua obtenção. Os processos convencionalmente utilizados¹² (p.ex. eletrólise da água, reforma do CH_4 , gaseificação do carvão, dentre outros) requerem elevadas quantidades de energia, bem como na maioria dos casos (>90%) são utilizados combustíveis fósseis como matérias-primas, tais como o gás natural e o carvão (Bartels et al., 2010; Ghimire et al., 2015; Lazaro et al., 2015).

O futuro da economia do hidrogênio depende da aplicação de processos de baixo custo e ambientalmente adequados (Bartels et al., 2010), sendo que neste contexto a produção biológica de hidrogênio, i.e., biohidrogênio ($BioH_2$) ganha crescente destaque. Embora historicamente os custos da produção de H_2 a partir de combustíveis fósseis tenham se apresentado mais vantajosos em comparação ao uso de fontes renováveis em geral¹³ (Bartels et al., 2010), espera-se uma inversão neste cenário, sobretudo devido à pressão pela adequação ambiental. A produção de $BioH_2$ apresenta importantes vantagens frente aos processos termo- e eletroquímicos convencionais, em especial o uso de resíduos e águas residuárias como substratos e o emprego de condições amenas de temperatura e pressão, o que leva a um menor

¹¹O H_2 apresenta rápida velocidade de queima, baixo ponto mínimo de ignição, elevada densidade energética e elevado número de octanagem (Pawar e van Niel, 2013). Em termos da densidade energética, representada pelo poder calorífico, observa-se o valor de 120 MJ kg^{-1} para o H_2 , valor 2,4 vezes superior ao do CH_4 puro (50 MJ kg^{-1}) (Heywood, 1988).

¹²Atualmente, a produção de H_2 para aplicação comercial baseia-se na reforma do gás natural (48%) e petróleo (30%), gaseificação de carvão mineral (18%) e eletrólise da água (4%) (Ghimire et al., 2015). No caso da eletrólise, caso a eletricidade empregada no processo provenha de fontes que não emitam carbono, a cadeia produtiva do hidrogênio pode ser caracterizada como “livre de emissões” ($H_2O \rightarrow H_2 + 1/2O_2 \rightarrow H_2O$) (Bartels et al., 2010).

¹³Os custos da produção de H_2 via reforma do gás natural foram estimados em $0,67 \text{ USD m}^{-3}$, enquanto que para os processos de gaseificação da biomassa, eletrólise da água (utilizando-se energia nuclear) e fermentação anaeróbia os valores chegaram respectivamente a 1,00, 1,07 e $1,20 \text{ USD m}^{-3}$ (Lee e Lee, 2008).

consumo energético (Antonopoulou et al., 2010; Fernandes et al., 2010; Li Y.C. et al., 2012; Anzola-Rojas et al., 2015).

Resumidamente, a obtenção de H_2 a partir de vias biológicas pode ocorrer por meio de processos fotossintéticos, foto-fermentativos e fermentativos que independem do fornecimento de energia luminosa (*dark fermentation*, do inglês) (Karthic e Shiny, 2012; Poggi-Varaldo et al., 2014), compreendendo o último a tecnologia estudada nesta pesquisa. Baseando-se as rotas de conversão da matéria orgânica no processo anaeróbio completo (Figura 2, p.x), o acúmulo de H_2 no meio surge de um desequilíbrio entre as populações acidogênicas e metanogênicas no reator, propiciado pelo controle de diversos parâmetros operacionais: pH, TDH, relação carbono/nitrogênio (C/N), tipo de inóculo (cultura mista ou pura) e de pré-tratamento aplicado, condições de temperatura, tipo de material suporte (para o caso de reatores de leito fixo), tipo de configuração do reator, dentre outros (Antonopoulou et al., 2010; Fernandes et al., 2013; Penteado et al., 2013; Anzola-Rojas et al., 2015; Gomes S.D. et al., 2015). Este controle é feito na etapa acidogênica da biodigestão com separação de fases, de modo que a eliminação das arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, principais responsáveis pelo consumo do H_2 produzido na etapa fermentativa, possibilita sua recuperação no biogás.

A produção de H_2 ocorre principalmente a partir da fermentação de carboidratos, fato que pode explicar o grande número de trabalhos na literatura avaliando sistemas acidogênicos alimentados com efluentes sintéticos à base de sacarose e glicose (Leite et al., 2008; Shida et al., 2009; Infantes et al., 2011; Fontes Lima e Zaiat, 2012; Fernandes et al., 2013; Fontes Lima et al., 2013; Anzola-Rojas et al., 2015 e 2016; Gomes S.;D. et al., 2015; Braga et al., 2016). Há também um número crescente de estudos a partir de águas residuárias complexas, buscando-se definir as melhores condições e o potencial destas para recuperação de energia via Bio H_2 . Estudos incluem o uso de soro de leite (Davila-Vazquez et al., 2011; Perna et al., 2013; Dareioti et al., 2014), efluentes da produção de refrigerantes (Peixoto et al., 2011) e do processamento de alimentos (van Ginkel et al., 2005; Scoma et al., 2013), melaço de beterraba (Li et al., 2009), manipueira (Amorim et al., 2014; Rosa et al., 2014; Andreani et al., 2015; Gomes et al., 2016), dentre outras. Entretanto, a literatura científica ainda pode ser considerada escassa em termos da produção de Bio H_2 a partir de vinhaças¹⁴, especialmente ao

¹⁴Embora o termo “vinhaça” seja aplicado para designar o efluente da destilação de etanol, seja para produção de combustível ou de bebidas, o tipo de matéria-prima, o processo produtivo empregado e o produto final influenciam significativamente a composição da vinhaça, especialmente em relação ao teor de açúcares. Apenas para exemplificar, Ferraz Jr. et al. (2014b, 2015a e 2015b) reportaram um valor de $4,1 \text{ g L}^{-1}$ para a concentração de carboidratos totais em vinhaça de cana-de-açúcar. No caso de Luo et al. (2010b), o teor de carboidratos totais compreendeu $45,2 \text{ g L}^{-1}$ para vinhaça de mandioca. O próprio tipo de carboidrato predominante no efluente pode propiciar condições distintas na fase acidogênica, levando ao estabelecimento de diferentes populações de micro-organismos e favorecendo determinadas rotas metabólicas (Fontes Lima et al., 2013).

se considerar reatores contínuos. Dentre os poucos relatos, pode-se citar os trabalhos a partir da vinhaça de mandioca (*cassava stillage*), desenvolvidos pelo grupo de pesquisa do *State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse (College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai, China)* (Luo et al., 2010a, 2010b e 2010c; Wang et al., 2013). Estudos recentes também consideram o emprego de vinhaças de tequila (Buitrón e Carvajal, 2010; Buitrón et al., 2014) e de milho (Fernandes et al., 2010) para produção de BioH₂. Os principais resultados obtidos nestes trabalhos são compilados na Tabela 4.

No caso específico da vinhaça de cana-de-açúcar gerada na agroindústria brasileira, trabalhos recentes abordam a aplicação de reatores de leito fluidizado (Santos et al., 2014a, 2014b e 2014c) e leito fixo empacotado (Ferraz Jr. et al., 2014b, 2015a e 2015b) em sistemas acidogênicos contínuos. A produção de BioH₂ a partir da vinhaça de cana-de-açúcar pode ser considerada uma opção tecnológica atrativa, baseando-se nas concentrações apreciáveis de carboidratos residuais usualmente observadas em sua composição. Ferraz Jr. et al. (2014b, 2015a e 2015b) reportaram concentrações médias de carboidratos de 4,1 g L⁻¹ em vinhaças de mosto misto (caldo + melaço de cana). Por sua vez, também para vinhaças de mosto misto, Santos et al. (2014b) reportaram concentrações de carboidratos totais na faixa de 10,6-16,3 g L⁻¹, ficando as concentrações de sacarose entre 5,0-6,3 g L⁻¹. De fato, conforme apresentado na Tabela 4, produções elevadas de H₂ foram reportadas nos trabalhos supracitados, especialmente nos trabalhos com AFBR, chegando a 19.440 mLH₂ L⁻¹ d⁻¹ em Santos et al. (2014b). Entretanto, na maioria destes casos empregou-se vinhaça diluída nos estudos, alternativa que, do ponto de vista ambiental, pode inviabilizar o escalonamento dos sistemas acidogênicos.

Considerando os estudos baseados no emprego de reatores de leito fixo, principal configuração estudada no LPB, os trabalhos desenvolvidos por Ferraz Jr. et al. (2014b, 2015a e 2015b) possibilitaram grande avanço com relação à definição das melhores condições operacionais para produção de H₂ a partir da vinhaça de cana-de-açúcar bruta, incluindo: material suporte para adesão microbiana (polietileno de baixa densidade, PEBD); condições de temperatura (55°C); e, carga orgânica volumétrica aplicada (COVa), com valor ótimo definido em 84,2 kgDQO m⁻³ d⁻¹. Entretanto, de maneira similar à produção de CH₄, conforme apresentado anteriormente, são necessárias investigações complementares para potencializar a eficiência do aproveitamento da vinhaça como substrato orgânico para produção de BioH₂, buscando-se, particularmente, a eliminação de instabilidades no processo e, conseqüentemente, a obtenção de produções contínuas em longo prazo.

Tabela 4. Sistemas anaeróbios acidogênicos aplicados no tratamento de vinhaças de diferentes matérias-primas.

Referência	Características da vinhaça	Sistema de tratamento		Rendimento energético
		Reator	Condições operacionais	
Vatsala (1992)	Melaço (cana-de-açúcar) DQO = 128 g L ⁻¹ DBO = 63 g L ⁻¹ ART = 16,8 g L ⁻¹	Batelada (170 L)	T = 30-37°C TDH = 7 d (duração da batelada)	HY = 8,4 LH ₂ L ⁻¹ vinhaça
Buitrón e Carvajal (2010)	Tequila DQO = 29,9-30,5 g L ⁻¹ DBO = 19,8-20,9 g L ⁻¹	ASBR (7 L)	T = 35°C COVa = 18-30 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 24 h	HY = 44,4-57,6 mLH ₂ g ⁻¹ DQO
			T = 35°C COVa = 36-60 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 12 h	HY = 53,4-100,8 mLH ₂ g ⁻¹ DQO
Fernandes et al. (2010)	Milho DQO = 88,4 g L ⁻¹ SV = 69,1 g L ⁻¹	Batelada (2 L)	T = 25°C COVa = 0,24 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 25 h (duração da batelada)	HY = 579 mLH ₂ g ⁻¹ DQO
Luo et al. (2010a)	Mandioca DQO = 65 g L ⁻¹ SV = 53 g L ⁻¹ CH = 29,5 g L ⁻¹	CSTR (0,25 L)	T = 55°C COVa = 10,6 kgSV m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 5 d (1+4)	HY = 56,6 mLH ₂ g ⁻¹ SV
Luo et al. (2010b)	Mandioca DQO = 60,1 g L ⁻¹ CH = 45,2 g L ⁻¹	CSTR (0,25 L)	T = 60°C TDH = 3 d	HY = 51,5-52,9 mLH ₂ g ⁻¹ SV
Luo et al. (2010c)	Mandioca DQO = 60 g L ⁻¹ SV = 42,3 g L ⁻¹ CH = 29,2 g L ⁻¹	CSTR (0,25 L)	T = 60°C COVa = 20 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 24 h	HY = 76 mLH ₂ g ⁻¹ SV

Tabela 4. Sistemas anaeróbios acidogênicos aplicados no tratamento de vinhaças de diferentes matérias-primas (cont.).

Referência	Características da vinhaça	Sistema de tratamento		Rendimento energético
		Reator	Condições operacionais	
Luo et al. (2011)	Mandioca DQO = 61,9 g L ⁻¹ CH = 30 g L ⁻¹	CSTR (2 L)	T = 55°C COVa = 3 kgSV m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 3 d	HY = 69 mLH ₂ g ⁻¹ SV
Buitrón et al. (2014)	Tequila DQO = 29,9-30,5 g L ⁻¹ DBO = 19,8-20,9 g L ⁻¹	ASBR (4 L)	T = 35°C COVa ^a = 0,7-6,7 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 18 h	HY = 190 mLH ₂ g ⁻¹ DQO
		ASBR (0,6 L)	T = 35°C COVa ^b = 8,0-64,0 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 6 h	HY = 118 mLH ₂ g ⁻¹ DQO
Ferraz Jr. et al. (2014b)	Caldo + melaço (cana-de-açúcar) DQO = 35,2 g L ⁻¹ DBO = 16,7 g L ⁻¹ CH = 4 g L ⁻¹	APBR (2,3 L)	T = 55°C COVa = 54,3-108,6 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 24-8 h	HY = 0,3-1,4 molH ₂ mol ⁻¹ CH
Santos et al. (2014a)	Caldo + melaço (cana-de-açúcar) DQO ^c = 5,0 g L ⁻¹	AFBR (2,6L)	T = 55°C COVa = 120,8-216,8 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 2 h	HY = 2,06-3,53 mmolH ₂ g ⁻¹ DQO
Santos et al. (2014b)	Cana-de-açúcar ^d DQO = 10 g L ⁻¹ CH = 3,5-5,4 g L ⁻¹	AFBR (2,6L)	T = 55°C COVa = 40,0-240,0 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 6-1 h	HY = 1,92-2,86 mmolH ₂ g ⁻¹ DQO
	Cana-de-açúcar DQO = 30 g L ⁻¹ CH = 10,6-18,3 g L ⁻¹	AFBR (2,6L)	T = 55°C COVa = 120,0-720,0 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 8-1 h	HY = 0,19-0,79 mmolH ₂ g ⁻¹ DQO

Tabela 4. Sistemas anaeróbios acidogênicos aplicados no tratamento de vinhaças de diferentes matérias-primas (cont.).

Referência	Características da vinhaça	Sistema de tratamento		Rendimento energético
		Reator	Condições operacionais	
Santos et al. (2014c)	Cana-de-açúcar ^e DQO = 15 g L ⁻¹	AFBR (2,6L)	T = 55°C COVa = 60,0-360,0 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 6-1 h	HY = 1,00-2,23 mmolH ₂ g ⁻¹ DQO
	Cana-de-açúcar ^f DQO = 20 g L ⁻¹	AFBR (2,6L)	T = 55°C COVa = 80,0-480,0 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 6-1 h	HY = 0,60-1,85 mmolH ₂ g ⁻¹ DQO
Ferraz Jr. et al. (2015a)	Caldo + melaço (cana-de-açúcar) DQO = 35,2 g L ⁻¹ DBO = 16,7 g L ⁻¹ CH = 4 g L ⁻¹	APBR (2,3 L)	T = 55°C COVa = 84,2 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 10,2 h	HY = 1,6 molH ₂ mol ⁻¹ CH
Ferraz Jr. et al. (2015b)	Caldo + melaço (cana-de-açúcar) DQO = 35,2 g L ⁻¹ DBO = 16,7 g L ⁻¹ CH = 4 g L ⁻¹	APBR (2,3 L)	T = 25°C COVa = 36,4 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 24 h	HY = 0,6 molH ₂ mol ⁻¹ CH

Notas: ^aAplicação de vinhaças diluídas (DQO = 0,5-5,0 g L⁻¹); ^bAplicação de vinhaças diluídas (DQO = 2,0-16,0 g L⁻¹); ^cVinhaça diluída na proporção de 1:6; ^dVinhaça diluída na proporção de 1:3; ^eVinhaça diluída na proporção 1:2; ^fVinhaça diluída na proporção 2:3.

Siglas: Características da vinhaça: ART = açúcares redutores totais, CH = carboidratos totais, SV = sólidos voláteis; Reator: AFBR = reator anaeróbio de leito fluidizado (*anaerobic fluidized-bed reactor*), APBR = reator anaeróbio de leito empacotado (*anaerobic packed-bed reactor*), ASBR = reator anaeróbio em bateladas sequenciais (*anaerobic sequencing batch reactor*); CSTR = reator anaeróbio continuamente agitado (*continuously stirred-tank reactor*). Condições operacionais: T = temperatura, COVa = carga orgânica volumétrica aplicada, TDH = tempo de detenção hidráulica; Rendimento energético: HY = rendimento de hidrogênio.

Diversos trabalhos baseados no emprego de sistemas acidogênicos contínuos com células imobilizadas relatam considerável instabilidade operacional (Fontes Lima et al., 2013; Penteado et al., 2013; Anzola-Rojas et al., 2015; Ferraz Jr. et al., 2015a), de modo que a produção de H_2 atinge um pico no período inicial da operação e, no decorrer desta, chega a níveis-traço e, frequentemente, cessa. Vários são os fatores potencialmente associados à ocorrência de instabilidades na produção de H_2 em reatores de leito fixo, tendo em vista condições operacionais inadequadas, tais como: acúmulo excessivo de biomassa nos reatores (Hafez et al., 2010; Peixoto et al., 2011; Anzola-Rojas et al., 2015), estabelecimento de condições inadequadas de pH (Antonopoulou et al., 2010; Infantes et al., 2011; Dareioti et al., 2014) e aplicação de sub- ou sobrecargas orgânicas (Searmsirimongkol et al., 2011; Ferraz Jr. et al., 2014b).

Sistemas acidogênicos operados sem o devido controle do pH são vulneráveis a perdas de desempenho devido a inúmeros fatores que dependem estritamente deste parâmetro, tais como a atividade das hidrogenases, as rotas metabólicas predominantes e fenômenos de floculação e aderência microbiana (Antonopoulou et al., 2010; Dareioti et al., 2014). Por sua vez, o acúmulo de biomassa impacta negativamente a carga orgânica volumétrica específica (COVe), parâmetro que se aproxima da razão alimento/micro-organismo aplicada no reator. Concentrações excessivas de sólidos podem propiciar condições de escassez de substrato no meio, estimulando o consumo de H_2 por populações homoacetogênicas (Fontes Lima et al., 2013; Anzola-Rojas et al., 2015; Ferraz Jr. et al., 2015a; Anzola-Rojas e Zaiat, 2016). Limitações adicionais, ainda decorrentes do acúmulo de sólidos, incluem o estabelecimento de elevadas pressões parciais de H_2 no leito empacotado, o que também leva a alterações nas rotas metabólicas, a partir da produção de compostos intermediários mais reduzidos, tais como os ácidos propiônico e butírico (Hallenbeck, 2009; Show et al., 2011; Pawar e van Niel, 2013; Braga et al., 2016).

Por fim, estudos sobre a produção de $BioH_2$ em sistemas fermentativos frequentemente baseiam-se na aplicação de cargas orgânicas crescentes como estratégia para evitar/superar perdas de desempenho (Hafez et al., 2010; Perna et al., 2013; Ferraz Jr. et al., 2014a). Entretanto, esta estratégia pode levar a condições de sobrecarga orgânica nos reatores, uma vez que concentrações elevadas de substrato são aplicadas em TDHs relativamente curtos. O acúmulo de ácidos orgânicos, especialmente os ácidos butírico e propiônico, é frequentemente relatado em sistemas acidogênicos operados com vinhaça submetidos a cargas superiores a $100 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Searmsirimongkol et al., 2011; Santos et al., 2014a, 2014b e 2014c). Além disso, conforme indicado previamente, Ferraz Jr. et al. (2014b) determinaram matematicamente uma COVa ótima de $84,2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ para produção de $BioH_2$ a partir

da vinhaça de cana-de-açúcar utilizando APBR, de modo que a aplicação contínua desta COVa em uma operação em longo prazo requer investigações complementares.

A temperatura também exerce influência significativa na produção biológica de H_2 , de modo que diversos trabalhos associam maiores rendimentos de hidrogênio em sistemas operados sob condições termofílicas (Karlsson et al., 2008; Luo et al., 2010a; Show et al., 2011; Braga et al., 2016). Maiores temperaturas favorecem a transferência de massa líquido-gás, dada a menor solubilidade dos gases nessas condições, fato que reduz a pressão parcial de H_2 no meio. Por consequência, mecanismos metabólicos do controle de excesso de H_2 ¹⁵ tendem a ser aliviados, possibilitando uma extração mais eficiente de energia dos substratos orgânicos por meio de maiores rendimentos.

Desta forma, baseando-se na provável origem operacional das instabilidades nos sistemas acidogênicos, acredita-se que a atividade hidrogenogênica pode ser mantida contínua a partir da aplicação de estratégias específicas nos reatores. Apenas a utilização de condições termofílicas não se mostrou suficiente para tal propósito em Ferraz Jr. et al. (2015a), uma vez que, mesmo para a aplicação da COVa ótima de $84,2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, a produção de BioH_2 cessou em pouco mais de 50 dias de operação. Provavelmente, o controle contínuo do pH e a manutenção de níveis adequados de biomassa no interior do reator caracterizem-se como fatores-chave para obtenção de produções contínuas de hidrogênio. Com relação ao controle do pH, estudos normalmente baseiam-se apenas no ajuste do pH afluente aos sistemas acidogênicos, sem conduzir o devido controle no pH efluente (Antonopoulou et al., 2010; Dareioti et al., 2014). Quanto à eficácia dos descartes, Anzola-Rojas e Zaiat (2016) concluíram que sua realização propiciou a eliminação de micro-organismos não associados à produção de hidrogênio em reatores de leito fixo estruturado alimentados com sacarose; ou seja, tal constatação sugere a potencialidade dos descartes como estratégia operacional nos sistemas alimentados com vinhaça.

Em uma última observação, independentemente da obtenção de produções contínuas e estáveis de H_2 na fase acidogênica, reitera-se a importância da aplicação da separação de fases no tratamento anaeróbico da vinhaça, tendo em vista as inúmeras vantagens de processo descritas anteriormente. Além disso, em uma análise mais ampla, o direcionamento da vinhaça para uma etapa de pré-fermentação abre uma ampla gama de possibilidades para recuperação de produtos de interesse nas biorrefinarias, conforme abordado nas próximas seções.

¹⁵A formação dos ácidos butírico (HBu) e propiônico (HPr) em sistemas anaeróbios pode ser considerada uma resposta das bactérias acidogênicas ao acúmulo de H_2 no meio, especialmente durante cargas de pico. O direcionamento das rotas metabólicas para produção de HBu e HPr implica a redução da produção de H_2 , seja a partir de menores rendimentos (rota do HBu) ou pelo próprio consumo do H_2 (rota do HPr).

3.3 Biorrefinarias: Conceitos e Potencialidades da Biodigestão Anaeróbia

O conceito de biorrefinaria faz analogia às refinarias da indústria do petróleo (Rodrigues, 2011; Lora et al., 2012; Moraes et al., 2015), nas quais são obtidos diferentes tipos de produtos, tais como diesel, gasolina, gás liquefeito, nafta, querosene, lubrificantes, dentre outros, a partir do petróleo bruto. No caso das biorrefinarias, objetiva-se a conversão da biomassa¹⁶ vegetal em um espectro de produtos passíveis de comercialização, i.e., com valor de mercado, incluindo produtos químicos e biocombustíveis, bem como a geração direta de bioenergia (Rodrigues, 2011; Poggi-Varaldo et al., 2014; Moraes et al., 2015; Yang et al., 2015). Para tanto, faz-se uso de um processamento sustentável da matéria-prima base a partir do emprego de diferentes métodos biotecnológicos, destacando-se a importância do metabolismo microbiano. De acordo com Yang et al. (2015), a maioria dos processos de conversão do material orgânico bruto para bioprodutos de valor agregado depende diretamente de processos fermentativos microbianos.

Inicialmente, o emprego prioritário da biomassa vegetal teve como objetivo a produção de biocombustíveis, buscando-se reduzir problemas decorrentes do comércio e utilização de combustíveis fósseis (Yang et al., 2015). Desta forma, as indústrias de biocombustíveis caracterizam-se como exemplos importantes de biorrefinarias, com destaque para produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. Conforme brevemente discutido, o aproveitamento da cana-de-açúcar nas usinas permite a obtenção de uma série de produtos, sendo o etanol e o açúcar os principais. Parte da palha gerada na colheita da cana, bem como o bagaço resultante das moedas, é empregada em unidades de cogeração de energia, produzindo vapor e eletricidade a partir do acoplamento de caldeiras e turbinas de contra-pressão, as quais, por sua vez, são acopladas a geradores (Moraes et al., 2015). O vapor é utilizado completamente na própria planta industrial, sendo empregado em diferentes processos e operações unitárias, tais como a evaporação do caldo (açúcar) e destilação (etanol). Com relação à eletricidade, observa-se a geração de quantidades excedentes (Nonato et al., 2001; Dias et al., 2013), as quais são comercializadas com as concessionárias de energia, caracterizando, portanto, um terceiro produto das destilarias.

Na Figura 4 são apresentados *layouts* de biorrefinarias de açúcar e etanol, baseando-se nas rotas de aproveitamento da matéria-prima usualmente empregadas nas unidades industriais (primeira geração – 1G, Figura 4a), bem como alternativas para diversificar este aproveitamento (segunda geração – 2G, Figura 4b). Considerando o gerenciamento dos

¹⁶A biomassa caracteriza-se como única alternativa viável, frente aos recursos fósseis, para obtenção de combustíveis e produtos químicos, uma vez que constitui única matéria-prima abundante rica em carbono disponível para tais fins (Rodrigues, 2011).

resíduos sólidos, além da palha e do bagaço, observa-se o emprego da torta de filtro, gerada no tratamento do caldo, como condicionador do solo agrícola (Contreras et al., 2009; Nonato et al., 2001; Almeida Jr. et al., 2011), buscando-se o aproveitamento de suas propriedades fertilizantes. Em termos das águas residuárias, conforme amplamente discutido, embora a vinhaça também apresente considerável potencial fertilizante, sua aplicação nas lavouras (Figura 4a) propicia o desperdício de quantidade apreciável da energia da cana-de-açúcar.

Figura 4. Rotas para o aproveitamento da matéria-prima e resíduos em biorrefinarias de cana-de-açúcar de (a) primeira e (b) segunda geração. **Fonte:** Elaboração própria.

Resumidamente, nos processos de segunda geração o emprego do bagaço e da palha visa ao aumento da produção de etanol nas usinas, seja a partir da aplicação de processos bioquímicos (fermentação dos açúcares presentes no material lignocelulósico pré-tratado, Figura 4b) ou termoquímicos¹⁷ (gaseificação do material lignocelulósico). No caso específico da rota bioquímica, estudos diversos buscam a otimização das etapas de pré-tratamento e hidrólise da biomassa lignocelulósica (Rocha et al., 2012a e 2012b; Oliveira F.M.V. et al., 2013; Wanderley et al., 2013; Liu et al., 2016; Saelee et al., 2016), fator chave para potencializar a viabilidade econômica do processo escalonado. Destaca-se, entretanto, a geração de duas correntes adicionais de águas residuárias na produção de etanol-2G, o licor de pentoses e a vinhaça-2G (Figura 4b), respectivamente nas etapas de pré-tratamento da biomassa e de destilação. O licor de pentoses constitui efluente rico em xilose, podendo apresentar concentrações elevadas de compostos tóxicos aos micro-organismos, tais como furfural e 5-hidroximetilfurfural, dependendo do tipo de pré-tratamento empregado. Por sua vez, a vinhaça-2G apresenta concentração de matéria orgânica superior à vinhaça-1G, porém, é pobre em nutrientes e minerais¹⁸, característica que não justifica sua eventual aplicação no solo (Moraes et al., 2015). Futuramente, adianta-se a necessidade de estudos criteriosos para a definição das melhores alternativas tecnológicas para o gerenciamento do licor de pentoses e da vinhaça-2G, entretanto, neste momento reitera-se a necessidade da solução da problemática associada à vinhaça-1G, com ênfase na aplicação da biodigestão em duas fases.

Retomando o conceito de biorrefinarias, destaca-se sua integração ao gerenciamento de resíduos e águas residuárias, os quais devem ser considerados como matérias-primas potencialmente aplicáveis na recuperação de recursos. Nesta visão, os processos de tratamento deixam de ser “apenas” uma etapa para minimização de impactos ambientais, por meio da redução da carga poluidora, caracterizando-se como uma etapa de agregação de valor aos resíduos (Yang et al., 2015), como qualquer outra cadeia produtiva baseada no emprego de matérias-primas brutas. Dentre as inúmeras alternativas tecnológicas para o tratamento de

¹⁷A produção de etanol pela via termoquímica caracteriza-se como uma rota alternativa, em relação ao processo bioquímico, i.e., hidrólise seguida pela fermentação, de produção de combustíveis de segunda geração. Neste caso, a etapa principal de conversão da biomassa lignocelulósica baseia-se na obtenção de um gás com propriedades combustíveis (gás de síntese ou *syngas*, formado principalmente por hidrogênio e monóxido de carbono), o qual, adicionalmente à produção de biocombustíveis líquidos, pode ser direcionado para produção de gás natural sintético, síntese de amônia, geração de potência em turbinas a gás e motores, dentre outras aplicações (Lora et al., 2012; Renó et al., 2012; Aberg et al., 2015). Embora na planta termoquímica a produção de etanol a partir do *syngas* seja convencionalmente conduzida a partir da síntese catalítica, estudos recentes abordam o emprego da fermentação do gás para tal fim (Liu et al., 2014).

¹⁸Wilkie et al. (2000), a partir da compilação de diversos trabalhos baseados na aplicação da digestão anaeróbia no tratamento de vinhaças de diferentes matérias-primas, reportaram as seguintes características composicionais para vinhaças de origem celulósica: DQO = 61,3 g L⁻¹, DBO = 27,6 g L⁻¹, DBO/DQO = 0,45, potássio (K) = 39 mg L⁻¹. De fato, a concentração de potássio neste caso é consideravelmente inferior ao menor teor (1.200 mg L⁻¹) apresentado na Tabela 1, p. 52, para vinhaças de cana-de-açúcar de primeira geração, evidenciando a carência de nutrientes na vinhaça-2G.

efluentes, inserindo-se o conceito de biorrefinaria, a biodigestão se apresenta como a opção mais atrativa, podendo-se associar a recuperação de bioenergia por meio de biogás à produção de uma ampla gama de bioprodutos. Para tanto, a separação de fases, que permite a obtenção de efluentes fermentados, surge novamente como etapa chave em diversos cenários.

3.3.1 Biodigestão Anaeróbia como Etapa Central nas Biorrefinarias de Resíduos

O aproveitamento mais imediato da digestão anaeróbia de resíduos e efluentes orgânicos compreende a recuperação de energia por meio do biogás resultante da atividade das arqueias metanogênicas (processos em fase única). Considerando a instalação de plantas de tratamento anaeróbio em destilarias em curto-médio prazo, acredita-se que o direcionamento dos sistemas para produção de energia, por meio de uso de acionadores primários, compreenda a opção mais segura, baseando-se na maturidade de tecnologias como motores e turbinas a gás¹⁹. Tal abordagem é válida mesmo para a aplicação da separação de fases, sendo a fase acidogênica otimizada para produção de BioH₂. Entretanto, o emprego da separação de fases no processo de biodigestão amplia consideravelmente a gama de alternativas para recuperação de recursos a partir dos resíduos orgânicos. Por consequência, verifica-se um aumento na eficiência do aproveitamento da matéria-prima principal – p.ex. cana-de-açúcar nas biorrefinarias de etanol, tendo em vista a aplicação de uma abordagem em cascata (Pacheco e Hoff, 2013; Poggi-Varaldo et al., 2014). Este conceito prioriza a aplicação de processos sequenciais, direcionando-se o fluxo de energia, iniciado a partir da matéria-prima bruta, para geração direta ou indireta, i.e., obtenção de bioprodutos, de energia.

Na Figura 5 são apresentadas possíveis rotas para o aproveitamento da matéria orgânica residual por meio da aplicação da biodigestão em sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico, particularmente utilizando-se a vinhaça de cana-de-açúcar como matéria-prima²⁰. Dentre as alternativas, observa-se a possibilidade da recuperação de intermediários do metabolismo microbiano (ácidos orgânicos, solventes e biopolímeros) e potencialização da produção de BioH₂ a partir do acoplamento de processos foto-fermentativos à fermentação anaeróbia. A etapa metanogênica apresenta potencial de

¹⁹Especificidades da recuperação direta de bioenergia a partir da vinhaça, foco do presente trabalho, bem como dos tipos de acionadores primários usualmente empregados nesta, são apresentadas na seção 3.3.1.1, p. 90.

²⁰A vinhaça de cana-de-açúcar tende a apresentar alternativas adicionais de reaproveitamento em comparação a outros efluentes, baseando-se na manutenção de suas propriedades fertilizantes após o processamento anaeróbio (conservação dos elevados teores de potássio). Além disso, dependendo do tipo de tecnologia utilizada na purificação do biogás rico em CH₄, especificamente a microaeração para remoção do H₂S, é possível a recuperação de enxofre elementar (Moraes et al., 2015; Barrera et al., 2016), o qual pode ser misturado à vinhaça biodigerida para composição de fertilizante organomineral.

“encaixe” em diferentes etapas do processo global, reiterando-se que o pré-processamento da matéria orgânica complexa é benéfico à atividade das arqueias.

Figura 5. Possíveis rotas tecnológicas²¹ para o aproveitamento da vinhaça de cana-de-açúcar considerando o emprego da biodigestão com separação de fases. **Fonte:** Elaboração própria.

²¹Adicionalmente às opções apresentadas, rotas alternativas para o aproveitamento de efluentes acidificados incluem [i] seu emprego como fonte de carbono em processos biológicos destinados à remoção de nutrientes; [ii] produção de lipídeos utilizando-os como substrato para microalgas; [iii] produção adicional de BioH₂ em células eletrolíticas microbianas; e, [iv] produção de eletricidade em células combustíveis microbianas (Xie e al., 2014; Ghimire et al., 2015; Sarma et al., 2015).

Comparativamente à opção mais “simples”, que inclui a recuperação do biogás produzido na metanogênese (biogás-CH₄) para produção de energia no acoplamento das fases acidogênica e metanogênica, as demais rotas tecnológicas demandam investigações mais fundamentais, buscando-se entender o potencial da vinhaça para recuperação dos bioprodutos de interesse, bem como definir condições operacionais que viabilizem, sobretudo técnica- e economicamente, os processos em escala industrial. Algumas considerações sobre as alternativas apresentadas na Figura 5 são discutidas na sequência, buscando-se elencar conceitos básicos sobre as tecnologias empregadas.

A recuperação de bioprodutos da fase líquida em reatores acidogênicos, i.e., ácidos orgânicos e solventes²² (Figura 5), geralmente implica a não otimização dos sistemas para o aproveitamento do biogás da fase acidogênica (biogás-H₂; CO₂ + H₂), tendo em vista a aplicação de condições operacionais, em especial o ajuste do pH e a seleção de populações microbianas específicas, para potencializar a síntese de produtos metabólicos solúveis (Show et al., 2012; Silva et al., 2014). Rotas solventogênicas são observadas normalmente em menores valores de pH (4,0-4,5), como um resposta do metabolismo microbiano ao acúmulo de ácidos no meio reacional (Antonopoulou et al., 2010), enquanto a proporção de AGVs também depende diretamente do tipo de substrato e das condições operacionais utilizadas nos biorreatores (Albuquerque et al., 2007; Xie et al., 2014; Jankowska et al., 2015; Sarma et al., 2015).

Ácidos orgânicos, tais como os ácidos acético, butírico e propiônico, podem ser utilizados diretamente em indústrias alimentícias e de síntese química (Leite et al., 2008; Jankowska et al., 2015; Sarma et al., 2015). Por sua vez, a produção de solventes como o etanol e butanol a partir de resíduos tende a aumentar diretamente o balanço energético em biorrefinarias (Xie et al., 2014). Particularmente no caso da vinhaça, resultados indicam potencial para produção de ácido butírico²³ a partir de sua fermentação, observando-se elevadas concentrações mesmo em sistemas direcionados para produção de BioH₂. Santos et al. (2014a), (2014b) e (2014c) reportaram, respectivamente, concentrações de ácido butírico nas faixas de 530-2.700, 2.400-4.800 e 1.700-4.250 mg L⁻¹ em reatores de leite fluidizado

²²A produção de solventes em reatores acidogênicos baseia-se no estabelecimento da fermentação do tipo ABE, acrônimo formado pelos principais produtos passíveis de obtenção em sistemas solventogênicos: acetona, butanol e etanol (Mariano et al., 2011). A solventogênese constitui um processo subsequente à acidogênese, uma vez que os solventes são obtidos a partir da conversão dos ácidos orgânicos (biohidrogenação), especialmente o butirato e acetato (Harde et al., 2016), sob condições controladas de pH e tamponamento.

²³O ácido butírico pode ser usado como matéria-prima para produção de butanol, caracterizado como um biocombustível promissor (Mariano et al., 2011), tanto pelo emprego de rotas catalíticas (Sjöblom et al., 2015) quanto por bioquímicas (Regestein et al., 2015). N-butil butirato ou butanoato de butila, um combustível alternativo para aviação, também pode ser obtido a partir do ácido butírico por meio de sua esterificação com o butanol (Sarma et al., 2015; Sjöblom et al., 2015). A obtenção de ésteres para aromatização e saborização de alimentos também constitui outra aplicação amplamente difundida do ácido butírico (Jang et al., 2014; Sarma et al., 2015).

aplicados na fermentação termofílica de vinhaças de mosto misto. Em reatores de leito fixo empacotado, Ferraz Jr. et al. (2014b) e (2015a) indicaram valores na faixa de 2.300-2.900 mg L⁻¹, também para fermentação termofílica da vinhaça de cana-de-açúcar. Apesar da potencialidade, eventuais limitações relacionadas à extração dos produtos de interesse da vinhaça, matriz altamente complexa, precisam ser superadas para aplicações economicamente atrativas desta opção tecnológica.

Em termos da produção de biopolímeros, o interesse na utilização de efluentes fermentados como substrato caracteriza-se como uma alternativa para redução dos custos de produção deste tipo de bioproduto (Reddy et al., 2012; Marang et al., 2013; Amulya et al., 2014). Os polihidroxicanoatos (PHAs) constituem os principais biopolímeros estudados, caracterizando-se como poliésteres alifáticos lineares acumulados (inclusões citoplasmáticas)²⁴ no interior de células microbianas expostas à escassez de nutrientes essenciais em uma unidade aeróbia conjugada ao reator acidogênico (Mohan et al., 2010; Marang et al., 2013; Amulya et al., 2014; Radivojevic et al., 2016). Estes compostos apresentam importantes propriedades mecânicas e termoplásticas, semelhantes às de polímeros convencionais obtidos na indústria petroquímica – p.ex. polietileno e polipropileno (Nonato et al., 2001; Albuquerque et al., 2007; Tokiwa e Ugwu, 2007; Reddy et al., 2012; Marang et al., 2013). Adicionalmente, são biodegradáveis sob diversas condições ambientais (Tokiwa e Ugwu, 2007; Sarma et al., 2015; Radivojevic et al., 2016), daí o interesse no seu uso como substitutos dos plásticos convencionais.

O poli-β-hidroxibutirato (PHB) e o poli-β-hidroxivalerato (PHV) são os tipos mais comuns de PHAs armazenados pelos micro-organismos (Tokiwa e Ugwu, 2007; Amulya et al., 2014), sendo sua produção altamente dependente do tipo ácido orgânico no efluente utilizado como substrato. Os ácidos butírico e acético caracterizam-se como os principais precursores do PHB (Albuquerque et al., 2007; Amulya et al., 2014), sendo, entretanto, o primeiro o substrato preferido de micro-organismos acumuladores de biopolímeros (Mohan et al., 2010; Marang et al., 2013). Por sua vez, a produção de PHV está relacionada à metabolização dos ácidos propiônico e valérico (Albuquerque et al., 2007; Amulya et al., 2014). Baseando-se na composição dos efluentes de reatores acidogênicos, com predomínio de ácido acético e butírico, a composição dos PHAs usualmente reportadas na literatura, em termos da proporção (%) de PHB e PHV (PHB:PHV) atinge valores na faixa de (60-70 : 40-

²⁴O acúmulo de PHAs pelos micro-organismos, especificamente algumas espécies de bactérias e arqueias, lhes confere uma reserva intracelular de carbono e energia (Albuquerque et al., 2007; Mohan et al., 2010; Reddy et al., 2012), a qual pode ser direcionada para o crescimento e manutenção celular sob condições de restrição de substrato. O fornecimento de carboidratos como substrato leva ao acúmulo de glicogênio como reserva energética das células; por sua vez, ácidos orgânicos são armazenados como PHAs (Albuquerque et al., 2007), reforçando o interesse no emprego de efluentes fermentados na produção de biopolímeros.

30) (Albuquerque et al., 2007). No caso da aplicação da vinhaça, baseando-se novamente no potencial para obtenção de ácido butírico a partir da acidogênese, esperam-se maiores proporções de PHB.

Assim como no direcionamento dos sistemas acidogênicos para recuperação de ácidos orgânicos, uma das principais limitações da produção de biopolímeros a partir de substratos complexos engloba sua purificação e extração, etapa que pode perfazer 26% do custo total de produção (Reddy et al., 2012). Entretanto, tendo em vista a importância dos descartes de biomassa para obtenção de produções satisfatórias de BioH₂, conforme previamente discutido (Anzola-Rojas e Zaiat, 2016), a recuperação dos biopolímeros pode ser uma alternativa atrativa para o aproveitamento do resíduo sólido gerado nesta prática, mesmo ao se considerar *layouts* em que o efluente fermentado é direcionado para outros fins, como a metanogênese. Acredita-se que as condições de instabilidade geradas no reator acidogênico submetido ao acúmulo excessivo de sólidos (biomassa) possam favorecer populações acumuladoras de biopolímeros. Destaca-se, ainda, que no contexto das biorrefinarias de cana-de-açúcar a purificação de PHAs pode ser econômica- e ambientalmente facilitada a partir do uso de solventes gerados como subprodutos da própria etapa de fermentação²⁵ (Nonato et al., 2001). Por fim, a operação de sistemas acidogênicos frequentemente está associada à geração de grandes quantidades de material extracelular (Peixoto et al., 2011; Fernandes et al., 2013; Anzola-Rojas e Zaiat, 2016), o qual é normalmente excretado pelas bactérias para garantir sua adesão no interior do reator. Desta forma, o aproveitamento econômico destes polímeros extracelulares, independentemente da recuperação de PHAs, também surge como uma opção nas biorrefinarias com etapa anaeróbia acidogênica, embora estudos complementares sejam necessários tanto para caracterizar a composição e aplicabilidade deste material quanto para prover detalhes sobre a viabilidade tecnológica de seu aproveitamento/recuperação.

Ainda baseando-se nas rotas compiladas na Figura 5, observa-se a possibilidade da potencialização da produção de H₂ a partir de resíduos orgânicos por meio da combinação de processos biotecnológicos, considerando o acoplamento da foto-fermentação à fermentação anaeróbia. Neste caso, os ácidos resultantes do metabolismo das bactérias fermentativas são utilizados como substrato por um grupo bacteriano específico, as bactérias púrpuras não sulfurosas (BPNS), estimando-se incrementos de pelo menos 50% na produção de H₂ obtida na fase acidogênica (Poggi-Varaldo et al., 2014). Em um processo mediado por nitrogenases, enzimas atuantes na fixação de nitrogênio, BPNS realizam fotossíntese anaeróbia, empregando a energia luminosa na síntese de hidrogênio molecular (H₂). Baseando-se na

²⁵A purificação de biopolímeros normalmente é baseada no emprego de compostos clorados, gerando correntes residuais de relevância ambiental. Desta forma, o emprego de solventes naturais para extração dos PHAs confere considerável vantagem ambiental ao processo (Nonato et al., 2001).

síntese (acidogênese) e consumo (foto-fermentação) de ácido acético, a produção teórica de H_2 pode ser triplicada (4 para 12 mol H_2 mol⁻¹ glicose) no acoplamento dos processos (Ghimire et al., 2015; Lazaro et al., 2015). Diferentemente da acidogênese, na foto-fermentação observa-se o consumo da matéria orgânica, o que possibilita considerável redução da carga poluente dos efluentes.

Entretanto, apesar deste potencial, algumas limitações ainda inviabilizam o escalonamento de sistemas foto-fermentativos, especialmente o requerimento de elevadas áreas pelos fotobiorreatores e a necessidade da manutenção de baixas concentrações de nitrogênio²⁶ no efluente (Poggi-Varaldo et al., 2014; Ghimire et al., 2015; Sarma et al., 2015). A literatura de referência apresenta um único relato da aplicação sequencial da fermentação anaeróbia e da foto-fermentação no tratamento de vinhaça, baseando-se no trabalho de Lazaro et al. (2015). Neste caso, os autores empregaram vinhaça acidificada, utilizando-se diferentes diluições, em reatores em batelada inoculados com consórcio microbiano foto-fermentativo enriquecido com acetato e butirato de sódio. Resumidamente, os autores relataram efeitos negativos de concentrações crescentes de vinhaça nos sistemas, tendo em vista a provável inibição do consórcio pelos elevados teores de ácidos orgânicos e/ou compostos tóxicos. Em contrapartida, a produção de CO_2 manteve-se crescente nos sistemas, indicando a manutenção da atividade microbiana no meio, direcionada para redução de sulfato. Ou seja, a necessidade de diluição e as elevadas concentrações de sulfato usualmente observadas nas vinhaças de cana-de-açúcar também podem limitar a aplicação de processos foto-fermentativos em biorrefinarias.

Portanto, as potenciais limitações tecnológicas²⁷ dos processos supracitados reforçam o interesse na exploração do acoplamento direto entre acidogênese e metanogênese nas biorrefinarias de cana-de-açúcar, utilizando-se, inclusive, a premissa de um aproveitamento energético mais eficiente da matéria orgânica residual a partir das correntes de biogás- H_2 e biogás- CH_4 (Poggi-Varaldo et al., 2014; Ghimire et al., 2015). Neste ponto, destaca-se que o aproveitamento do biogás- H_2 pode ser considerado um aspecto chave para potencialização da geração de energia em sistemas anaeróbios, a partir de diferentes abordagens (Figura 6), incluindo: [i] mistura com o biogás- CH_4 para formar o biohythane, de modo a melhorar as

²⁶Elevadas concentrações de nitrogênio direcionam o metabolismo microbiano para o crescimento celular, daí a necessidade da manutenção de baixas concentrações em sistemas foto-fermentativos. Nestas condições, as BPNS direcionam a energia luminosa absorvida em excesso para produção de $BioH_2$ (Poggi-Varaldo et al., 2014).

²⁷Destaca-se que tais limitações não excluem a eventual aplicação dos diferentes processos considerados no tratamento de efluentes em escala plena. Conforme indicado no texto, ressalta-se apenas que a maturidade tecnológica destes processos ainda demanda aperfeiçoamentos para tal fim. Por sua vez, apesar da otimização requerida ao se considerar o tratamento da vinhaça, sistemas metanogênicos apresentam expressiva consolidação tecnológica, baseando-se no emprego de inúmeras plantas em escala industrial, aplicadas nos mais diversos tipos de efluentes (van Lier et al., 2015).

propriedades combustíveis do CH_4 ; [ii] injeção no reator metanogênico para potencializar a produção de CH_4 , estimulando a atividade de arqueias hidrogenotróficas, [iii] aplicação em células a combustível para geração direta de eletricidade; e, [iv] purificação e comercialização como produto com alto valor agregado.

Figura 6. Rotas tecnológicas para o aproveitamento do biogás gerado na etapa acidogênica (biogás- H_2) no contexto da biodigestão anaeróbia com separação de fases. **Fonte:** Elaboração própria. Nota: ^aEngloba equipamentos como motores de combustão interna (MCI), turbinas a gás (TBG), dentre outros.

O termo biohythane deriva de hythane®, sendo o prefixo “bio” devido à origem biológica das correntes de H_2 e CH_4 . O hythane® é obtido a partir da adição de uma quantidade específica de H_2 (tipicamente na faixa de 10 a 25%, em termos de volume) ao gás natural comprimido (GNC) (Ma et al., 2010; Çeper, 2012; Liu et al., 2013). A mistura do H_2 ao CH_4 , seja este proveniente do gás natural ou biogás, propicia uma série de vantagens ao processo de combustão, decorrentes do aumento do limite de inflamabilidade²⁸ e da

²⁸Faixa de concentração, no ar, dos vapores de uma substância inflamável, na qual ocorre a combustão (Coimbra-Araújo et al., 2014). A ampliação da faixa de inflamabilidade implica uma ampliação dos limites de concentração de combustível na qual o processo de combustão ocorre. O limite inferior define a concentração abaixo da qual não há quantidade suficiente de combustível para a ocorrência da combustão, enquanto concentrações acima do limite superior desencadearão uma dissociação explosiva do combustível. A adição de pequenas quantidades de hidrogênio (até 20%, em termos de volume) em combustíveis ricos em CH_4 tende a estender o limite inferior da faixa de inflamabilidade (Çeper, 2012). Por outro lado, para a mistura de maiores

velocidade de chama²⁹ do CH₄, bem como da redução de sua temperatura de ignição³⁰ (Karim et al., 1996; Park et al., 2011; Liu et al., 2013). Considerando especificamente o emprego do biogás como combustível, a adição de H₂ tende a minimizar os efeitos da diluição causada pela presença do CO₂, fato que favorece, por exemplo, o emprego de condições de excesso de ar em motores³¹ (Çeper, 2012).

Em outra opção para o aproveitamento do biogás-H₂, sua injeção no reator metanogênico compreende um processo de purificação do biogás-CH₄, i.e., remoção de CO₂, *in loco*. Pesquisas recentes (Luo e Angelidaki, 2012; Luo et al., 2012) indicam o potencial deste processo para o aumento da proporção de CH₄ no biogás-CH₄, tendo em vista a conversão do H₂ e do CO₂ pela via metanogênica hidrogenotrófica (Reação 1). Por consequência, observa-se uma melhora nas propriedades combustíveis do biogás, a partir do aumento de sua densidade energética. Em termos do emprego na vinhaça neste tipo de configuração, o único relato é apresentado por Vatsala (1992), no qual o autor indicou um aumento de aproximadamente 30% na produção de CH₄ a partir da aplicação de biogás-H₂ (60% H₂, 40% CO₂) em reator metanogênico submetido ao tratamento de vinhaça de melaço de cana-de-açúcar, utilizando como controle um sistema operado sem injeção de H₂. Neste estudo, o autor não observou variação significativa na vazão de biogás dos sistemas comparados, indicando a substituição do CO₂ pelo CH₄ produzido na metanogênese hidrogenotrófica.

Luo et al. (2012) observaram resultado semelhante ao de Vatsala (1992) a partir da injeção de hidrogênio em reator metanogênico utilizado no tratamento de esterco, reportando um aumento de 22% na taxa de produção de CH₄. Neste caso, entretanto, os autores discutem a utilização de eletricidade excedente, i.e., não distribuída na rede, para geração do H₂ aplicável nos reatores metanogênicos, a partir de processos eletrolíticos. Outro ponto destacado pelos autores compreende a importância da resistência à transferência de massa

concentrações, em geral superiores a 30% (v/v), o limite superior da faixa é superado, fato que prejudica a conversão do combustível em energia e tende a danificar a unidade de conversão.

²⁹Parâmetro que determina a taxa de expansão da frente de chama em uma reação de combustão. O aumento da velocidade de chama propicia maiores taxas de liberação de calor, fato que aumenta a eficiência térmica da combustão (Porpatham et al., 2008). O aumento da eficiência térmica decorre da menor transferência de calor para fora do cilindro, baseando-se no uso de motores como tecnologia de conversão (Bauer e Forest, 2001).

³⁰A temperatura ou ponto de ignição compreende a temperatura mínima em que ocorre a combustão, sendo o simples contato do vapor do combustível com o comburente suficiente para o desencadeamento da reação.

³¹De acordo com Porpatham et al. (2008), maiores concentrações de O₂ (comburente), i.e., admissão de ar em excesso nos motores, propiciam maiores taxas de liberação de calor no processo de combustão, fato que também favorece o papel do H₂ como potencializador da produção de energia elétrica.

gás-líquido para obtenção de resultados positivos em termos do incremento da produção de CH_4 . A disponibilização de hidrogênio em quantidades excessivas no meio reacional tende a inibir a atividade acetogênica, limitando a degradação dos ácidos propiônico (Reação 2) e butírico (Reação 3). Para tanto, é interessante a imposição de certa resistência à transferência de massa no meio, buscando-se evitar tais efeitos adversos. Esta condição, entretanto, não tende a prejudicar a atividade das arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, considerando sua maior afinidade pelo H_2 . Desta forma, o H_2 disponibilizado em pequenas quantidades será rapidamente consumido pelas arqueias, não afetando a atividade acetogênica.

O biogás- H_2 também pode ser aplicado diretamente na produção de eletricidade, a partir do emprego de células a combustível. Para tanto, torna-se necessária sua prévia purificação para remoção de CO_2 , tendo em vista a elevada pureza requerida para o H_2 utilizado neste tipo de tecnologia (>98%, utilizando-se como referência sistema da Ballard). Diferentemente de acionadores primários convencionais (máquinas térmicas), a geração de eletricidade em células a combustível independe da combustão direta do combustível, baseando-se em um processo eletroquímico, no qual se verifica a geração de um fluxo contínuo de elétrons a partir da reação de eletrólise reversa, i.e., $\text{H}_2 + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ (EPA, 2015). Embora este tipo de equipamento apresente elevados custos de instalação e operação, constitui uma tecnologia limpa e silenciosa, observando-se apenas a liberação de água como “resíduo” do processo (EPA, 2015). Desta forma, a combinação da produção biológica de H_2 com posterior aplicação em células a combustível caracteriza-se como uma alternativa extremamente atrativa do ponto de vista ambiental, com grande potencial para recuperação de recursos no contexto das biorrefinarias.

Embora as opções sejam atrativas, a literatura ainda é escassa em termos de estudos sobre o papel do H_2 produzido na via biológica como potencializador da produção de energia a partir do biogás- CH_4 , sobretudo na indústria sucroalcooleira. Por exemplo, diversos trabalhos abordam os efeitos da adição de H_2 sobre a combustão (Porpatham et al., 2007; Çeper, 2012; Liu et al., 2013), utilizando, entretanto, H_2 produzido a partir de processos não biológicos. O gás natural também surge como principal combustível testado nesses trabalhos, de modo a se desconhecer as potencialidades da mistura entre o biogás- H_2 e o biogás- CH_4 para produção de energia, especialmente no caso da indústria sucroalcooleira brasileira. Neste

contexto, o próprio potencial energético do biogás-CH₄ é pouco explorado, conforme abordado na próxima seção, sendo os valores conhecidos obtidos a partir de poucas estimativas. Portanto, apesar das potencialidades das biorrefinarias de resíduos, com ênfase, neste caso, sobre o aproveitamento da vinhaça como matéria-prima energética, investigações criteriosas ainda são requeridas, buscando-se prover os responsáveis pelo setor sucroalcooleiro com informações relevantes para a implantação de sistemas anaeróbios nas destilarias.

3.3.1.1 Recuperação de Bionergia a partir da Biodigestão da Vinhaça

Conforme indicado anteriormente, a recuperação direta de bioenergia por meio do biogás a partir da digestão anaeróbia da vinhaça caracteriza-se como uma opção mais segura para aplicações em curto-médio prazo. A literatura apresenta poucos estudos baseados em estimativas do potencial energético da vinhaça de cana-de-açúcar, ressaltando-se, entretanto, a aplicação de processos em fase única³². Inicialmente destaca-se que diversas são as possíveis aplicações para o biogás, incluindo: [i] geração de calor ou vapor, por meio da queima em caldeiras; [ii] geração de eletricidade, a partir da aplicação em acionadores primários; [iii] uso como combustível automotivo, substituindo o gás natural; [iv] injeção na rede de gás natural; [v] produção de compostos químicos; dentre outras (Salomon et al., 2011; Moraes et al., 2014; Nogueira et al., 2015). Entretanto, dentre tais opções, a geração de eletricidade tende a maximizar o aproveitamento energético do biogás (Jeong et al., 2009), sobretudo nas biorrefinarias de cana-de-açúcar, baseando-se na disponibilidade de tecnologias de conversão consolidadas, conforme abordado em seguida, bem como na possibilidade da utilização da infraestrutura já instalada nas usinas, visando à comercialização da eletricidade produzida. Além disso, a eficiência da recuperação de energia em acionadores primários pode ser consideravelmente incrementada a partir do emprego de sistemas de cogeração, nos quais parte da energia térmica dissipada é recuperada e empregada na produção de vapor ou água quente (EPA, 2015).

Na Tabela 5 são compilados dados da estimativa do potencial energético (PE) da vinhaça de cana-de-açúcar a partir da aplicação de processos anaeróbios, tendo como base características da indústria sucroalcooleira no Brasil. Utilizando-se o PE padronizado, observam-se valores na faixa de 0,029 a 2,61 MJ L⁻¹_{EtOH}, sendo tal variabilidade atribuída às diferentes condições consideradas em cada caso, incluindo tipo de acionador primário,

³²Desta forma, os valores apresentados nesta seção referem-se ao biogás-CH₄ gerado em sistemas anaeróbios a partir de processos sem separação de fases.

características da vinhaça e do biogás, duração da safra, dentre outras. Embora tal aspecto dificulte a comparação dos dados, é pertinente apresentar o potencial de recuperação de energia a partir do biogás discutido nos respectivos trabalhos. Destaca-se, ainda, que a padronização do PE para a unidade “MJ L⁻¹_{EtOH}” permite uma comparação direta do *input* de energia obtida por meio da biodigestão com o poder calorífico inferior (PCI) do etanol – 21,2 MJ L⁻¹_{EtOH} (Fuess e Garcia, 2014a), desconsiderando-se contribuições da energia gerada a partir do bagaço e da palha.

Granato (2003) indicou o menor PE para a vinhaça de cana-de-açúcar (971 MWh safra⁻¹ ou 0,029 MJ L⁻¹_{EtOH}, Tabela 5) dentre os casos considerados, utilizando como base a produção de uma destilaria anexa com produção diária de etanol igual a 600 m³. Baseando-se em usinas com capacidade inferior ou semelhante, Salomon et al. (2011) e Moraes et al. (2014) apresentaram valores de PE pelo menos 22 vezes superiores ao caso de Granato (2003), sugerindo a subestimação do PE da vinhaça neste estudo específico. De qualquer forma, o autor indicou uma possível redução de 62,7% nos gastos com aquisição de eletricidade³³ junto à concessionária de energia a partir do aproveitamento do biogás na planta industrial, caracterizando a biodigestão da vinhaça como uma alternativa economicamente viável.

Por sua vez, em estudo detalhado, Moraes et al. (2014) discutiram o PE da vinhaça de cana-de-açúcar segundo diferentes perspectivas, utilizando como base destilarias autônomas (992,8 m³_{EtOH} d⁻¹) e anexas típicas (639,5 m³_{EtOH} d⁻¹) do setor sucroalcooleiro brasileiro. Segundo os autores, a eletricidade gerada a partir da aplicação do biogás em caldeiras ou motores de combustão interna (MCI) (21.700-27.500 MWh safra⁻¹, Tabela 5), independentemente do tipo de vinhaça (caldo ou mosto misto), seria capaz de suprir populações de 100-130 mil habitantes. Em termos da contribuição da biodigestão na geração de energia excedente, os autores estimaram um incremento de 55% na quantidade de eletricidade comercializada com as concessionárias, utilizando como base o valor atualmente resultante da queima do bagaço. Considerando um cenário mais amplo, a partir do volume total de vinhaça produzido na safra 2009/2010, Moraes et al. (2014) estimaram um PE para o biogás (6,9·10⁶ MWh, uso de MCI) comparável à produção de eletricidade nas usinas hidrelétricas de Marimbondo (99,7%) e Itumbiara (68,9%). Comparativamente à Itaipu, caracterizada pela segunda maior produção hidrelétrica no mundo na época do referido estudo, o PE da vinhaça supriria 7,5% do total gerado na usina.

³³Na usina considerada a geração de eletricidade a partir da queima do bagaço apresentava capacidade para suprir cerca de 90% do consumo total da unidade, daí a necessidade de aquisição de energia junto à concessionária local.

Tabela 5. Estimativas do potencial energético da vinhaça de cana-de-açúcar segundo diferentes autores.

Referência	Aplicação do biogás	Premissas das estimativas			Potencial energético ^a
		Usina	Vinhaça	Biogás	
Granato (2003)	Geração de eletricidade em TBG (Jenbacher, modelo J 320V81, 1000 MWh) - $\eta = 35\%$	Anexa	Caldo + melaço	BY = $0,45 \text{ Nm}^3 \text{ kg}^{-1} \text{ DQO}$	971 MWh safra^{-1b}
		CP: $600 \text{ m}^3_{\text{EtOH}} \text{ d}^{-1}$	DQO = 40 g L^{-1}	PCI = $5.100 \text{ kcal Nm}^{-3}$ (21,32 MJ Nm^{-3})	($0,029 \text{ MJ L}^{-1}_{\text{EtOH}}$)
	Número de TBG: 6				
van Haandel (2005)	Geração de eletricidade (APR não definido) - $\eta = 35\text{-}40\%$	Anexa ^c	Caldo + melaço	$Q_{\text{CH}_4} = 100 \text{ kg m}^{-3}_{\text{EtOH}}$	500 kWh $\text{m}^{-3}_{\text{EtOH}}$
		GV: $15 \text{ L}_{\text{vinhaça}} \text{ L}^{-1}_{\text{EtOH}}$	DQO = 32 g L^{-1}		($1,8 \text{ MJ L}^{-1}_{\text{EtOH}}$)
Rocha et al. (2010)	Geração de eletricidade em conjunto moto gerador: MCI Jenbacher (2,56 MW, $\eta = 40\%$) + Wartsila (1,35 MW, $\eta = 31\%$)	Anexa	Caldo + melaço	60% CH_4	16,82 kWh $\text{m}^{-3}_{\text{vinhaça}}$
		Safra: 210 dias	DQO = $28,4 \text{ g L}^{-1}$	PCI = $18,2 \text{ MJ kg}^{-1}$ (20,02 MJ Nm^{-3})	($0,73 \text{ MJ L}^{-1}_{\text{EtOH}}$)
		CP: $385,7 \text{ m}^3_{\text{EtOH}} \text{ d}^{-1}$			
		GV: $12 \text{ L}_{\text{vinhaça}} \text{ L}^{-1}_{\text{EtOH}}$			
	Número de MCI: 2 Jenbacher + 1 Wartsila				
Salomon et al. (2011)	Geração de eletricidade em MCI (Brasmetano, 250 kW) - $\eta = 29\%$	Safra: 180 dias	DQO = 29 g L^{-1}	60% CH_4	5,41 MW safra⁻¹
		CP: $500 \text{ m}^3_{\text{EtOH}} \text{ d}^{-1}$		MY = $0,27 \text{ Nm}^3 \text{ kg}^{-1} \text{ DQO}$	($23.371 \text{ MWh safra}^{-1}$)
		GV: $10 \text{ L}_{\text{vinhaça}} \text{ L}^{-1}_{\text{EtOH}}$		PCI = $21,23 \text{ MJ Nm}^{-3}$	($0,93 \text{ MJ L}^{-1}_{\text{EtOH}}$)
	Número de MCI: 22				

Tabela 5. Estimativas do potencial energético da vinhaça de cana-de-açúcar segundo diferentes autores (cont.).

Referência	Aplicação do biogás	Premissas das estimativas			Potencial energético ^a
		Usina	Vinhaça	Biogás	
Salomon et al. (2011)	Geração de eletricidade em mTBG (Ingersoll Rand, 250 kW) - $\eta = 32\%$	Safra: 180 dias	DQO = 29 g L ⁻¹	60% CH ₄	5,77 MW safra⁻¹
		CP: 500 m ³ _{EtOH} d ⁻¹		MY = 0,27 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	(24.926 MWh safra ⁻¹)
		GV: 10 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}		PCI = 21,23 MJ Nm ⁻³	(1,0 MJ L ⁻¹ _{EtOH})
	Número mTBG: 24				
Fuess e Garcia (2014a)	Geração de eletricidade (APR não definido) - $\eta = 30\%$	Autônoma ^c	Caldo	MY = 0,26 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	0,83 MJ L⁻¹_{EtOH}
		GV: 13 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}	DQO = 30,4 g L ⁻¹	PCI = 9,136 kWh m ⁻³ = 32,9 MJ m ⁻³	
		Anexa ^c	Caldo + melaço	MY = 0,26 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	1,25 MJ L⁻¹_{EtOH}
		GV: 13 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}	DQO = 45,8 g L ⁻¹	PCI = 9,136 kWh m ⁻³ = 32,9 MJ m ⁻³	
Moraes et al. (2014)	Geração de eletricidade em MCI (Caterpillar, Inc., modelo DM 5234, 50 Hz, 1.500 rpm, 400 V) - $\eta = 38\%$	Autônoma	Caldo	60% CH ₄	27.400 MWh safra⁻¹
		Safra: 167 dias	DQO = 21 g L ⁻¹	MY = 0,29 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	(6,34 MW safra ⁻¹)
		CP: 992,8 m ³ _{EtOH} d ⁻¹		PCI = 21,5 MJ Nm ⁻³	(0,55 MJ L ⁻¹ _{EtOH})
		GV: 10 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}			
		Anexa	Caldo + melaço	60% CH ₄	27.500 MWh safra⁻¹
		Safra: 167 dias	DQO = 33,6 g L ⁻¹	MY = 0,29 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	(6,37 MW safra ⁻¹)
		CP: 639,5 m ³ _{EtOH} d ⁻¹		PCI = 21,5 MJ Nm ⁻³	(0,86 MJ L ⁻¹ _{EtOH})
	Número de MCI: nd	GV: 9,8 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}			

Tabela 5. Estimativas do potencial energético da vinhaça de cana-de-açúcar segundo diferentes autores (cont.).

Referência	Aplicação do biogás	Premissas das estimativas			Potencial energético ^a
		Usina	Vinhaça	Biogás	
Moraes et al. (2014)	Cogeração de vapor e eletricidade em caldeiras industriais (Siemens, modelo SGT 100, 4.700 KW) - $\eta = 30\%$	Autônoma	Caldo	60% CH ₄	21.700 MWh safra⁻¹
		Safra: 167 dias	DQO = 21 g L ⁻¹	MY = 0,29 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	(5,02 MW safra ^{-1d})
		CP: 992,8 m ³ _{EtOH} d ⁻¹		PCI = 21,5 MJ Nm ⁻³	(0,44 MJ L ⁻¹ _{EtOH})
		GV: 10 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}			
	Número de caldeiras: nd	Anexa	Caldo + melaço	60% CH ₄	21.800 MWh safra⁻¹
		Safra: 167 dias	DQO = 33,6 g L ⁻¹	MY = 0,29 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	(5,04 MW safra ^{-1d})
		CP: 639,5 m ³ _{EtOH} d ⁻¹		PCI = 21,5 MJ Nm ⁻³	(0,68 MJ L ⁻¹ _{EtOH})
		GV: 9,8 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}			
Fuess e Garcia (2015)	Geração de eletricidade (APR não definido) - $\eta = 30\%$	Autônoma ^c	Caldo	MY = 0,28 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	1,73 MJ L⁻¹_{EtOH}
		GV: 13 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}	DQO = 30,4 g L ⁻¹	PCI = 9,96 kWh m ⁻³ = 35,8 MJ m ⁻³	
		Anexa ^c	Caldo + melaço	MY = 0,28 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	2,61 MJ L⁻¹_{EtOH}
		GV: 13 L _{vinhaça} L ⁻¹ _{EtOH}	DQO = 45,8 g L ⁻¹	PCI = 9,96 kWh m ⁻³ = 35,8 MJ m ⁻³	

Tabela 5. Estimativas do potencial energético da vinhaça de cana-de-açúcar segundo diferentes autores (cont.).

Referência	Aplicação do biogás	Premissas das estimativas			Potencial energético ^a
		Usina	Vinhaça	Biogás	
Nogueira et al. (2015)	Geração de eletricidade em conjunto moto gerador (MCI, 250 kW) - $\eta = 23\%$	Autônoma	Caldo	60% CH ₄	75.000 kWh d⁻¹
		CP: 500 m ³ EtOH d ⁻¹ GV: 10 L _{vinhaça} L ⁻¹ EtOH	DQO = 21 g L ⁻¹	PCI = 6,5 kWh m ⁻³ = 23,4 MJ m ⁻³	(0,54 MJ L ⁻¹ EtOH)
	Número de MCI: 4				
Albanez et al. (2016)	nd	Anexa	Caldo + melaço	MY = 9,47 mol kg ⁻¹ DQO =	17 MW safra⁻¹
		Safra: 253 dias	DQO ^e = 5,3 g L ⁻¹	0,21 Nm ³ kg ⁻¹ DQO	(103.224 MWh safra ⁻¹)
		CP: 596,4 m ³ EtOH d ⁻¹		PCI = 890,36 kJ mol ⁻¹ =	(2,46 MJ L ⁻¹ EtOH)
		GV: 13 L _{vinhaça} L ⁻¹ EtOH		39,7 MJ Nm ⁻³	

Notas: ^aValores em **negrito** foram apresentados nos trabalhos, valores em *italico* foram calculados a partir dos dados fornecidos, para fins de comparação; ^bEstimativa obtida a partir de dados médios da operação de uma usina de açúcar e álcool da região centro oeste do Estado de São Paulo - total de 12 safras (1990/1991-2001/2002) ; ^cEstimativas baseadas em balanços de massa para produção de 1m³ de etanol; ^dGeração de eletricidade (não contempla produção de vapor); ^eVinhaça diluída (~1:4); nd = dado não disponível; 1 kWh = 3,6 MJ.

Siglas: APR = acionador primários; BY = rendimento de biogás; CP = capacidade produtiva (usina); EtOH = etanol; GV = geração de vinhaça; MCI = motor de combustão interna; mTBG = microturbina a gás; MY = rendimento de metano; PCI = poder calorífico inferior; Q_{CH4} = vazão de metano; TBG = turbina a gás; η = eficiência de geração do APR.

Em uma última consideração sobre os dados apresentados na Tabela 5, Fuess e Garcia (2014a) e Fuess e Garcia (2015) apresentaram estimativas baseadas em balanços de energia para produção de 1 m³ de etanol a partir da cana-de-açúcar. Nos dois casos os autores indicam a capacidade do biogás para suprir completamente o consumo de energia fóssil na etapa industrial da produção de etanol, observando-se quantidades excedentes de eletricidade para comercialização independentemente da origem da vinhaça, i.e., caldo ou mosto misto.. Utilizando cálculos similares, Agler et al. (2008), Cassidy et al. (2008) e Khanal (2008) não observaram a potencial geração de excedente de energia, contudo, estimaram reduções no consumo de gás natural na faixa de 50 a 65% na indústria de etanol norte americana a partir do milho. Tais resultados expressivos, mesmo ao se considerar o emprego de outras matérias-primas, corroboram a importância da consolidação da biodigestão anaeróbia como tecnologia central no gerenciamento da vinhaça, justificando, por exemplo, a classificação desta como potencial matéria-prima para geração de bioenergia, conforme indicado no Plano Paulista de Energia – PPE 2020³⁴ (São Paulo, 2012). Segundo o PPE 2020, a partir de 1 m³ de vinhaça de cana-de-açúcar é possível a obtenção de 0,015 MWh de eletricidade (0,70 MJ L⁻¹_{EtOH}, considerando uma proporção vinhaça/etanol de 13:1), valor a partir do qual foi estimada uma produção total de 4,41·10⁶ MWh para o ano de 2020, capaz de suprir 3,3% da demanda elétrica total prevista para o Estado de São Paulo no referido ano (São Paulo, 2012).

Por fim, em termos das tecnologias consideradas na conversão do biogás nas estimativas (Tabela 5), observa-se o predomínio de motores de combustão interna (MCI). Os motores constituem uma tecnologia amplamente difundida e madura para geração de energia, caracterizando-se como equipamentos confiáveis e robustos para aplicações como acionadores primários em plantas de geração de eletricidade (NREL, 2003; EPA, 2015). Considerando dados da Agência de Proteção Ambiental norte americana, os motores perfazem 51,9% dos acionadores primários instalados nos Estados Unidos, seguidos pelas turbinas a gás (15,8%) (EPA, 2015). Dentre as principais vantagens do MCI pode-se destacar o baixo custo inicial, a rápida partida e a manutenção de elevadas eficiências em operações com carga parcial. Por outro lado, em comparação a outros acionadores, sua operação é mais ruidosa, bem como as emissões atmosféricas e os custos de manutenção tendem a ser mais elevados (NREL, 2003).

³⁴O Plano Paulista de Energia tem por objetivo incentivar a utilização de fontes energéticas renováveis, bem como estimular o uso racional e eficiente da energia, tendo como base de ação o decênio 2011-2020. Formulado com auxílio de especialistas de diversas entidades, dentre elas universidades, institutos de pesquisa, empresas e associações de classe, o plano propõe diretrizes para projetar a oferta de energia para 2020, buscando a inclusão de fontes energéticas alternativas na matriz energética do Estado de São Paulo. Neste contexto, a vinhaça é incluída no grupo das “novas fontes renováveis”. O desenvolvimento do PPE está atrelado ao cumprimento dos objetivos da Política Estadual de Mudanças Climáticas, buscando-se reduzir as emissões de GEEs.

Em termos da eficiência de conversão (η), valores na faixa de 27 a 41% são esperados para motores aplicados unicamente na geração de eletricidade, destacando-se que melhores desempenhos ($\eta > 40\%$) são esperados para equipamentos de maior porte (> 3 MW). Considerando o aproveitamento da energia térmica dissipada dos motores em unidades de cogeração, a eficiência global dos sistemas chega a 77-80% (EPA, 2015). Neste caso, o calor residual contido nos gases de exaustão, água de arrefecimento do motor (jaqueta e óleo lubrificante) e do ar pode ser empregado na geração de água quente ou vapor de baixa pressão³⁵, ambos com diversas aplicações. Especificamente no caso da água quente, as correntes geradas podem ser utilizadas no aquecimento de ambientes e em trocas de calor em diferentes processos (NREL, 2003; Moraes et al., 2015). Tendo em vista a disponibilidade de motores de grande porte para aplicações com biogás, o mercado apresenta diversas opções, com destaque para os conjuntos geradores fornecidos pelas empresas GE Jenbacher, Caterpillar e Wartsila, por exemplo.

Embora apareçam em um menor número de trabalhos (Tabela 5), turbinas a gás também surgem como importantes acionadores primários passíveis de aplicação na geração de eletricidade a partir do biogás. Utilizando-se novamente como referência dados da Agência de Proteção Ambiental dos EUA, embora a quantidade de turbinas instaladas em território norte americano seja pouco menos de um terço do número de motores (15,8 vs. 51,9%), sua capacidade de geração é significativamente superior (~23 vezes) à dos motores (53.320 vs. 2.288 MW) (EPA, 2015). O interesse no uso das turbinas decorre do considerável avanço tecnológico no setor a partir da década de 1980, quando a eficiência e a confiabilidade de turbinas de porte relativamente pequeno (1-40 MW) progrediram suficientemente para garantir aplicações robustas no setor industrial (EPA, 2015).

Em termos da eficiência elétrica, turbinas usualmente apresentam eficiências na faixa de 24-36%, entretanto, assim como no caso dos motores, equipamentos de maior porte podem apresentar $\eta > 40\%$. Em aplicações com recuperação de calor, a eficiência global dos sistemas atinge 66-71%, verificando-se a possibilidade de geração de vapor de alta pressão³⁶ para uso na planta industrial (EPA, 2015). Turbinas a gás não requerem sistemas de resfriamento, geram baixas emissões atmosféricas e, assim como motores, apresentam alta confiabilidade. Em contrapartida, apresentam drásticas reduções de eficiência durante a aplicação de cargas

³⁵A energia térmica residual de motores tende a ser insuficiente para geração de vapor de alta pressão, considerando maiores perdas por dissipação no corpo do motor. A corrente de gases de exaustão em motores contém apenas metade do calor dissipado no processo (NREL, 2003).

³⁶Diferentemente de motores de combustão interna, o calor produzido nas turbinas a gás apresenta alta qualidade, i.e., a corrente de gases de exaustão possui elevada temperatura, daí a possibilidade de recuperação de vapor de alta pressão (NREL, 2003). Uma vez que não é necessário o resfriamento do corpo do equipamento, praticamente toda energia térmica residual permanece na corrente de exaustão.

parciais, bem como requerem a pressurização do fluido de trabalho e do combustível (EPA, 2015).

Destaca-se que a eficiência de geração de eletricidade na turbina a gás (TBG) pode ser potencializada com o acoplamento de uma turbina a vapor (TBV)³⁷ para aproveitar o calor residual da corrente de exaustão. Neste tipo de configuração, denominada ciclo combinado (CC), instala-se um sistema de geração de vapor na saída da TBG (HRSG, do inglês *heat recovery steam generator*), o qual alimenta a TBV com vapor de alta pressão. O ciclo combinado caracteriza-se como a tendência tecnológica em plantas de geração de energia em aplicações industriais de grande porte, permitindo a obtenção de eficiências elétricas superiores a 50% (EPA, 2015), i.e., valores consideravelmente superiores aos verificados em sistemas simples (aplicação de acionadores primários únicos).

Células a combustível compreendem outro tipo de tecnologia passível de aplicação na geração de eletricidade a partir do biogás, conforme previamente indicado. Entretanto, tendo em vista o elevado custo associado à instalação e operação destes sistemas (EPA, 2015), acredita-se que, neste momento, a opção por acionadores primários mais baratos (e com eficiência compatível) seja mais interessante para o aproveitamento do biogás no contexto das usinas de açúcar e álcool. Ressalta-se que aspectos específicos do funcionamento dos acionadores primários supracitados, i.e., motores de combustão interna, turbinas a gás e turbinas a vapor, são apresentados na seção de materiais e métodos, a partir da página 131.

3.4 Considerações Finais – Revisão de Literatura

Baseando-se nas informações até aqui apresentadas, reiteram-se, sucintamente, os pontos com os quais a presente pesquisa procura contribuir, incluindo: [i] a obtenção de produções contínuas de BioH₂ utilizando-se reatores de leito fixo em operações no longo prazo; [ii] a aplicabilidade do reator de leito fixo estruturado no tratamento da vinhaça, buscando-se uma operação estável e eficiente, também no longo prazo; e, [iii] o papel da fase acidogênica como potencializadora da recuperação de bioenergia (biogás-H₂) nas plantas de biodigestão.

³⁷As turbinas a vapor constituem um dos acionadores primários mais versáteis e antigos, nas quais, diferentemente de motores e turbinas a gás, a eletricidade é um subproduto do calor. A TBV não converte diretamente o combustível em eletricidade, dependendo de uma fonte de calor separada para geração de vapor de alta pressão (NREL, 2003; EPA, 2015). A geração de vapor e eletricidade a partir da biomassa lignocelulósica em usinas de açúcar e etanol é baseada no acoplamento entre caldeiras e turbinas a vapor: a queima do bagaço nas caldeiras produz o vapor, que por sua vez aciona a TBV para geração de potência, no chamado ciclo superior. Neste caso, a energia primária é empregada na geração de eletricidade, sendo a fração rejeitada aproveitada na produção de calor útil nos processos da planta (Palacio et al., 2012).

4. MÉTODOS E ETAPAS DA PESQUISA

Neste capítulo são apresentados os procedimentos metodológicos definidos para o cumprimento dos objetivos e verificação das hipóteses previamente apresentadas. Resumidamente, a elaboração do presente trabalho pode ser dividida em três fases básicas. A primeira estritamente conceitual, baseada no levantamento de informações pertinentes aos temas de interesse; a segunda estruturada no desenvolvimento da etapa experimental, a partir da operação dos reatores biológicos em escala de bancada, bem como da análise dos resultados obtidos; e, finalmente, a terceira baseada em simulações de cenários energéticos a partir dos dados de produção de biogás obtidos experimentalmente. Na Figura 7 é apresentado um fluxograma simplificado da execução do trabalho, procurando-se inserir as hipóteses elencadas especificamente na segunda e terceira etapas.

Figura 7. Inserção das hipóteses de trabalho nas diferentes etapas da pesquisa.

Nas próximas seções apresenta-se a descrição da metodologia utilizada nas diferentes etapas do trabalho, incluindo:

- i. Coleta e caracterização físico-química de amostras de vinhaça;
- ii. Aplicação de reatores anaeróbios operados em série (fase acidogênica + fase metanogênica), em escala de bancada, no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar;
- iii. Análises de biologia molecular³⁸;
- iv. Caracterização dos sólidos descartados da fase acidogênica;
- v. Métodos analíticos e roteiros de cálculos; e,
- vi. Avaliação de rotas tecnológicas para o aproveitamento energético do biogás no contexto de uma biorrefinaria de açúcar e etanol, incluindo aspectos das avaliações técnica, ambiental e econômica (simulações).

4.1 Coleta e Caracterização das Amostras de Vinhaça

A vinhaça utilizada na etapa experimental foi coletada junto à Usina São Martinho, localizada no Município de Pradópolis, Estado de São Paulo. O período de coleta compreendeu a safra 2014/2015 de cana-de-açúcar. Resumidamente, a usina visitada corresponde à maior unidade processadora de cana-de-açúcar do mundo, respondendo por mais de 50% da capacidade de moagem do Grupo São Martinho, estimada em 20 milhões de toneladas para a safra 2014/2015. Os principais produtos da unidade incluem o açúcar e o etanol (anidro, hidratado e industrial), portanto, a destilaria caracteriza-se como anexa – emprego de melaço e caldo de cana no processo fermentativo.

Foram realizadas sete coletas de vinhaça ao longo da safra de cana-de-açúcar, conforme apresentado na Tabela 6. Posteriormente à coleta, as amostras de vinhaça eram armazenadas em reservatórios plásticos (volumes de 10 e 20 L) e congeladas (-20°C), buscando-se manter as suas características físico-químicas preservadas, especialmente quanto à concentração de carboidratos. Na Tabela 6 também são compiladas as principais características físico-químicas da vinhaça, de modo que as análises foram feitas de acordo com os procedimentos e metodologias descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA/AWWA/WEF, 2005). As amostras também foram

³⁸A análise da estrutura microbiana dos reatores operados no presente trabalho esteve vinculada ao projeto de Pós-Doutorado Fapesp intitulado “Estrutura e dinâmica funcional da comunidade microbiana de digestores anaeróbios, aplicados à recuperação de energia e adequação ambiental de resíduos gerados no processo produtivo do bioetanol de 1ª e 2ª geração” (Processo 2013/15665-8), conduzido pelo Dr. Antônio Djalma Nunes Ferraz Júnior junto ao Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE/CNPEN).

caracterizadas quanto à concentração de macro- e micronutrientes; conforme apresentado no Apêndice A (p. 331).

Tabela 6. Caracterização físico-química das amostras de vinhaça de cana-de-açúcar utilizadas na alimentação dos reatores.

Parâmetro	Período de amostragem					
	C1 (mai-2014)	C2 (jun-2014)	C3 (jul-2014)	C4 (ago-2014)	C5 (out-2014)	C6-7 (nov/dez-2014)
DOQt ^a (g L ⁻¹)	32,2	29,1	23,4	31,6	31,6	21,7
DQOs (g L ⁻¹)	26,1	23,8	18,3	26,2	25,6	17,6
DBO (g L ⁻¹)	19,2	17,3	11,7	14,5	15,3	9,7
Razão DBO/DQO	0,60	0,60	0,60	0,45	0,48	0,44
COT (g L ⁻¹)	14,1	10,8	7,7	12,2	10,5	5,7
CH (g L ⁻¹)	6,9	5,1	4,6	6,8	6,6	3,9
P _{total} (mg L ⁻¹)	147	21	26	151	290	43
NTK (mg L ⁻¹)	774	1.243	848	713	734	598
SSV (mg L ⁻¹)	940	781	790	1.158	931	1.411
Fenóis totais (mg L ⁻¹)	1,5	1,7	3,5	1,1	1,6	0,5
K (mg L ⁻¹)	4.175	4.000	2.720	2.500	4.050	4.010
SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	1.805	1.726	1.163	1.044	2.000	2.079
pH	4,6	4,7	4,5	4,4	4,5	4,3

Notas: ^aValores referentes a amostras filtradas em papel qualitativo 3 µm.

Siglas: DQOt = demanda química de oxigênio (total); DQOs = demanda química de oxigênio (solúvel); DBO = demanda bioquímica de oxigênio; CH = carboidratos totais; P_{total} = fósforo total; NTK = nitrogênio total Kjeldahl; SSV = sólidos suspensos voláteis; K = potássio; SO₄²⁻ = sulfato.

Previamente à alimentação do reator acidogênico, a vinhaça foi submetida à filtração em papel qualitativo de porosidade igual 3 µm (Nalgon Equipamentos Científicos, Itupeva, SP, Brasil; densidade de 80 g m⁻²), seguindo-se protocolo semelhante ao descrito em Ferraz Jr. et al. (2014b), (2015a) e (2015b). Com tal procedimento buscou-se reduzir a concentração de sólidos suspensos na corrente afluyente ao reator e, conseqüentemente, evitar problemas de

colmatação do leito fixo empacotado (fase acidogênica) ao longo da operação. A denominação DQO total (DQOt), utilizada no presente texto, corresponde à concentração de matéria orgânica aferida nas amostras de vinhaça após filtração em 3 μm . Os valores de carga orgânica volumétrica aplicada (COVa) foram calculados a partir da DQOt. A denominação DQO solúvel (DQOs) corresponde à concentração de matéria orgânica aferida em amostras de vinhaça filtrada em membrana de 0,45 μm .

4.2 Aplicação da Biodigestão Anaeróbia em Duas Fases no Tratamento de Vinhaça: Reatores, Monitoramento e Procedimentos Analíticos

Nesta seção são apresentados aspectos referentes às características construtivas dos reatores – fase acidogênica e metanogênica, inoculação e condições operacionais empregadas. A montagem dos reatores foi baseada em trabalhos previamente desenvolvidos no Laboratório de Processos Biológicos (LPB/EESC/USP), com destaque para aqueles baseados na avaliação de reatores de leito fixo para produção de H_2 (Peixoto et al., 2011; Penteado et al., 2013; Ferraz Jr. et al. 2014b, 2015a e 2015b). Detalhes do aparato experimental utilizado, incluindo os sistemas de alimentação, os reatores e os sistemas de coleta de biogás, são apresentados nas Figuras 8 (representação esquemática) e 9 (equipamentos utilizados).

4.2.1 Fase Acidogênica: Reator, Inóculo e Condições Operacionais

Na fase acidogênica empregou-se um reator de leito fixo empacotado (APBR, da sigla em inglês de *anaerobic packed-bed reactor*), confeccionado em acrílico, com as seguintes características construtivas: diâmetro interno de 80 mm, diâmetro externo de 88 mm e comprimento total aproximado de 840 mm (incluindo a altura da porção cônica localizada na câmara de alimentação), de modo a perfazer um volume total igual a 4,5 L. O reator foi preenchido com aparas de polietileno de baixa densidade (PEBD), sendo as partículas aproximadamente cilíndricas (comprimento = 5 mm e diâmetro = 4,5 mm) e com área superficial específica de $9,4 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ (Ferraz Jr. et al. 2015b), resultando em um volume útil de aproximadamente 2,3 L (descontando-se o volume do *headspace*, equivalente a 0,35 L). O leito foi separado e acomodado entre telas de aço inoxidável (abertura de 5 mm).

A opção pela utilização do PEBD como material suporte no reator acidogênico se deve a dois fatores: [i] no trabalho de Ferraz Jr. et al. (2015b) o PEBD apresentou-se como material mais adequado à operação do reator acidogênico aplicado no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar, com vantagem sobre partículas de argila expandida por apresentar baixa

suscetibilidade ao desgaste; e, [ii] Silva et al. (2006) demonstraram que o PEBD compreendeu a melhor matriz para a adesão de bactérias hidrolíticas e fermentativas (em comparação à espuma de poliuretano, carvão vegetal e partículas cerâmicas), não sendo propício para a fixação de arqueias metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato. Na Figura 10 são apresentadas características construtivas do APBR, considerando aspectos da montagem na câmara de temperatura e do material utilizado como suporte.

A inoculação do reator foi realizada a partir da fermentação natural da vinhaça, seguindo-se o protocolo descrito por Leite et al. (2008). Resumidamente, um volume inicial de 10 litros de vinhaça previamente filtrada (3 μm) e com pH corrigido ($\sim 6,5$, Ferraz Jr. et al., 2014b, 2015a e 2015b) foi mantido em repouso e exposto à atmosfera durante três dias em câmara escura, sob condições termofílicas de temperatura (55°C). Posteriormente, a vinhaça fermentada foi bombeada para o reator de leito fixo e recirculada por um período de cinco dias, buscando-se promover a adesão/retenção da biomassa acidogênica no leito. Ao término da recirculação, iniciou-se a alimentação do APBR com a vinhaça filtrada.

O reator foi continuamente operado em condições controladas de temperatura (55°C), dadas as vantagens previamente apresentadas, por 240 dias, utilizando-se uma bomba peristáltica (Figuras 8 e 9) modelo *Minipuls Evolution* (Gilson Inc., Middleton, WI, EUA). A carga orgânica volumétrica aplicada (COVa) foi mantida em aproximadamente $84,2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, previamente definida como ótima para a produção termofílica de hidrogênio a partir da vinhaça de cana-de-açúcar (Ferraz Jr. et al., 2014b e 2015a), perfazendo um TDH de $\sim 7,5 \text{ h}$. Apenas por volta do 160° dia de operação aumentou-se a COVa para aproximadamente $100\text{-}110 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ – perfazendo um TDH de 6 horas, procurando-se recuperar a atividade hidrogenogênica da biomassa acidogênica. Esta condição foi mantida por cinco dias, período após o qual retomou-se a aplicação de uma COVa de $84,2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. O ajuste do pH inicial da vinhaça ($5,5\text{-}7,5$) foi feito mediante o uso de solução concentrada de hidróxido de sódio (NaOH) – 50% (m/v). Na Tabela 7 são compiladas as condições operacionais aplicadas ao longo da operação do APBR.

O diferencial do presente trabalho em relação aos demais estudos baseados na produção de BioH_2 a partir da vinhaça compreendeu o emprego de estratégias operacionais específicas, buscando-se prevenir a ocorrência de perdas de desempenho severas ao longo da operação. As estratégias englobaram: [i] manutenção de elevada e constante COVa; [ii] ajuste de pH a partir do pH medido na vinhaça acidificada; e, [iii] descarte periódico de biomassa, sendo o material posteriormente submetido à caracterização microbiológica. As estratégias operacionais foram aplicadas a partir da observação de quedas na produção de BioH_2 , conforme detalhadamente discutido na seção 5, p. 149.

Figura 8. Representação esquemática do aparato experimental utilizado: 1- reservatório de vinhaça bruta, 2- bombas peristálticas, 3- APBR (fase acidogênica), 4- reservatório de vinhaça acidificada, 5- ASTBR (fase metanogênica), 6- reator UASB (fase metanogênica), 7- selos hídricos e 8- gasômetros, (—) correntes líquidas, (---) correntes de biogás. **Fonte:** Elaboração própria.

Figura 9. Detalhes do aparato experimental utilizado: (a) montagem dos reatores na câmara de temperatura; (b) reservatórios para alimentação dos reatores; (c) bombas peristálticas; (d) gasômetros. Legenda: 1- APBR (fase acidogênica), 2- reator UASB (fase metanogênica), 3- ASTBR (fase metanogênica), 4- coleta de vinhaça acidificada, 5- coleta de vinhaça metanizada (biodigerida), 6- selos hídricos, 7- reservatório de vinhaça bruta, 8- reservatório de vinhaça acidificada. **Fonte:** Elaboração própria.

Figura 10. Detalhes do reator de leito fixo empacotado (APBR) utilizado na fase acidogênica: (a) instalação na câmara de temperatura; (b) desenho esquemático simplificado (medidas em mm); (c) aparas de PEBD utilizadas como meio suporte. **Fonte:** Elaboração própria.

4.2.2 Fase Metanogênica: Reatores, Inóculo e Condições Operacionais

Os sistemas empregados na fase metanogênica compreenderam um reator de leito fixo estruturado (ASTBR, da sigla em inglês de *anaerobic structured-bed reactor*) e um reator de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB, da sigla em inglês de *upflow anaerobic sludge blanket reactor*), operados em paralelo (Figuras 8 e 9). Os reatores foram confeccionados em acrílico, apresentando o ASTBR as seguintes características construtivas: diâmetro interno de 80 mm, diâmetro externo de 88 mm e comprimento total aproximado de 630 mm (incluindo a

altura da porção cônica localizada na câmara de alimentação), com volume total de aproximadamente 3 L (incluindo o *headspace*). O leito fixo ordenado foi montado a partir da fixação de tiras de espuma de poliuretano (10x10x300 mm) entre telas de aço inoxidável alocadas na estrutura de acrílico, resultando em um volume útil de 2,5 L – foram utilizadas 17 tiras ao total. Na Figura 11 são apresentadas características construtivas do ASTBR, considerando aspectos da montagem na câmara de temperatura e do meio suporte.

Tabela 7. Condições operacionais aplicadas na operação do APBR – fase acidogênica.

Período de operação	Vinhaça (coleta)	COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	TDH (h)	pH inicial
1-28	C1	84,2	7,5	6,5
29-69	C2	84,2	7,5	6,5
70-97	C3	84,2	5,7	6,5
98-114	C4	84,2	7,5	6,5
115-142	C4	84,2	7,5	7,5
143-159	C5	84,2	7,5	7,5
160-165	C5	100-110	6,0	6,5
166-176	C5	84,2	7,5	6,5
177-191	C5	84,3	7,6	5,5
192	C5	84,2	7,5	4,4
193-199	C5	84,2	7,5	5,5
200-240	C6-7	84,2	7,5	5,5

No caso do UASB, as características construtivas incluem: corpo principal, destinado ao desenvolvimento da manta de lodo, com comprimento aproximado de 440 mm, diâmetros interno e externo de 80 e 88 mm, respectivamente. A porção superior do reator, projetada como um separador trifásico, apresentava diâmetros interno e externo de 110 e 118 cm e comprimento de 150 mm. A coleta de gás no topo do reator foi realizada instalando-se um funil de vidro invertido (Figura 8). O volume útil do reator correspondeu a 3,5 L.

Na inoculação dos reatores metanogênicos utilizou-se lodo proveniente de um reator UASB operado em escala plena, também aplicado no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar sob condições termofílicas (55°C), localizado na Usina São Martinho (Pradópolis, SP). No caso do UASB, cerca de 40% do volume útil do reator (1,4 L) foram preenchidos com lodo termofílico. Posteriormente, iniciou-se a alimentação do sistema com a vinhaça acidificada. Quanto ao ASTBR, a inoculação seguiu o protocolo descrito por Zaiat et al. (1994): triturou-se o lodo termofílico diluído em água (proporção 1:1), submergiu-se o meio

suporte (tiras de poliuretano) na mistura por aproximadamente 2 h, drenou-se o excesso de lodo e, finalmente, iniciou-se a alimentação do reator com vinhaça acidificada, nas mesmas condições do UASB. Na Figura 12 apresenta-se a condução da etapa de inoculação dos reatores metanogênicos.

Figura 11. Detalhes do reator de leito fixo estruturado (ASTBR) utilizado na fase metanogênica: (a) instalação na câmara de temperatura; (b) desenho esquemático simplificado (medidas em mm); (c) e (d) tiras de poliuretano utilizadas como meio suporte. **Fonte:** Elaboração própria.

Figura 12. Inoculação dos reatores metanogênicos: (a) preenchimento do UASB; (b) preenchimento do ASTBR (lodo triturado) e (c) adesão do inóculo ao meio suporte. **Fonte:** Elaboração própria.

Com relação às condições operacionais, procurou-se seguir o protocolo apresentado em Ferraz Jr. et al. (2016). Inicialmente programou-se a operação dos reatores em três fases, sendo cada uma caracterizada por uma COV_a distinta: iniciou-se a alimentação dos reatores

com uma COVa de $15 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, a qual foi incrementada posteriormente para 20 e $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. No caso do ASTBR aplicou-se um novo aumento de carga, i.e., 25 para $30 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, buscando-se identificar o limite operacional do sistema em termos de remoção de matéria orgânica e produção de CH_4 . Bombas peristálticas (Figuras 8 e 9) do modelo *Minipuls Evolution* (Gilson Inc., Middleton, WI, EUA) também foram utilizadas na alimentação de cada reator. Previamente à aplicação nos reatores, o pH da vinhaça acidificada era ajustado para aproximadamente 7,0 a partir do emprego de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) – $6,25 \text{ g L}^{-1}$ (Ferraz Jr. et al., 2016), buscando-se também garantir o adequado tamponamento dos sistemas. Ao longo da operação procurou-se reduzir a concentração de NaHCO_3 fornecida no afluente, tendo em vista o elevado pH observado no efluente dos reatores em determinados períodos. Na Tabela 8 são resumidas as condições operacionais aplicadas nos reatores metanogênicos.

Tabela 8. Condições operacionais aplicadas na operação dos reatores metanogênicos.

Período de operação (d)	COVa ($\text{kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$)	TDH (h)		$[\text{NaHCO}_3]_{\text{afluente}}$ (g L^{-1})
		UASB	ASTBR	
1-53	15	36,8	36,8	6,25
54-123	20	27,6	27,6	6,25
124-128	20	27,6	27,6	5,0
129-174	25	22	22	5,0
175-182	25	22	22	4,0
183-192	25	22	22	3,0
193-210	25	22	22	6,25
211-240	30	-	18-20	6,25

4.2.3 Avaliação do Desempenho dos Reatores: Métodos Analíticos e Cálculos

O desempenho dos reatores, em termos da fase líquida, foi avaliado a partir do monitoramento regular dos seguintes parâmetros: pH, demanda química de oxigênio total (DQOt) e solúvel (DQOs), teor de sólidos suspensos voláteis (SSV), concentração de carboidratos totais (CH), concentração de AGVs e de solventes, alcalinidade parcial e intermediária (fase metanogênica). As análises foram aplicadas nas amostras de vinhaça bruta (afluente do APBR), acidificada (efluente do APBR e afluente dos reatores metanogênicos) e metanizada ou biodigerida (efluente dos reatores metanogênicos), conforme frequência

amostral apresentada na Tabela 9. Na Tabela 9 também são apresentados os métodos analíticos empregados, sendo alguns detalhes descritos na sequência:

- DQOt, DQOs e SSV: análises realizadas de acordo com os protocolos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA/AWWA/WEF, 2005). Nas análises de DQOs as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 μm . Na determinação do teor de SSV a filtração foi conduzida em membranas de 1,2 μm ;
- Carboidratos totais: determinações conduzidas segundo método proposto por Dubois et al. (1956), por meio da desidratação dos açúcares com ácido sulfúrico, complexação dos produtos com adição de fenol e leitura da absorbância da solução em 490 nm. A curva de calibração (20-180 mg-sacarose L^{-1}) foi feita a partir de uma solução padrão de sacarose 1% (m/v), sendo, portanto, as leituras obtidas em termos de g-sacarose por litro de vinhaça. As amostras foram filtradas em membranas de 0,45 μm previamente às análises. Para fins de apresentação dos resultados e, tendo em vista a complexidade composicional da vinhaça, utilizou-se a terminologia carboidratos totais (CH);
- Alcalinidade parcial (AP) e intermediária (AI): análises realizadas segundo o protocolo descrito por Ripley et al. (1986), empregando-se titulometria potenciométrica. Previamente às análises, as amostras foram centrifugadas (10.000 rpm, 5 min) para eliminação da interferência de sólidos suspensos; e,
- Ácidos graxos voláteis e solventes: a determinação das concentrações de AGVs (ácidos acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico e capróico) e solventes (metanol, etanol e n-butanol) foi realizada em cromatógrafo gasoso modelo GC 2010 (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, EUA), equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna HP-INNOWAX (comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,25 μm). As amostras foram preparadas em frasco-padrão de vidro (10 mL, amostrador COMBI-PAL) com fita veda-rosca, tampa rosqueável e septo de silicone com 18 mm de diâmetro. No preparo das amostras, 1 g de cloreto de sódio (NaCl), 2 mL de amostra, 70 μL de solução de isobutanol (1 g L^{-1}), 100 μL de solução de ácido crotônico (700 mg L^{-1}) e 200 μL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) (2 M) foram adicionados aos frascos previamente secos em estufa a 100°C para remoção de umidade. Especificidades da determinação dos limites de detecção e das condições cromatográficas podem ser consultadas em Adorno et al. (2014).

Tabela 9. Frequência de análise e métodos analíticos empregados no monitoramento dos reatores.

Reator	Parâmetro	Frequência de análise (na semana)	Método	Referência
APBR - fase acidogênica	pH	Diária	Potenciometria	APHA/AWWA/WEF (2005)
	DQOt, DQOs	2-3x	Digestão/ Espectrofotometria	APHA/AWWA/WEF (2005)
	CH	2-3x	Carboidratos totais	Dubois et al. (1956)
	SSV	2x	Gravimetria/ Calcinação	APHA/AWWA/WEF (2005)
	AGVs + solventes	2x	Cromatografia gasosa	Adorno et al. (2014)
	Vazão de biogás	Diária	-	-
	Composição de biogás	2-3x	Cromatografia gasosa	Perna et al. (2013)
UASB/ASTBR - fase metanogênica	pH	Diária	Potenciometria	APHA/AWWA/WEF (2005)
	DQOt, DQOs	2-3x	Digestão/ Espectrofotometria	APHA/AWWA/WEF (2005)
	SSV	2x	Gravimetria/ Calcinação	APHA/AWWA/WEF (2005)
	Alcalinidade	2x	Titulometria potenciométrica	Ripley et al. (1956)
	AGVs + solventes		Cromatografia gasosa	Adorno et al. (2014)
	Vazão de biogás	Diária	-	-
	Composição de biogás	2-3x	Cromatografia gasosa	Perna et al. (2013)

Em termos do monitoramento da fase gasosa, a vazão de biogás em cada reator foi medida continuamente, utilizando-se gasômetros (modelo MGC-1 V30, Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GMBH & CO. KG, Bochum, Alemanha) acoplados ao *headspace* dos sistemas (Figuras 8 e 9). A análise da composição das correntes de biogás- H_2 e biogás- CH_4 – hidrogênio (H_2), gás carbônico (CO_2) e metano (CH_4) – foi realizada em cromatógrafo gasoso modelo GC 2010 (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, EUA), equipado com detector de condutividade térmica (TCD), com coluna Supelco Carboxen® 1010 Plot (30 m x 0,53 mm de diâmetro externo, 0,30 μm de espessura), utilizando-se argônio como gás de arraste (5,66 mL min⁻¹). As temperaturas do injetor e do detector foram de 220°C e 230°C, respectivamente. A rampa de aquecimento da coluna foi de 130 a 135°C, a 46°C min⁻¹ (Perna et al., 2013), com tempo de corrida aproximado de 6 min.

As variáveis-resposta usadas para avaliar o desempenho do reator acidogênico – APBR – incluíram: eficiência de remoção de DQOt e DQOs (ER_{DQO} , em %); eficiência de conversão de carboidratos (EC_{CH} , em %); vazão de biogás (VBG, em mL d⁻¹); produção volumétrica de hidrogênio (PVH, em mL H_2 L⁻¹ d⁻¹); vazão molar de hidrogênio (VMH, em mmol H_2 h⁻¹); rendimento de hidrogênio³⁹ (HY, em mol H_2 mol⁻¹CH); conteúdo de hidrogênio no biogás (% H_2 , em %); e, razão ácido butírico-ácido acético (HBu/HAc). Ao final do período de operação do APBR foi obtido o perfil de variação temporal da carga orgânica volumétrica específica (COVe), utilizando-se dados de concentração de SSV quantificados nos volumes de biomassa descartados ao longo da operação, na corrente efluente ao reator e no interior deste. A metodologia empregada no cálculo da COVe é apresentada na sequência.

No caso dos reatores metanogênicos, as variáveis incluíram: eficiência de remoção de DQOt e DQOs (ER_{DQO} , em %); razão alcalinidade intermediária-alcalinidade parcial (AI/AP); vazão de biogás (VBG, em mL d⁻¹); produção volumétrica de metano (PVM, em mL CH_4 L⁻¹ d⁻¹); vazão molar de metano (VMM, em mmol CH_4 h⁻¹); rendimento de metano (MY, em mL CH_4 g⁻¹DQO); conteúdo de metano no biogás (% CH_4 , em %); e, razão ácido propiônico-ácido acético (HPr/HAc).

Os valores apresentados para as variáveis-resposta referentes à produção de biogás correspondem às condições normais de temperatura e pressão (CNTPs), i.e., 1 atm e 0°C (273,15 K). Na Tabela 10 são apresentados os equacionamentos para o cálculo das variáveis-resposta supracitadas.

³⁹Nos cálculos de HY e VMH, as concentrações de carboidratos totais medidas a partir do método fenol-sulfúrico (mgCH L⁻¹) foram convertidas a molCH L⁻¹, usando-se, para tanto, a massa molar da sacarose (342 g mol⁻¹) como referência. Tal procedimento também foi utilizado por Ferraz Jr. et al. (2014b, 2015a e 2015b).

Tabela 10. Equacionamento empregado no cálculo das variáveis-resposta utilizadas no monitoramento dos reatores.

Variável-resposta	Unidade	Equacionamento	Parâmetros de cálculo	Reator
Eficiência de remoção de DQO (ER _{DQO})	%	$ER_{DQO} = \left(\frac{DQO_{af} - DQO_{ef}}{DQO_{af}} \right) 100$	DQO _{af} : DQO afluente ao reator (g L ⁻¹) DQO _{ef} : DQO efluente ao reator (g L ⁻¹)	APBR/UASB/ ASTBR
Eficiência de conversão de carboidratos totais (EC _{CH})	%	$EC_{CH} = \left(\frac{CH_{af} - CH_{ef}}{CH_{af}} \right) 100$	CH _{af} : concentração de carboidratos totais afluente ao reator (g L ⁻¹) CH _{ef} : concentração de carboidratos totais efluente ao reator (g L ⁻¹)	APBR
Vazão de biogás (VBG)	mL d ⁻¹	$VBG = \frac{V_{\text{gasômetro}}}{t_{\text{medição}}}$	V _{gasômetro} : volume de gás medido no gasômetro (mL) t _{medição} : tempo de medição (d)	APBR/UASB/ ASTBR
Conteúdo de hidrogênio (%H ₂), metano (%CH ₄) e gás carbônico (%CO ₂) no biogás	%	$\%H_2 = \frac{nH_2}{n_{\text{total}}}$ $\%CH_4 = \frac{nCH_4}{n_{\text{total}}}$ $\%CO_2 = \frac{nCO_2}{n_{\text{total}}}$	nH ₂ : número de mols de H ₂ (mol) nCH ₄ : número de mols de CH ₄ (mol) nCO ₂ : número de mols de CO ₂ (mol) n _{total} : nH ₂ + nCH ₄ + nCO ₂ (mol)	APBR/UASB/ ASTBR
Vazão molar de hidrogênio (VMH)	mmolH ₂ h ⁻¹	$VMH = \frac{VBG \cdot nH_2}{V_i}$	VBG: vazão de biogás (mL d ⁻¹) nH ₂ : número de mols de H ₂ (mol) V _i : volume de gás injetado no cromatógrafo (mL) ^a	APBR

Tabela 10. Equacionamento empregado no cálculo das variáveis-resposta utilizadas no monitoramento dos reatores (cont.).

Variável-resposta	Unidade	Equacionamento	Parâmetros de cálculo	Reator
Vazão molar de metano (VMM)	mmolCH ₄ h ⁻¹	$VMM = \frac{VBG \cdot nCH_4}{V_i}$	VBG: vazão de biogás (ml d ⁻¹) nCH ₄ : número de mols de CH ₄ (mol) V _i : volume de gás injetado no cromatógrafo (mL) ^a	UASB/ASTBR
Produção volumétrica de hidrogênio (PVH)	mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹	$PVH = \frac{VBG \cdot \%H_2}{V_r}$	VBG: vazão de biogás (ml d ⁻¹) %H ₂ : conteúdo de hidrogênio no biogás (%) V _r : volume útil do reator (L)	APBR
Produção volumétrica de metano (PVM)	mLCH ₄ L ⁻¹ d ⁻¹	$PVM = \frac{VBG \cdot \%CH_4}{V_r}$	VBG: vazão de biogás (ml d ⁻¹) %CH ₄ : conteúdo de metano no biogás (%) V _r : volume útil do reator	UASB/ASTBR
Rendimento de hidrogênio (HY)	molH ₂ mol ⁻¹ CH	$HY = \frac{VMH}{\frac{Q_{af} \cdot (CH_{af} - CH_{ef})}{M_{sacarose}}}$	VMH: vazão molar de hidrogênio (mmolH ₂ h ⁻¹) Q _{af} : vazão de vinhaça afluente ao reator (L d ⁻¹) CH _{af} : concentração de carboidratos totais afluente ao reator (g L ⁻¹) CH _{ef} : concentração de carboidratos totais efluente ao reator (g L ⁻¹) M _{sacarose} : massa molar da sacarose (342 g mol ⁻¹) ^b	APBR

Tabela 10. Equacionamento empregado no cálculo das variáveis-resposta utilizadas no monitoramento dos reatores (cont.).

Variável-resposta	Unidade	Equacionamento	Parâmetros de cálculo	Reator
Rendimento de metano (MY)	mLCH ₄ g ⁻¹ DQO	$MY = \frac{VBG \cdot \%CH_4}{Q_{af} \cdot (DQO_{af} - DQO_{ef})}$	VBG: vazão de biogás (ml d ⁻¹) %CH ₄ : conteúdo de metano no biogás (%) Q _{af} : vazão de vinhaça afluenta ao reator (L d ⁻¹) DQO _{af} : DQO afluenta ao reator (g L ⁻¹) DQO _{ef} : DQO efluente ao reator (g L ⁻¹)	UASB/ASTBR

Notas: ^aAPBR: 0,3 mL (300 µL), UASB/ASTBR: 0,5 mL (500 µL); ^bPara fins de cálculo do rendimento de hidrogênio, assumiu-se que toda a fração de carboidratos consumida corresponde à sacarose (Ferraz Jr. et al., 2014b, 2015a e 2015b).

4.2.3.1 Cálculo da Carga Orgânica Volumétrica Específica (COVe) – Fase Acidogênica

A determinação da COVe na fase acidogênica foi baseada na metodologia previamente reportada por Anzola Rojas et al. (2015). Inicialmente foi obtido o coeficiente de rendimento celular da biomassa acidogênica ($Y_{X/S}$), em gSSV g⁻¹CH, conforme apresentado na Equação (1). Na Equação (1) os termos X_a , X_s , X_e e X_d representam, respectivamente, a quantidade de biomassa (gSSV) aderida ao meio suporte e à parede do APBR, a quantidade de biomassa no líquido drenado ao final da operação contínua (240 dias), a quantidade total de biomassa lavada do reator na corrente efluente ao longo da operação e, a quantidade de biomassa nos descartes de fundo do reator. O termo S_{CH} representa a massa total de substrato (como carboidratos totais) consumida durante o período operacional, em gCH.

$$Y_{X/S} = \frac{X_a + X_s + X_e + X_d}{S_{CH}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Para obtenção de X_a , ao final da operação do reator e após a drenagem completa deste, lavou-se completamente o material suporte e as paredes do tubo de acrílico para remoção da biomassa aderida, utilizando-se um volume conhecido de água destilada. Alíquotas da solução final foram filtradas, secas em estufa a 105°C e calcinadas em mufla a 550°C para determinação da concentração de SSV no líquido, sendo X_a obtido pela multiplicação desta concentração pelo volume da lavagem. A determinação de X_s e X_d seguiu protocolo semelhante, sendo o volume drenado ao final da operação e as alíquotas descartadas ao longo desta submetidas à filtração, secagem e calcinação.

A determinação de X_e foi baseada no cálculo da integral da vazão mássica de sólidos eliminados na corrente efluente ao reator ao longo da operação – Equação (2). Na Equação (2) os termos SSV_e , Q e t representam, respectivamente, a concentração de sólidos suspensos na vinhaça acidificada (gSSV L⁻¹), a vazão de vinhaça aplicada no APBR (L d⁻¹) e o tempo de operação do sistema (240 dias). Para o cálculo da integral utilizou-se o *software* OriginPro 8 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

$$X_e = \int_0^t (SSV_e \cdot Q) dt \quad (\text{Eq. 2})$$

O termo S_{CH} foi calculado de maneira semelhante, a partir da integral da vazão mássica de substrato consumido, isto é, a massa total de carboidratos consumida ao longo da

operação. Na Equação (3) é apresentado o cálculo da referida integral, sendo os termos Q , CH_{af} , CH_{ef} e t respectivamente a vazão de vinhaça afluyente ao reator ($L d^{-1}$), a concentração de carboidratos totais na vinhaça bruta ($gCH L^{-1}$), a concentração de carboidratos totais na vinhaça acidificada ($gCH L^{-1}$) e o tempo total de operação do sistema (240 dias). Novamente, para o cálculo da integral utilizou-se o *software* OriginPro 8 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

$$S_{CH} = \int_0^t Q(CH_{af} - CH_{ef})dt \quad (Eq. 3)$$

A partir do cálculo de $Y_{X/S}$ foi possível determinar a produção de biomassa pelo consumo de substrato em um determinado intervalo de tempo (P_X), conforme indicado na Equação (4). Finalmente, por meio da Equação (5) calculou-se a quantidade de biomassa acumulada no interior do reator em um determinado tempo (X_n). Na Equação (5) tem-se que V_u corresponde ao volume útil do reator (L), X_t é a quantidade total de biomassa produzida ao longo da operação do reator ($X_a + X_s + X_e + X_d$, em gSSV), X_n é quantidade total de biomassa no interior do reator no tempo n ($gSSV L^{-1}_{reator}$), X_{n-1} é quantidade total de biomassa no interior do reator no tempo $n - 1$ ($gSSV L^{-1}_{reator}$) e D é a massa de sólidos descartada no tempo n (gSSV).

$$P_X = Q \cdot (CH_o - CH) \cdot Y_{X/S} \quad (Eq. 4)$$

$$X_n = \left[\frac{\int_{n-1}^n P_X dt}{V_u} \cdot \left(\frac{X_a + X_s + X_d}{X_t} \right) \right] + X_{n-1} - \frac{D}{V_u} \quad (Eq. 5)$$

No tempo $t = 0$ a quantidade de biomassa no interior do reator (X_o , $gSSV L^{-1}_{reator}$) foi estimada a partir da Equação (6), na qual V_{in} corresponde ao volume de vinhaça utilizado na inoculação (fermentação natural).

$$X_o = \frac{CH_o \cdot Y_{X/S} \cdot V_{in}}{V_u} \quad (Eq. 6)$$

Desta forma, a COVe ($gCH g^{-1}SSV d^{-1}$) em um determinado tempo n de operação foi obtida pelo quociente entre a carga orgânica volumétrica de carboidratos aplicada no APBR ($COVa^{CH}$, em $gCH L^{-1}_{reator} d^{-1}$) e a quantidade de biomassa retida neste (X_n , $gSSV L^{-1}_{reator}$),

conforme apresentado na Equação (7). Na Equação (7) os termos CH_{af} e Q representam a concentração de carboidratos totais ($gCH\ L^{-1}$) e a vazão afluyente ao APBR no tempo n .

$$COVe = \frac{COVa^{CH}}{X_n} = \frac{\frac{CH_{af} \cdot Q}{V_u}}{X_n} \quad (Eq. 7)$$

4.2.4 Cálculo do Balanço de Massa para os Reatores

Utilizando-se os dados de monitoramento obtidos ao longo da operação dos reatores, determinou-se o balanço de massa em termos de DQO, com o objetivo de se aferir a confiabilidade dos procedimentos metodológicos utilizados. Foram obtidos dois balanços de massa distintos, sendo o primeiro referente à distribuição de compostos solúveis nas correntes de vinhaça bruta, acidificada (efluente APBR) e metanizada (efluentes do ASTBR e do UASB), denominado balanço de massa da fase solúvel (BMFS). O segundo balanço de massa, denominado balanço de massa global (BMG), levou em consideração, além dos compostos solúveis, a produção de H_2 (APBR) ou CH_4 (ASTBR/UASB) e sólidos ao longo da operação. O BMG foi calculado para as correntes efluentes aos reatores, isto é, vinhaça acidificada e vinhaças metanizadas.

A determinação do BMFS foi baseada na Equação (8), na qual os termos $DQO_{METABÓLITOS}$ e $DQO_{CARBOIDRATOS}$ representam, respectivamente, a carga de DQO equivalente dos metabólitos ($g\ d^{-1}$) e a carga de DQO equivalente dos carboidratos totais ($g\ d^{-1}$) quantificados ao longo da operação. O termo $DQOs^{medida}$ ($g\ d^{-1}$) corresponde à carga de DQO solúvel, calculada a partir da DQOs determinada analiticamente para cada tipo de vinhaça, de acordo com a metodologia descrita previamente (Tabela 9). O termo $DQO_{FENÓIS}$ foi utilizado apenas no cálculo do BMFS para a vinhaça bruta, representando a carga de DQO equivalente dos fenóis ($g\ d^{-1}$) quantificados nesta ($0,5-3,5\ mg\ L^{-1}$; Tabela 6). Na Tabela 11 são apresentadas as relações (ou fatores) de equivalência utilizadas nos cálculos, tendo em vista a reação de oxidação completa dos compostos determinados analiticamente: ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, etanol, carboidratos totais (utilizando-se a equivalência com a sacarose), fenóis totais, hidrogênio e metano.

$$BMFS = \left(\frac{DQO_{METABÓLITOS} + DQO_{CARBOIDRATOS} + DQO_{FENÓIS}}{DQOs^{medida}} \right) 100 \quad (Eq. 8)$$

Tabela 11. Fatores de equivalência utilizados no cálculo dos balanços de massa.

Composto solúvel e/ou produto da fermentação	Massa molar (g mol ⁻¹)	Reação de oxidação	Fator de equivalência
Ácido acético (HAc) (C ₂ H ₄ O ₂)	60,05	$C_2H_4O_2 + 2O_2 \rightarrow 2CO_2 + 2H_2O$	1,07 gDQO g ⁻¹ HAc
Ácido propiônico (HPr) (C ₃ H ₆ O ₂)	74,08	$C_3H_6O_2 + 7/2O_2 \rightarrow 3CO_2 + 3H_2O$	1,51 gDQO g ⁻¹ HPr
Ácido butírico (HBu) (C ₄ H ₈ O ₂)	88,11	$C_4H_8O_2 + 5O_2 \rightarrow 4CO_2 + 4H_2O$	1,82 gDQO g ⁻¹ HBu
Etanol (EtOH) (C ₂ H ₆ O)	46,07	$C_2H_6O + 3O_2 \rightarrow 2CO_2 + 3H_2O$	2,09 gDQO g ⁻¹ EtOH
Carboidratos (CH) ^a (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	342,29	$C_{12}H_{22}O_{11} + 12O_2 \rightarrow 12CO_2 + 11H_2O$	1,12 gDQO g ⁻¹ CH
Fenóis (C ₆ H ₆ O)	94,11	$C_6H_6O + 4O_2 \rightarrow 3CO_2 + 3H_2O$	1,36 gDQO g ⁻¹ fenol
Hidrogênio (H ₂)	2,02	$H_2 + 1/2O_2 \rightarrow H_2O$	8,00 gDQO g ⁻¹ H ₂
Metano (CH ₄)	16,04	$CH_4 + 2O_2 \rightarrow CO_2 + 2H_2O$	4,00 gDQO g ⁻¹ CH ₄

Nota: ^aMedição em termos de g-sacarose.

No caso do BMG, a Equação (9) expressa a relação entre a DQOt equivalente (estimada) efluente aos reatores e a DQOt afluente a estes. O termo $DQOs_{\text{efluente}}^{\text{medida}}$ representa a carga de DQO solúvel, determinada analiticamente, na vinhaça efluente aos sistemas, ou seja, vinhaça acidificada para o APBR e vinhaça metanizada para o ASTBR e UASB. O termo $DQO_{\text{GÁS}}$ corresponde à vazão de gás combustível medida nos reatores (H_2 para o APBR e CH_4 para o ASTBR e UASB), convertida para carga equivalente de DQO ($g\ d^{-1}$), enquanto o termo DQO_{SSV} representa a carga de DQO equivalente à produção de SSV ($g\ d^{-1}$) nos sistemas. As relações de equivalência para o H_2 e o CH_4 são apresentadas na Tabela 11. Para o teor de SSV, utilizou-se a relação $1,42\ gDQO\ g^{-1}SSV$ (Ferraz Jr. et al., 2014b, 2015a, 2015b e 2016). Ainda com relação à Equação (9), o termo $DQOt_{\text{afluente}}^{\text{medida}}$ representa a DQO total determinada analiticamente na vinhaça afluente aos reatores, i.e., bruta no APBR e acidificada nos metanogênicos.

$$BMG = \left(\frac{DQOs_{\text{efluente}}^{\text{medida}} + DQO_{\text{GÁS}} + DQO_{\text{SSV}}}{DQOt_{\text{afluente}}^{\text{medida}}} \right) 100 \quad (\text{Eq. 9})$$

4.2.5 Caracterização da Biomassa – Análises Moleculares

Os sólidos descartados ao longo da operação do reator acidogênico, a partir da drenagem de fundo em períodos específicos, bem como amostras coletadas ao final da operação, foram caracterizados para determinação da estrutura microbiana no reator (análises de biologia molecular). As análises moleculares também foram aplicadas em amostras de biomassa coletadas nos reatores metanogênicos (especificamente ao final da aplicação da COVa de $25\ kgDQO\ m^{-3}\ d^{-1}$), utilizando-se, para tanto, o mesmo protocolo descrito na sequência. Ressalta-se, novamente, que a caracterização da estrutura microbiana nos reatores foi conduzida pelo Dr. Antônio Djalma Nunes Ferraz Júnior no âmbito do projeto de Pós-Doutorado FAPESP intitulado “Estrutura e dinâmica funcional da comunidade microbiana de digestores anaeróbios, aplicados à recuperação de energia e adequação ambiental de resíduos gerados no processo produtivo do bioetanol de 1ª e 2ª geração” (Processo 2013/15665-8), nas instalações do CTBE/CNPEN.

4.2.5.1 Amostragem e Preparação das Amostras para Extração de DNA

Com relação à fase acidogênica, seis amostras foram selecionadas para o sequenciamento de nova geração (*next-generation sequencing*, NGS) no sistema MiSeq

(MiSeq Sequencing System – Illumina), incluindo o inóculo (resultante da etapa de fermentação natural), quatro amostras de sólidos descartados ao longo da operação e uma amostra obtida ao final da operação. Para a fase metanogênica, três amostras foram analisadas, incluindo o inóculo (proveniente do reator UASB termofílico em escala plena – item 4.2.2, p. 106) e duas amostras dos reatores operados em escala de bancada, i.e., UASB e ASTBR, na COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$.

Com relação ao inóculo dos reatores metanogênicos, a biomassa foi coletada em cinco pontos de amostragem localizados ao longo da manta de lodo do UASB em escala plena, procurando-se garantir a presença de um amplo espectro de micro-organismos, i.e., bactérias acidogênicas e acetogênicas e arqueias metanogênicas). Método de amostragem semelhante foi utilizado para os sistemas em escala de bancada, i.e., APBR, UASB e ASTBR, baseando-se na coleta de amostras em diferentes pontos de amostragem dos sistemas (representados pelas torneiras distribuídas ao longo do corpo dos reatores nas Figuras 8, 9 e 10).

A preparação das amostras foi baseada inicialmente na separação das células suspensas por meio de centrifugação (5 min, 6.000 rpm, 25°C), de modo a se obter amostras úmidas de 1,0 g de biomassa. Particularmente, nos casos do inóculo dos reatores metanogênicos e dos sistemas em escala de bancada, amostras compostas (1,0 g) foram obtidas a partir da mistura das amostras centrifugadas (0,2 g) referentes a diferentes pontos de

4.2.5.2 Extração de DNA, Construção da Biblioteca e Sequenciamento

O DNA metagenômico de cada amostra foi extraído utilizando-se o kit FastDNA SPIN para solos (MP Biomedicals, Irvine, CA, USA), baseando-se nas instruções fornecidas pelo fabricante. Os *primers* universais 515F e 806R (Caporaso et al., 2011) da região V4 do gene 16S do RNAr para bactérias e arqueias foram modificados a partir da inserção de uma sequência de nucleotídeos complementares ao sequenciamento do Illumina. As sequências de oligonucleotídeos incluíram: 515F 5' (TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGGTATAAGAGACAGGTGCCAGCMGCCGCGGTA) 3' e 806R 5' (GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGACTACHVGGGTWTCTAAT) 3', sendo as regiões sublinhadas as sequências de nucleotídeos dos adaptadores inseridos em cada *primer*.

Cada solução para a reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*) foi composta de 0,5 µL de DNA polimerase Phusion (1 unidade) (Thermo Scientific), 10 µL de tampão 5x HF (Mg^{2+}), 1 µL de dNTP (10 mM), 50 ng de molde de DNA, 1 µL de cada *primer* (10 pmol) e água até completar um volume de 50 µL. As reações foram conduzidas em um termociclador com uma etapa inicial de desnaturação (98°C, 2 min),

seguida por 25 ciclos contemplando sequencialmente as etapas de desnaturação (98°C, 30 s), hibridação (55°C, 40 s) e extensão (72°C, 2 min), e uma etapa final de elongação (72°C, 10 min). Os *amplicons* foram visualizados em gel de agarose 1% e purificados com Agencourt AMPure Beads (Beckman Coulter, Inc.).

As bibliotecas foram preparadas com um kit Nextera DNA Sample Prep (Illumina). As bibliotecas contendo os códigos de barra foram analisadas por PCR quantitativa com kits Kapa Library Quantification (Kapa Biosystems). Para cada grupo de amostras, i.e., fases acidogênica e metanogênica, todas as bibliotecas foram reunidas em concentrações equimolares de acordo com as instruções da plataforma de sequenciamento MiSeq Illumina. O kit MiSeq Reagent Kit v2 (300 ciclos) foi utilizado no sequenciamento.

4.2.5.3 Análises de Bioinformática

As bibliotecas do gene 16S foram processadas utilizando-se o método de clusterização UPARSE, conforme descrito por Edgar (2013). Inicialmente as *reads* foram qualitativamente filtradas por meio do *software* Trimmomatic (Bolger et al., 2014), sendo que apenas *reads* com um tamanho mínimo de 200 nucleotídeos e máximo erro esperado de 0,5 foram utilizadas na sequência das análises. As *reads* foram desreplicadas e clusterizadas em unidades taxonômicas operacionais (OTUs, do inglês *operational taxonomic units*) em um nível de 97% de similaridade por meio do algoritmo UPARSE-OTU. As OTUs identificadas foram comparadas com a base de dados RDP Gold, utilizada como referência para filtrar sequências quiméricas a partir do algoritmo UCHIME (Edgar et al., 2011), e posteriormente implementadas no *software* USEARCH v8.1.1803. A classificação taxonômica foi realizada por meio do classificador RDP implementado no *software* Mothur (Schloss et al., 2009), utilizando-se a base de dados Silva v119 como referência (Pruesse et al., 2007), com um ponto de corte de 80% para o *bootstrap*. A análise da diversidade alfa, incluindo as estimativas das OTUs observadas e o cálculo dos índices de diversidade de Shannon e de riqueza Chao 1, foi realizada a partir do *software* R, utilizando-se o pacote phyloseq (McMurdie e Holmes, 2013). O *software* R também foi utilizado na confecção do diagrama de Venn. Para o caso específico da fase acidogênica, foi realizada uma análise de componentes principais (ACP), utilizando-se o *software* PAST® (Hammer et al., 2001), a partir da correlação entre os dados de abundância relativa e de desempenho do reator (APBR). Por fim, destaca-se que as sequências brutas foram depositadas no Arquivo Europeu de Nucleotídeos (ENA, do inglês *European Nucleotide Archive*) sob os números de acesso PRJEB19911 (fase acidogênica) e PRJEB13796 (fase metanogênica).

4.3 Avaliação Tecnológica da Biodigestão: Rotas para o Aproveitamento do Biogás

A avaliação tecnológica de diferentes rotas para o aproveitamento do biogás gerado a partir da biodigestão da vinhaça, no contexto de uma biorrefinaria de açúcar e etanol, foi conduzida no âmbito da Biorrefinaria Virtual da Cana-de-Açúcar (BVC), plataforma de simulação desenvolvida no Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE/CNPEM) (Cavalett et al., 2012; Bonomi et al., 2016), que contempla aspectos técnicos, econômicos, ambientais e sociais de toda a cadeia produtiva da cana-de-açúcar. A BVC constitui uma ferramenta que permite avaliar os processos utilizados no processamento da cana-de-açúcar, bem como integrar novas tecnologias – neste caso, a biodigestão – àquelas atualmente praticadas na indústria sucroalcooleira brasileira. A avaliação tecnológica contemplou aspectos técnicos, i.e., simulação da biodigestão e da produção de bioenergia, ambientais e econômicos, baseando-se nas metodologias descritas na sequência.

Conforme indicado previamente na contextualização da pesquisa (p. 89), a literatura de referência é escassa em termos do estudo do aproveitamento do biogás- H_2 , i.e., gerado na etapa acidogênica, como potencializador da recuperação de bioenergia em plantas de biodigestão, independentemente do tipo de água residuária tratada. No caso específico da vinhaça, mesmo o aproveitamento do biogás- CH_4 (biodigestão em fase única ou com separação de fases) pode ser considerado pouco explorado, considerando a disponibilidade de estudos usualmente baseados em simples estimativas⁴⁰ (item 3.3.1.1, p. 90). Neste contexto, os cenários propostos no presente trabalho buscaram, resumidamente, avaliar a influência [i] da separação de fases e [ii] do tipo de destinação dada ao biogás- H_2 sobre a recuperação de bioenergia a partir da vinhaça de cana-de-açúcar.

Na Tabela 12 são compiladas as características consideradas em cada cenário. O cenário base utilizado (CB-0) correspondeu a uma usina anexa otimizada⁴¹ (Cavalett et al., 2012) com safra e entressafra e capacidade de moagem equivalente a 4 milhões de toneladas de cana (MTC) na safra. Neste período (200 dias) há o emprego da cana convencional para produção de açúcar, etanol e eletricidade. Na entressafra (130 dias) verifica-se o uso da cana energia, de maneira similar ao proposto por Junqueira et al. (2017), considerando-se,

⁴⁰O cálculo da produção de energia nos trabalhos apresentados (Granato, 2003; van Haandel, 2005; Rocha et al., 2010; Salomon et al., 2011; Fuess e Garcia, 2014a; Moraes et al., 2014; Fuess e Garcia, 2015; Nogueira et al., 2015) tende a considerar simplesmente um fator de eficiência de conversão da densidade energética do biogás em energia elétrica (aproximadamente 30-40%), sendo que a simulação do funcionamento dos acionadores primários (p.ex. MCI e TBG) permite a obtenção de resultados mais robustos e condizentes com a realidade.

⁴¹Na usina otimizada o consumo de energia é 20% inferior ao observado na usina “padrão”, sendo esta caracterizada por operações unitárias tipicamente encontradas na indústria sucroalcooleira brasileira (Cavalett et al., 2012). A redução no consumo de energia está associada, dentre inúmeros aspectos, à substituição de tecnologias, como por exemplo, na etapa de desidratação, e ao uso mais racional de vapor no processo, considerando o aprimoramento da integração térmica nas unidades (Dias et al., 2011).

entretanto, a moagem de 1,7 MTC no período (para se atingir uma quantidade de fibras equivalente à processada durante a safra). Neste caso não se observa a produção de açúcar, tendo em vista o baixo teor de açúcares na cana energia, verificando-se, entretanto um maior conteúdo de fibras (Carvalho-Netto et al., 2014). Para fins de simulação e posterior análise dos dados, considerou-se o mesmo desempenho do processo anaeróbio nos períodos de safra e entressafra, independentemente do tipo de cana. Contudo, tendo em vista o caráter autônomo da destilaria na entressafra, assumiu-se uma DQO de $21,0 \text{ g L}^{-1}$ (Moraes et al., 2014) para a vinhaça nesse período. A partir do cenário CB-0 foram avaliados cinco cenários energéticos (CE-1 a CE-5, Tabela 12), considerando o processo de biodigestão sem ou com separação de fases, sem ou com o aproveitamento do biogás- H_2 nas alternativas com separação de fases, e, finalmente, com diferentes estratégias para o uso do biogás- H_2 .

Resumidamente, nos cenários com separação de fases, considerou-se: [i] não aproveitamento do biogás- H_2 (CE-1); [ii] venda do biogás- H_2 purificado (CE-2); [iii] mistura do biogás- H_2 ao biogás- CH_4 para formação do biohythane (CE-3); e, [iv] injeção do biogás- H_2 purificado no reator metanogênico buscando-se o aumento na proporção de CH_4 do biogás- CH_4 (CE-4). O não aproveitamento do biogás- H_2 (CE-1) implica a eliminação do uso do NaOH na etapa acidogênica, uma vez que o controle do pH afluente torna-se desnecessário. O biogás- CH_4 foi destinado à produção de energia elétrica a partir de diferentes tecnologias, com exceção do cenário CE-3 (uso do biohythane). A adição de biogás- H_2 purificado ao reator metanogênico (CE-4) compreende um processo de remoção *in loco* de CO_2 , conforme previamente apresentado. No cenário sem separação de fases (CE-5) foram utilizados dados de consumo de alcalinizantes, produção de CH_4 e remoção de DQO reportados por Ferraz Jr. et al. (2016), tendo em vista a operação de um reator em fase única a partir de condições equivalentes às utilizadas na etapa experimental deste trabalho.

Três tipos de tecnologias ou acionadores primários foram considerados para geração de energia elétrica a partir do biogás- CH_4 ou biohythane, incluindo: [i] motores de combustão interna (MCI); [ii] turbinas a gás (TBG); e, [iii] turbinas a gás seguidas de turbinas a vapor – ciclo combinado (CC). A escolha dos acionadores primários levou em consideração as potencialidades de cada tecnologia, conforme brevemente explanado no item 3.3.1.1 (p. 90). Quanto à nomenclatura dos cenários, atribuiu-se as terminações –MCI, –TBG e –CC para cada uma das condições previamente descritas, respectivamente para o emprego dos motores de combustão interna, turbinas a gás e ciclo combinado. Desta forma, foram estudados 16 cenários ao total, sendo um base (CB-0), cinco para o MCI (CE-1-MCI, CE-2-MCI, CE-3-MCI, CE-4-MCI e CE-5-MCI), cinco para a TBG (CE-1-TBG, CE-2-TBG, CE-3-TBG, CE-4-TBG e CE-5-TBG) e cinco para o CC (CE-1-CC, CE-2-CC, CE-3-CC, CE-4-CC e CE-5-CC).

Tabela 12. Descrição do cenário base e dos cenários energéticos avaliados para produção de energia a partir da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar.

Cenário		Base	Energéticos				
		CB-0	CE-1	CE-2	CE-3	CE-4	CE-5
Biodigestão da vinhaça		Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Separação de fases		-	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
Adição de NaOH no reator acidogênico		-	Não	Sim	Sim	Sim	-
Produção de biogás-H ₂		-	Não	Sim	Sim	Sim	-
Adição de NaHCO ₃ no reator metanogênico		-	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Produção de biogás-CH ₄		-	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Biogás-H ₂	Remoção de CO ₂	-	-	Sim	Não	Sim	-
	Aplicação	-	-	Purificação e venda	Mistura com biogás-CH ₄	Purificação e injeção no reator metanogênico	-
Biogás-CH ₄	Remoção de CO ₂	-	Não	Não	Não	Não	Não
	Remoção de H ₂ S ^a	-	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Biocombustível usado na queima		-	Biogás-CH ₄	Biogás-CH ₄	Biohythane	Biogás-CH ₄	Biogás-CH ₄

Descrição dos cenários:

CB-0: Usina anexa com safra (200 dias) e entressafra (130 dias); capacidade de moagem equivalente 4 (safra) e 1,7 (entressafra) MTC; emprego de cana convencional na safra (produção de açúcar – 50% do caldo, etanol – 50% do caldo + melaço, e energia elétrica); emprego de cana energia na entressafra (produção de etanol – 100% do caldo, e energia elétrica).

CE-1: Digestão anaeróbia com separação de fases integrada ao cenário CB-0; reator acidogênico sem controle de pH (sem adição de NaOH) e sem aproveitamento do biogás-H₂; produção de energia elétrica a partir do biogás-CH₄.

CE-2: Digestão anaeróbia com separação de fases integrada ao cenário CB-0; reator acidogênico com controle de pH (adição de NaOH) para produção de biogás-H₂; biogás-H₂ purificado para venda do H₂; produção de energia elétrica a partir do biogás-CH₄.

CE-3: Digestão anaeróbia com separação de fases integrada ao cenário CB-0; reator acidogênico com controle de pH (adição de NaOH) para produção de biogás-H₂; biogás-H₂ misturado ao biogás-CH₄ para produção do biohythane; produção de energia elétrica a partir do biohythane.

CE-4: Digestão anaeróbia com separação de fases integrada ao cenário CB-0; reator acidogênico com controle de pH (adição de NaOH) para produção de biogás-H₂; biogás-H₂ purificado e injetado no reator metanogênico para *upgrade* do biogás-CH₄; produção de energia elétrica a partir do biogás-CH₄.

CE-5: Digestão anaeróbia sem separação de fases integrada ao cenário CB-0; produção de energia elétrica a partir do biogás-CH₄.

Nota: ^aNas simulações considerou-se a remoção de H₂S para níveis inferiores ao requerido pelas tecnologias produção de energia. Para considerações sobre a presença de H₂S no biogás-CH₄ vide seção 4.3.1.

4.3.1 Avaliação Técnica: Simulação da Biodigestão e Produção de Energia

As melhores condições operacionais obtidas durante a etapa experimental, especialmente com relação às produções de H_2 e CH_4 nas fases acidogênica e metanogênica, respectivamente, foram utilizadas como base para simular a geração de energia a partir da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar. As simulações foram desenvolvidas a partir do *software* Aspen Plus® V8.6 (Aspen Technology, Inc., Bedford, MA, USA), utilizando-se, para tanto, a infraestrutura do CTBE. A inserção do processo de digestão anaeróbia na BVC utilizou como base a vazão de vinhaça gerada em uma planta anexa (produção de açúcar e etanol, Figura 13) contemplando períodos de safra e entressafra, conforme apresentado anteriormente. Adianta-se que não houve modelação do processo de digestão anaeróbia, uma vez que o foco desta etapa do trabalho compreendeu, essencialmente, a estimativa do potencial energético da vinhaça de cana-de-açúcar e a avaliação tecnológica de sua implantação no setor sucroalcooleiro brasileiro.

A partir da vazão de vinhaça foi possível estimar as quantidades de agentes alcalinizantes, baseando-se nas relações obtidas experimentalmente e/ou suposições, bem como os valores da produção de biogás nas fases acidogênica (biogás- H_2) e metanogênica (biogás- CH_4), também se baseando nas proporções de H_2 , CO_2 e CH_4 obtidas nos experimentos. No caso do biogás- CH_4 , embora não determinada analiticamente, considerou-se a presença de H_2S em sua composição, assumindo-se uma concentração fixa de 1% (v/v) ou 10.000 ppm_v no biogás bruto. Lebrero et al. (2016) reportaram concentrações de H_2S variando na faixa de 0,5 a 1,2% v/v no biogás proveniente de reator metanogênico (UASB) em escala piloto aplicado no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar (DQO ~20 g L⁻¹). Mesmo para o tratamento de vinhaças de melaço extremamente concentradas (DQO = 70-98 g L⁻¹, SO_4^{2-} = 2.000-5.000 mg L⁻¹), Seth et al. (1995) e Goyal et al. (1996) reportaram concentrações de H_2S no biogás- CH_4 na faixa de 0,8-2,2%, caracterizando o valor fixado neste estudo como coerente para fins de simulação no caso brasileiro.

Na Figura 14 é apresentado o fluxograma da simulação do processo de biodigestão em duas fases desenvolvido no ambiente da BVC. As vazões de NaOH e NaHCO₃ foram calculadas por meio de *Calculators* (indicados em vermelho na Figura 14), os quais compreendem ferramentas utilizadas para inserção de códigos em Fortran ou Excel nas simulações. Nota-se que, no caso da aplicação de NaOH, há também um *Calculator* que determina a vazão de água, tendo em vista o uso de uma solução 50% m/v na etapa experimental, conforme previamente descrito. Os blocos BD-MIX-1 e BD-MIX-2 representam, respectivamente, a mistura da solução de NaOH e do NaHCO₃ às correntes de

vinhaça bruta e acidificada. Para representação dos reatores, isto é, APBR para fase acidogênica e ASTBR para fase metanogênica, foram utilizados blocos do tipo *Transfer*. Na etapa acidogênica, o bloco APBR transferiu a vazão de vinhaça bruta (VIN-BRUT) para a corrente de vinhaça acidificada (VIN-ACD1), enquanto que na etapa metanogênica o bloco ASTBR transferiu a vazão de vinhaça acidificada (VIN-ACD2) para a corrente de vinhaça metanizada (VIN-MET). As vazões de biogás- H_2 e biogás- CH_4 foram determinadas por blocos do tipo *Design-Spec*, indicados em verde (Figura 14), os quais permitem automatizar a simulação para o caso de ocorrerem mudanças na vazão de matéria-prima e outras características do processo.

Figura 13. Fluxograma simplificado da usina anexa padrão implementada na BVC. **Fonte:** Elaboração própria, com base em material institucional do CTBE.

Correntes materiais:

VIN-DEST: Vinhaça proveniente da destilação
 VIN-BRUT: Vinhaça bruta
 VIN-ACD#: Vinhaça acidificada
 VIN-MET#: Vinhaça metanizada
 BIOG-H₂#: Biogás-H₂

BIOG-CH₄#: Biogás-CH₄
 NaOH + H₂O: Solução concentrada de hidróxido de sódio
 NaHCO₃: Bicarbonato de sódio

Calculators:

Q-NaOH: Vazão de hidróxido de sódio
 Q-H₂O: Vazão de água (solução de NaOH)
 Q-NaHCO₃: vazão de bicarbonato de sódio

Design-Specs:

Q-BIOG-H₂: Vazão de biogás-H₂ (APBR)
 Q-BIOG-CH₄: Vazão de biogás-CH₄ (ASTBR)

Figura 14. Fluxograma da biodigestão anaeróbia da vinhaça em duas fases implementado no ambiente da BVC utilizando-se o *software* Aspen Plus®. **Fonte:** Elaboração própria.

Obs. Para biodigestão em fase única basta considerar a aplicação da vinhaça (VIN-DEST) diretamente no bloco BD-MIX-2.

As Equações (10) e (11) apresentam, respectivamente, as expressões utilizadas para determinação das vazões de biogás- H_2 (*Design Spec* Q-BIOG- H_2 , Figura 14) e biogás- CH_4 (*Design Spec* Q-BIOG- CH_4 , Figura 14). Na Equação (10) os termos $Q_{\text{vinhaça}}$, CH, EC_{CH} , HY, M_{sacarose} , R, T e $\%H_2$ representam, respectivamente, a vazão de vinhaça obtida a partir da simulação base ($m^3_{\text{vinhaça}} h^{-1}$), a concentração de carboidratos na vinhaça bruta ($kgCH m^{-3}_{\text{vinhaça}}$), a eficiência de conversão de carboidratos na etapa acidogênica, o rendimento de hidrogênio ($molH_2 mol^{-1}CH$), a massa molar da sacarose ($0,342 kg mol^{-1}$), a constante universal dos gases perfeitos ($0,082 atm L mol^{-1} K^{-1}$), a temperatura utilizada no tratamento anaeróbio ($55^\circ C$) e a proporção de hidrogênio no biogás- H_2 . Na Equação (11), os termos DQO, ER_{DQO} , MY e $\%CH_4$ representam, respectivamente, a DQO na vinhaça acidificada ($kg m^{-3}_{\text{vinhaça}}$), a eficiência de remoção de DQO na etapa metanogênica, o rendimento de metano ($m^3 CH_4 kg^{-1}DQO, 55^\circ C$) e a proporção de metano no biogás- CH_4 . Considerando que os parâmetros CH, EC_{CH} , HY, $\%H_2$, DQO, ER_{DQO} , MY e $\%CH_4$ foram obtidos ao longo da fase experimental, seus valores serão apresentados na seção de Resultados e Discussão, a partir da página 149.

$$Q_{\text{biogás-}H_2} (m^3 h^{-1}) = \frac{Q_{\text{vinhaça}} \cdot CH \cdot EC_{CH} \cdot HY \cdot R \cdot (273,15 + T)}{1000 \cdot M_{\text{sacarose}} \cdot \%H_2} \quad (\text{Eq. 10})$$

$$Q_{\text{biogás-}CH_4} (m^3 h^{-1}) = \frac{Q_{\text{vinhaça}} \cdot DQO \cdot ER_{DQO} \cdot MY}{\%CH_4} \quad (\text{Eq. 11})$$

Em termos da simulação da produção de energia, na Tabela 13 são apresentadas as principais especificações técnicas dos acionadores primários utilizados nas simulações, tais como a temperatura dos gases de exaustão, razão de compressão para o MCI e pressões de entrada nas turbinas. Nos cenários com MCI foram utilizados dados do motor modelo J620 GS-F12 (GE Jenbacher GmbH & Co. OHG, Jenbach, Áustria). Nos cenários com TBG, tanto como única tecnologia de conversão como no ciclo combinado, empregou-se dados da turbina modelo KG2-3E (Dresser-Rand, Kirkegaardsveien, Noruega). Por fim, nos cenários com ciclo combinado, a turbina a vapor utilizada foi do modelo SST-110 (Siemens AG – Energy Sector – Oil & Gas Division, Duisburg, Alemanha). Nos itens 4.3.1.1 a 4.3.1.3 são apresentadas as características das simulações desenvolvidas para cada acionador primário. Destaca-se que as simulações contemplam a produção de eletricidade e a recuperação de energia térmica nos cenários com MCI e TBG (sistemas de cogeração), considerando a produção de água aquecida a $95^\circ C$.

Tabela 13. Especificações técnicas das tecnologias de geração de energia elétrica consideradas nas simulações.

Acionador primário (Modelo)	Especificações técnicas
Motor de combustão interna (J620 GS-F12, GE Jenbacher GmbH & Co. OHG, Jenbach, Áustria)	<p>Vazão volumétrica ar + biogás em capacidade total^a = $15.734 \text{ Nm}^3 \text{ h}^{-1}$</p> <p>Razão de compressão (ϵ) = 12,5</p> <p>Calor dissipado para vizinhança^{a,b} = 1.945 kW (carga = 100%)</p> <p>Concentração máxima de H_2S na entrada do motor^c = 2.000 $\text{mg Nm}^{-3} \text{CH}_4$ (~1.000 ppm_v)</p>
Turbina a gás ^d (KG2-3E, Dresser-Rand, Kirkegaardsveien, Noruega)	<p>Pressão de entrada na turbina = 8 bar</p> <p>Temperatura dos gases de exaustão = 549°C</p> <p>Fluxo mássico máximo na exaustão = 15 kg s^{-1}</p>
Turbina a vapor (SST-110, Siemens AG – Energy Sector – Oil & Gas Division, Duisburg, Alemanha)	<p>Pressão do vapor na entrada da turbina = 131 bar</p> <p>Temperatura do vapor na entrada da turbina = 530°C</p> <p>Pressão do vapor no escape da turbina = 0,6 bar</p>

^aConsiderando a aplicação de corrente de biogás ($1.090 \text{ Nm}^3 \text{ h}^{-1}$) com poder calorífico inferior (PCI) de 23,4 MJ Nm^{-3} , levando a um potencial energético de 7.082 kW.

^bDesconsiderando-se a recuperação de energia térmica por meio do aquecimento de corrente de água.

^cConcentração utilizada como referência para composição do biogás em todos os cenários, independentemente da tecnologia de conversão usada.

^dModelo considerado nos cenários com uso da TBG como única tecnologia de geração de energia elétrica e nos cenários com acoplamento da turbina a vapor (ciclo combinado).

4.3.1.1 Simulação do Motor de Combustão Interna

Considerou-se a operação do MCI segundo o Ciclo Otto em quatro tempos, sendo seu desempenho avaliado a partir da simulação cujo fluxograma é apresentado na Figura 15. Cada etapa do Ciclo Otto é representada por uma operação unitária no fluxograma da simulação (Figura 15), incluindo: admissão de ar e combustível (bloco ENT-MCI, tipo *Mixer*), compressão isentrópica (bloco COMP, tipo *Compressor*), combustão isovolumétrica (bloco COMB, tipo *RStoic*) e expansão isentrópica (bloco EXPANS, tipo *Turbine*). Os demais blocos (EXAUST, TC-1 e TC-2) apresentam operações específicas do sistema de recuperação de energia térmica, sendo a corrente de água aquecida em dois trocadores de calor: inicialmente, utilizando-se parte do calor dissipado no corpo do motor (corrente Q-REC, bloco TC-1, tipo *Heater*) e, em seguida, pela corrente de gases de exaustão (bloco TC-2, tipo *HeatX*).

Figura 15. Fluxograma do motor de combustão interna implementado no ambiente da BVC utilizando-se o *software* Aspen Plus®. **Fonte:** Elaboração própria.

As premissas consideradas para desenvolvimento da simulação do MCI incluíram: regime estacionário; perdas de pressão negligenciadas; modelo termodinâmico de Redlich-Kwong-Soave⁴² em todos os blocos do Ciclo Otto; composição do ar em fração molar igual a 21% de oxigênio e 79% de nitrogênio; etapas de compressão e expansão adiabáticas isentrópicas; e, especificações técnicas (razão de compressão de ar e dissipação de calor para vizinhança) baseadas no MCI modelo J620 GS-F12 (GE Jenbacher GmbH & Co. OHG, Jenbach, Áustria), conforme apresentado na Tabela 13.

A simulação do funcionamento do MCI foi baseada na utilização de blocos *Design-Spec* para determinação das pressões em cada etapa do Ciclo Otto⁴³. A pressão na saída do compressor deve ser tal que a razão entre os volumes de entrada (corrente AR-BIOG1, Figura 15) e de saída (corrente AR-BIOG2, Figura 15) seja igual à razão de compressão do MCI ($\epsilon = 12,5$, Tabela 13). Este cálculo é definido pela *Design-Spec* COMPR, indicada em verde na Figura 15. Por sua vez, a pressão na saída da etapa de combustão deve ser tal que o volume dos gases na saída do combustor (corrente GASES-1) seja igual ao volume da entrada (corrente AR-BIOG2), tendo em vista que no Ciclo Otto a combustão é isovolumétrica. Neste caso, o cálculo é realizado pela *Design-Spec* COMBUS, também indicada em verde na Figura 15. Finalmente, na saída da turbina de expansão a pressão deve ser calculada de modo que o volume dos gases de exaustão (corrente GASES-2) seja igual ao volume da mistura ar + biogás na entrada do compressor (corrente AR-BIOG1), uma vez que o pistão retorna à posição inicial. A *Design-Spec* EXPANS (Figura 15) é empregada neste cálculo.

A vazão de ar necessária para alimentar a combustão da corrente de biogás também é determinada a partir de uma *Design-Spec* (Q-AR, Figura 15), a qual leva em conta a razão de equivalência recomendada nas especificações técnicas do MCI. A razão de equivalência (λ) exprime a relação entre a razão ar-combustível efetivamente aplicada no motor e a razão ar-combustível estequiométrica. Para o MCI considerado nas simulações, o valor de λ recomendado é de aproximadamente 2,23, utilizando-se como referência a queima do metano (razão ar-combustível estequiométrica igual a 9,52). Desta forma, as Equações (12) e (13) apresentam, respectivamente, o cálculo da vazão de ar (Q_{ar} , $m^3 h^{-1}$) considerando o emprego do biogás-CH₄ (CH₄ + CO₂) e do biohythane (CH₄ + CO₂ + H₂) como combustíveis.

⁴²O método termodinâmico determina o modo como o equilíbrio de fases é calculado nos processos e operações simulados. O método Redlich-Kwong-Soave (RK-Soave) é recomendado para operações baseadas no emprego de hidrocarbonetos, tais como o metano, principal constituinte do biogás-CH₄.

⁴³O Ciclo Otto ideal pode ser dividido em cinco etapas, incluindo: [i] admissão isobárica, i.e., à pressão constante; [ii] compressão adiabática, i.e., à temperatura constante, da mistura ar + combustível; [iii] combustão isovolumétrica; [iv] expansão adiabática dos gases de combustão; e, [v] exaustão deste a pressão constante. Ao se considerar os ciclos reais, são observados desvios da idealidade devido à irreversibilidade dos fenômenos que regem os processos, tais como o atrito e a perda de calor para vizinhança.

$$Q_{ar} = 2,23 \cdot (Q_{ar})_{esteq} = 2,23 \cdot (2 \cdot Q_{CH_4} + 7,52 \cdot Q_{CH_4}) = 21,2296 \cdot Q_{CH_4} \quad (\text{Eq. 12})$$

$$Q_{ar} = 2,23 \cdot (Q_{ar})_{esteq} = 2,23 \cdot (2 \cdot Q_{CH_4} + 7,52 \cdot Q_{CH_4} + 0,5 \cdot Q_{H_2} + 1,88 \cdot Q_{H_2})$$

$$Q_{ar} = 21,2296 \cdot Q_{CH_4} + 5,3074 \cdot Q_{H_2} \quad (\text{Eq. 13})$$

Nas Equações (12) e (13) os termos $(Q_{ar})_{esteq}$, Q_{CH_4} e Q_{H_2} representam, respectivamente, a vazão de ar estequiométrica para promover a queima do biocombustível ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$), a vazão de metano no biogás- CH_4 ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$) e a vazão de hidrogênio no biogás- H_2 ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$). Os valores numéricos “2”, “7,52”, “0,5” e “1,88” resultam das reações de combustão do metano (Reação 4) e do hidrogênio (Reação 5) a partir do uso do ar (21% O_2 e 79% N_2) como comburente.

A geração de energia elétrica é indicada pela corrente EE-MCI, a qual resulta da subtração entre a produção total de energia elétrica na etapa de expansão (EE-EXPAN) e o consumo de eletricidade na etapa de compressão da mistura ar + biogás (EE-COMP). Esta operação é realizada no bloco tipo *Mixer* denominado EE-PROD (Figura 15). Com relação à energia térmica, o valor total é dado pela soma do calor recuperado nos trocadores de calor TC-1 e TC-2, sendo que a corrente AGUA-3 fornece a vazão de água aquecida a 95°C (*Design-Spec* T-AGUA), passível de aplicação em outros processos. Destaca-se, por fim, que a temperatura da corrente de gases de exaustão, após as trocas térmicas, foi fixada em 180°C , também se baseando nas especificações técnicas do motor considerado (modelo J620 GS-F12, GE Jenbacher GmbH & Co. OHG, Jenbach, Áustria, Tabela 13).

4.3.1.2 Simulação da Turbina a Gás

No caso da TBG, a simulação (Figura 16) foi baseada no Ciclo Brayton, no qual, diferentemente do Ciclo Otto, a etapa de combustão ocorre à pressão constante. Assim como na simulação do MCI, cada etapa do Ciclo Brayton⁴⁴ é representada por uma operação

⁴⁴No Ciclo Brayton ideal o ar é comprimido isentropicamente no compressor, recebendo energia na câmara de combustão isobaricamente, a partir da queima do combustível. Em seguida, o ar é expandido, também de maneira isentrópica, na turbina, produzindo energia mecânica a ser convertida em energia elétrica. Finalmente, o fluido de trabalho (ar) rejeita calor isobaricamente.

unitária no fluxograma da simulação da TBG (Figura 16), contemplando: admissão e compressão do biogás (bloco COMP-BG, tipo *Compressor*), admissão e compressão do ar (bloco COMP-AR, tipo *Compressor*), combustão isobárica da mistura ar + biogás (bloco COMB, tipo *RStoic*) e expansão isentrópica dos gases de combustão (bloco EXPAN, tipo *Turbine*). Neste caso, o bloco TC-1 (tipo *Heater*) apresenta função específica do sistema de recuperação de energia térmica, no qual é conduzida a troca de calor da corrente de água com os gases de exaustão da TBG.

As premissas consideradas para desenvolvimento da simulação da TBG, de maneira semelhante ao caso do MCI, incluíram: regime estacionário; perdas de pressão negligenciadas; modelo termodinâmico de Redlich-Kwong-Soave em todos os blocos do Ciclo Brayton; composição do ar em fração molar igual a 21% de oxigênio e 79% de nitrogênio; etapas de compressão e expansão adiabáticas isentrópicas; e, especificações técnicas (razão de pressão na entrada da turbina e temperatura dos gases de exaustão) baseadas na TBG modelo KG2-3E (Dresser-Rand, Kirkegaardsveien, Noruega), conforme apresentado na Tabela 13.

No caso da simulação do Ciclo Brayton, utilizou-se apenas um bloco *Design-Spec* (TP-GAS, Figura 16), o qual definiu a vazão de ar necessária para que a temperatura dos gases de exaustão na saída da turbina fosse mantida em 549°C, conforme recomendado pelo fabricante desta (Tabela 13). A quantidade de energia elétrica produzida (corrente EE-TBG) foi obtida a partir da subtração entre a geração total de energia elétrica na etapa de expansão (EE-EXPAN) e a energia gasta na compressão das correntes de biogás (corrente ECOMP-BG) e ar (ECOMP-AR). De maneira semelhante ao MCI, a vazão de água aquecida a 95°C foi determinada por meio de um bloco *Design-Spec* (TP-AGUA, Figura 16) no sistema de recuperação de energia térmica⁴⁵, também considerando a temperatura da corrente de gases de exaustão igual a 180°C após as trocas térmicas

4.3.1.3 Simulação do Ciclo Combinado

A geração de energia no ciclo combinado baseou-se no acoplamento de uma TBV à TBG, tendo em vista a geração de vapor a partir da recuperação de parte do calor rejeitado na corrente dos gases de exaustão. O fluxograma da simulação para o CC é apresentado na Figura 17, destacando-se que a configuração da TBG é idêntica à apresentada e descrita

⁴⁵Conforme indicado previamente, a elevada temperatura dos gases de exaustão na TBG possibilita a geração de vapor de alta pressão (NREL, 2003; EPA, 2015), o qual apresenta diversas aplicações industriais, sobretudo ao se considerar o contexto das biorrefinarias de açúcar e etanol. Entretanto, para fins de comparação dos sistemas (MCI e TBG), considerou-se a obtenção de apenas um tipo de produto no sistema de recuperação de energia térmica, i.e., água aquecida a 95°C, utilizando-se a capacidade do MCI como referência.

anteriormente (Figura 16). No caso da TBV, a geração de energia elétrica ocorre partir do Ciclo Rankine, o qual é semelhante ao Ciclo Brayton, diferenciando-se pelo fluido de trabalho (água). Na Figura 17 as etapas do Ciclo Rankine, representadas por operações unitárias, englobam: geração de vapor a alta pressão constante (etapa isobárica) no bloco HRSG (tipo *HeatX*), expansão adiabática na turbina a vapor (bloco TURBVAP, tipo *Turbine*), condensação do vapor a baixa pressão constante (bloco CONDENS, tipo *Heater*) e pressurização da água condensada por meio de uma bomba até a pressão especificada para entrada na turbina (bloco BOMBA, tipo *Pump*).

Em complemento às premissas descritas para a simulação da TBG, no CC tem-se que o modelo Steam-Ta foi utilizado no cálculo das propriedades termodinâmicas dos blocos da TBV (HRSG, TURBVAP, CONDENS e BOMBA), enquanto o modelo Redlich-Kwong-Soave foi empregado nos blocos da TBG. Quanto às especificações técnicas (pressão do vapor na entrada e saída da turbina e temperatura na entrada desta), foram baseadas na TBV modelo SST-110 (Siemens AG – Energy Sector – Oil & Gas Division, Duisburg, Alemanha) (Tabela 13).

Assim como na configuração para TBG (Figura 16), utilizou-se um bloco *Design-Spec* (TP-GAS), para definir a vazão de ar necessária para que a temperatura dos gases de exaustão na saída da primeira turbina (TBG) fosse mantida em 549°C. No caso da turbina a vapor empregou-se um bloco *Design-Spec* adicional (TP-AGUA, Figura 17) para se determinar a temperatura da corrente de gases de exaustão da TBG após troca de calor no HRSG. Para tanto, variou-se a quantidade (vazão mássica) de água recirculada no ciclo a vapor. Novamente, fixou-se a temperatura da corrente de gases de exaustão da TBG no valor de 180°C após as trocas térmicas, buscando-se manter condições semelhantes de energia dissipada nos três sistemas considerados.

Finalmente, no CC a geração total de energia elétrica resultou do somatório de duas correntes (Figura 17): energia produzida na TBG (corrente EE-TBG, resultante da subtração entre a geração total de energia elétrica na etapa de expansão – EE-EXPAN – e a energia gasta na compressão do biogás – ECOMP-BG – e do ar – ECOMP-AR); e, energia produzida na TBV (corrente EE-TBV2, resultante da subtração entre a geração total de energia elétrica na etapa de expansão do vapor – EE-TBV1 – e a energia consumida na bomba de água – EE-BOMBA). Reitera-se que no ciclo combinado procura-se maximizar a geração de eletricidade a partir do combustível, por isso, o calor dissipado na etapa de combustão não é direcionado para recuperação de energia térmica.

Figura 16. Fluxograma da turbina a gás implementada no ambiente da BVC utilizando-se o *software* Aspen Plus®. **Fonte:** Elaboração própria.

Figura 17. Fluxograma do ciclo combinado (turbina a gás + turbina a vapor) implementado no ambiente da BVC utilizando-se o *software* Aspen Plus®. **Fonte:** Elaboração própria.

4.3.1.4 Avaliação da Produção de Energia a partir da Vinhaça

A produção de energia a partir das diferentes tecnologias de conversão consideradas foi baseada nas seguintes variáveis-resposta: [i] produção total de energia elétrica (PTE_{el}) e produção total de energia térmica (PTE_{tm}), fornecidas diretamente pelas simulações, em MW); [ii] produtividade de energia elétrica em termos da vazão de vinhaça (PRE_{el}^{vin} , em $kWh\ m^{-3}_{vinhaça}$) e da vazão de biogás (PRE_{el}^{biog} , em $kWh\ m^{-3}_{biogás}$); [iii] produtividade de energia térmica em termos da vazão de vinhaça (PRE_{tm}^{vin} , em $kWh\ m^{-3}_{vinhaça}$) e da vazão de biogás (PRE_{tm}^{biog} , em $kWh\ m^{-3}_{biogás}$); [iv] potencial energético em termos da geração de eletricidade (PE, em $MJ\ L^{-1}_{EtOH}$); e, [v] eficiências de conversão elétrica (η_{el}) e total (η_{total}). A variável-resposta PE foi utilizada especificamente para comparar os resultados obtidos neste trabalho com os de estudos correlatos, considerando a padronização previamente apresentada na Tabela 5, p. 92. Na Tabela 14 é apresentado o equacionamento das variáveis-resposta usadas na avaliação da produção de energia a partir da vinhaça.

Tabela 14. Equacionamento empregado no cálculo das variáveis-resposta utilizadas na avaliação da produção de energia a partir da vinhaça.

Variável-resposta	Unidade	Equacionamento	Parâmetros de cálculo
Produção total de energia elétrica (PTE_{el})	MW	-	Obtida diretamente na simulação
Produção total de energia térmica (PTE_{tm})	MW	-	Obtida diretamente na simulação
Produtividade de energia elétrica pela vazão de vinhaça (PRE_{el}^{vin})	$kWh\ m^{-3}_{vinhaça}$	$PRE_{el}^{vin} = \frac{PTE_{el}}{Q_{vinhaça}}$	PTE_{el} : produção total de energia elétrica (kW) $Q_{vinhaça}$: vazão de vinhaça ($m^3\ h^{-1}$)
Produtividade de energia térmica pela vazão de vinhaça (PRE_{tm}^{vin})	$kWh\ m^{-3}_{vinhaça}$	$PRE_{tm}^{vin} = \frac{PTE_{tm}}{Q_{vinhaça}}$	PTE_{tm} : produção total de energia térmica (kW) $Q_{vinhaça}$: vazão de vinhaça ($m^3\ h^{-1}$)
Produtividade de energia elétrica pela vazão de biogás (PRE_{el}^{biog})	$kWh\ m^{-3}_{biogás}$	$PRE_{el}^{biog} = \frac{PTE_{el}}{Q_{biogás}}$	PTE_{el} : produção total de energia elétrica (kW) $Q_{biogás}$: vazão de biogás ($m^3\ h^{-1}$)

Tabela 14. Equacionamento empregado no cálculo das variáveis-resposta utilizadas na avaliação da produção de energia a partir da vinhaça (cont.).

Variável-resposta	Unidade	Equacionamento	Parâmetros de cálculo
Produtividade de energia térmica pela vazão de biogás (PRE _{tm} ^{biog})	kWh m ⁻³ _{biogás}	$PRE_{tm}^{biog} = \frac{PTE_{tm}}{Q_{biogás}}$	PTE _{tm} : produção total de energia térmica (kW) Q _{biogás} : vazão de biogás (m ³ h ⁻¹)
Potencial energético ^a (PE)	kWh m ⁻³ _{EtOH}	$PE = \frac{PTE_{el}}{Q_{EtOH}}$	PTE _{el} : produção total de energia elétrica (kW)
	kWh TC ⁻¹	$PE = \frac{PTE_{el} \cdot PR_{EtOH}}{Q_{EtOH}}$	Q _{EtOH} : vazão de etanol (m ³ h ⁻¹)
	MJ L ⁻¹ _{EtOH}	$PE = \frac{0,0036 \cdot PTE_{el}}{Q_{EtOH}}$	PR _{EtOH} : produtividade de etanol (m ³ TC ⁻¹)
Eficiência de conversão elétrica (η _{el})	%	$\eta_{el} = \frac{PTE_{el}}{Q_{biogás} \cdot PCI \cdot 3,6}$	PTE _{el} : produção total de energia elétrica (kW) Q _{biogás} : vazão de biogás (m ³ h ⁻¹) PCI _{biogás} : poder calorífico inferior do biogás ^c (MJ m ⁻³)
Eficiência de conversão total ^b (η _{total})	%	$\eta_{total} = \frac{PTE_{el} + PTE_{tm}}{Q_{biogás} \cdot PCI \cdot 3,6}$	PTE _{el} : produção total de energia elétrica (kW) PTE _{tm} : produção total de energia térmica (kW) Q _{biogás} : vazão de biogás (m ³ h ⁻¹) PCI _{biogás} : poder calorífico inferior do biogás ^c (MJ m ⁻³)

Notas: ^aEm termos da geração de eletricidade; ^bEnergia elétrica + energia térmica; ^cValores obtidos a partir de simulações em Aspen Plus®.

4.3.2 Avaliação Tecnológica: Aspectos Econômicos

A avaliação econômica da implantação da biodigestão nas biorrefinarias de açúcar e etanol baseou-se em conceitos da engenharia econômica, tendo em vista a obtenção de quatro parâmetros para cada cenário considerado: valor presente líquido (VPL), taxa interna de retorno (TIR), período ou tempo de retorno descontado e custos de produção. Tais parâmetros são frequentemente utilizados na avaliação de diferentes alternativas tecnológicas para um determinado projeto, inclusive em trabalhos já desenvolvidos no âmbito da BVC (Dias et al., 2011 e 2012; Cavalett et al., 2012; Moraes et al., 2014), buscando-se, por meio da comparação dos valores obtidos, a opção mais viável para implantação do empreendimento. A

avaliação baseia-se essencialmente na determinação do fluxo de caixa para cada alternativa, considerando os investimentos e todos os gastos e receitas previstas para a vida útil do empreendimento (Watanabe et al., 2016).

Aspectos técnico-econômicos referentes à usina anexa otimizada, i.e., cenário base (CB-0), são detalhadamente apresentados e discutidos em Cavalett et al. (2012) e Bonomi et al. (2016), incluindo características dos processos e operações unitárias, bem como equipamentos considerados. Neste trabalho atribuir-se-á maior ênfase ao impacto da instalação das plantas de biodigestão e geração de energia nas biorrefinarias, tendo em vista os custos de investimento e operação destes sistemas, bem como receitas com a comercialização da energia adicional produzida. Na Tabela 15 são compilados dados de entrada empregados na avaliação econômica desenvolvida, incluindo premissas econômicas, investimentos (purificação do biogás e geração de energia) e preços dos produtos obtidos. Os valores apresentados estão corrigidos para o mês de dezembro de 2015, referência para as estimativas, sendo feito uso do Índice Nacional de Preços ao Consumidor Amplo (IPCA)⁴⁶ ou do *Chemical Engineering Plant Cost Index* (CEPCI)⁴⁷ quando necessário.

Tabela 15. Premissas econômicas, investimentos, preços de insumos e de produtos considerados na avaliação econômica.

Categoria	Item	Unidade	Valor ^a	Referência
Premissas econômicas	Vida útil da planta	ano	25	Watanabe et al. (2016)
	Taxa mínima de atratividade (TMA)	%	12,00	Watanabe et al. (2016)
	Período de referência	-	Dezembro/2015	-
	Taxa de câmbio (R\$/USD)	-	R\$ 3,87 por USD	Valor de mercado
	Taxa de câmbio (R\$/€)	-	R\$ 4,21 por €	Valor de mercado
	Taxa de depreciação (linear, 10 anos)	%	10,00	Watanabe et al. (2016)
	Capital de giro	%	10,00 ^b	Valor assumido
	Manutenção	%	3,00 ^b	Valor assumido
	Alíquotas de impostos (IRPJ + CSLL)	%	34,00 ^c	Cavalett et al. (2012)
Investimentos	Biodigestão - fase única	-	Estimativa própria ^d	

⁴⁶Valor corrigido(dez/2015)(R\$) = valor de referência(R\$) · $\frac{\text{IPCA}(\text{dez}/2015)}{\text{IPCA}(\text{mês de referência})}$

⁴⁷Valor corrigido (dez/2015)(USD) = valor de referência(USD) · $\frac{\text{CEPCI}(\text{dez}/2015)}{\text{CEPCI}(\text{mês de referência})}$

Tabela 15. Premissas econômicas, investimentos, preços de insumos e de produtos considerados na avaliação econômica (cont.).

Categoria	Item	Unidade	Valor ^a	Referência
Investimentos	Biodigestão - duas fases	-	Estimativa própria ^d	
	Purificação do biogás-H ₂ (remoção de CO ₂) ^e	R\$ (Nm ³ h ⁻¹) ⁻¹	8.420,00	Muñoz et al. (2015)
	Purificação do biogás-CH ₄ (remoção de H ₂ S) ^f	R\$ (pacote completo)	79.990,00	Muñoz et al. (2015)
	Geração de energia - MCI ^g	R\$ kW _{el} ⁻¹	4.962,99	EPA (2015)
	Geração de energia - TBG ^g	R\$ kW _{el} ⁻¹	5.445,24	EPA (2015)
	Geração de energia - CC ^g	R\$ kW _{el} ⁻¹	6.070,78	EPA (2015)
Custos de insumos (biodigestão)	NaOH	R\$ kg ⁻¹	2,05	Química e derivados (2015)
	NaHCO ₃	R\$ kg ⁻¹	3,54	Química e derivados (2015)
Preços de produtos	Etanol anidro	R\$ L ⁻¹	1,48	CEPEA (2014)
	Etanol hidratado	R\$ L ⁻¹	1,28	CEPEA (2014)
	Açúcar	R\$ kg ⁻¹	1,10	CEPEA (2014)
	Elettricidade	R\$ MWh ⁻¹	146,00	EPE (2014)
	Hidrogênio purificado	R\$ Nm ⁻³	2,01	Halmeman et al. (2008)

Notas: ^aValores corrigidos para o período de referência (dezembro/2015), baseando-se nas taxas de câmbio e nos índices econômicos (IPCA e CEPCI); ^bPorcentagem do investimento fixo; ^cImposto de Renda Sobre Pessoa Jurídica (IRPJ) = 25% e Contribuição Social sobre o Lucro Líquido (CSLL) = 9%; ^dInvestimentos com as plantas de biodigestão são apresentados como resultados do presente trabalho, baseando-se na concepção de sistemas com potencial para implantação em biorrefinarias de grande porte; ^e*Water scrubbing* (torre de lavagem); ^fMicroaeração do *headspace*; ^gCustos incluem, além dos equipamentos, aspectos da instalação, tais como o gerenciamento do projeto, mão-de-obra, preparação do terreno, dentre outros (EPA, 2015).

Em termos do investimento com a biodigestão, a estimativa dos custos de construção dos reatores e aquisição de equipamentos é apresentada com maior detalhamento na seção 5.3.2 (p. 264) e nos Apêndices B (p. 335) e C (p. 341), baseando-se na concepção de plantas, sobretudo dos reatores, a partir de critérios atualmente empregados no projeto de estações de tratamento de águas residuárias. Esta etapa foi acompanhada pelo Dr. Moacir Messias de Araujo Jr., consultor técnico na área de projeto, implantação e operação de estações de tratamento de efluentes pela empresa Bio Proj Tecnologia Ambiental Ltda. Quanto aos investimentos nas etapas de purificação das correntes de biogás, i.e., remoção de CO₂ do biogás-H₂ (cenários CE-2 e CE-4) e remoção de H₂S do biogás-CH₄ (cenários CE-1 ao CE-5), valores de referência foram obtidos em Muñoz et al. (2015) (Tabela 15). No caso da

purificação do biogás- H_2 considerou-se um sistema de remoção convencional com torre de lavagem (*water scrubbing*), enquanto que no caso do biogás- CH_4 utilizou-se o emprego da microaeração do *headspace* como referência. Adianta-se que não foram considerados aspectos da recuperação de enxofre elementar a partir da oxidação parcial do H_2S neste estudo. Custos de instalação dos acionadores primários também foram obtidos na literatura de referência (EPA, 2015) (Tabela 15).

Retomando a apresentação dos parâmetros utilizados na avaliação econômica, nos próximos itens são resumidas as definições e os cálculos do VPL, TIR, período de retorno descontado e custos de produção. Adianta-se que os cálculos foram realizados com auxílio de planilhas eletrônicas, utilizando-se, para tanto, funções pré-definidas quando pertinente.

4.3.2.1 Determinação do Valor Presente Líquido

Em termos simples, o VPL representa a diferença entre todas as entradas e todas as saídas de caixa, corrigidas para valores presentes, indicando o valor que um projeto ou investimento adiciona ao empreendimento (Watanabe et al., 2016). A Equação (14) apresenta a formulação utilizada no cálculo do VPL, sendo os termos t , FC_t e i respectivamente o tempo transcorrido a partir da implantação do projeto (para uma vida útil de n anos), o fluxo de caixa no período “ t ” e a taxa de desconto. Para fins de cálculo, a taxa mínima de atratividade⁴⁸ (TMA, Tabela 15) é utilizada como taxa de desconto.

$$VPL = \sum_{t=0}^n \frac{FC_t}{(1-i)^t} \quad (\text{Eq. 14})$$

O VPL pode assumir tanto valores positivos quanto negativos, devendo a alternativa ser rejeitada se $VPL < 0$, i.e., o investimento não é economicamente atrativo, uma vez que as saídas são maiores do que as entradas. Se $VPL = 0$ o investimento é considerado indiferente, uma vez que as entradas se igualam às saídas, não havendo, portanto, nem lucro nem prejuízo. Por fim, se $VPL > 0$, o projeto pode ser considerado economicamente atrativo, sendo capaz de cobrir tanto o investimento inicial quanto as remunerações efetuadas ao longo da vida útil do empreendimento, levando inclusive à geração de excedentes financeiros. Na avaliação de

⁴⁸A TMA corresponde ao mínimo que um investidor se propõe a receber ao fazer um investimento, levando em consideração aspectos como o custo de oportunidades, o risco do negócio e a liquidez. Para projetos do setor sucroalcooleiro uma TMA equivalente a 12% (Tabela 15) pode ser considerada um valor razoável (Watanabe et al., 2016).

diferentes alternativas tecnológicas, a opção a ser escolhida é aquela que apresentar o maior VPL (Watanabe et al., 2016).

4.3.2.2 Determinação da Taxa Interna de Retorno

A TIR representa a taxa média anual paga pelo projeto proposto, correspondendo à taxa de desconto na qual o VPL dos custos se iguala ao VPL das receitas, i.e., $VPL = 0$ (Watanabe et al., 2016). A Equação (15) apresenta a formulação empregada no cálculo da TIR, sendo a solução passível de obtenção apenas por métodos iterativos.

$$VPL = 0 = I_0 + \sum_{t=0}^n \frac{FC_t}{(1 + TIR)^t} \quad (\text{Eq. 15})$$

Na Equação (15) os termos I_0 , t , FC_t e TIR representam respectivamente o investimento inicial do empreendimento, o tempo transcorrido a partir da implantação do projeto (para uma vida útil de n anos), o fluxo de caixa no período “ t ” e a taxa interna de retorno. Um dado projeto será economicamente atrativo apenas se $TIR > TMA$. Se a TIR for equivalente à TMA, o investimento está em uma situação de indiferença econômica, enquanto que para $TIR < TMA$ o cenário é economicamente desfavorável, sendo o retorno do investimento inferior ao retorno mínimo pré-definido.

4.3.2.3 Determinação do Período de Retorno (Payback) Descontado e dos Custos de Produção

O tempo de retorno corresponde ao período necessário para que o empreendimento se pague, ou seja, para que os lucros líquidos acumulados se igualem ao investimento (Watanabe et al., 2016). Comparativamente ao VPL, a principal vantagem do tempo de retorno corresponde ao fornecimento do prazo de retorno do investimento. No caso específico do *payback* descontado, os pagamentos futuros são reduzidos pelo custo de capital.

No caso dos custos de produção, seu cálculo é baseado na razão entre custos anuais totais e a quantidade de produto (no caso, etanol e eletricidade) produzida anualmente (Watanabe et al., 2016). Os custos englobam despesas com a operação, i.e., gastos com matérias-primas, insumos, mão-de-obra e manutenção, e o custo capital da biorrefinaria, o qual engloba aspectos construtivos, de equipamentos e da infraestrutura.

4.3.3 Avaliação Tecnológica: Aspectos Ambientais

A avaliação dos impactos ambientais associados à implantação da biodigestão da vinhaça nas biorrefinarias nos diferentes cenários foi baseada na análise do ciclo de vida (ACV), metodologia usualmente empregada nos sistemas destinados à produção de biocombustíveis, tais como os avaliados no contexto da BVC (Watanabe et al., 2016). A partir da ACV estima-se o ônus de um dado produto, processo ou atividade pela quantificação da energia e materiais utilizados e resíduos gerados durante todo o ciclo de vida, incluindo a extração de recursos naturais, processamento, logística, uso, disposição final ou reciclagem do produto (Watanabe et al., 2016). Substancialmente, aspectos ambientais mais amplos são considerados, tais como a emissão de GEEs, utilização de recursos fósseis, acidificação do meio, toxicidade e características da ocupação da terra.

A metodologia da ACV é descrita na série de normas ISO 14000 (ISO, 2006a e 2006b), incluindo, resumidamente, quatro etapas principais: definição do objetivo e escopo, modelação do inventário do ciclo de vida (ICV)⁴⁹, avaliação de impacto e interpretação dos resultados. Em termos da definição do escopo da ACV, na Figura 18 são apresentadas as fronteiras do sistema considerado para o processamento da cana-de-açúcar nos cenários avaliados, sendo os produtos finais caracterizados pelo etanol, açúcar, eletricidade e hidrogênio, dependendo do *layout* proposto para a planta de biodigestão. Com relação ao ICV, no contexto da BVC a modelação dos processos foi conduzida a partir de diferentes ferramentas (Watanabe et al., 2016): CanaSoft (inventário para cana-de-açúcar contemplando aspectos da etapa agrícola); plataformas de simulação para determinação dos balanços de massa e energia nas diferentes alternativas industriais, conforme descrito no item 4.3.1, incluindo seus subitens (p. 127-140); e Log&UsoSoft (inventários para logística e uso do etanol, coprodutos e derivados).

A análise ambiental foi baseada no emprego do *software* SimaPro (PRé Consultants, 2016), sendo a base de dados ecoinvent v2.2 (Ecoinvent, 2007) usada para obtenção dos perfis ambientais dos principais insumos (Figura 18) empregados nos sistemas avaliados (p.ex. diesel, fertilizantes inorgânicos, pesticidas e outros produtos químicos, tais como os alcalinizantes na etapa de biodigestão da vinhaça). O uso de recursos e as emissões ao solo, ar e água observados em toda cadeia produtiva (Figura 18) foram convertidos em diferentes categorias de impactos, conforme previsto pela metodologia da ACV. Neste estudo, as seguintes categorias de impactos, selecionadas a partir do método ReCipe Midpoint

⁴⁹O ICV fornece uma visão geral das intervenções ambientais associadas pelos processos desenvolvidos nos limites do sistema estudado, tais como o uso de energia, a extração de recursos e as emissões ambientais (Watanabe et al., 2016).

(Goedkoop et al., 2009), foram usadas para comparar o desempenho ambiental do etanol nas diferentes rotas avaliadas: mudanças climáticas, toxicidade humana, acidificação, eutrofização, ocupação da área agrícola e depleção de recursos fósseis, sendo detalhes de cada categoria apresentados na continuação do texto.

Figura 18. Fronteiras do sistema destinado à produção de etanol anidro, açúcar e eletricidade a partir da cana-de-açúcar, incluindo as etapas de biodigestão da vinhaça e recuperação de energia a partir do biogás, considerando a abordagem do “berço ao portão da fábrica”. **Fonte:** Elaboração própria, com base em Cavalett et al. (2012) e Watanabe et al. (2016). Notas: ^aInclui o emprego de água, lubrificantes, ácido sulfúrico, antibióticos, floculantes, óxido de cálcio, enzimas, catalisadores, zeólitas, hidróxido de sódio e bicarbonato de sódio; ^bRecuperado a partir do biogás-H₂ conforme descrição do cenário CE-2.

- i. Mudanças climáticas: A categoria “mudanças climáticas”, também denominada por “pegada de carbono”, “potencial de aquecimento global” ou “emissões de GEEs”, é medida em termos da quantidade de CO₂ equivalente (CO₂-eq) emitida por quantidade de etanol produzido (neste estudo = g CO₂-eq kg⁻¹EtOH). Os fatores descrevendo a equivalência da massa de um dado GEE em relação à massa do CO₂ para um horizonte de tempo equivalente a 100 anos foram obtidos a partir de metodologia reportada pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, da sigla em inglês de *Intergovernmental Panel on Climate Change*) (IPCC, 2007). Este método apresenta consenso global quanto à relação entre a emissão de GEEs e o aumento da temperatura global, daí sua aplicabilidade na ACV;
- ii. Toxicidade humana: Categoria que mensura efeitos de substâncias tóxicas sobre o ambiente humano, sendo medida em termos da quantidade de 1,4-diclorobenzeno equivalente (1,4-DB-eq) gerada por quantidade de etanol produzido (neste estudo = g 1,4-DB-eq kg⁻¹EtOH). Os fatores característicos dessa categoria consideram a persistência no ambiente, o acúmulo na cadeia alimentar humana (exposição) e a toxicidade (efeito) de um dado produto químico (Huijbregts et al., 2005);
- iii. Acidificação terrestre: Categoria de impacto que reflete a deposição atmosférica de substâncias inorgânicas, tais como sulfatos, nitratos e fosfatos, que promovem alterações na acidez do solo (van Zelm et al., 2007). Neste caso, a escala geográfica varia entre local e continental, sendo os resultados reportados em termos da quantidade de dióxido de enxofre equivalente (SO₂-eq) emitida por massa de etanol produzido (neste estudo = g SO₂-eq kg⁻¹EtOH);
- iv. Eutrofização: Considera a contribuição de substâncias inorgânicas com caráter nutriente, em especial compostos de fósforo e o nitrogênio, para a eutrofização dos corpos d’água. Nesta categoria, utiliza-se a quantidade de fósforo equivalente (P-eq) emitida por massa de etanol como unidade (neste estudo = g P-eq kg⁻¹EtOH);
- v. Ocupação da área agrícola: Definida como a manutenção de uma área sob um dado estado, i.e., um dado tipo de ocupação, durante um determinado período de tempo. A unidade “metro quadrado de terra ocupada por ano” (m²a) por quantidade de etanol produzido é usada na estimativa dos impactos. Nessa categoria, os impactos refletem os danos causados ao ecossistema devido à ocupação da terra para produção agrícola (Goedkoop et al., 2009); e,
- vi. Depleção de recursos fósseis: Categoria que considera o decréscimo gradual da quantidade e da qualidade de recursos fósseis, sendo avaliada em termos da massa de petróleo equivalente (petróleo-eq) consumida por massa de etanol produzida

(g petróleo-eq kg⁻¹EtOH). Tendo em vista que a depleção dos recursos fósseis aumenta os custos destes, outros recursos precisam ser explorados para suprir a cadeia produtiva. Os fatores de caracterização desta categoria são baseados nas mudanças previstas para o consumo de fontes de petróleo convencionais e não convencionais (Goedkoop et al., 2009).

A obtenção de múltiplos produtos em cada cenário, i.e., etanol, açúcar, eletricidade e hidrogênio (Figura 18), requer a distribuição dos impactos ambientais para cada um dos produtos. Para tanto, neste estudo foi empregado o procedimento de alocação dos impactos segundo critérios econômicos, no qual a divisão é baseada em propriedades econômicas dos processos produtivos multifuncionais, tais como receitas brutas ou ganhos econômicos esperados (Watanabe et al., 2016). Destaca-se, por fim, que a geração das pontuações relativas a cada categoria de impacto na ACV dos cenários avaliados neste trabalho foi conduzida pelo Eng. Mateus Ferreira Chagas, vinculado ao CTBE/CNPEN.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos ao longo da realização do trabalho, tendo em vista as hipóteses e os objetivos previamente definidos, bem como os conceitos elencados a partir da pesquisa bibliográfica. Inicialmente apresentam-se aspectos referentes à operação e ao monitoramento dos reatores nas fases acidogênica e metanogênica, buscando-se relacionar a eficiência e a estabilidade dos sistemas, tanto em relação à conversão e/ou remoção de matéria orgânica como quanto à produção de biogás, a diferentes eventos observados ao longo da operação. O desempenho dos sistemas também é comparado a diferentes estudos associados à aplicação de sistemas anaeróbios no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar, buscando-se discutir as potencialidades deste processo, particularmente da configuração estudada, no contexto das biorrefinarias de etanol, com ênfase no reaproveitamento energético do biogás. Neste contexto, são estudados cenários para geração de energia, conforme previamente indicado, considerando o emprego de diferentes tecnologias para conversão das correntes de biogás-CH₄ e/ou biogás-H₂ provenientes da conversão da matéria orgânica. Avaliações de caráter ambiental e econômico também são apresentadas no comparativo dos cenários estudados, procurando-se identificar as melhores condições para a implantação do processo anaeróbio em plantas industriais.

5.1 Fase Acidogênica: Conversão de Matéria Orgânica e Produção de Hidrogênio

O reator operado na fase acidogênica (APBR) foi monitorado continuamente por 240 dias, perfazendo duração próxima à média da safra de cana-de-açúcar na região Centro-Sul do Brasil – 232 dias (CONAB, 2011). Baseando-se nos parâmetros associados à produção de hidrogênio, em especial a produção volumétrica e o rendimento, diferentes estratégias operacionais foram aplicadas no reator, buscando-se manter contínua esta produção. Na Figura 19 são apresentados os perfis temporais da vazão e composição do biogás-H₂, produção volumétrica, vazão molar e rendimento de hidrogênio obtidos ao longo da operação. Inicialmente destaca-se que, embora as curvas remetam a períodos de instabilidade na produção de hidrogênio, é possível notar um comportamento contínuo ao longo de praticamente todo o período operacional.

Resumidamente, os principais eventos associados às quedas na atividade hydrogenogênica referem-se a: [i] reduções na carga orgânica aplicada no reator, tendo em vista variações composicionais da vinhaça ao longo da safra; [ii] estabelecimento de condições de pH desfavoráveis à produção de hidrogênio no meio reacional, verificadas pela

redução ou pelo aumento no pH medido na corrente efluente ao reator; e, [iii] acúmulo de biomassa no sistema, afetando negativamente a carga orgânica volumétrica específica no APBR. Embora quedas consideráveis na geração de hidrogênio sejam observadas na Figura 19, destaca-se também que em todos os casos o sistema apresentou capacidade para recuperar a produção de biogás- H_2 , conforme apresentado com maior riqueza de detalhes na sequência, demonstrando a possibilidade da manutenção de produções de hidrogênio em longo prazo a partir da vinhaça de cana-de-açúcar. Tal fato deve ser enfatizado, uma vez que até a presente data a literatura não apresenta relatos de sistemas acidogênicos de leito fixo aplicados no tratamento de vinhaça operados por períodos superiores a 60 dias, utilizando-se como referência o estudo de Ferraz Jr. et al. (2015a).

A produção de hidrogênio mostrou-se contínua e aproximadamente estável nos primeiros 45 dias de operação (PVH e VMH respectivamente iguais a $1.203 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $6,03 \text{ mmolH}_2 \text{ h}^{-1}$, Tabela 16), seguindo-se um leve declínio, conforme observado na Figura 19. Tendo em vista o comportamento previamente relatado no trabalho de Ferraz Jr. et al. (2015a), no qual os autores observaram um decréscimo contínuo na produção de hidrogênio a partir do 25°-30° dia de operação em um APBR operado nas mesmas condições aplicadas neste trabalho ($COVa = 84,2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, 55°C), optou-se por descartar o excesso de biomassa acumulada no fundo do reator (Figura 20a, 51° dia de operação, ~350 mL ou 9,5 gSSV). Com este procedimento buscou-se fornecer condições adequadas à biomassa acidogênica em termos da disponibilidade de substrato, a partir do controle da COVe no sistema, bem como minimizar problemas hidrodinâmicos devido ao entupimento da fase estacionária (Peixoto et al., 2011; Anzola-Rojas et al., 2015; Anzola-Rojas e Zaiat, 2016).

O crescimento excessivo da biomassa tende a afetar o padrão de escoamento no reator, limitando a transferência de massa líquido-gás, bem como propicia o estabelecimento de micro-organismos consumidores de hidrogênio no meio, em específico as bactérias homoacetogênicas, levando a produções decrescentes de hidrogênio (Hafez et al., 2010; Peixoto et al., 2011; Anzola-Rojas et al., 2015). Retomando a discussão sobre os resultados obtidos neste estudo, a estratégia adotada propiciou a recuperação da produção de hidrogênio, levando a um incremento de 47% na PVH (409 a $862 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Entretanto, um novo comportamento decrescente pode ser observado (~60° dia), evidenciado nos perfis da PVH, VMH e HY (Figura 19). Este comportamento ainda pode estar associado ao envelhecimento⁵⁰

⁵⁰Entende-se por *envelhecimento* da biomassa acidogênica a sucessão entre as diferentes populações microbianas atuantes na conversão da matéria orgânica, levando ao estabelecimento de micro-organismos não produtores e/ou consumidores de hidrogênio, tais como as bactérias homoacetogênicas (Anzola-Rojas e Zaiat, 2016). O envelhecimento da biomassa está intimamente associado às condições propiciadas ao meio reacional, de modo que parâmetros como a COVa, COVe, TDH, pH, temperatura, dentre outros, favorecem ou não a manutenção da atividade das bactérias produtoras de hidrogênio.

da biomassa acidogênica, levando à proliferação de bactérias consumidoras de hidrogênio. Limitações associadas ao próprio descarte de biomassa também podem ter refletido tal comportamento, uma vez que a quantidade de sólidos descartados pode não ter sido suficiente para o estabelecimento de valores de COVe adequados, conforme discutido posteriormente.

Alterações na composição físico-química da vinhaça (coleta C3), em especial quanto à concentração de matéria orgânica, levaram a uma queda brusca na produção de hidrogênio por volta do 75º dia de operação (PVH igual a $15,63 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, Figura 19a). Este comportamento esteve associado a reduções na DQOt e na concentração de carboidratos de 32,2-29,1 (C1-C2) para $23,4 \text{ g L}^{-1}$ e 6,9-5,1 (C1-C2) para $3,9 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente, em termos de valores médios (Tabela 6, p. 101). Neste caso, a carga orgânica aplicada no sistema foi reduzida a aproximadamente $50,4 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Figura 19b, queda de 40% em relação ao valor ótimo – Ferraz Jr. et al., 2014b), também afetando a remoção de matéria orgânica e a conversão de carboidratos, conforme discutido em seguida. Outro ponto associado à abrupta diminuição da COVa refere-se ao estímulo à atividade metanogênica, uma vez que níveis-traço de metano foram detectados no biogás após a situação descrita (Figura 19d). Contudo, a adequação da COVa propiciou uma nova recuperação na atividade hidrogenogênica por volta do 80º dia de operação (Figura 19), levando a valores da PVH e VMH respectivamente iguais a $1.210 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $6,87 \text{ mmolH}_2 \text{ h}^{-1}$.

A troca do afluente (coleta C4) propiciou uma nova queda na produção de hidrogênio (PVH de $86,69 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) por volta do 100º dia de operação, indicando o estabelecimento de condições não favoráveis às bactérias produtoras de hidrogênio a partir de valores de pH efluente inferiores a 5,0 ($4,8 \pm 0,1$). As concentrações de macro e micronutrientes (Apêndice A, p. 331) e fenóis totais (Tabela 6) na vinhaça bruta não apresentaram grandes variações entre as coletas C3 e C4. A análise da razão DBO/DQO apresentou um declínio acentuado em C4 (0,4), quando comparada às coletas iniciais (0,6), fato que pode refletir a perda de desempenho do sistema no referido período.

Outro fator a ser considerado refere-se ao novo acúmulo de biomassa na porção inferior do APBR, tendo em vista as limitações discutidas previamente. Desta forma, nesta etapa da operação optou-se pela aplicação simultânea de duas estratégias no reator, considerando dois descartes consecutivos de biomassa (Figura 20a, 98º e 105º dias de operação, ~1.400 mL ou 22,9 gSSV) e da correção do pH da corrente de vinhaça afluente para aproximadamente 7,5 (Figura 21a). Conforme observado na Figura 19, as estratégias adotadas novamente permitiram a recuperação do sistema em termos da produção de hidrogênio, a qual manteve comportamento crescente – atingindo valores de $879 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $5,84 \text{ mmol H}_2 \text{ h}^{-1}$ respectivamente para PVH e VMH – até a nova troca do afluente (coleta C5).

Figura 19. Produção de biogás e hidrogênio na fase acidogênica (APBR): (a) vazão de biogás (VBG, $\square$ -) e produção volumétrica de hidrogênio (PVH, $\blacksquare$ -), (b) vazão molar de hidrogênio (VMH, $\blacklozenge$ -), (c) rendimento de hidrogênio (HY, $\diamond$ -) e (d) composição do biogás (hidrogênio $\circ$ -, gás carbônico $\bullet$ -, metano $\triangle$ -). Legenda: COVa (—); coleta de vinhaça (C1-6/7).

Tabela 16. Desempenho do APBR em termos da produção de biogás e hidrogênio, conversão de carboidratos e remoção de matéria orgânica.

Variável-resposta	Unidade	Período correspondente		
		7°-45° dias	206°-240° dias	Geral (7°-240° dias)
VBG	(mL d ⁻¹)	8.716 ± 2.257 (16)	11.893 ± 4.683 (21)	8.021 ± 3.947 (108)
		12.382	21.849	21.849
PVH ^a	(mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹)	1.203 ± 288 (16)	1.604 ± 447 (21)	789 ± 590 (108)
		1.897	2.107	2.107
VMH ^a	(mmolH ₂ h ⁻¹)	6,03 ± 1,59 (16)	6,03 ± 3,07 (21)	3,82 ± 2,63 (108)
		8,63	14,07	14,07
HY ^a	(molH ₂ mol ⁻¹ CH)	3,4 ± 0,7 (16)	1,9 ± 1,1 (18)	1,5 ± 1,1 (99)
		4,5	5,6	5,6
	(molH ₂ g ⁻¹ DQOc) ^b	8,0 ± 3,1 (16)	5,2 ± 2,7 (18)	4,1 ± 3,0 (99)
		11,7	14,6	14,6
	(molH ₂ g ⁻¹ DQOa) ^c	0,87 ± 0,37 (12)	0,72 ± 0,23 (15)	0,49 ± 0,33 (85)
		1,29	1,09	1,29
H ₂ (biogás)	(%)	37,0 ± 6,1 (16)	17,5 ± 3,7 (21)	19,6 ± 10,5 (108)
		46,2	26,0	46,2
EC _{CH}	(%)	52,3 ± 10,9 (16)	70,5 ± 4,9 (18)	63,6 ± 9,9 (99)
		72,2	75,6	81,0
ER _{DQOt}	(%)	7,0 ± 2,0 (12)	24,6 ± 2,5 (15)	16,5 ± 8,0 (85)
		10,3	28,0	34,2
ER _{DQOs}	(%)	8,4 ± 4,7 (12)	17,8 ± 4,2 (15)	12,7 ± 5,3 (85)
		18,1	22,3	25,5
SSVe	(mg L ⁻¹)	1.138 ± 226 (11)	1.364 ± 503 (14)	1.167 ± 330 (64)
		1.500	1.963	1.963
pH	(-)	5,1 ± 0,1 (26)	5,1 ± 0,2 (25)	5,1 ± 0,3 (159)
		5,2	5,3	5,6

Notas: ^aCondições normais de temperatura e pressão (CNTP – 0°C, 1 atm); ^bDQOc = DQO convertida, utilizando-se a relação de 1,12 gDQO g⁻¹CH; ^cDQOa = DQO total afluente ao reator. Valores entre parênteses correspondem ao número de amostragens. Valores em **negrito** correspondem aos máximos observados no referido período operacional. Os dados coletados entre o 1° e o 6° dias de operação não foram considerados nos cálculos, uma vez que no neste período houve o estabelecimento da atividade hidrogenogênica no reator.

Variáveis-resposta: VBG = vazão de biogás; PVH = produção volumétrica de hidrogênio; VMH = vazão molar de hidrogênio; HY = rendimento de hidrogênio; H₂(biogás) = proporção de hidrogênio no biogás; EC_{CH} = eficiência de conversão de carboidratos; ER_{DQOt} = eficiência de remoção de DQO total; ER_{DQOs} = eficiência de remoção de DQO solúvel; SSVe = concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente; pH = pH no efluente.

Figura 20. Dinâmica da retenção de biomassa no reator acidogênico (APBR): (a) concentração de biomassa retida no reator ($\diamond$ -) e carga orgânica volumétrica específica (COVe, $\circ$ -): (b) produção volumétrica de hidrogênio (PVH, $\blacksquare$ -) e (c) rendimento de hidrogênio (HY, $\blacklozenge$ -). Legenda: descartes de biomassa ($\leftarrow$); coleta de vinhaça (C1-6/7).

A partir da aplicação da vinhaça proveniente da coleta C5, por volta do 145º de operação, novamente foram observadas perdas de desempenho com relação à produção de hidrogênio no APBR. Neste caso, as menores produções de BioH_2 (PVH e VMH iguais a $94,5 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $0,63 \text{ mmol H}_2 \text{ h}^{-1}$, respectivamente) estiveram associadas ao aumento do pH na corrente efluente ao reator, de modo a se observar valores superiores a 5,4 para este parâmetro ($5,4 \pm 0,1$). Novamente, a análise composicional na vinhaça não indicou variações consideráveis em relação às demais coletas, exceto pela manutenção de valores próximos a

0,4 para a razão DBO/DQO. Tendo em vista a influência do pH do meio reacional sobre a atividade da biomassa acidogênica, procurou-se reduzir o pH da vinhaça afluente ao reator, novamente para 6,5 e, posteriormente, para cerca de 5,5 (Figura 21a). Embora a produção de biogás tenha se mantido, a proporção de hidrogênio apresentou queda constante e expressiva (Figura 19d), atingindo valores praticamente nulos – PVH igual a $8,52 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ – por volta do 160º dia de operação (Figuras 19).

Figura 21. Monitoramento da fase líquida do reator acidogênico (APBR): (a) o pH afluente ($\square$) e efluente ($\blacksquare$) ao reator, (b) eficiência de conversão de carboidratos (EC_{CH} , $\blacklozenge$) e (c) eficiência de remoção de DQO (ER_{DQO} ; total $\bullet$, solúvel $\circ$). Legenda: coleta de vinhaça (C1-6/7).

Buscando-se recuperar a atividade hidrogenogênica no referido período, optou-se por realizar um novo descarte de biomassa (Figura 20a, ~1.100 mL ou 20,5 gSSV) por volta do 150° dia de operação, contudo, não foram observadas melhoras quanto à produção de hidrogênio no APBR. Neste ponto é importante discutir a influência da variação da COVe sobre a produção de hidrogênio ao longo da operação em longo prazo de reatores de leito fixo empacotado, tendo em vista que os descartes de biomassa não levaram a variações expressivas deste parâmetro, em comparação ao período inicial de operação, conforme apresentado nas Figuras 20b-c. O padrão observado para a retenção de biomassa no reator (Figura 20a) indica que a COVe apresentou variação em uma faixa estreita de valores (1,5-4,0 gCH g⁻¹SSV d⁻¹, Figuras 20b-c) para concentrações de biomassa superiores a 5-6 gSSV L⁻¹ (Figura 20a, a partir do 30° dia de operação).

A baixa porosidade resultante da disposição randômica do material suporte inerente a reatores de leito fixo empacotado, conforme esperado, dificulta a remoção da biomassa acidogênica do leito fixo apenas por meio de descartes de fundo, fato que explica o padrão observado para a retenção de biomassa e variação da COVe durante a operação do APBR (Figura 20). Desta forma, a utilização de estratégias de descarte adicionais, tais como a retrolavagem, pode potencializar a remoção do excesso de sólidos em reatores do tipo APBR. A inversão do fluxo de água residuária, i.e., fluxo descendente, também pode potencializar a eliminação de sólidos do reator ao longo da operação, tanto pelo próprio sentido do fluxo quanto pela sedimentação natural da biomassa (Anzola-Rojas e Zaiat, 2016).

Outra opção tecnológica compreende a utilização de reatores de leito fixo estruturado na fase acidogênica, baseando-se na mesma configuração empregada na fase metanogênica desta pesquisa, tendo vista que a disposição do meio suporte neste tipo de reator favorece a remoção de sólidos, eliminando eventuais problemas de entupimento devido à maior porosidade do leito (Camiloti et al., 2014; Mockaitis et al., 2014). Para fins de produção de hidrogênio, tais características tendem a ser vantajosas, uma vez que estudos anteriores, tais como o de Fernandes et al. (2013), associaram maiores produções de hidrogênio em reatores de leito fixo com porosidades elevadas (91%), provavelmente como uma consequência direta da manutenção de reduzidas pressões parciais de hidrogênio no meio reacional. Além disso, tendo em vista a faixa estreita de valores considerados ótimos para a COVe, baseando-se em relatos da literatura (Hafez et al., 2010; Anzola-Rojas et al., 2015; Anzola-Rojas e Zaiat, 2016) e na discussão apresentada posteriormente, a aplicabilidade de reatores acidogênicos de leito fixo estruturado no tratamento da vinhaça deve ser encorajada.

Retomando a discussão sobre o desempenho do APBR, considerando a baixa efetividade do quarto descarte de fundo, a estratégia operacional adotada compreendeu a

manutenção de um curto período de sobrecarga orgânica no reator (Figura 19b, COVa de 100-110 kgDQO m⁻³ d⁻¹ aplicada por aproximadamente cinco dias), uma vez que o controle da COVe pelo descarte de biomassa não se mostrou suficiente. Concomitantemente manteve-se o controle do pH inicial em aproximadamente 5,5 (Figura 21a). Como resultado, verificou-se um novo incremento na produção de hidrogênio, observando-se valores de 888 mLH₂ L⁻¹ d⁻¹ e 5,97 mmolH₂ h⁻¹ para a PVH e VMH, respectivamente. Tendo em vista a variação pouco expressiva da COVe a partir do 30º dia de operação (em geral, valores inferiores a 3 gCH gSSV⁻¹ d⁻¹, Figuras 20b-c), mesmo com o aumento da COVa, acredita-se que a melhora de desempenho observada para o APBR tenha decorrido das condições hidrodinâmicas impostas ao reator, as quais podem ter favorecido o estabelecimento de pressões parciais reduzidas de hidrogênio no meio devido ao aumento da velocidade ascensional. Um incremento de aproximadamente 30% (0,10 para 0,13 m h⁻¹) foi estimado para a velocidade ascensional a partir do aumento da COVa de 84,2 para 110 kgDQO m⁻³ d⁻¹ (Figura 19b).

Em sistemas biológicos, a formação eficiente⁵¹ de hidrogênio molecular ocorre preferencialmente por duas rotas metabólicas, na presença de coenzimas específicas: a decomposição do ácido fórmico e/ou a reoxidação das moléculas reduzidas de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) – Reações (6) e (7) (Hallenbeck, 2009; Show et al., 2011; Braga et al., 2016). Considerando particularmente a reoxidação do NADH, a formação de hidrogênio é favorecida somente em sistemas caracterizados pela constante remoção de H₂ do meio (baixa pressões parciais), uma vez que o potencial redox do par H⁺/H₂ (-450 mV) é consideravelmente menor do que o do par NAD⁺/NADH (-320 mV) (Hallenbeck, 2009). Em reatores nos quais a pressão de hidrogênio é elevada, tais como os sistemas de leito fixo empacotado sob condições de acúmulo de biomassa (Peixoto et al., 2011; Anzola-Rojas et al., 2015), a inabilidade da biomassa acidogênica para reduzir os prótons H⁺ a partir do NADH leva à oxidação deste por meio de rotas metabólicas associadas à produção de compostos orgânicos reduzidos, geralmente o ácido butírico, o ácido propiônico e o etanol (Fynn e Syafila, 1990; Hallenbeck, 2009; Pawar e van Niel, 2013; Sivagurunathan et al., 2014; Braga et al., 2016). As Reações (8), (9) e (10) apresentam, respectivamente, a formação do ácido butírico e do etanol pela via da acetilcoenzima A (CH₃COSCoA) e a formação do ácido propiônico pela via do piruvato (CH₃COCOOH), utilizando-se o NADH como doador de elétrons (Braga et al., 2016).

⁵¹Entende-se por formação eficiente de hidrogênio molecular em reatores biológicos situações em que a retenção de prótons (H⁺) em moléculas reduzidas, tais como o etanol, o butanol e o ácido butírico, é baixa. Desta forma, os prótons ficam disponíveis à formação do H₂ pela via da reoxidação do NADH.

Nas Reações (6) e (7) os termos Fd^+ e Fd^{2+} correspondem, respectivamente, às formas reduzida e oxidada da ferredoxina, proteína atuante nos mecanismos de transferência de elétrons. Nas Reações (8) e (9) o termo CoASH corresponde à notação da coenzima A.

A subsequente redução da COVa para o valor considerado ótimo (Figura 19b, 84,2 kgDQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$) levou a um novo decréscimo na PVH e VMH, ainda associando-se um elevado pH na corrente efluente ao reator (~5,3). Ressalta-se que a opção pela manutenção da sobrecarga orgânica por um curto período de tempo baseia-se nos resultados apresentados no trabalho de Ferraz Jr. et al. (2014b), os quais indicaram menores produções de hidrogênio para valores de COVa superiores a 100 kgDQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$. De fato, os autores observaram um decréscimo de 25% na PVH (526,8 vs. 391 mLH₂ L⁻¹ d⁻¹) ao comparar reatores de leito fixo empacotado operados a 72,4 e 108,6 kgDQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$. O aumento da COVa também pode levar ao acúmulo de ácido propiônico no reator (Sivagurunathan et al., 2014), propiciando o colapso do sistema. Além disso, a aplicação de sobrecargas orgânicas a partir do incremento da vazão de água residuária potencializa a lavagem de biomassa em reatores de células suspensas; desta forma, o emprego desta estratégia tende a ser uma opção viável apenas para reatores com células imobilizadas, uma vez que nestes o leito atua como uma barreira à eliminação excessiva de sólidos.

Tendo em vista a influência de condições de pH desfavoráveis à produção de hidrogênio no reator, optou-se por aplicar um choque de pH no sistema, fazendo-se a alimentação deste com vinhaça sem a prévia correção do pH (4,4) durante o 192º dia de operação (Figura 21a). Com esta estratégia procurou-se gerar uma perturbação no sistema, suficiente para reproduzir condições semelhantes às observadas ao final da etapa de inoculação por fermentação natural, na qual o pH medido no efluente recirculado atingiu um valor aproximado de 4,5. Conforme observado nas Figuras 19a-c, a atividade hidrogenogênica foi reestabelecida, verificando-se picos de 2.107 mLH₂ L⁻¹ d⁻¹ e 14,07 mmolH₂ h⁻¹ para PVH e VMH, e posteriormente valores médios de 1.604 ± 447 mLH₂ L⁻¹ d⁻¹ (PVH, Tabela 16) e $6,03 \pm 3,07$ mmolH₂ h⁻¹ (VMH, Tabela 16) até o final da operação do reator.

O comportamento observado para os parâmetros PVH e VMH (Figuras 19a-b) assemelha-se ao observado para o HY (Figura 19c), em especial até a recuperação do sistema após a redução da COVa (por volta do 85º dia de operação). Posteriormente, a partir da troca da alimentação (coletas C4 e C5) o sistema apresentou instabilidade quanto ao HY, com valores máximos próximos a $2,0 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1}\text{CH}$ (Figura 19c). Tal comportamento pode estar associado às limitações quanto à biodegradabilidade da vinhaça – expressa pela razão DBO/DQO – previamente discutidas. A partir da sobrecarga orgânica aplicada e especialmente a partir do choque de pH o sistema voltou a apresentar melhora de desempenho com relação ao parâmetro em questão, apresentando um valor máximo de $5,6 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1}\text{CH}$ no 217º de operação, seguido de um período estável observado até o desligamento do reator (Figura 19c).

Comparando-se os valores obtidos para a produção volumétrica e o rendimento de hidrogênio ao início e ao final da operação (Tabela 16), nota-se um comportamento discrepante: enquanto maiores rendimentos foram observados no período inicial ($3,4 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1}\text{CH}$), maiores produções volumétricas foram obtidas no período final ($1.604 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Este resultado indica o estabelecimento de condições mais favoráveis às bactérias produtoras de hidrogênio (BPH) no início da operação, tendo em vista um aproveitamento mais eficiente do substrato em termos da extração de energia (maiores valores de HY). Os menores valores associados ao HY ao final da operação provavelmente decorrem do acúmulo de biomassa no leito do APBR, baseando-se no comportamento observado para a COVe (Figuras 20b-c). De qualquer forma, este resultado também indica a possibilidade de se obter produções contínuas de hidrogênio mesmo para condições desfavoráveis de COVe, tendo em vista a aplicação de estratégias operacionais adequadas, sobretudo quanto à manutenção do pH no meio reacional.

Com relação à remoção de matéria orgânica e conversão de carboidratos, o comportamento observado correspondeu aos períodos de instabilidade observados para a produção de hidrogênio. Nas Figuras 21b-c são apresentados, respectivamente, os perfis temporais para conversão de carboidratos e remoção de DQO (total e solúvel) ao longo da operação da fase acidogênica. Considerando a remoção de DQOt, observa-se uma fase de estabilização a partir do 60º dia de operação (~27%), entretanto, a redução brusca da COVa também levou a uma perda de desempenho do sistema quanto a este aspecto (5,2%). A remoção de DQOt apresentou uma contínua, porém instável, melhora ao longo da operação, atingindo novamente a estabilidade por volta do 200º dia ($24,6 \pm 2,5\%$, Tabela 16, Figura 21c). Em termos gerais, padrão semelhante foi observado quanto à remoção de DQOs, levando a uma média de $17,8 \pm 4,2\%$ (Figura 21c) ao final da operação, durante a fase estável.

Em termos da DQOt, os valores obtidos ao final da operação assemelham-se aos reportados nos trabalhos de Ferraz Jr. et al. (2014b) e (2015a), nos quais os autores relataram eficiências médias de remoção de DQOt de aproximadamente 25% (Tabela 17) em reatores de leito fixo empacotado operados sob diferentes condições de COVa. Entretanto, em termos gerais, a eficiência de remoção de DQOt observada neste trabalho compreendeu $16,5 \pm 8,0\%$, valor que, embora caracterizado como comum a sistemas acidogênicos (Perna et al., 2013; Buitrón et al., 2014; Santos et al., 2014a e 2014b), é pouco representativo devido aos períodos de instabilidade previamente discutidos. Atribui-se a discrepância entre este valor e os previamente citados à ocorrência dos eventos de instabilidade na operação do APBR em longo prazo (240 dias), sobretudo quanto à variação composicional da vinhaça, de modo que tais eventos tornam-se pouco evidentes em sistemas operados por menores períodos de tempo – em Ferraz Jr. et al. (2014b) os reatores foram operados por 30 dias, enquanto que em Ferraz Jr. et al. (2015a) a operação se estendeu por 60 dias, dadas as produções nulas ou muito baixas de hidrogênio obtidas experimentalmente.

Destaca-se, ainda, que o conceito de conversão de DQOt em reatores acidogênicos precisa ser considerado com cautela, uma vez que nestes sistemas as condições operacionais tendem a favorecer a atividade das bactérias hidrolíticas, levando à solubilização do substrato orgânico, embora a efetividade da etapa hidrolítica dependa do TDH (Hallenbeck, 2009). Neste trabalho, a relação DQO solúvel/DQO total (DQOs/DQOt) da vinhaça acidificada (0,86) apresentou um leve incremento em comparação à da vinhaça bruta (0,83), sugerindo uma leve solubilização das frações sólidas presentes no efluente. Baseando-se no trabalho de Ferraz Jr. et al. (2015a), os valores da relação DQOs/DQOt para a vinhaça bruta e acidificada chegaram respectivamente a 0,73 e 0,84, indicando uma etapa de hidrólise mais eficiente. Similarmente, em Ferraz Jr. et al. (2014b), a melhor condição operacional obtida ($\text{COVa} = 72,4 \text{ mgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) também levou a uma relação DQOs/DQOt de 0,83 na vinhaça acidificada⁵². A discrepância observada nas relações DQOs/DQOt da vinhaça acidificada obtidas neste e nos demais trabalhos de referência pode ser explicada pelo TDH utilizado nas operações, sendo este consideravelmente maior em Ferraz Jr. et al. (2014b) e (2015a) – respectivamente 12 e 10,2 h – quando comparado ao utilizado neste trabalho – 6-7,5 h. Diferenças composicionais na vinhaça também podem ter levado às diferenças observadas, uma vez que o efluente bruto usado neste trabalho apresentou uma maior fração solúvel (DQOs/DQOt = 0,83) em comparação à dos outros trabalhos (DQOs/DQOt = 0,73).

⁵²Os valores da relação DQOs/DQOt referentes aos trabalhos de Ferraz Jr. et al. (2014b) e (2015a) foram estimados a partir dos dados de desempenho (eficiências de remoção de DQOt e DQOt) relatados pelos autores.

Tabela 17. Comparativo entre reatores acidogênicos contínuos aplicados na fermentação da vinhaça com foco na produção de hidrogênio.

Referência	Características da vinhaça	Reator	Condições operacionais	Desempenho do reator
Este trabalho ^a	Cana-de-açúcar ^b	APBR (2,2 L)	Inóculo = FN	ER _{DQO} = 7 %
	DQOt = 30,6 g L ⁻¹		COV _a = 84,2 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	EC _{CH} = 52,3 %
	DBO = 18,2 g L ⁻¹		TDH = 7,5 h	PVH = 1.203 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
	CH = 6,0 g L ⁻¹		T = 55°C pH ^c = 6,5	HY = 3,4 molH ₂ mol ⁻¹ CH HY = 0,87 mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa ^d
Buitrón e Carvajal (2010)	Tequila	ASBR (7 L)	Inóculo = LM-TT	ER _{DQO} = 20 %
	DQOt = 29,9-30,5 g L ⁻¹		COV _a = 18-30 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	PVH = 342,2-444,0 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
	DBO = 19,8-20,9 g L ⁻¹		TDH = 24 h	HY = 1,75-2,28 mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa
			T = 35°C pH = 5,5	
			Inóculo = LM-TT	ER _{DQO} = 16 %
			COV _a = 36-60 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	PVH = 592,8-1.212,0 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
			TDH = 12 h	HY = 2,11-3,99 mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa
			T = 35°C pH = 5,5	
Searmsirimongkol et al. (2011)	Cana-de-açúcar ^e	ASBR (4 L)	Inóculo = LM-TT	ER _{DQO} = 30 %
	DQOt = 40 g L ⁻¹		COV _a = 60 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	PVH = 3.310 ^f mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
	DBO = 10,7 g L ⁻¹		TDH = 16 h	HY = 6,77 ^g mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa
			T = 37°C	
			pH = 5,5	

Tabela 17. Comparativo entre reatores acidogênicos contínuos aplicados na fermentação da vinhaça com foco na produção de hidrogênio (cont.).

Referência	Características da vinhaça	Reator	Condições operacionais	Desempenho do reator
Ferraz Jr. et al. (2014b)	Cana-de-açúcar	APBR (2,3 L)	Inóculo = FN	ER _{DQO} = 26,2-33,3 %
	DQOt = 35,2 g L ⁻¹		COVa = 54,3-108,6 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	EC _{CH} = 67,3-79,4 %
	DBO = 16,7 g L ⁻¹		TDH = 24-8 h	PVH = 43,9-526,8 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
	CH = 4,1 g L ⁻¹		T = 55°C	HY = 0,3-1,4 molH ₂ mol ⁻¹ CH
			pH = 6,5	HY = 0,0-0,3 mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa
Santos et al. (2014a)	Cana-de-açúcar ^h	AFBR (2,6 L)	Inóculo = LMT-TT	ER _{DQO} = 13,4 %
	DQO = 5,0 g L ⁻¹		COVa = 120,8-216,8 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	EC _{CH} = 40 %
			TDH = 2 h	PVH = 13.920-18.720 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
			T = 55°C	HY = 2,06-3,53 mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa
			pH = 4,6-5,1	
Santos et al. (2014b)	Cana-de-açúcar ⁱ	AFBR (2,6 L)	Inóculo = LMT-TT	ER _{DQO} = 8,5-13,5 %
	DQOt = 10 g L ⁻¹		COVa = 40-240 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	EC _{CH} = 47-49,9 %
	CH = 3,5-5,4 g L ⁻¹		TDH = 6-1 h	PVH = 10.320-47.040 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
			T = 55°C	HY = 1,92-2,86 mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa
			pH = 4,3	
	Cana-de-açúcar	AFBR (2,6 L)	Inóculo = LMT-TT	ER _{DQO} = 8,5-13,5 %
	DQO = 30 g L ⁻¹		COVa = 120-720 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹	EC _{CH} = 36,6-52,2 %
	CH = 10,6 - 18,3 g L ⁻¹		TDH = 8-1 h	PVH = 7.680-19.440 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹
			T = 55°C	HY = 0,19-0,79 mmolH ₂ g ⁻¹ DQOa
			pH = 4,3	

Tabela 17. Comparativo entre reatores acidogênicos contínuos aplicados na fermentação da vinhaça com foco na produção de hidrogênio (cont.).

Referência	Características da vinhaça	Reator	Condições operacionais	Desempenho do reator
Santos et al. (2014c)	Cana-de-açúcar ^j DQO = 15,0 g L ⁻¹	AFBR (2,6 L)	Inóculo = LMT-TT COV _a = 60-360 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 6-1 h T = 55°C pH = 4,9-5,1	ER _{DQO} = 10-13,7 % EC _{CH} = 23,3-27,6 % PVH = 10.800-35.760 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹ HY = 1,00-2,23 mmolH ₂ g ⁻¹ DQO _a
	Cana-de-açúcar ^k DQO = 20,0 g L ⁻¹		Inóculo = LMT-TT COV _a = 80-480 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 6-1 h T = 55°C pH = 4,9-5,1	ER _{DQO} = 7,2-12,7 % EC _{CH} = 26,3-31 % PVH = 12.960-28.800 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹ HY = 0,60-1,85 mmolH ₂ g ⁻¹ DQO _a
Ferraz Jr. et al. (2015a)	Cana-de-açúcar DQO _t = 35,2 g L ⁻¹ DBO = 16,7 g L ⁻¹ CH = 4,1 g L ⁻¹	APBR (2,3 L)	Inóculo = FN COV _a = 84,2 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ TDH = 10,2 h T = 55°C pH = 6,5	ER _{DQO} = 31,3 % EC _{CH} = 73 % PVH = 762 mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹ HY = 1,6 molH ₂ mol ⁻¹ CH HY = 1,10 ^l mmolH ₂ g ⁻¹ DQO _a

Tabela 17. Comparativo entre reatores acidogênicos contínuos aplicados na fermentação da vinhaça com foco na produção de hidrogênio (cont.).

Referência	Características da vinhaça	Reator	Condições operacionais	Desempenho do reator
Ferraz Jr. et al. (2015b)	Cana-de-açúcar	APBR (2,3 L)	Inóculo = FN	$ER_{DQO} = 37,3 \%$
	$DQO_t = 35,2 \text{ g L}^{-1}$		$COV_a = 36,4 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$EC_{CH} = 66,2 \%$
	$DBO = 16,7 \text{ g L}^{-1}$		TDH = 24 h	$PVH = 84,2 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$
	$CH = 4,1 \text{ g L}^{-1}$		$T = 25^\circ\text{C}$	$HY = 0,6 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ CH}$
			$pH = 6,5$	$HY = 0,30^l \text{ mmolH}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_a$

Notas: ^aDados referentes apenas ao período inicial de operação (6° ao 45° dias), tendo em vista o melhor desempenho do reator acidogênico; ^bMédias das coletas C1 e C2; ^cpH afluyente; ^d $DQO_a = DQO_t$ afluyente; ^eVinhaça diluída na proporção 1:3,5; ^fValor máximo obtido; ^gValor em $\text{mmolH}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQOremovida}$ (corresponde ao valor máximo obtido); ^hVinhaça diluída na proporção de 1:6; ⁱVinhaça diluída na proporção de 1:3; ^jVinhaça diluída na proporção 1:2; ^kVinhaça diluída na proporção 2:3; ^lValor em $\text{mmolH}_2 \text{ g}^{-1} \text{ DQOremovida}$.

Siglas - Vinhaça: DQO_t = demanda química de oxigênio total, DBO = demanda bioquímica de oxigênio, CH = carboidratos totais; Inóculo: FN = fermentação natural, LM-TT = lodo metanogênico submetido a tratamento térmico, LMT-TT = lodo metanogênico termofílico submetido a tratamento térmico; Reator: APBR = *anaerobic packed-bed reactor*, ASBR = *anaerobic sequencing batch reactor*, AFBR = *anaerobic fluidized-bed reactor*; Condições operacionais: COV_a = carga orgânica volumétrica aplicada, TDH = tempo de detenção hidráulica, T = temperatura; Desempenho do reator: ER_{DQO} = eficiência de remoção de DQO, EC_{CH} = eficiência de conversão de carboidratos, PVH = produção volumétrica de hidrogênio, HY = rendimento de hidrogênio.

A conversão de carboidratos totais (Figura 21b) apresentou dois períodos de estabilidade, associados aos períodos de produção crescente e contínua de hidrogênio – média de $72,3 \pm 2,0\%$, respectivamente entre o 133° e 157° e após o 210° de operação. Os períodos instáveis podem ser associados aos efeitos da redução na COVa e do aumento do pH efluente após o 145° dia de operação. Em termos gerais, a conversão média de carboidratos observada atingiu o valor de $63,6 \pm 9,9\%$ (Tabela 16), semelhante ao reportado por Braga et al. (2016) – 63,4-63,8%, a partir da operação de um reator do tipo UASB (TDH = 6-12 h) alimentado com efluente sintético a base de sacarose também sob condições termofílicas (55°C).

Novamente utilizando-se os trabalhos de Ferraz Jr. et al. (2014b) e (2015a) como referência, os autores reportaram eficiências médias de conversão de carboidratos na faixa de 67,3 a 79,4%, condizentes com os valores obtidos nas fases estáveis observadas neste trabalho, conforme previamente discutido. Comparando-se estes valores aos reportados em trabalhos baseados no emprego de reatores de leito fluidizado (AFBR) na fermentação de vinhaça de cana-de-açúcar – 23,3-52,2% (Tabela 17, Santos et al., 2014a, 2014b e 2014c), a conversão de carboidratos em reatores de leito fixo apresenta patamares consideravelmente maiores. Tais diferenças provavelmente decorram das condições operacionais impostas aos AFBR nos trabalhos citados, tendo em vista a aplicação de elevadas cargas orgânicas volumétricas, normalmente superiores a $100 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$.

Conforme discutido por Buitrón e Carvajal (2010), Searmsirimongkol et al. (2011), Ferraz Jr. et al. (2014b) e Santos et al. (2014a) e (2014c), a utilização de elevados valores de COVa em reatores acidogênicos leva à inibição da atividade hidrogenogênica, tendo em vista efeito adversos associados ao excesso de substrato, ao aumento da concentração de ácidos orgânicos e a sobrecarga de compostos tóxicos no meio, tais como o potássio e compostos fenólicos. A opção pela alimentação dos reatores com vinhaça sem ajuste de pH, também pode explicar o comportamento observado para a remoção de carboidratos nos AFBR. Em contrapartida, baseando-se na produção de hidrogênio, os resultados reportados por Santos et al. (2014a), (2014b) e (2014c), sobretudo quanto à produção volumétrica de hidrogênio (Tabela 17), indicam patamares demasiadamente superiores aos obtidos a partir de reatores de leito fixo empacotado.

A título de exemplificação, a máxima PVH obtida neste trabalho compreendeu $2.107 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Tabela 16), valor equivalente a apenas 15,1, 27,4 e 19,5% dos valores mínimos de PVH reportados nos trabalhos de Santos et al. (2014a), (2014b) e (2014c), respectivamente. Baseando-se, entretanto, nos valores de rendimento de hidrogênio, os patamares atingidos a partir da operação dos AFBR apresentam magnitude semelhante às obtidas neste trabalho. No trabalho de Santos et al. (2014b), a utilização de vinhaça de cana-

de-açúcar sem a prévia diluição levou a valores de HY variando entre 0,19 e 0,79 mmolH₂ g⁻¹DQOa (Tabela 17), de modo que os valores médios observados nos períodos de operação estável neste trabalho chegaram a 0,72-0,87 mmolH₂ g⁻¹DQOa (Tabela 16). Conforme abordado anteriormente, o comportamento discrepante entre os valores de PVH e HY remetem à operação dos sistemas em condições distintas das consideradas ideais para a produção de hidrogênio. No caso específico do AFBR, a manutenção de baixas pressões parciais de hidrogênio, associada tanto às condições hidrodinâmicas turbulentas inerentes a esta configuração de reator (Barca et al., 2015), quanto às condições de temperatura utilizadas nos trabalhos referenciados (55°C), tende a compensar a eventual utilização de condições operacionais aquém das ideais para produção de hidrogênio, daí as elevadas produções volumétricas de hidrogênio reportadas. O fornecimento de nutrientes (extrato de levedura) juntamente à vinhaça na corrente de alimentação em Santos et al. (2014a), (2014b) e (2014c) também pode ter favorecido à elevada produção de hidrogênio, embora os efeitos da pressão parcial pareçam ser o fator determinante para o comportamento observado.

Uma última consideração concernente à aplicação de reatores de leito fluidizado em sistemas acidogênicos merece destaque, tendo em vista o consumo de energia associado à vazão de recirculação usualmente necessária para fluidização do leito (Rajeshwari et al., 2000). Estudos indicam que no uso de reatores do tipo AFBR em sistemas metanogênicos o consumo de energia devido à recirculação varia de 10 a 13% da produção de energia por meio do biogás-CH₄ (Heijnen et al., 1989). Considerando a maior susceptibilidade da fase acidogênica a instabilidades, comumente associadas a perdas na produção de hidrogênio, o requerimento energético da recirculação nos AFBRs pode comprometer maiores proporções do potencial energético do biogás-H₂, podendo levar à inviabilização da separação das fases em termos energéticos e, conseqüentemente, econômicos (Barca et al., 2015). Além disso, conforme observado a partir da Tabela 17, os melhores valores de HY em AFBRs acidogênicos estão associados a menores valores de DQO – sobretudo em Santos et al. (2014a) e (2014b), de modo que a aplicação da vinhaça sem diluição prévia tende a acentuar condições de sobrecarga orgânica. Daí o interesse na utilização de configurações alternativas de reatores, tais como o de leito fixo estruturado (Camiloti et al., 2014; Mockaitis et al., 2014) e o contínuo de tubos múltiplos⁵³ (Gomes S.D. et al., 2015 e 2016).

⁵³O reator contínuo de tubos múltiplos (RCTM) compreende um sistema formado por tubos de pequeno diâmetro dispostos em paralelo, alimentados de maneira ascendente. A concepção deste reator teve por objetivo propiciar um melhor controle sobre a COVe, a partir de um descarte contínuo (e controlado) da biomassa acidogênica (Gomes S.D. et al., 2015). Em termos práticos, o RCTM compreende uma configuração intermediária entre um reator tubular de crescimento suspenso e um reator de leito fixo empacotado, uma vez que as paredes dos tubos de pequeno diâmetro são lixadas, a fim de se propiciar a adesão microbiana à superfície.

Ainda com relação à Tabela 17, destaca-se que os menores valores reportados para a PVH ($762 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e o HY ($1,6 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1}\text{CH}$) em Ferraz Jr. et al. (2015a), em comparação aos obtidos neste trabalho (PVH = $1.203 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e HY = $3,4 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1}\text{CH}$), provavelmente decorrem da ausência do controle sobre o pH efluente no estudo supracitado. Neste caso, o pH efluente atingiu valores na faixa de 5,2 a 5,7, superiores à faixa considerada ótima encontrada neste trabalho, conforme discutido posteriormente.

5.1.1 Influência de Diferentes Parâmetros sobre a Produção de Hidrogênio

Baseando-se no comportamento do sistema acidogênico com relação aos diferentes parâmetros operacionais monitorados, procurou-se identificar possíveis relações entre a produção de hidrogênio – PVH e HY – e estes parâmetros, incluindo a concentração de matéria orgânica afluente ao reator, em termos de carboidratos totais, o pH (na vinhaça acidificada) e a COVe. A opção pelo uso da concentração de carboidratos como referência decorre de sua utilização como principal substrato⁵⁴ pelas bactérias produtoras de hidrogênio (Hawkes et al., 2002; Hallenbeck, 2009; Peixoto et al., 2011). Não foram considerados os dados coletados durante o período de sobrecarga orgânica aplicada no reator, isto é, os valores analisados resultam da aplicação da COVa de $84,2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$.

Baseando-se na influência do pH, os melhores resultados, tanto para a PVH como para o HY encontram-se na faixa de 5,10-5,15, conforme observado nas Figuras 22a-b. Para valores iguais de pH foram calculadas médias da PVH e do HY, buscando-se eliminar a interferência de pontos repetidos na identificação das faixas ótimas – uma das implicações deste procedimento compreendeu a “diluição” das máximas previamente reportadas para a PVH ($2.107 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, Tabela 16) e o HY ($5,6 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1}\text{CH}$, Tabela 16) junto a outros valores, porém, não foram observados prejuízos na identificação das tendências. Buscando-se identificar os valores ótimos associados a cada parâmetro operacional, i.e., pH, concentração de carboidratos e COVe, procurou-se ajustar aos pontos experimentais funções do tipo pico, especificamente a curva gaussiana⁵⁵, empregando-se o *software* Microcal OriginPro 8.0

⁵⁴Para fins práticos, a produção de hidrogênio a partir da fermentação anaeróbia pode ser considerada restrita a águas residuárias ricas em carboidratos. Enquanto a fermentação de proteínas não leva à produção de hidrogênio, a geração deste a partir de lipídeos depende de condições ambientais específicas. Resumidamente, os lipídeos são hidrolisados a glicerol e ácidos orgânicos de cadeia longa, sendo estes degradados a acetato e hidrogênio por bactérias sintróficas somente em condições de pressão parcial de hidrogênio muito baixa, geralmente mantidas pelas arqueias metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato associadas (Hallenbeck, 2009).

⁵⁵A curva gaussiana, amplamente utilizada em estudos estatísticos, pode ser representada pela seguinte equação:

$$y = y_0 + \frac{A}{\omega\sqrt{\pi/2}} \exp \left[\frac{-2(x - x_c)^2}{\omega^2} \right]$$

Os coeficientes y_0 , A, ω e x_c são obtidos por meio da regressão não linear.

(OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Os modelos obtidos são apresentados na Tabela 18. No caso do pH, os valores ótimos (5,10 e 5,12) estimados a partir dos modelos ajustados (Figuras 22a-b e Tabela 18) coincidem com a faixa de pH na qual foram obtidas as maiores produções experimentais de hidrogênio, tanto em termos da PVH como do HY. A diferença observada entre os valores máximos estimados para a PVH ($1.559 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, Tabela 18) e o HY ($3,67 \text{ molH}_2 \text{ mol}^{-1}\text{CH}$, Tabela 18) a partir dos modelos e os dados obtidos experimentalmente decorre da influência simultânea de fatores como variações na concentração de carboidratos afluente ao reator e o acúmulo de biomassa associado a condições desfavoráveis de COVe. Entretanto, apesar destas variações, foi possível a obtenção de bons ajustes ao se avaliar a influência do pH e da COVe, conforme apresentado em seguida.

Figura 22. Influência de diferentes parâmetros operacionais sobre a produção volumétrica (PVH) e o rendimento (HY) de hidrogênio: (a) PVH vs. pH, (b) HY vs. pH, (c) PVH vs. CH e (d) HY vs. CH. Legenda: Pontos experimentais (○), curva de Gauss ajustada aos pontos experimentais (—).

Tabela 18. Modelos matemáticos ajustados aos dados experimentais, condições operacionais ótimas e produção máxima de hidrogênio estimada.

Parâmetro de influência	Variável-resposta	Modelo matemático (R ²)	Condições ótimas			Valores máximos estimados	
			pH ^a (-)	CH (mg L ⁻¹)	COVe (gCH g ⁻¹ SSVd ⁻¹)	PVH (mLH ₂ L ⁻¹ d ⁻¹)	HY (molH ₂ mol ⁻¹ CH)
pH ^a	PVH (Figura 22a)	$PVH = -3,15 + \frac{594,18}{0,30\sqrt{\pi/2}} \exp \left[\frac{-2(pH - 5,10)^2}{(0,30)^2} \right]$ (0,8128)	5,10	-	-	1.559	-
	HY (Figura 22b)	$HY = -0,35 + \frac{2,18}{0,43\sqrt{\pi/2}} \exp \left[\frac{-2(pH - 5,12)^2}{(0,43)^2} \right]$ (0,8672)	5,12	-	-	-	3,67
CH	PVH (Figura 22c)	$PVH = 210,35 + \frac{3,06 \cdot 10^6}{2212\sqrt{\pi/2}} \exp \left[\frac{-2(CH - 5024)^2}{(2212)^2} \right]$ (0,6525)	-	5.024	-	1.314	-
	HY (Figura 22d)	$HY = -7,65 + \frac{100638}{7486\sqrt{\pi/2}} \exp \left[\frac{-2(CH - 4493)^2}{(7486)^2} \right]$ (0,4567)	-	4.493	-	-	3,07
COVe ^b	PVH (Figura 23b)	$PVH = -487,40 + \frac{22042}{8,40\sqrt{\pi/2}} \exp \left[\frac{-2(COVe - 6,29)^2}{(8,40)^2} \right]$ (0,8221)	-	-	6,29 (7,04 ^c)	1.606	-
	HY (Figura 24b)	$HY = -1,19 + \frac{54,56}{7,85\sqrt{\pi/2}} \exp \left[\frac{-2(COVe - 6,41)^2}{(7,85)^2} \right]$ (0,8163)	-	-	6,41 (7,18 ^c)	-	4,35

Notas: ^apH efluente (medido na vinhaça acidificada); ^bConsiderando valores de PVH e HY calculados para o período inicial de operação (1°-114° dias, pH afluente = 6,5), no qual não foram observadas variações consideráveis (queda ou aumento) no pH efluente; ^cValores em gDQO g⁻¹SSV d⁻¹.

Siglas - Parâmetros de influência: CH = concentração de carboidratos totais afluente, COVe = carga orgânica volumétrica específica; Variáveis-resposta: PVH = produção volumétrica de hidrogênio, HY = rendimento de hidrogênio.

Estudos prévios, de maneira similar a este trabalho, reportaram condições ótimas de produção de hidrogênio para valores de pH próximos a 5,2 em reatores contínuos, considerando o uso de diferentes tipos de águas residuárias e resíduos: amido (Lay, 2000), farelo de arroz e de trigo (Noike, 2002), dentre outros. Considerando a operação de sistemas acidogênicos utilizando-se vinhaça de cana-de-açúcar como substrato, os valores de pH associados às maiores produções de hidrogênio neste trabalho (~5,10-5,15) diferem consideravelmente dos reportados em Santos et al. (2014a) – 4,1, (2014b) – 4,5-4,9 e (2014c) – 4,2-4,6, trabalhos nos quais não houve ajuste prévio do pH na corrente afluyente aos reatores de leito fluidizado. A discrepância acentuada entre as produções de hidrogênio nestes reatores e nos sistemas de leito fixo empacotado, conforme previamente discutido, pode estar associada às diferentes condições de pH mantidas nos reatores, uma vez que este exerce forte influência sobre [i] a atividade das hidrogenases, enzimas diretamente atuantes na produção de hidrogênio; [ii] a seleção de rotas metabólicas; e, [iii] a morfologia e estrutura das células microbianas, observando-se efeitos sobre os fenômenos de floculação e aderência (Antonopoulou et al., 2010; Davila-Vazquez et al., 2011; Dareioti et al., 2014).

Entretanto, para valores de pH inferiores a 5,0, a literatura normalmente indica perdas na produção de hidrogênio, corroborando a tendência observada neste trabalho. Tais perdas podem estar associadas a efeitos inibitórios causados pela permeabilidade de ácidos não dissociados pela membrana celular (van Ginkel e Logan, 2005; Hallenbeck, 2009; Antonopoulou et al., 2010; Infantes et al., 2011 e 2012). No interior das células, a dissociação destes ácidos promove a liberação de íons H^+ no citoplasma, fazendo com que os micro-organismos redirecionem a energia metabólica para a manutenção do pH citoplasmático em condições próximas a da neutralidade (Rodriguez et al., 2006; Infantes et al., 2011). Em condições ácidas extremas, a energia proveniente dos substratos orgânicos é totalmente direcionada para a manutenção das células, levando a produções nulas de hidrogênio. A diminuição do pH no interior das células também afeta negativamente a atividade das hidrogenases, enzimas envolvidas na produção de hidrogênio (Khanal et al., 2004; Mohd Yasin et al., 2011; Show et al., 2011; Dareioti et al., 2014). Estudos em sistemas fermentativos direcionados para a produção de hidrogênio normalmente associam elevadas atividades das enzimas hidrogenases em valores de pH próximos a 5,5 (Valdez-Vazquez e Poggi-Varaldo, 2009).

Embora a literatura aponte diversos valores ótimos de pH associados à produção de hidrogênio (Antonopoulou et al., 2010; Dareioti et al., 2014), tendo em vista a influência de fatores como os tipos de inóculo e substrato, condições operacionais e até mesmo a faixa de pH estudada, os estudos normalmente associam baixas produções de hidrogênio a valores de

pH inferiores a 5,0, tanto em sistemas em batelada quanto em sistemas contínuos, independentemente do tipo de água residuária (Hwang et al., 2004; Antonopoulou et al., 2010; Dareioti et al., 2014). O estabelecimento de condições demasiadamente ácidas em sistemas fermentativos propicia alterações metabólicas na biomassa acidogênica, observando-se o predomínio da rota solventogênica para valores de pH próximos a 4,5. Antonopoulou et al. (2010) reportaram decréscimos na produção de hidrogênio a partir de extrato de sorgo sacarino em reatores de mistura completa para valores de pH inferiores 4,6. Nestas condições, os autores identificaram etanol e ácido láctico como os principais metabólitos da fermentação. Resultado similar foi reportado por Dareioti et al. (2014), em estudo a partir do qual o pH de 4,5 foi identificado como ótimo para produção de etanol. Conforme previamente discutido, o estabelecimento de rotas solventogênicas (p.ex. produção de etanol, butanol e acetona) em sistemas acidogênicos implica perdas na produção de hidrogênio, tendo em vista a retenção dos prótons H^+ , potencialmente passíveis de redução para geração de H_2 , nas moléculas reduzidas dos solventes formados (Hallenbeck, 2009; Fernandes et al., 2010; Braga et al., 2016).

A perda de desempenho na produção de hidrogênio em sistemas acidogênicos operados em baixos valores de pH também está frequentemente relacionada à inibição pelo acúmulo de ácidos no meio (Hallenbeck, 2009; Hafez et al., 2010; Santos et al., 2014b), característica comum a sistemas operados em condições de sobrecarga orgânica. Searmsirimongkol et al. (2011) associaram quedas elevadas na produção de hidrogênio em reatores de batelada sequencial ao acúmulo de ácidos orgânicos no meio, observando-se concentrações de até 20 g L^{-1} . Infantes et al. (2011) também relacionaram o acúmulo de ácidos a baixas produções de hidrogênio em estudo prévio. Neste caso, os autores reportam a potencialização dos efeitos inibitórios do acúmulo de ácidos em sistemas operados sob maiores condições de temperatura, uma vez que nestas observa-se tanto o aumento das taxas metabólicas microbianas, i.e., aumento da produção de ácidos, como o aumento da permeabilidade da membrana celular nos micro-organismos, fato que favorece a entrada de ácidos não dissociados nas células. Tendo em vista a operação da fase acidogênica neste trabalho sob condições termofílicas de temperatura, justifica-se a importância do controle sobre o pH do meio reacional, buscando-se eliminar condições que favoreçam a inibição das bactérias produtoras de hidrogênio.

Considerando o outro extremo, a perda de desempenho do sistema para valores de pH superiores a 5,3 pode ser explicada pelo favorecimento da rota fermentativa do ácido propiônico nestas condições, baseando-se no perfil de metabólitos obtido ao longo da operação do APBR, conforme indicado posteriormente. A literatura também indica que a

produção de ácido propiônico em sistemas fermentativos é favorecida em condições de pH mais próximas à neutralidade (Leite et al., 2008; Guo et al., 2010; Dareioti et al., 2014), corroborando o comportamento observado neste trabalho. Antonopoulou et al. (2011) também reportaram decréscimos na produção de hidrogênio em reator operado sob valores de pH superiores a 5,3, observando-se acúmulos na concentração de ácido propiônico – para valores de pH na faixa de 4,6 a 5,1, os autores reportaram concentrações estáveis deste ácido em aproximadamente 500 mg L⁻¹.

Outra hipótese associada às quedas na produção de hidrogênio no APBR operado neste trabalho quando valores de pH superiores a 5,3 foram atingidos considera o eventual estabelecimento de condições favoráveis à atividade das bactérias redutoras de sulfato (BRS) no reator, tendo em vista as elevadas concentrações do íon em questão quantificadas na vinhaça utilizada nos experimentos ao longo da safra (1.044-2.079 mg L⁻¹, Tabela 6, p. 101). Algumas espécies de bactérias redutoras de sulfato caracterizam-se como autotróficas, utilizando o gás carbônico (CO₂) como fonte de carbono e o hidrogênio molecular (H₂) como doador de elétrons (Lin e Chen, 2006) – Reação (11). Tendo em vista a elevada afinidade destas BRS pelo hidrogênio (Hulshoff Pol et al., 1998; Damianovic e Foresti, 2009), seu estabelecimento em sistemas acidogênicos poderia acarretar perdas consideráveis na recuperação de BioH₂.

Entretanto, inúmeros estudos sugerem que, para as condições operacionais observadas no APBR, sobretudo quanto ao TDH e ao pH, o estabelecimento de BRS tende a ser pouco provável. Reis et al. (1988) reportaram uma máxima conversão de sulfato de apenas 18% em um reator de leito fixo aplicado no tratamento de vinhaça de melaço (DQO = 40,9 g L⁻¹, [SO₄²⁻] = 4,65 g L⁻¹), considerando condições de TDH e pH respectivamente iguais a 1,2 d e 5,4. Reduzindo o TDH para 22 h – valor ainda aproximadamente três vezes superior ao utilizado neste trabalho, a conversão de sulfato decresceu para 7%. Reis et al. (1991) também observaram reduzidas conversões de sulfato (~10%) em um reator do tipo CSTR operado sob condições semelhantes às de Reis et al. (1988), indicando que a diminuição do TDH favorece a lavagem das BRS de sistemas acidogênicos. Mesmo para elevadas concentrações de sulfato (3 g L⁻¹), Lin e Chen (2006) sugeriram a provável inibição das BRS em valores de pH iguais a 5,5, tendo em vista concentrações de sulfato residual de 98,6% no efluente de um CSTR acidogênico operado sob TDH de 12 h. Em outros estudos, Hwang et al. (2009a) indicaram que elevadas concentrações de sulfato (até 20 g L⁻¹) não afetaram a produção de biogás-

H₂/hidrogênio em reatores de mistura completa, independentemente do TDH utilizado (6, 12 e 24 h). Neste caso, os autores mantiveram um pH de 5,5 nos reatores, observando concentrações de sulfato residual no efluente na faixa 93,7 a 98,2% do concentração aplicada nos sistemas. Hwang et al. (2009b) obtiveram resultados semelhantes aos de Hwang et al. (2009a), reportando menores produções de hidrogênio apenas em reatores operados com pH de 5,8 e 6,2. Tais resultados corroboram a afirmação de Fortin et al. (1996) e Saady (2013), indicando que as velocidades de crescimento de BRS podem ser consideradas desprezíveis sob condições ácidas (pH = 4,0-6,0). Além disso, baseando-se no TDH aplicado no APBR (6,0-7,5 h), bem como nos valores de pH efluente ao sistema (~5,10, Tabela 16, p. 153), os efeitos da sulfetogênese na fase acidogênica da presente pesquisa podem ser considerados desprezíveis. De fato, análises eventuais da concentração de sulfato na vinhaça acidificada indicaram frações residuais da ordem de 95%, confirmando a baixa influência da sulfetogênese sobre a produção de hidrogênio.

Analizando-se a influência da concentração de carboidratos afluente ao reator, as correlações obtidas por meio do ajuste da curva de Gauss aos dados experimentais (Figuras 22c-d) mostraram-se menores devido à provável influência de outros parâmetros sobre a produção de hidrogênio em sistemas contínuos, embora seja possível observar uma faixa ótima aproximada de valores – 4,5-5,5 gCH L⁻¹. De fato, tendo em vista a contínua adaptação da biomassa acidogênica às características da vinhaça afluente ao reator, bem como a manutenção de uma COVa constante ao longo de todo o período operacional, eventuais condições inibitórias aos micro-organismos possivelmente apresentaram-se mascaradas pela influência de outros parâmetros operacionais, especialmente o pH e a COVe. Além disso, considerando a operação de sistemas contínuos, o estudo de eventuais condições inibitórias aos micro-organismos normalmente está associado à variação da COVa nos reatores, seja pelo aumento da vazão a partir de uma concentração fixa de substrato ou pelo aumento desta para vazões crescentes de água residuária.

Considerando estudos a partir da vinhaça de cana-de-açúcar nestas condições, pode-se citar os trabalhos de Ferraz Jr. et al. (2014b), Santos et al. (2014b) e (2014c), previamente pontuados no presente texto. Em Ferraz Jr. et al (2014b), a operação de reatores de leito fixo sob diferentes condições de carga orgânica (36,2, 54,3, 72,4 e 108,6 kgDQO m⁻³ d⁻¹) indicou produções decrescentes de hidrogênio, tanto em termos da PVH como do HY, para uma COVa de 108,6 kgDQO m⁻³ d⁻¹, sendo os melhores valores observados experimentalmente para a COVa de 72,4 kgDQO m⁻³ d⁻¹. Neste caso, a variação da COVa se deu pelo aumento da vazão afluente em cada reator. Em Santos et al. (2014b) e (2014c) a aplicação de cargas orgânicas crescentes em reatores de leito fluidizado indicou melhores resultados nos sistemas

alimentados com vinhaça previamente diluída (Tabela 17, p. 161). Em Santos et al. (2014b) a PVH obtida a partir do emprego de vinhaça diluída ($PVH = 47.040 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, $DQO = 10 \text{ g L}^{-1}$) foi cerca de 2,5 vezes superior em comparação à aplicação de vinhaça bruta ($PVH = 19.440 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, $DQO = 30 \text{ g L}^{-1}$). Diferença ainda maior foi observada para o HY, confrontando-se os valores de 2,86 e 0,79 $\text{mmolH}_2 \text{ g}^{-1} \text{DQO}$.

Estudos conduzidos em batelada também permitem a obtenção de resultados claros quanto à influência da concentração de matéria orgânica sobre a produção de hidrogênio, tendo em vista a inibição das BPH em condições de excesso de substrato. Baseando-se especificamente em estudos a partir da vinhaça de cana-de-açúcar, pode-se citar o trabalho de Lazaro et al. (2014), no qual os autores testaram a influência de diferentes concentrações de matéria orgânica ($2\text{-}12 \text{ g L}^{-1}$), em termos de DQO, sobre a produção de hidrogênio sob condições mesofílicas (37°C) e termofílicas (55°C). Os melhores resultados foram associados ao sistema mesofílico alimentado com DQO inicial de 12 g L^{-1} ($\sim 2,5 \text{ gCH L}^{-1}$), tendo em vista uma produção acumulada de hidrogênio equivalente a 28,4 mmol após pouco mais de 150 horas de ensaio.

Em termos operacionais, o controle da concentração de matéria orgânica afluenta – e consequentemente da COVa – em sistemas acidogênicos contínuos aplicados à vinhaça pode ser complicado, tendo em vista a variabilidade composicional desta ao longo da safra. Desta forma, o monitoramento contínuo da DQO e especialmente da concentração de carboidratos da corrente afluenta pelo método de Dubois et al. (1956) pode representar uma alternativa atrativa em plantas de grande porte, tendo em vista a simplicidade e rapidez na obtenção dos resultados. Uma vez conhecida a concentração de substrato, pode-se localizar o sistema com relação às condições ótimas para produção de hidrogênio, de modo a se utilizar recursos como a diluição do afluenta e até mesmo a recirculação do efluente para promover a adequação da corrente de alimentação, em termos do fornecimento de matéria orgânica.

Finalmente, considerando a influência da COVe sobre a produção de hidrogênio, os modelos ajustados aos dados experimentais são apresentados nas Figuras 23 e 24, bem como na Tabela 18 (p. 169). Analisando-se os gráficos de dispersão dos dados de PVH e HY em função da COVe considerando o período operacional completo – respectivamente nas Figuras 23a e 24a, não fica evidente o estabelecimento de tendências para os dados obtidos. Entretanto, restringindo a análise aproximadamente para a primeira metade do período de operação (1° ao 114° dias), especificamente para o período em que não houve alteração expressiva do pH efluente ao reator – valores inferiores ou superiores à faixa considerada ótima, é possível observar claramente um valor ótimo para a COVe, a partir do qual foram obtidos os maiores valores de PVH (Figura 23b) e HY (Figura 24b). Este comportamento

pode ser atribuído às modificações impostas ao reator ao longo da operação, tendo em vista a aplicação de estratégias operacionais, sobretudo o controle do pH efluente, que levaram a prováveis alterações na comunidade microbiana acidogênica inicialmente estabelecida. Conforme previamente discutido, o pH exerce forte influência sobre a seleção de rotas metabólicas e a morfologia e estrutura das células microbianas (Antonopoulou et al., 2010; Dareioti et al., 2014). A variação composicional da vinhaça a partir da coleta C4, intimamente associada às alterações no pH do APBR e às consequentes quedas na produção de hidrogênio (Figura 19, p. 152), também pode ter influenciado a resposta do sistema em relação à variação da COVe, ficando a correlação entre esta e a PVH e o HY prejudicada aproximadamente a partir do 100º dia de operação.

Figura 23. Influência da carga orgânica volumétrica específica (COVe) sobre a produção volumétrica de hidrogênio (PVH): (a) período operacional completo, (b) período inicial de operação (1º-114º dias, pH afluente = 6,5), (c) período entre o 115º e o 159º dias (pH afluente = 7,5) e (d) período entre 177º e o 240º dias (pH afluente = 5,5). Legenda: Pontos experimentais (○), curva de Gauss ajustada aos pontos experimentais (—).

Figura 24. Influência da carga orgânica volumétrica específica (COVe) sobre o rendimento de hidrogênio (HY): (a) período operacional completo, (b) período inicial de operação (1°-114° dias, pH afluente = 6,5), (c) período entre o 115° e o 159° dias (pH afluente = 7,5) e (d) período entre 177° e o 240° dias (pH afluente = 5,5). Legenda: Pontos experimentais ($\circ$), curva de Gauss ajustada aos pontos experimentais (—).

Os valores ótimos determinados para a COVe por meio dos ajustes matemáticos (PVH vs. COVe = 6,29 gCH g⁻¹SSV d⁻¹ ou 7,04 gDQO g⁻¹SSV d⁻¹; HY vs. COVe = 6,41 gCH g⁻¹SSV d⁻¹ ou 7,18 gDQO g⁻¹SSV d⁻¹, Tabela 18), são correspondentes aos observados na escassa literatura baseada no estudo da influência da COVe sobre a produção de hidrogênio em sistemas acidogênicos. Hafez et al. (2010) associaram maiores valores de HY para valores de COVe na faixa de 4,4 a 6,4 gDQO g⁻¹SSV d⁻¹. Similarmente, no caso de Anzola-Rojas e Zaiat (2016), os autores reportaram um valor de 4,8 gCH g⁻¹SSV d⁻¹ (5,4 gDQO g⁻¹SSV d⁻¹) para condições relativamente estáveis de produção de hidrogênio em um reator de leito fixo estruturado e fluxo descendente, considerando descartes periódicos de biomassa. Por sua vez, em Anzolas-Rojas et al. (2015) os maiores valores de HY foram observados para uma COVe de aproximadamente 6,0 gCH g⁻¹SSV d⁻¹ (6,72

gDQO g⁻¹SSV d⁻¹). Finalmente, no trabalho de Anzola-Rojas et al. (2016) as melhores condições para produção de hidrogênio foram associadas a valores de COVe na faixa de 4,3 a 6,9 gDQO g⁻¹SSV d⁻¹.

Em termos do coeficiente de rendimento celular ($Y_{X/S}$), o valor obtido neste trabalho (0,11 gSSV g⁻¹CH ou 0,10 gSSV g⁻¹DQO) é característico de micro-organismos produtores de hidrogênio. Em Hafez et al. (2010) as melhores condições para produção de BioH₂ foram observadas para um coeficiente $Y_{X/S}$ igual a 0,1 gSSV g⁻¹CH (CH = glicose), enquanto menores rendimentos foram associados a valores de $Y_{X/S}$ de 0,2 e 0,3 gSSV g⁻¹CH. Anzola-Rojas e Zaiat (2016) indicaram valores ligeiramente inferiores para $Y_{X/S}$ (0,062-0,066 gSV g⁻¹CH), ressaltando a importância dos descartes de biomassa para manutenção de condições adequadas para atividade hidrogenogênica nos sistemas acidogênicos. Segundo os autores, o controle do excesso de biomassa caracteriza-se como um fator chave para produção contínua e estável de H₂ em reatores de leito fixo, baseando-se em efeitos sobre aspectos hidrodinâmicos e metabólicos (Anzola-Rojas e Zaiat, 2016). Desta forma, os descartes de biomassa permitem controlar a competição por substrato entre micro-organismos produtores e não produtores e/ou consumidores de hidrogênio, a partir da eliminação destes últimos dois grupos. Considerando o presente trabalho, embora os descartes de fundo não tenham propiciado um controle efetivo da COVe, conforme abordado anteriormente, acredita-se que a eliminação de populações não hidrogenogênicas favoreceu a manutenção de uma produção contínua de H₂ no longo prazo, reiterando-se, entretanto, a importância do controle simultâneo do pH.

Aprofundando-se a discussão sobre o papel da biomassa no sistema acidogênico, em condições de excesso de substrato, i.e., reduzidas concentrações de biomassa ou elevados valores de COVe, a perda de desempenho dos sistemas acidogênicos quanto à produção de hidrogênio tende a decorrer da inibição da biomassa pelo próprio substrato (condições de sobrecarga) (Hafez et al., 2010; Anzola-Rojas et al., 2016). Para situações de escassez de substrato – excesso de biomassa ou baixos valores de COVe, as baixas produções de hidrogênio possivelmente associam-se a alterações nas rotas metabólicas microbianas, de modo que os micro-organismos direcionam a energia metabólica disponível total ou principalmente para a manutenção celular (Anzola-Rojas et al., 2015; Anzola-Rojas e Zaiat, 2016). O aumento da densidade celular nos reatores facilita a troca de elétrons interespecífica, i.e., entre diferentes espécies microbianas, fato que pode favorecer o estabelecimento de populações microbianas não desejáveis à produção de BioH₂ (Anzola-Rojas e Zaiat, 2016).

Nesse ponto, ressalta-se outra hipótese associada às baixas produções de hidrogênio em sistemas operados em baixos valores de COVe, tendo em vista o estabelecimento de

populações homoacetogênicas no meio reacional, as quais se utilizam do biogás – CO₂ como fonte de carbono e H₂ como doador de elétrons – para promover o crescimento celular via rota de Wood–Ljungdahl (Fontes Lima et al., 2013; Saady, 2013; Anzola-Rojas et al., 2015; Ferraz Jr. et al., 2015a; Anzola-Rojas e Zaiat, 2016) – Reação (12). Contudo, adianta-se que no presente trabalho as melhores condições de produção de hidrogênio estiveram associadas a produções elevadas de ácido acético, conforme abordado na próxima seção, sugerindo o predomínio da produção deste pela via heterotrófica. Além disso, estudos indicam a inibição da via homoacetogênica em sistemas acidogênicos termofílicos operados em valores de pH iguais ou inferiores a 5,5 (Abreu et al., 2007; Akutsu et al., 2009a; Luo et al., 2011; Ghimire et al., 2015).

Além disso, é pertinente mencionar a influência da relação carbono/nitrogênio (C/N) sobre a COVe e conseqüentemente sobre a produção de hidrogênio. Ainda baseando-se no estudo de Anzola-Rojas et al. (2015), os autores verificaram uma relação C/N ótima de aproximadamente 140, a partir da qual os maiores valores de rendimento de hidrogênio foram observados. Em sistemas acidogênicos operados sob condições de excesso de nitrogênio – baixas relações C/N – a energia metabólica é direcionada principalmente para a assimilação e crescimento celular, estimulando o estabelecimento de micro-organismos não produtores e/ou consumidores de hidrogênio. A carência de nitrogênio, assim como a escassez de substrato, propicia o desvio da energia metabólica para a manutenção celular, limitando a atividade enzimática associada à produção de hidrogênio (Wang e Wan, 2009; Anzola-Rojas et al., 2015).

Considerando a relação C/N calculada para a vinhaça utilizada neste estudo – 8,7 a 18,2 (COT/NTK) e 23,4 a 44,3 (DQO/NTK), utilizando-se os dados da Tabela 6, p. 101 – observa-se um aparente excesso de nitrogênio, utilizando-se como referência o valor ótimo obtido para a razão C/N em Anzola-Rojas et al. (2015). Tais valores podem ser utilizados para explicar as limitações do descarte de biomassa no controle da COVe, tendo em vista o crescimento microbiano estimulado pelo excesso de nitrogênio na vinhaça ao longo de todo o período operacional do APBR. Ressalta-se, contudo, que as conclusões de Anzola-Rojas et al. (2015) foram obtidas a partir de ensaios conduzidos com efluente sintético a base de sacarose e ureia, enquanto que em sistemas operados com vinhaça fatores como a forma biodisponível do carbono e do nitrogênio, bem como outras características composicionais podem afetar o crescimento microbiano e a produção de hidrogênio nos reatores.

Baseando-se no período aproximadamente a partir do 115º dia de operação, os gráficos de dispersão (Figuras 23c e 23d para a PVH e Figuras 24c e 24d para o HY) não apontam claramente faixas ótimas para a COVe, mesmo ao se diferenciar os períodos de acordo com o pH afluente ao reator. Atribui-se tal comportamento à manutenção de elevadas concentrações de biomassa no reator, especificamente no leito empacotado, mesmo após os sucessivos descartes de sólidos, não sendo possível o estabelecimento de condições adequadas de COVe ($\sim 6,35 \text{ gCH g}^{-1}\text{SSV d}^{-1}$, tendo como referência os resultados referentes à primeira metade do período operacional). A título de exemplificação, utilizando-se a variação da PVH em função da COVe, verifica-se que os gráficos apresentados nas Figuras 23c e 23d correspondem aproximadamente à porção inicial da Figura 23b, considerando valores de PVH em geral inferiores a $1.000 \text{ mLH}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para valores de COVe na faixa de 0,5 a 3,5 $\text{gCH g}^{-1}\text{SSV d}^{-1}$. Comportamento semelhante é observado para o HY, corroborando o fato de que as perdas na produção de hidrogênio a partir do 110º-115º dia de operação do APBR provavelmente estiveram associados a condições inadequadas de COVe. Entretanto, reitera-se o fato de que a utilização de estratégias operacionais adequadas, principalmente o ajuste do pH efluente ao reator, possibilitou a manutenção da atividade hidrogenogênica no sistema acidogênico mesmo para condições não ideais da relação entre alimento e micro-organismos. Tais resultados comprovam a importância do adequado controle operacional sobre o sistema, possibilitando superar eventuais limitações decorrentes do envelhecimento da biomassa acidogênica.

Finalmente, destaca-se que condições ótimas semelhantes em termos do pH e da COVe (Tabela 18) foram observadas tanto para a produção volumétrica como para o rendimento de hidrogênio. Este fato indica que, o fornecimento das condições ótimas estabelecidas neste trabalho favoreceu tanto a extração de energia do substrato (aumento do rendimento) como a eficiência do tratamento (aumento da produção volumétrica). Em termos simples, elevados rendimentos de hidrogênio remetem a uma maior quantidade de energia recuperada do resíduo, enquanto que elevadas produções volumétricas levam à redução do volume dos reatores (Luo et al., 2011).

5.1.2 Avaliação dos Produtos Intermediários da Fermentação

Considerando a composição da vinhaça bruta em termos de ácidos orgânicos e solventes, os principais compostos quantificados ao longo da safra compreenderam o ácido acético e o etanol (Figura 25), com predominância do primeiro ($285\text{-}1.307 \text{ mg L}^{-1}$) nas coletas C1, C2, C5 e C6/7. A predominância do etanol nas coletas C3 e C4 ($515\text{-}2.903 \text{ mg L}^{-1}$) provavelmente se deve a alterações no processo produtivo da usina, a partir do incremento da

produção do etanol em detrimento da produção de açúcar. Desta forma, maiores frações de etanol remanescentes do processo de destilação permanecem na vinhaça. Embora elevadas concentrações de etanol atuem como inibidoras da atividade microbiana (Vela et al., 1999; Dong-Jie et al., 2011; Barca et al., 2015), os níveis observados neste caso, devido à variação composicional da vinhaça, aparentemente não estão relacionados às alterações observadas na produção de hidrogênio.

Figura 25. Metabólitos solúveis quantificados na vinhaça (bruta) afluyente ao APBR ao longo da operação da fase acidogênica: (a) perfil temporal de concentração de metabólitos e (b) proporção de metabólitos. Legenda: coleta de vinhaça (C1-6/7).

Embora não quantificados, tendo em vista a metodologia utilizada para determinação de ácidos orgânicos e solventes (Adorno et al., 2014), concentrações apreciáveis de ácido succínico (HSu), ácido láctico (HLa) e glicerol são comumente encontradas na vinhaça. Os ácidos succínico e láctico provêm de contaminações do mosto por bactérias, enquanto que o glicerol compreende o principal subproduto de sistemas fermentativos que empregam leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (Melo, 2006). A título de exemplificação, da totalidade de açúcares redutores totais (ART) fornecidos às leveduras nas dornas de fermentação, de 2 a 9% são convertidos em glicerol, enquanto que 46-47% são convertidos a etanol e apenas 0,1-0,7% é transformado em ácido acético.

Considerando os metabólitos produzidos a partir da fermentação da vinhaça no APBR, os principais compostos quantificados compreenderam os ácidos acético ($1.355 \pm 717 \text{ mg L}^{-1}$) e butírico ($1.378 \pm 925 \text{ mg L}^{-1}$), conforme indicado na Figura 26, exceto entre o período compreendido aproximadamente entre o 130° e o 165° de operação. Neste caso, verificou-se um expressivo incremento na proporção de ácido propiônico (HPr) na corrente efluente ao reator (~25%), justificando a brusca redução na produção de hidrogênio previamente apresentada (Figura 19). A fermentação na rota do ácido propiônico leva ao consumo do hidrogênio disponível no meio reacional (Mosey, 1983; Li et al., 2009; Luo et al., 2010c) – Reação (13), levando a quedas na produção de hidrogênio. Destaca-se, entretanto, que não foi observado um aumento expressivo nas concentrações de ácido propiônico no referido período – concentração média de $721 \pm 245 \text{ mg L}^{-1}$, em comparação a $686 \pm 548 \text{ mg L}^{-1}$ para o restante da operação, estando o aumento relativo na proporção de HPr associado à inibição da rota fermentativa do ácido acético – concentrações de $193 \pm 57 \text{ mg L}^{-1}$.

As concentrações de HPr verificadas neste trabalho são equivalentes às observadas em Ferraz Jr. et al. (2015a), trabalho no qual um reator de leito fixo empacotado foi operado sob condições de COVa e de temperatura idênticas às utilizadas neste trabalho. Em contrapartida, nos trabalhos de Santos et al. (2014b) e (2014c) os autores reportaram concentrações de HPr de até 3.656 e 4.267 mg L^{-1} , respectivamente, em reatores de leito fluidizado operados sob condições aparentes de sobrecarga orgânica, valores consideravelmente superiores aos observados no presente trabalho, mesmo para períodos de baixa produção de hidrogênio. Concentrações superiores de HPr (1.200 mg L^{-1}) também foram reportadas por Ferraz Jr. et al. (2014b), tendo em vista a aplicação de uma COVa superior a $100 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ em um APBR termofílico alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar.

Figura 26. Metabólitos solúveis quantificados na vinhaça fermentada ao longo da operação da fase acidogênica: (a) perfil temporal de concentração de metabólitos e (b) proporção de metabólitos. Legenda: coleta de vinhaça (C1-6/7).

O acúmulo de HPr em sistemas acidogênicos pode estar associado a diferentes eventos, tais como a sobrecarga orgânica dos sistemas – conforme observado em Ferraz Jr. et al. (2014b), Santos et al. (2014b) e (2014c) – e o aumento da pressão parcial de hidrogênio nos reatores (Sivagurunathan et al., 2014). Nesta situação, o estabelecimento da via fermentativa propiônica visa tanto à remoção do hidrogênio como de moléculas de NADH acumuladas no meio, especialmente em sistemas nos quais a atividade hidrogenogênica esteja associada à produção de ácido butírico (HBu) – estudos indicam que a geração de HPr leva a maiores produções de NAD⁺, em comparação à geração de HBu, sendo o estabelecimento da

primeira via fermentativa favorável à manutenção de razões NADH/NAD^+ adequadas no interior das células (Li et al., 2007; Sivagurunathan et al., 2014). Neste trabalho, embora o aumento na proporção de HPr (Figura 26b) tenha ocorrido concomitantemente à quantificação de maiores concentrações de HBu na vinhaça acidificada (Figura 26a), não foi observado acúmulo de HPr no reator, conforme previamente descrito. Este comportamento sugere a baixa influência do mecanismo de controle sobre a pressão parcial de hidrogênio a partir do HPr no presente trabalho, de modo que a análise da razão entre as concentrações de ácido butírico e ácido acético (HBu/HAc) permite um melhor entendimento do desempenho da fase acidogênica quanto à produção de hidrogênio.

Observando-se o perfil temporal da razão HBu/HAc na vinhaça fermentada ao longo da operação do APBR (Figura 27), pode-se associar os períodos de produção crescente e/ou estável de hidrogênio aos menores valores da razão HBu/HAc ($<2,0$). Este comportamento sugere que a principal rota fermentativa associada à produção de hidrogênio neste trabalho compreendeu a do tipo acética – Reação (14), Mosey (1983). De fato, a literatura de referência (Khanal et al., 2004; Hafez et al., 2010; Peixoto et al., 2012; Ferraz Jr. et al., 2014b; Anzola-Rojas et al., 2015) associa maiores produções de hidrogênio a partir de águas residuárias ricas em carboidratos a baixos valores da razão HBu/HAc (0,3-0,9)⁵⁶, uma vez que a via fermentativa acética – Reação (14) – leva, teoricamente, a maiores rendimentos de hidrogênio em comparação à rota associada à produção de ácido butírico – Reação (15), Mosey (1983).

Em contrapartida, os valores elevados observados para a razão HBu/HAc (Figura 27) estiveram associados ao predomínio de ácido propiônico em detrimento do acético no meio, de modo que a rota fermentativa do ácido butírico não mostrou-se adequada para manter níveis satisfatórios da produção de hidrogênio. Embora a rota fermentativa butírica seja

⁵⁶A correlação entre a produção de hidrogênio e a razão (HBu/HAc) precisa ser avaliada criteriosamente em sistemas acidogênicos, uma vez que a produção de ácido acético pela via autotrófica – rota de Wood-Ljungdahl Reação 12, p. 178) – leva ao consumo de hidrogênio, conforme previamente descrito. Nestas situações, baixas produções de hidrogênio podem estar associadas a baixos valores da razão (HBu/HAc), uma vez que o cálculo desta baseia-se apenas no ácido acético resultante da via heterotrófica, i.e., gerado pelo metabolismo das bactérias produtoras de hidrogênio (Anzola-Rojas et al., 2015; Barca et al., 2015). Contudo, tendo em vista o comportamento observado para a produção de hidrogênio neste trabalho, a interferência da homoacetogênese pode ser considerada desprezível, sendo plausível assumir que o ácido acético quantificado ao longo da operação proveio da rota heterotrófica.

comumente observada em sistemas acidogênicos⁵⁷ (Hwang et al., 2009a; Dong-Jie et al., 2011; Mariakakis et al., 2011; Ferraz Jr. et al., 2014b; Santos et al., 2014c; Ferraz Jr. et al., 2015a), a geração de metabólitos mais reduzidos, tais como o próprio HBU e o etanol, implica prejuízos à produção de hidrogênio, tendo em vista a retenção deste nas moléculas mais reduzidas (Fernandes et al., 2010).

Figura 27. Razão HBU/HAC na vinhaça fermentada (-o-) e (a) produção volumétrica de hidrogênio (PVH, -■-) e (b) rendimento de hidrogênio (HY, -◆-) observados ao longo da operação do APBR. Legenda: coleta de vinhaça (C1-6/7).

Finalmente, as elevadas concentrações de etanol na vinhaça acidificada observadas aproximadamente entre o 70° e o 145° (Figura 25, $1.331 \pm 744 \text{ mg L}^{-1}$) provavelmente estão relacionadas à maior proporção deste composto na vinhaça bruta no referido período (coletas C3 e C4), e não a alterações nas rotas metabólicas da biomassa acidogênica. Embora a literatura associe o predomínio de rotas solventogênicas em sistemas fermentativos operados

⁵⁷ A predominância de ácido butírico em sistemas acidogênicos destinados à produção de hidrogênio decorre da obtenção de maiores quantidades de energia metabólica ($\Delta G = -257,1 \text{ kJ mol}^{-1}$) a partir da rota fermentativa butírica, tendo como referência a via do ácido acético ($\Delta G = -184,2 \text{ kJ mol}^{-1}$) (Hwang et al., 2009a).

sob baixos valores de pH ($<4,5-5,0$)⁵⁸ (Antonopoulou et al., 2011; Dareioti et al., 2014; Ghimire et al., 2015), o acúmulo de etanol no APBR teve início previamente ($\sim 70^\circ$ dia de operação) à queda no pH da vinhaça acidificada ($\sim 100^\circ$ dia de operação), corroborando a hipótese de não estabelecimento da solventogênese no reator.

5.1.2.1 Estimativa da Produção Teórica de Hidrogênio

Baseando-se nas concentrações de metabólitos quantificadas ao longo da operação da fase acidogênica, a quantidade de hidrogênio que teoricamente deveria ser mensurada a partir do APBR foi estimada. Utilizando-se as Reações (14) e (15) como base, a produção de 2 mols de HAC leva à geração de 4 mols de hidrogênio – Reação (14), enquanto que na via butírica a produção de 1 mol de HBU está associada à produção de 2 mols de hidrogênio – Reação (15). Por outro lado, a produção de 2 mols de HPR leva ao consumo de 1 mol de hidrogênio – Reação (13), tendo em vista os mecanismos de controle da pressão parcial de hidrogênio no meio, conforme previamente exposto.

Na Figura 28 é apresentada a porcentagem de hidrogênio quantificada no biogás- H_2 ao longo da operação do APBR. Embora não seja possível estabelecer uma relação direta, os melhores valores de recuperação de hidrogênio, em geral, foram observados nos períodos após os descartes de biomassa (51° , 98° , 105° e 150° dias de operação), sugerindo a retenção de considerável parte do hidrogênio produzido em meio à biomassa acidogênica. De fato, em sistemas metanogênicos, nos quais o H_2 produzido tende a ser prontamente consumido pelas arqueias hidrogenotróficas, a concentração de hidrogênio dissolvido tende a ser de 35 a 75 vezes maior do que a prevista nas condições de equilíbrio (Pauss et al., 1990). Por analogia, em sistemas acidogênicos, nos quais o consumo de H_2 idealmente é eliminado, concentrações de hidrogênio dissolvido ainda maiores são esperadas, tornando o meio supersaturado (Anzola-Rojas e Zaiat, 2016) e, por consequência, propiciando subestimações na estimativa da produção teórica de H_2 .

A recuperação média de hidrogênio no biogás foi calculada em $28,8 \pm 24,4\%$, valor consideravelmente superior ao reportado por Ferraz Jr. et al. (2015a) – $12,8\%$. Em geral, a estimativa da produção de hidrogênio pelos metabólitos da fermentação apresentou melhores

⁵⁸Baseando-se no exposto por Antonopoulou et al. (2011), em baixos valores de pH, alguns micro-organismos fermentativos, em geral, espécies do gênero *Clostridium*, podem alterar seu metabolismo para a produção de etanol como uma resposta adaptativa da célula para evitar efeitos inibitórios de elevadas concentrações de ácidos. Neste caso, o substrato pode ser convertido diretamente a etanol (Sreethawong et al., 2010; Peixoto et al., 2011):

resultados em períodos de média-a-alta produção de hidrogênio (Figura 28), sendo que em períodos de perda de desempenho, a produção estimada tendeu a apresentar valores inferiores a 20%, sugerindo a influência de outros fatores sobre a produção de hidrogênio no APBR, os quais não foram considerados na estimativa apresentada. Dentre os prováveis fatores de interferência, pode-se citar a retenção de hidrogênio no leito fixo empacotado, tendo em vista o acúmulo de biomassa neste, e a influência da produção de outros metabólitos.

Figura 28. Porcentagem de hidrogênio recuperado (■) no biogás e produção volumétrica de hidrogênio (PVH, -■-) ao longo da operação do APBR.

Considerando a interferência de outros metabólitos sobre a dinâmica de produção de hidrogênio em sistemas fermentativos, destacam-se os papéis do etanol e do ácido láctico como fonte de carbono em diferentes vias metabólicas fermentativas passíveis de estabelecimento em sistemas acidogênicos. Com relação ao etanol, em condições de elevada pressão parcial no meio reacional, o hidrogênio presente em excesso pode ser convertido diretamente ao solvente em questão – Reação (16), Oh et al. (2003), Kumar et al. (2012). Além disso, embora tenha sido descartado o estabelecimento de condições solventogênicas no reator, o acúmulo de etanol a partir do 70º dia de operação pode ter decorrido da produção concomitante de ácido acético e etanol, via fermentativa a partir da qual também ocorre a produção de hidrogênio – Reação (17), Akutsu et al. (2009b). O eventual estabelecimento desta rota metabólica pode explicar as baixas produções de hidrogênio observadas no referido período, tendo em vista perdas associadas à retenção de H⁺ nas moléculas de etanol.

Por sua vez, estudos indicam a potencialização da produção de BioH₂ em sistemas fermentativos submetidos a águas residuárias ricas em ácido láctico na sua composição. Kim et al. (2012) observaram produções crescentes de hidrogênio a partir da adição de concentrações de até 8 g L⁻¹ de HLa em um meio a base de glicose (20 g L⁻¹). Matsumoto e Nishimura (2007) reportaram a produção de H₂ e H₂Bu a partir da fermentação de HLa, propondo uma rota metabólica a partir dos resultados experimentais obtidos (Reação 18). Baghchehsaraee et al. (2009) também reportaram taxas crescentes de produção de H₂ e H₂Bu a partir da adição de HLa em efluente sintético a base de amido, sugerindo que a presença de HLa no meio promove alterações no metabolismo microbiano favoráveis à atividade hydrogenogênica (Sikora et al., 2013). Tendo em vista que Santos (2015) reportou concentrações de HLa na faixa de 6,75-10,13 g L⁻¹ em amostras de vinhaça também coletadas na Usina São Martinho (safra 2014/2015)⁵⁹, acredita-se que a metabolização do referido AGV possa ter contribuído tanto para a produção de H₂ quanto de H₂Bu no presente estudo; entretanto, sugere-se que tal aspecto seja abordado de maneira mais criteriosa em estudos futuros, destacando-se a importância de uma caracterização composicional mais abrangente da vinhaça. De qualquer forma, discussões complementares sobre o papel do HLa e do etanol em sistemas fermentativos alimentados com vinhaça são apresentadas na seção 5.1.4.1, utilizando-se a caracterização microbiana da biomassa como referência.

5.1.3 Balanço de Massa para a Fase Acidogênica

Utilizando-se os dados de monitoramento obtidos ao longo da operação do APBR, determinou-se o balanço de massa da fase acidogênica, em termos de DQO, buscando-se aferir a confiabilidade das metodologias analíticas utilizadas. O cálculo empregado permitiu a obtenção de dois balanços distintos, sendo um referente à distribuição de compostos solúveis nas correntes afluente e efluente ao reator (balanço de massa da fase solúvel – BMFS) e o outro referente ao balanço de massa global (BMG), levando em consideração, além dos

⁵⁹Diferentemente do presente estudo, no referido trabalho (Santos, 2015) a autora utilizou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na caracterização das amostras de vinhaça em termos de metabólitos solúveis.

compostos solúveis, a produção de hidrogênio e sólidos ao longo da operação. Na Figura 29 são apresentados o BMFS e o BMG referentes à operação do APBR, enquanto na Tabela 19 apresentam-se as contribuições de cada grupo de compostos analisados sobre os balanços de massa.

Tabela 19. Balanço de massa da fase solúvel e balanço de massa global calculados para a fase acidogênica.

Balanço de massa	Proporção na DQO medida (%)						
	Carboidratos	Metabólitos ^a	DQOs efluente	H ₂	SSV	Fração discriminada ^b	Fração não discriminada
BMFS ^c	24,1 ± 4,5	12,5 ± 6,7	-	-	-	36,6 ± 6,7	63,4 ± 8,4
BMFS ^d	10,1 ± 3,1	33,9 ± 12,2	-	-	-	43,9 ± 12,4	56,1 ± 12,4
BMG ^e	-	-	75,0 ± 8,4	0,5 ± 0,4	7,4 ± 3,8	82,9 ± 7,9	17,1 ± 7,9

Notas: ^aEtanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico; ^bCarboidratos + metabólitos para BMFS, DQOs efluente + hidrogênio + SSV para BMG; ^cBMFS em relação à DQOs afluente (vinhaça bruta); ^dBMFS em relação à DQOs efluente (vinhaça acidificada); ^eBMG em relação à DQOt afluente ao reator.

Siglas: BMFS = balanço de massa na fase solúvel; BMG = balanço de massa global.

Considerando inicialmente o BMFS, os valores médios obtidos para o afluente (vinhaça bruta, Figura 29a, Tabela 19) e o efluente (vinhaça acidificada, Figura 29b, Tabela 19) compreenderam, respectivamente, $36,6 \pm 6,7$ e $43,9 \pm 12,4\%$. O BMFS obtido para o efluente do APBR neste trabalho atingiu patamar semelhante ao reportado por Ferraz Jr et al. (2014b) – 42,6-53,2%, Ferraz Jr. et al. (2015a) – 48,5%, e Ferraz Jr. et al. (2015b) – 37,3-40,9%, nos quais reatores de leito fixo empacotado aplicados na fermentação da vinhaça de cana-de-açúcar também foram operados sob condições acidogênicas. Comparando-se a contribuição relativa de cada grupo de compostos sobre o BMFS, os maiores valores observados na vinhaça acidificada decorrem do aumento nas concentrações e, consequentemente, na proporção de metabólitos nesta – 12,5 para 33,9% (Tabela 19), tendo em vista a conversão de substratos não quantificados, além dos carboidratos, em ácidos orgânicos e etanol. Entretanto, os baixos valores observados para o balanço de massa na fase solúvel, tanto neste trabalho como nos estudos de Ferraz Jr. et al. (2014b), (2015a) e (2015b), estão associados à não quantificação de outros compostos orgânicos presentes na vinhaça. Dentre estes, pode-se citar as melanoidinas, responsáveis por conferir cor à vinhaça, o glicerol e os ácidos láctico e succínico (HSu), conforme previamente discutido.

Figura 29. Balanço de massa para fase solúvel (a) da vinhaça bruta e (b) vinhaça acidificada e (c) balanço de massa global da fase acidogênica. Legenda: (---) representa a relação média entre os valores de DQO estimada e medida para cada tipo de balanço de massa. Notas: ^aCálculos em relação à DQOs afluente; ^bCálculos em relação à DQOs efluente; ^cCálculos em relação à DQOt afluente.

Considerando vinhaças provenientes do processamento da cana-de-açúcar, Santos et al. (2014a) reportaram concentrações de HLa e HSu variando nas faixas de 4,5-12,7 e 0,9-3,6 g L⁻¹ respectivamente. Os autores também relatam elevadas concentrações de ácido málico (HMa) na vinhaça utilizada nos experimentos, variando entre 2,6 e 6,2 g L⁻¹. As concentrações de HMa e HSu reportados por Santos (2015) chegaram, respectivamente, a 5,7-10,5 g L⁻¹ e 3,7-4,0 g L⁻¹. Em Santos et al. (2014b) as concentrações máximas de HLa e HSu compreenderam 5,2 e 3,5 g L⁻¹, enquanto que em Santos et al. (2014c) os teores de HLa variaram na faixa de 6,0 a 7,9 g L⁻¹. Com relação ao glicerol, Bonini (2012) indicou uma concentração de 2,8 g L⁻¹ em vinhaça de cana-de-açúcar. Em Ahn et al. (2011) este valor chegou a 5,1 g L⁻¹, porém, os autores utilizaram vinhaça proveniente do milho neste caso. Os últimos autores também reportaram elevados teores de HLa neste trabalho, indicando uma concentração média de 5,7 g L⁻¹. Portanto, tendo em vista as elevadas concentrações dos compostos supracitados usualmente observadas na vinhaça, as limitações no cálculo do BMFS podem ser justificadas pela não determinação destes.

Materiais resultantes da lise celular, tais como moléculas de DNA, lipoproteínas, dentre outros compostos, bem como a fração solúvel das substâncias poliméricas extracelulares (SPE), certamente também contribuíram para a parcela não quantificada do BMFS, especialmente na vinhaça fermentada. Aquino e Stuckey (2006) indicaram que até 25% da carga de DQO afluente em sistemas anaeróbios (metanogênicos) com elevada densidade celular podem ser direcionados para a produção de SPE, também indicando expressiva contribuição de materiais da lise celular na fração de produtos microbianos solúveis. Particularmente, espera-se uma produção maior de SPE em sistemas acidogênicos, sobretudo aqueles operados em elevadas temperaturas, tendo em vista as condições de estresse às quais os micro-organismos estão submetidos, p.ex. elevada acidez e escassez de substrato em sistemas com acúmulo de células. Na Figura 30 são apresentadas características da produção de SPE ao longo da operação do APBR, incluindo amostras dos descartes de fundo (Figuras 30a-b) e detalhes do acúmulo de polímeros no leito do reator (Figuras 30c-d).

Com relação ao balanço de massa global (Figura 29c, Tabela 19), o valor médio calculado para a relação entre a DQOt estimada e a medida ($82,9 \pm 7,9\%$) apresentou magnitude consideravelmente superior ao obtido para a fase solúvel, sendo semelhante aos previamente calculados por Ferraz Jr. et al. (2014b) – 66,4-78,9%, (2015a) – 67%, e (2015b) – 76,9-91,4%. Neste cálculo, foram utilizados os valores da DQOs efluente medida para compor a fração referente aos compostos orgânicos dissolvidos, uma vez que os métodos analíticos empregados não possibilitaram uma estimativa satisfatória da fração solúvel da vinhaça.

Figura 30. Produção e acúmulo de substâncias poliméricas extracelulares ao longo da operação do APBR: (a) e (b) amostras obtidas a partir dos descartes de fundo, (c) detalhe do leito empacotado sem acúmulo de polímeros e (d) detalhe do leito empacotado com acúmulo de polímeros. Os círculos representam a mesma porção do APBR nas imagens.

A fração de hidrogênio gerada ao longo do período operacional compreendeu apenas 0,5% da DQOt afluente (Tabela 19), valor semelhante aos reportados nos trabalhos supracitados – 0,2-0,6%. Situação similar foi observada quanto à fração de DQOt associada aos sólidos lavados do reator, correspondendo o valor obtido neste trabalho (7,4%, Tabela 19) aos reportados em Ferraz Jr. et al. (2014b) e (2015a) – 4,3-8,4%. Tais valores são consideravelmente inferiores aos obtidos para reatores operados sob condições mesofílicas – 19,7% (Ferraz Jr. et al., 2015b), corroborando a tendência esperada para sistemas

termofílicos, nos quais o crescimento líquido de biomassa ocorre a menores velocidades⁶⁰ (Schmidt e Ahring, 1995). A fração de DQO não discriminada ($17,1 \pm 7,9\%$, Figura 29c, Tabela 19) decorre, além dos erros experimentais, de prováveis perdas de hidrogênio, tendo em vista a retenção deste no leito fixo, conforme previamente discutido, bem como do crescimento celular aderido ao leito, o qual não foi considerado neste cálculo.

5.1.4 Estrutura e Dinâmica Microbiana na Fase Acidogênica

A caracterização da estrutura microbiana no reator acidogênico (APBR) é apresentada em termos da abundância relativa no nível de gênero na Figura 31, considerando o inóculo resultante da etapa de fermentação natural, amostras de lodo dos quatro descartes de fundo realizados ao longo da operação do reator, e uma amostra referente ao final da operação. Na Figura 31 são compilados os gêneros mais representativos, caracterizados por apresentar abundância relativa $> 1\%$ em pelo menos uma das amostras. A caracterização filogenética completa das amostras, i.e., considerando todos os grupos microbianos identificados, é apresentada na Figura 32. Aproximadamente 20-45% das sequências não foram classificadas no nível de gênero (Figura 31), dependendo da amostra considerada. Uma análise comparativa preliminar indica pouca variação dos gêneros identificados nas amostras, com predomínio de *Lactobacillus* (21,3–24,8%) e *Clostridium* (14,5-19,0%). Este padrão sugere que as alterações no desempenho do APBR, discutidas em detalhe na seção 5.1 e nas subseções 5.1.1 a 5.1.3, resultaram principalmente (embora não exclusivamente) de alterações metabólicas das comunidades estabelecidas, e não de alterações na estrutura das comunidades microbianas. Particularmente, com relação à comparação das amostras dos descartes, a similaridade entre estas também sugere que tal estratégia não representou uma barreira para o estabelecimento das comunidades microbianas de interesse no reator. Além disso, a aplicação de uma carga orgânica constante ao longo da operação favoreceu a similaridade entre as amostras, uma vez que a variação da COVa mostrou-se como uma efetiva estratégia para selecionar diferentes populações microbianas em sistemas fermentativos em trabalhos anteriores, independentemente da água residuária aplicada, i.e., soro de leite (Perna et al., 2013) e vinhaça de cana-de-açúcar (Ferraz Jr. et al., 2014b).

⁶⁰Amani et al. (2015) associam dois fatores preponderantes para o menor crescimento da biomassa termofílica, incluindo [i] uma maior taxa de decaimento (aproximadamente duas vezes superior à observada para populações mesofílicas e [ii] um maior requerimento energético para manutenção celular. A maior taxa de decaimento constitui consequência direta da maior tendência das células a sofrer lise quando submetidas a maiores temperaturas.

Figura 31. Composição microbiana das amostras obtidas a partir da operação da fase acidogênica (APBR) no nível de gênero (abundâncias relativas > 1% são apresentadas).

O gênero *Clostridium* engloba os micro-organismos com maior potencial para produção de hidrogênio, embora indivíduos deste gênero sejam caracterizados por uma ampla diversidade metabólica, levando a um grupo amplamente heterogêneo (Wiegel et al., 2006; Ferraz Jr. et al., 2015a). De qualquer forma, os resultados sugerem que a produção de hidrogênio no APBR estudado esteve intimamente associada a espécies deste gênero, tendo em vista a manutenção de uma abundância relativa praticamente constante (14,5-19,0%; Figura 31) ao longo da operação, bem como à baixa abundância relativa de outros grupos notadamente associados à produção de hidrogênio – p.ex. *Thermoanaerobacterium* (1,2-9,3%) e *Caloramator* (0-5,1%) (Figura 31) em grande parcela do período operacional. Ferraz Jr. et al. (2015a) reportaram valores de abundância relativa inferiores a 10% para o gênero *Clostridium* em um APBR operado em condições equivalentes de temperatura (55°C) e COVa (84,2 kgDQO m⁻³ d⁻¹). Por outro lado, Ferraz Jr. et al. (2015b) reportaram uma abundância relativa para tal gênero (12,8%) semelhante às observadas neste estudo, considerando,

entretanto, condições mesofílicas (25°C) em uma COVa relativamente baixa (36,4 kgDQO m⁻³ d⁻¹).

Figura 32. Árvore filogenética da comunidade microbiana nas amostras obtidas durante a operação do APBR baseando-se no 16S RNAr (região V4): inóculo, descartes de biomasse e final da operação. Dados derivados do DNA metagenômico.

Maiores abundâncias relativas foram observadas para o gênero *Thermoanaerobacterium* apenas no primeiro descarte de biomassa (7,2%) e ao final da operação (9,3%) (Figura 31), após um período aproximado de 100 dias sem descartes de biomassa (Figura 20, p. 154). Este comportamento sugere que os descartes não favoreceram o estabelecimento de indivíduos deste gênero no APBR, diferentemente do padrão observado para o gênero *Clostridium*. Contudo, o melhor desempenho do APBR em termos da produção

de hidrogênio nos períodos inicial e final da operação (Figura 19, p. 152; Tabela 16, p. 153) provavelmente esteve associado ao estabelecimento do gênero *Thermoanaerobacterium* no meio, o qual foi considerado como preponderante para produção de hidrogênio em condições termofílicas (55-60°C) a partir de substratos complexos, incluindo a vinhaça (Ren et al., 2008; Lazaro et al., 2014; Santos et al., 2014a; Zheng et al., 2014; Lamaison et al., 2015). Ferraz Jr. et al. (2015a) identificaram valores de abundância relativa (7,2-8,1%) para o gênero *Thermoanaerobacterium* (APBR, 55°C, 84,2 kgDQO m⁻³ d⁻¹) semelhantes ao observado na amostra referente ao primeiro descarte do presente estudo (7,2%). Nos dois casos, as amostras foram coletadas em períodos semelhantes de operação (50-60 dias). Por sua vez, Ferraz Jr. et al. (2014b) associaram o micro-organismo da espécie *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* a uma elevada produção de hidrogênio a partir da vinhaça em condições termofílicas e elevada COVa (55°C, 72,4 kgDQO m⁻³ d⁻¹), fato que corrobora o papel do referido gênero como determinante para produção de hidrogênio em sistemas alimentados com vinhaça. A ordem *Thermoanaerobacteriales* é caracterizada por indivíduos anaeróbios estritos, formadores de esporos, que não crescem na ausência de carboidratos fermentáveis, tais como a xilose, a sacarose e o amido, além de produzir metabólitos comuns aos sistemas acidogênicos, i.e., ácidos acético, butírico, láctico e succínico (O-Thong et al., 2009; Kongjan et al., 2013; Santos et al., 2014a; Ferraz Jr. et al., 2015a).

Padrão semelhante foi observado para o gênero *Caloramator* nas amostras analisadas, sendo os maiores valores de abundância relativa associados ao inóculo (5,1%), ao segundo descarte de biomassa (3,9%) e ao final da operação (2,4%) (Figura 31). Indivíduos deste gênero são anaeróbios estritos termofílicos e capazes de fermentar diferentes açúcares (hexoses) a hidrogênio e gás carbônico, sendo o acetato, o etanol e o formiato os principais metabólitos (Ogg e Patel, 2009; Ciranna et al., 2014; Ferraz Jr. et al., 2015a). Ferraz Jr. et al. (2015a) também identificaram o gênero *Caloramator* em seu estudo, entretanto, em abundância relativa inferior a 1% em 60 dias de operação.

As bactérias produtoras de ácido láctico compreenderam o principal grupo de micro-organismos identificados nas amostras do APBR, incluindo os gêneros *Lactobacillus* (21,3-24,8%), *Sporolactobacillus* (1,0-4,6%), *Leuconostoc* (0,6-3%), *Enterococcus* (0,1-0,6%) e *Lactococcus* (0-1,2%) (Figura 31). A literatura é contraditória em termos do papel destas bactérias em sistemas fermentativos direcionados à produção de hidrogênio, tendo em vista tanto o relato de efeitos negativos (competição por substratos comuns e inibição pela excreção de bacteriocinas – Noike et al., 2002; Gomes et al., 2016) quanto de positivos (ácido láctico como precursor na formação de hidrogênio – Matsumoto e Nishimura, 2007; Baghchehsaraee

et al., 2009; Kim et al., 2012; Sikora et al., 2013), conforme previamente discutido (item 5.1.2.1, p. 185).

Ferraz Jr. et al. (2015a) reportaram valores decrescentes para a abundância relativa de *Lactobacillus* (46,7 para 7,0%) em 30 dias de operação em seu estudo (APBR, 55°C, 84,2 kgDQO m⁻³ d⁻¹), indicando que maiores produções de hidrogênio foram obtidas quando uma maior abundância relativa do referido gênero foi observada no reator. Tal constatação sugere um potencial efeito benéfico do ácido láctico no meio para produção de hidrogênio, embora tal metabólito também não tenha sido monitorado no referido estudo. Santos et al. (2014a) também observaram uma elevada produção de hidrogênio em um AFBR com predomínio de bactérias lácticas, reportando concomitantemente proporções de ácido láctico na faixa de 7,0-30,9% na vinhaça fermentada. Neste caso, os autores indicaram a provável produção de hidrogênio pela via metabólica do ácido butírico a partir de concentrações residuais de NADH resultantes da degradação do ácido láctico. Lazaro et al. (2015) também reportaram a predominância de micro-organismos da família *Lactobacillaceae* em um AFBR alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar operado em condições mesofílicas (30°C), indicando, entretanto, um reduzido valor para o HY (0,47 molH₂ mol⁻¹CH). No presente estudo, a abundância relativa de bactérias lácticas, sobretudo de *Lactobacillus* (Figura 31), foi aproximadamente constante ao longo de toda a operação do APBR, tanto em períodos de elevada produção de hidrogênio quanto em períodos de severa perda de desempenho. Portanto, não é possível direcionar o papel das LAB neste caso, embora o comportamento observado sugira que tais micro-organismos não exerceram papel determinante nas perdas de desempenho do sistema.

Por fim, alguns gêneros apresentaram valores de abundância relativa superiores a 1% somente no inóculo e/ou no início da operação do APBR (até o primeiro descarte de biomassa), incluindo: *Klebsiella* (4,3% – inóculo), *Sphingobium* (2,7% – inóculo), *Brevundimonas* (4,4% – inóculo), *Pseudomonas* (4,7% – primeiro descarte) e *Thermoactinomyces* (4,6% – primeiro descarte) (Figura 31). Tal comportamento indica o estabelecimento de condições ambientais não favoráveis aos referidos gêneros durante a operação do APBR, em particular, a anaerobiose e a elevada temperatura utilizada. Micro-organismos associados ao gênero *Sphingobium* apresentam capacidade para degradar uma ampla faixa de compostos clorados e hidrocarbonetos aromáticos, tais como inseticidas, porém, utilizam-se da via aeróbia para tal fim (Nagata et al., 2007; Liang e Lloyd-Jones, 2010; Verma et al., 2014). Espécies vinculadas ao gênero *Thermoactinomyces* também são aeróbias, sendo comumente identificadas no processo de compostagem (Silva, 2010). Por sua vez, indivíduos dos gêneros *Klebsiella* e *Pseudomonas*, embora facultativos, têm o

crescimento inibido em temperaturas elevadas, verificando-se a morte das células em temperaturas próximas a 60°C (Tsuji et al., 1982). Os referidos gêneros, assim como o *Brevundimonas*, caracterizam-se como micro-organismos entéricos, daí sua presença na atmosfera na qual foi conduzida a fermentação natural.

5.1.4.1 Dinâmica e Correlação Metabólica das Populações Microbianas na Fase Acidogênica

Os principais resultados obtidos a partir da ACP são apresentados na Figura 33. A correlação observada entre os ácidos acético e propiônico e o gênero *Clostridium* (Figura 33a) provavelmente resultou das elevadas concentrações de HLa usualmente encontradas na vinhaça, uma vez que o HLa pode ser fermentado a HPr e HAc (Reação 19 – Seeliger et al., 2002) por diversas espécies de bactérias pertencentes ao gênero destacado: *C. propionicum*, *C. neopropionicum*, *C. homopropionicum* e *C. lactatifermentans* (Stams et al., 1998; Seeliger et al., 2002; Wiegel et al., 2006; Baghchehsaraee et al., 2009; Madigan et al., 2014). Frações de HLa produzidas por LAB estabelecidas no próprio reator também podem ter contribuído para a correlação observada. A fermentação do HLa caracteriza-se como uma rota alternativa para obtenção de energia utilizada por bactérias acidogênicas submetidas a condições de baixa disponibilidade de carboidratos. Esta estratégia substitui a conversão direta de carboidratos, a qual fornece maiores quantidades de energia ao metabolismo microbiano – p.ex. produção de HPr e HAc a partir da glicose, Reações (13) e (14) nas páginas 181 e 183, respectivamente. A baixa disponibilidade de carboidratos no APBR provavelmente resultou do acúmulo de biomassa no sistema, fato que também desbalanceou a COVe (vide seção 5.1.1 para maiores detalhes). Este padrão pode ser evidenciado pelo decréscimo contínuo da COVe ao longo da operação (Figuras 20b-c, p. 154), uma vez que os descartes de fundo não foram suficientes para controlar adequadamente a quantidade de biomassa retida no APBR.

A correlação observada para o HAc, HPr e o gênero *Clostridium* (Figura 33a) também pode ter resultado da fermentação do etanol (Reação 20 – Tholozan et al., 1992), representando uma outra rota paralela para obtenção de energia metabólica. Elevadas concentrações de etanol foram observadas na vinhaça bruta ao longo da safra (até 1,6 g L⁻¹), caracterizando o etanol como uma fonte de carbono disponível às bactérias acidogênicas. Por sua vez, o acúmulo de etanol observado na vinhaça fermentada, conforme brevemente

discutido anteriormente, pode ter resultado da fermentação etanólica da glicose associada à coprodução de H_2 e HAc (Reação 17, p. 187). A contribuição da fermentação etanólica para produção de H_2 a partir da vinhaça de cana-de-açúcar também foi considerada em estudos anteriores (Ferraz Jr. et al., 2014, 2015b), tanto para condições mesofílicas (25°C) quanto termofílicas (55°C) de temperatura, podendo tal rota ser relevante em sistemas acidogênicos alimentados com vinhaça. Micro-organismos do gênero *Caloramator* foram previamente associados à produção de HAc e etanol a partir da glicose (Ogg e Patel, 2009). Entretanto, não foi observada uma correlação direta entre a produção de etanol e o gênero em questão no presente estudo (Figura 33a).

Figura 33. Análise de componentes principais considerando dados de monitoramento (desempenho do reator + composição microbiana) da fase acidogênica: (a) resultado geral e (b) detalhamento de interações específicas

Outro resultado relevante da ACP indicou uma correlação direta entre o HBu, etanol e o gênero *Lactobacillus* (Figura 33a), na qual a disponibilidade de HLa novamente apresentou papel metabólico determinante. A produção de etanol no APBR também pode estar associada ao metabolismo de bactérias heteroláticas, as quais convertem carboidratos principalmente em HLa e etanol (Reação 21 – Madigan et al., 2014). Esta associação explica a correlação observada entre o gênero *Lactobacillus* e o etanol (Figura 33a). Evidências da fermentação heterolática em sistemas acidogênicos também foram reportadas em estudos anteriores (Ren et al., 2007; Sreela-or et al., 2011), nos quais a produção de HLa e etanol foi igualmente associada ao gênero *Lactobacillus*. As elevadas abundâncias relativas obtidas para o gênero *Leuconostoc* (2,6-3,0% – Figura 31) também podem estar associadas à fermentação heterolática dos carboidratos no APBR (Sreela-or et al., 2011; Gomes B.C. et al., 2015). Tais bactérias convertem o piruvato em etanol como uma estratégia para regenerar as moléculas de NADH (reoxidação a NAD^+) (Budinich et al., 2011), as quais apresentam papel determinante no transporte de elétrons no metabolismo celular.

Por sua vez, ambos HLa e HAc podem ser usados como substrato para produção de H_2 , CO_2 e HBu (Reação 18, p. 187), fato que explica a correlação observada para o gênero *Lactobacillus* e o HBu (Figura 33a). Esta rota metabólica também caracteriza uma estratégia utilizada pelas bactérias acidogênicas para obtenção de energia em baixas concentrações de carboidratos (Diez-Gonzalez et al., 1995; Shen et al., 1996), de modo que efeitos positivos da adição de HLa sobre a produção de H_2 em sistemas fermentativos foram relatados em estudos anteriores (Matsumoto and Nishimura, 2007; Jo et al., 2008; Baghchehsaraee et al., 2009; Kim et al., 2012). Baghchehsaraee et al. (2009) sugeriram que o fornecimento de elevadas concentrações de HLa desbalanceia a conversão de piruvato em HLa em sistemas acidogênicos (Reação 22), levando a um acúmulo de NADH. Este mecanismo favorece a produção de H_2 por meio da reoxidação das moléculas de NADH em NAD^+ (Reação 23). Diversas espécies pertencentes ao gênero *Clostridium* foram associadas à produção de H_2 e HBu a partir do HLa (Reação 18, p. 187), incluindo: *C. acetobutylicum* (Diez-Gonzalez et al., 1995); *C. diolis* JICC H3, *C. butyricum*, *C. beijerinckii* (Matsumoto e Nishimura, 2007); e, *C. tyrobutyricum* (Jo et al., 2008).

(Reação 23)

A ACP também indicou uma relação entre dois gêneros específicos, i.e., *Thermoanaerobacterium* e *Caloramator*, e o HY (Figuras 33a-b), confirmando o padrão discutido previamente na seção 5.1.4. O gênero *Thermoanaerobacterium* foi o principal grupo microbiano associado às maiores produções de H_2 no APBR (Figura 33b), de maneira similar ao reportado em outros estudos baseados na fermentação termofílica de diferentes substratos orgânicos (Ren et al., 2008; Lazaro et al., 2014; Santos et al., 2014a; Zheng et al., 2014; Lamaison et al., 2015). Ferraz Jr. et al. (2014, 2015a) também destacaram o papel determinante do gênero *Thermoanaerobacterium* na produção termofílica de H_2 a partir da vinhaça de cana-de-açúcar em elevada COVa (72,4-84,2 kg DOQ $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$). Tais resultados sugerem que a potencialização da recuperação de bioenergia a partir da vinhaça por meio da produção de H_2 estará diretamente associada à manutenção de elevadas abundâncias relativas do referido gênero nos reatores, de modo que estratégias operacionais adicionais, em substituição aos descartes de fundo, devem ser avaliadas. A grande distância observada entre a PVH e as demais componentes (Figura 33a) resultou da grande variabilidade/instabilidade na produção de H_2 durante a operação do reator (Tabela 16, coluna “geral”, p. 153), sendo consistente com a alta variância associada à componente principal 1 (99,96% – Figura 33a, abscissa).

Finalmente, uma correlação adicional entre quatro gêneros (*Thermoanaerobacterium*, *Pseudomonas*, *Sporolactobacillus* e *Thermoactinomyces*) e a COVe também foi obtida a partir da ACP (Figura 33b), fato que evidencia o estabelecimento destes grupos microbianos quando menores concentrações de biomassa, i.e., maiores valores de COVe, foram observadas no APBR. Apesar da estreita relação indicada, dois fenômenos distintos explicam a interação entre tais gêneros e a COVe. O crescimento de gêneros específicos, tais como *Pseudomonas* e *Thermoactinomyces*, foi prejudicado durante a operação do APBR devido às condições ambientais estabelecidas, i.e., anaerobiose e termofilia, explicando as maiores abundâncias relativas no início da operação do sistema, quando menores concentrações de biomassa ou maiores valores de COVe foram observados. Por sua vez, o estabelecimento dos gêneros *Thermoanaerobacterium* e *Sporolactobacillus* provavelmente foi desfavorecido pelos descartes periódicos de biomassa, daí a correlação observada. Particularmente, os resultados sugerem que tais gêneros não são eficientes formadores de biofilme, fato que pode explicar o efeito adverso dos descartes de fundo sobre sua manutenção no sistema, e reforça a necessidade da implementação de estratégias alternativas aos descartes, tais como a utilização de reatores de leito fixo estruturado.

5.1.5 Considerações Finais – Fase Acidogênica

Os resultados associados à operação da fase acidogênica indicaram a capacidade do APBR para manter a produção contínua de hidrogênio em longo prazo, sendo de extrema importância o monitoramento contínuo do sistema, o qual fornece respostas-chave para a adoção de estratégias operacionais diferenciadas. Outro ponto a ser destacado refere-se à capacidade do sistema acidogênico para se recuperar das perdas de desempenho (considerando especificamente a produção de hidrogênio), mesmo após alguns períodos de histerese, independentemente da origem destas, i.e., redução na COVa (i.e. disponibilidade de substrato) e COVe, eventos de inibição devido a alterações na composição da água residuária, dentre outras causas.

O comportamento instável do sistema pode ser utilizado de maneira positiva na sua recuperação, uma vez que as rápidas respostas às intervenções permitem a seleção/manutenção das estratégias operacionais apropriadas. Ademais, os resultados obtidos nesta etapa do trabalho indicam que a seleção de medidas operacionais adequadas substitui, de maneira eficiente, medidas mais drásticas, tais como a repartida e/ou a reinoculação dos reatores, evitando o desperdício de tempo e recursos, os quais se caracterizam como essenciais para a viabilidade econômica das plantas em escala plena. Dentre as estratégias avaliadas, o ajuste do pH mostrou-se indispensável para o reestabelecimento da atividade hidrogenogênica no APBR, tendo em vista as limitações no controle do acúmulo de biomassa unicamente pelos descartes.

Particularmente, a similaridade na composição microbiana das amostras de biomassa descartadas sugere que tal estratégia não representou impediu o estabelecimento da comunidade microbiana de interesse no reator (p.ex. o gênero *Clostridium*), embora os descartes tenham seletivamente desfavorecido outros gêneros de interesse, também produtores de H₂, especialmente o *Thermoanaerobacterium*. A renovação celular forçada pelos descartes, mesmo que limitada, provavelmente compensou as limitações de acúmulo de sólidos interentes aos reatores de leito empacotado.

Neste ponto, ressalta-se que os resultados obtidos nesta fase do trabalho permitem confirmar a primeira sub-hipótese elencada inicialmente – **“o emprego de rotinas operacionais específicas na operação do reator anaeróbico acidogênico, principalmente com relação à adoção de procedimentos para o descarte do excesso de biomassa e controle do pH, permite a obtenção de produções contínuas de hidrogênio em longo prazo”** (seção 2, p. 45), uma vez que o emprego destas rotinas permitiu a obtenção de uma produção contínua de BioH₂ em longo prazo.

5.2 Fase Metanogênica: Estabilidade Operacional, Remoção de Matéria Orgânica e Produção de Metano

A vinhaça acidificada, coletada a partir do APBR, foi utilizada na alimentação de dois reatores metanogênicos operados em paralelo, conforme previamente descrito na seção 4.2.2 (p. 106): um reator de leito fixo estruturado (ASTBR) e um reator de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB), buscando-se comparar os sistemas quanto à estabilidade operacional, eficiência de remoção de matéria orgânica e produção de metano. Condições crescentes de COVa foram aplicadas nos dois reatores – 15, 20, 25 e 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹. O reator UASB foi operado por 210 dias, de modo que a COVa máxima aplicada no mesmo compreendeu 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹. No caso do ASTBR, o período operacional atingiu 240 dias, sendo a COVa máxima aplicada equivalente a 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹.

Em termos da estabilidade operacional, e baseando-se na razão AI/AP como parâmetro de avaliação, observou-se que o sistema com células imobilizadas (ASTBR) manteve uma operação estável contínua após a partida, por volta do 40º dia de operação. Nos dois reatores a razão AI/AP apresentou comportamento decrescente na primeira fase de operação (COVa = 15 kgDQO m⁻³ d⁻¹, Figura 34c), indicando a diminuição na concentração de ácidos orgânicos e a consequente adequação do meio reacional para a biomassa metanogênica. De fato, conforme observado nas Figuras 35 e 36, no referido período (1º ao 53º dia de operação) a remoção de matéria orgânica, em termos da DQO total e solúvel, se apresentou crescente nos dois reatores. A partir das Figuras 34 a 36 também é possível associar uma partida mais eficiente do reator UASB, tendo em vista maiores eficiências de remoção de DQOt (~40%, enquanto no ASTBR foram observados valores inferiores a 30%), uma maior produção de alcalinidade a bicarbonato (4.895 vs. 3.903 mgCaCO₃ L⁻¹) e, consequentemente, menores valores para a razão AI/AP (0,61 vs. 0,84).

O comportamento discrepante observado na partida dos reatores provavelmente decorre da maior concentração de células fornecida ao reator de manta de lodo na etapa de inoculação, tendo em vista o preenchimento de 40% de seu volume com lodo termofílico. No reator de leito fixo o lodo em excesso disponibilizado na etapa de inoculação foi drenado previamente à alimentação, priorizando-se o crescimento microbiano aderido. Contudo, o aumento da COVa para 20 kgDQO m⁻³ d⁻¹, a partir do 54º dia de operação, ocasionou um comportamento distinto nos reatores. No ASTBR, embora um ligeiro distúrbio tenha sido observado concomitantemente ao aumento de carga, marcado por uma redução pontual na alcalinidade parcial e aumento na razão AI/AP (Figuras 34b-c), o sistema apresentou rápida recuperação, atingindo a estabilidade operacional e mantendo valores para a razão AI/AP

próximos a 0,3 (Figura 34c), considerado aproximadamente ideal para sistemas metanogênicos de alta taxa (Ripley et al., 1986).

Figura 34. Monitoramento da fase líquida dos reatores metanogênicos (ASTBR e UASB): (a) pH afluente e efluente, (b) alcalinidade parcial (AP) e (c) razão alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial (AI/AP). Legenda: ASTBR (-■-), UASB (-□-), afluente^a (-◇-), [HCO₃⁻] no afluente^a (----). Nota: ^aVinhaça acidificada.

No caso do reator UASB, o aumento de carga levou à desestabilização do sistema, claramente observada entre os 60° e 100° dias de operação (Figura 34c). Neste período, a razão AI/AP atingiu um pico de 1,05, indicando o acúmulo de ácidos no reator, acompanhado de uma queda na alcalinidade parcial – valores próximos a 4.000 mgCaCO₃ L⁻¹ (Figura 34b). Prejuízos quanto à remoção de matéria orgânica também foram observados no UASB (Figura

35), entretanto, a perda de desempenho pelo sistema apresentou-se de maneira mais branda – comparando-se o comportamento dos perfis de remoção de DQO com os de alcalinidade. Alterações pouco perceptíveis também foram observadas com relação ao pH no efluente do UASB (Figura 34a), bem como quanto à composição do biogás em termos da concentração de CO_2 . Segundo Ripley et al. (1986), comumente as principais evidências de desestabilização de sistemas metanogênicos compreendem a súbita redução do pH e o aumento expressivo no conteúdo de CO_2 no biogás. Contudo, o pH pouco se altera até que o excesso de ácidos orgânicos consuma toda a alcalinidade presente no meio reacional (Dilallo e Albertson, 1961), a partir do momento em que os íons H^+ se acumulam no meio, levando à redução do pH e a provável falência do sistema metanogênico.

Figura 35. Monitoramento da fase líquida do reator UASB: variação temporal da (a) DQOt afluyente (—●—), DQOt efluente (---○---) e eficiência de remoção de DQOt (ER_{DQOt} , -x-) e da (b) DQOs afluyente (—●—), DQOs efluente (---○---) e eficiência de remoção de DQOs (ER_{DQOs} , -x-).

Acredita-se que as limitações do reator UASB quanto ao aumento de carga se devam à conformação da biomassa utilizada na inoculação do reator, caracterizada por um aspecto pastoso, e não granular (Figura 37a). A ausência de grânulos no inóculo utilizado, proveniente de um reator UASB aplicado no tratamento termofílico (55°C) de vinhaça de cana-de-açúcar

em escala plena, provavelmente decorre das características composicionais da própria vinhaça, especialmente quanto à concentração de sólidos. Embora a literatura descreva a formação de grânulos em reatores de manta de lodo aplicados no tratamento de águas residuárias ricas em carboidratos solúveis, tais como a vinhaça, mesmo para condições termofílicas, (Wiegant e Lettinga, 1985; Jhung e Choi, 1995; Schmidt e Ahring, 1995; Uemura e Harada, 1995), a presença de elevadas concentrações de sólidos prejudica tal processo (van Lier et al., 2015), limitando o contato entre os micro-organismos.

Figura 36. Monitoramento da fase líquida do ASTBR: variação temporal da (a) DQOt afluyente (-●-), DQOt efluente (-○-) e eficiência de remoção de DQOt (ER_{DQOt} , -x-) e da (b) DQOs afluyente (-●-), DQOs efluente (-○-) e eficiência de remoção de DQOs (ER_{DQOs} , -x-).

O inóculo utilizado no presente trabalho também apresentou elevadas concentrações de sólidos inertes (Figura 37b) – aproximadamente 45% da massa de sólidos totais, característica que também limita a granulação em reatores de manta de lodo. Syutsubo et al. (1998) relataram um período de aproximadamente 200 dias para que toda a manta de lodo fosse ocupada com grânulos em um reator UASB termofílico (55°C) aplicado no tratamento de água residuária sintética a base de sacarose e ácidos orgânicos. Os autores atribuíram o retardamento do processo de granulação à presença de sólidos inertes no inóculo utilizado,

proveniente de um digestor termofílico aplicado no tratamento de esgoto sanitário. Em estudo prévio, Wiegant et al. (1985) observaram a deterioração de grânulos anaeróbios cultivados em meio a base de sacarose quando submetidos ao contato contínuo com vinhaça de beterraba em um reator UASB termofílico (55°C). Neste caso, o diâmetro dos grânulos foi reduzido de 1-3 mm para 0,5 mm. Independentemente dos fatores que possivelmente influenciaram a conformação do inóculo utilizado, o acúmulo da biomassa não granular e principalmente de sólidos inertes na porção de entrada do reator UASB estudado atuou como uma barreira ao escoamento, possivelmente levando a sobrecargas localizadas e ao consequente aumento na concentração de ácidos no reator, conforme posteriormente discutido.

Figura 37. Lodo termofílico utilizado na inoculação dos reatores metanogênicos: (a) amostra úmida e (b) amostra calcinada.

A estratégia operacional adotada, buscando-se propiciar a estabilização do UASB compreendeu a interrupção da alimentação do mesmo com vinhaça imediatamente após o aumento brusco da razão AI/AP (~80° dia de operação, Figura 34c). Neste momento, o reator foi alimentado diretamente com água de torneira, com o objetivo de se remover o excesso de ácidos presentes no meio reacional. Esta estratégia foi mantida por um período de aproximadamente três vezes o TDH do reator, correspondente a aproximadamente 27 h, propiciando uma redução na razão AI/AP de 1,05 para 0,6 (Figura 34c). Como resultado, no reinício da operação com uma COV_a de 20 kgDQO m⁻³ d⁻¹ o sistema apresentou progressiva recuperação, evidenciada por uma nova queda na razão AI/AP (Figura 34c) até o 110° dia de operação, quando o referido parâmetro se estabilizou próximo à faixa 0,2-0,4. Neste período também foi possível observar a recuperação do sistema quanto à remoção de DQO, em termos da concentração total e da fração solúvel, muito embora o patamar atingido pelo UASB (60-65%) tenha se apresentado inferior ao atingido pelo ASTBR (~70%), conforme observado na comparação entre as Figuras 35 e 36.

A imposição de um novo incremento de carga ($25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) aos reatores metanogênicos (129º dia de operação) não implicou em alterações expressivas quanto a estabilidade do meio reacional, conforme observado na Figura 34c. Embora tenha sido observado um pequeno aumento na razão AI/AP para o reator UASB (pico de 0,41), o sistema se estabilizou novamente em valores próximos a 0,3. No caso do ASTBR, não foi observada aparente instabilidade operacional devido ao aumento da COVa. Observa-se, entretanto, para os dois reatores uma ligeira queda de desempenho quanto à remoção de matéria orgânica (Figuras 35 e 36), bem como uma redução na alcalinidade parcial (Figura 34b), por volta do 170º dia de operação. No caso do UASB, nota-se inclusive um novo aumento da razão AI/AP. Acredita-se que este comportamento esteja associado à redução da quantidade de bicarbonato de sódio adicionada à vinhaça acidificada (de 6,25 para 3,0 g L^{-1} , Figura 34b), como uma tentativa de se reduzir o pH efluente aos reatores.

Embora os valores médios observados para o pH em ambos os reatores tenham compreendido aproximadamente 8,3, considerando dados de todo o período operacional, a partir da Figura 34a notam-se valores-pico superiores a 9,0, em especial para o UASB. Teoricamente, efeitos inibitórios à atividade metanogênica tendem a ser observados para valores de pH superiores a 8,3-8,5 (Angelidaki e Sanders, 2004), sendo que a literatura aponta valores na faixa de 6,8 a 7,2 como ótimos à metanogênese (Speece, 1981; Souza, 1984). Contudo, em estudos prévios a partir da vinhaça de cana-de-açúcar, Döll e Foresti (2010) e Ferraz Jr. et al. (2016) também associaram operações estáveis de reatores termofílicos (55°C) a valores de pH efluente variando na faixa de 8,2 a 8,5.

O novo incremento na quantidade de bicarbonato fornecida na corrente afluenta aos reatores para 6,25 g L^{-1} (190º dia de operação, Figura 34b) possibilitou a recuperação dos sistemas com relação à remoção de matéria orgânica (Figuras 35 e 36), mantendo-se, entretanto, a discrepância entre a capacidade dos reatores: UASB $\sim 60\%$ e ASTBR $> 75\%$, em termos de DQO solúvel. Novamente, o sistema com células imobilizadas apresentou melhor capacidade de recuperação quando comparado ao reator de manta de lodo. Ainda com relação ao pH, as variações observadas ao longo da operação podem ser associadas à variação do pH do efluente do reator acidogênico, uma vez que o mesmo comportamento pode ser observado tanto para o UASB quanto para o ASTBR.

Neste ponto, é pertinente apresentar algumas considerações sobre o emprego de NaHCO_3 nos sistemas anaeróbios aplicados no tratamento da vinhaça. Nos trabalhos de Döll e Foresti (2010) e Ferraz Jr. et al. (2016) o suprimento de NaHCO_3 mostrou-se essencial para estabilização dos sistemas, uma vez que as características composicionais da vinhaça, i.e., concentrações apreciáveis de carboidratos, favorecem sua rápida acidificação (Boncz et al.,

2012). Particularmente no caso de Ferraz Jr. et al. (2016), a partida dos reatores metanogênicos (fase única e sistema combinado) se deu sem o uso de NaHCO_3 , de modo que os sistemas mostraram grande instabilidade operacional (remoções de DQO inferiores a 50%, AP inferior a $2.000 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$). Tais resultados decorreram da COVa relativamente elevada utilizada na partida dos reatores ($15 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), de modo que a obtenção de processos estáveis nessas condições, i.e., sem ajuste de pH, seria possível eventualmente a partir da aplicação de menores cargas orgânicas (Boncz et al., 2012). Tendo em vista a reprodutibilidade das condições operacionais do trabalho de Ferraz Jr. et al. (2016) neste estudo, optou-se pela aplicação de NaHCO_3 já na partida dos reatores, procurando-se evitar o colapso destes.

Tabela 20. Características do ajuste de pH e/ou alcalinização de vinhaças de cana-de-açúcar em sistemas anaeróbios.

Referência	Características do processo	Ajuste de pH e/ou alcalinização
Este trabalho	Reator = UASB ^a ; ASTBR ^a	Químico = NaHCO_3
	DQO = $22,3 \text{ g L}^{-1}$ (vinhaça acidificada)	Dosagem = $6,25 \text{ g L}^{-1}$
	COVa = $15\text{-}30 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$\text{NaHCO}_3/\text{DQO} = 0,28 \text{ gNaHCO}_3 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$
	T = 55°C	
Souza et al. (1992)	Reator = UASB ^b	Químico = NaOH
	DQO = $31,5 \text{ g L}^{-1}$ (vinhaça bruta)	Dosagem = $12,6 \text{ mg L}^{-1}$
	COVa = $15\text{-}30 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$\text{NaOH}/\text{DQO} = 4 \text{ gNaOH kg}^{-1}\text{DQO}$
	T = $55\text{-}57^\circ\text{C}$	
Goyal et al. (1996)	Reator = APBR ^a	Químico = CaCO_3 (solução 10%)
	DQO = $65,2\text{-}85,1 \text{ g L}^{-1}$ (vinhaça acidificada)	Dosagem = nd
	COVa = $2,75\text{-}21,29 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$\text{CaCO}_3/\text{DQO} = \text{nd}$
	T = $26\text{-}35^\circ\text{C}$	
Harada et al. (1996)	Reator = UASB ^b	Químico = NaHCO_3
	DQO = 10 g L^{-1} (vinhaça bruta diluída)	Dosagem = 5 g L^{-1}
	COVa = $2,38\text{-}23,5 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$\text{NaHCO}_3/\text{DQO} = 0,5 \text{ gNaHCO}_3 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$
	T = 55°C	
Cabello et al. (2009)	Reator = AFBR ^b	Químico = NaOH (solução 50%)
	DQO = $10,4\text{-}22,5 \text{ g L}^{-1}$ (vinhaça bruta diluída)	Dosagem = nd
	COVa = $10,4\text{-}22,5 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	$\text{NaOH}/\text{DQO} = \text{nd}$
	T = 35°C	

Tabela 20. Características do ajuste de pH e/ou alcalinização de vinhaças de cana-de-açúcar em sistemas anaeróbios (cont.).

Referência	Características do processo	Ajuste de pH e/ou alcalinização
Döll e Foresti (2010)	Reator = ASBR ^b DQO = 0,3-1,0 g L ⁻¹ (vinhaça bruta diluída) COVa = 0,85-5,7 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ T = 55°C	Químico = NaHCO ₃ NaHCO₃/DQO = 1,2-0,4 gNaHCO₃ g⁻¹DQO
Boncz et al. (2012)	Reator = UASB ^b DQO = 8 g L ⁻¹ (vinhaça bruta diluída) COVa = 4 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ T = 37°C	Químico = NaHCO ₃ NaHCO₃/DQO = 0,8-0,15 gNaHCO₃ g⁻¹DQO
Siqueira et al. (2013)	Reator = AFBR ^b DQO = 2,3-20,1 g L ⁻¹ (vinhaça bruta diluída) COVa = 3,33-26,19 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ T = 30°C	Químico = NaHCO ₃ NaHCO₃/DQO = 1,0 gNaHCO₃ g⁻¹DQO
Ferraz Jr. et al. (2016)	Reator = UASB ^b DQO = 35,2 g L ⁻¹ (vinhaça bruta) COVa = 15-25 kgDQO m ⁻³ d ⁻¹ T = 55°C	Químico = NaHCO ₃ Dosagem = 12,5 g L ⁻¹ NaHCO₃/DQO = 0,36 gNaHCO₃ g⁻¹DQO

Notas: ^aFase metanogênica de sistema combinado; ^bSistema único.

Siglas - Características do processo: DQO = demanda química de oxigênio, COVa = carga orgânica volumétrica aplicada, T = temperatura; Reator: AFBR = *anaerobic fluidized-bed reactor*, APBR = *anaerobic packed-bed reactor*, ASBR = *anaerobic sequencing batch reactor*, ASTBR = *anaerobic structured-bed reactor*, UASB = *upflow anaerobic sludge blanket reactor*.

Embora a razão $\text{HCO}_3^-/\text{DQO}$ utilizada neste trabalho seja a menor (0,28) em comparação a outros sistemas termofílicos reportados na literatura (Tabela 20), consideráveis limitações econômicas poderiam ser observadas a partir da ampliação da escala do sistema, conforme apresentado a partir do item 5.3.2, p. 264. Desta forma, uma série de alternativas tecnológicas poderia ser considerada, incluindo: [i] emprego de alcalinizantes alternativos e/ou compostos básicos (van Haandel, 2005; Boncz et al., 2012); [ii] adaptação do inóculo para menores valores de pH; [iii] produção *in loco* de NaHCO₃, utilizando-se CO₂ proveniente das correntes de biogás e/ou do processo de fermentação do etanol; [iv] aplicação de menores condições de COVa, i.e., maiores TDHs; [v] controle automático do pH (Boncz et al., 2012), buscando-se otimizar o consumo de alcalinizantes; [vi] recirculação do efluente, tendo em vista o fornecimento da alcalinidade naturalmente gerada durante a etapa

metanogênica (Nandy et al., 2002; van Haandel, 2005; Boncz et al., 2012; Barrera et al., 2016), dentre outras opções.

Em termos do uso de alcalinizantes alternativos, van Haandel (2005) e Boncz et al. (2012) discutem o emprego de ureia em substituição ao NaHCO_3 , alternativa que pode ser atrativa ao se considerar o emprego da vinhaça biodigerida na fertirrigação. A decomposição da ureia leva à formação de amônia, propiciando maiores teores de nitrogênio prontamente disponível à cana-de-açúcar na própria vinhaça e, consequentemente, reduzindo custos com fertilizantes minerais. Em contrapartida, a presença de amônia no meio, especialmente a forma não ionizada (NH_3), pode gerar efeitos tóxicos sobre a biomassa metanogênica (Garcia e Angenent, 2009), limitando as potencialidades da biodigestão para recuperação de bioenergia.

A aplicação de menores cargas orgânicas em maiores TDHs também tende a trazer limitações econômicas no escalonamento dos sistemas, considerando a necessidade de elevados volumes reacionais. Para fins de estudos futuros, a adaptação do inóculo a menores concentrações de NaHCO_3 e a aplicação da recirculação do efluente tratado caracterizam-se como opções atrativas. A adaptação do inóculo poderia ser conduzida durante a própria partida do reator, com a contínua e gradual⁶¹ redução da dosagem (idealmente até zero) até a estabilização da remoção de matéria orgânica. A eventual recirculação do efluente tratado poderia disponibilizar alcalinidade em concentrações crescentes, baseando-se no contínuo incremento da atividade metanogênica.

O emprego de compostos básicos para garantir níveis adequados de pH na vinhaça afluyente também pode ser uma opção atrativa em grandes escalas, mais uma vez considerando a capacidade dos sistemas anaeróbios para geração de alcalinidade. O trabalho de Souza et al. (1992) pode ser usado como referência neste caso, baseando-se na obtenção de desempenho satisfatório ($\text{ER}_{\text{DQO}} > 70\%$) a partir da aplicação de condições de COVa compatíveis às usadas neste trabalho, utilizando-se, para tanto, pequenas dosagens de NaOH ($12,6 \text{ mg L}^{-1} \text{ vinhaça}$ ou $4 \text{ gNaOH kg}^{-1} \text{DQO}$, Tabela 20).

Retomando a discussão sobre o desempenho dos reatores, outro aspecto relevante a ser abordado compreende a capacidade de retenção de sólidos nos sistemas. Na Figura 38 são apresentados os perfis temporais da concentração de SSV ao longo da operação, tanto para o

⁶¹Embora neste estudo tenha-se procurado reduzir a concentração de NaHCO_3 na vinhaça acidificada (Figura 34b), o procedimento utilizado baseou-se em reduções relativamente abruptas da dosagem. Considerando que a biomassa metanogênica já estava adaptada a elevadas concentrações de NaHCO_3 nos dois reatores (123 dias de operação), a abrupta redução na dosagem, associada à aplicação de elevada COVa ($\geq 20 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), provocou perturbações nos reatores, observando-se, entretanto, níveis ainda relativamente satisfatórios de remoção de DQO no ASTBR (valores próximos a 65%, Figura 36). Tal característica sugere que a adaptação gradual da biomassa a menores dosagens de NaHCO_3 ainda na partida, i.e., incremento gradual da COVa, tende a deixar o sistema mais robusto e menos dependente do alcalinizante.

afluente (vinhaça acidificada) como para o efluente aos reatores metanogênicos. Inicialmente destacam-se as elevadas concentrações de SSV no efluente de ambos os reatores na primeira fase da operação – até o 50º dia de operação, correspondendo aproximadamente ao período de partida – indicando a eliminação do excesso de sólidos inseridos durante a inoculação. Em termos da eliminação/retenção de sólidos, os sistemas apresentaram desempenho semelhante – valores médios de 1.544 e 1.532 mg L⁻¹, respectivamente para o ASTBR e o UASB, considerando dados de todo o período operacional. Baseando-se na concepção dos reatores utilizados, esperava-se uma maior retenção de sólidos no reator UASB, tendo em vista a função do separador trifásico. Entretanto, o aspecto não granular do lodo utilizado prejudicou seu potencial de sedimentação, favorecendo a eliminação de SSV em concentrações equivalentes às medidas no efluente do reator de leito fixo estruturado.

Figura 38. Perfis temporais obtidos ao longo da operação dos reatores metanogênicos para a concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) afluente e efluente aos sistemas. Legenda: ASTBR (-■-), UASB (-□-), afluente (-◇-).

Ainda com relação à dinâmica de sólidos nos reatores, retomando a discussão a respeito da perda de eficiência dos sistemas por volta do 190º-200º dia de operação (Figuras 35 e 36), destaca-se a provável influência do aumento da concentração de SSV na corrente afluente aos reatores. Conforme observado na Figura 38, a partir do 150º dia de operação as concentrações de SSV apresentaram valores crescentes, atingindo patamares próximos a 2.000 mg L⁻¹. O excesso de sólidos associado ao TDH relativamente curto para o efluente em questão pode limitar a etapa de hidrólise no processo de digestão anaeróbia, resultando em

perdas na eficiência de conversão da matéria orgânica, bem como na deterioração da qualidade do efluente dos reatores.

Baseando-se na resposta dos reatores aos sucessivos aumentos de carga, aplicou-se um novo incremento na COVa afluyente ao ASTBR – de 25 para 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹, procurando-se identificar o limite operacional do sistema. Restringiu-se este aumento de carga ao reator de leito fixo estruturado devido à maior estabilidade e melhor desempenho observados neste ao longo da operação da fase metanogênica, ficando o desempenho do UASB prejudicado provavelmente pelas limitações decorrentes do aspecto não granular e do elevado teor de sólidos inertes no lodo utilizado como inóculo. Conforme observado na Figura 34b, a relação AI/AP manteve valores próximos a 0,3 durante a aplicação da COVa de 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹ no ASTBR, corroborando a estabilidade operacional deste sistema.

Em termos da remoção de matéria orgânica (Figura 36), os patamares atingidos nesta condição, embora elevados, apresentaram-se ligeiramente inferiores aos observados para a COVa de 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹. De fato, conforme apresentado na Tabela 21, as eficiências de remoção de DQOt e DQOs no ASTBR para a COVa de 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹ chegaram respectivamente a 73,2 e 73,0%, enquanto que para a COVa de 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹ os valores observados compreenderam 73,9% (DQOt) e 76,4% (DQOs). Este comportamento permite inferir sobre o estabelecimento do limite operacional ASTBR para a condição de temperatura utilizada, tendo em vista a operação do sistema em condições de carga orgânica próximas à ideal (Figura 39).

A partir dos valores médios de eficiência de remoção de matéria orgânica obtidos para cada carga orgânica aplicada no ASTBR (Tabela 21), foi possível estimar uma COVa ótima de aproximadamente 26-28 kgDQO m⁻³ d⁻¹. As Equações (14) e (15) representam os modelos matemáticos ajustados respectivamente para os pares ER_{DQOt} vs. COVa e ER_{DQOs} vs. COVa (Figura 39). Análise semelhante foi aplicada aos dados de produção de metano nas diferentes etapas da operação, buscando-se avaliar a correlação da PVM e MY (valores médios, Tabela 21) com a COVa. Os ajustes obtidos são apresentados nas Equações (16) – PVM vs. COVa – e (17) – MY vs. COVa, sendo o valor ótimo estimado em 24-26 kgDQO m⁻³ d⁻¹, semelhante ao obtido nas correlações com a remoção de DQO. Discussões específicas sobre o desempenho dos reatores quanto à produção de metano são apresentadas na sequência do texto.

$$ER_{DQOt} = -0,1138 \cdot (COVa)^2 + 6,3709 \cdot (COVa) - 15,17 \quad (Eq. 14)$$

$$(R^2 = 0,9906)$$

$$COVa(ótima) = 27,99 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1} \text{ (Figura 39a)}$$

Figura 39. Eficiência de remoção de DQO (a) total (ER_{DQOt}) e (b) solúvel (ER_{DQOs}), (c) produção volumétrica de metano (PVM) e (d) rendimento de metano (MY) em função da carga orgânica volumétrica aplicada (COVa) no ASTBR. Legenda: Pontos experimentais ($\circ$), polinômios de segundo grau ajustado aos pontos experimentais (—).

$$ER_{DQOs} = -0,1232 \cdot (COVa)^2 + 6,3018 \cdot (COVa) - 4,9282 \quad (\text{Eq. 15})$$

$$(R^2 = 0,9888)$$

$$COVa(\text{ótima}) = 25,57 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1} \text{ (Figura 39b)}$$

$$PVM = -23,9 \cdot (COVa)^2 + 1258,1 \cdot (COVa) - 11956 \quad (\text{Eq. 16})$$

$$(R^2 = 0,9988)$$

$$COVa(\text{ótima}) = 26,32 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1} \text{ (Figura 39c)}$$

$$MY = -0,6 \cdot (COVa)^2 + 29,48 \cdot (COVa) - 56,8 \quad (\text{Eq. 17})$$

$$(R^2 = 0,9770)$$

$$COVa(\text{ótima}) = 24,57 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1} \text{ (Figura 39c)}$$

Tabela 21. Desempenho dos reatores metanogênicos em termos da estabilidade operacional, produção de biogás e metano, e remoção de matéria orgânica.

Reator		UASB			ASTBR			
COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)		15	20	25	15	20	25	30
Variável-resposta	Unidade							
ER _{DQOt}	(%)	54,8 ± 3,7 (22) 58,0	54,9 ± 3,4 (27) 59,6	62,9 ± 3,7 (28) 70,2	55,1 ± 4,8 (23) 62,4	65,7 ± 3,8 (28) 71,7	73,9 ± 4,9 (29) 83,5	73,2 ± 3,6 (17) 76,2
ER _{DQOs}	(%)	58,1 ± 5,1 (22) 64,6	58,9 ± 4,3 (27) 66,6	63,0 ± 3,3 (28) 69,1	62,1 ± 4,5 (23) 68,7	71,1 ± 3,1 (28) 78,0	76,4 ± 3,3 (29) 80,7	73,0 ± 5,0 (17) 77,8
SSVe	(mg L ⁻¹)	2.620 ± 1.058 (12) 3.940	1.230 ± 476 (17) 2.200	1.170 ± 374 (20) 2.010	2.665 ± 1.126 (10) 5.640	1.180 ± 356 (12) 1.770	1.160 ± 603 (18) 3.160	1.295 ± 244 (21) 1.670
VBG	(mL d ⁻¹)	6.860 ± 2.842 (30) 10.415	7.770 ± 2.156 (49) 14.915	14.550 ± 2.106 (49) 19.915	6.765 ± 3.524 (35) 11.675	16.660 ± 2.339 (49) 21.475	19.650 ± 1.594 (45) 22.310	18.440 ± 1.860 (19) 23.680
PVM ^a	(mLCH ₄ L ⁻¹ d ⁻¹)	1.040 ± 468 (24) 1.700	1.165 ± 388 (45) 2.505	2.280 ± 357 (21) 2.880	1.520 ± 858 (26) 2.710	3.700 ± 438 (49) 4.410	4.505 ± 455 (32) 5.785	4.295 ± 534 (13) 5.650
VMM	(mmolCH ₄ h ⁻¹)	8,19 ± 3,86 (24) 13,48	10,18 ± 3,59 (45) 22,83	20,85 ± 3,36 (21) 27,39	8,96 ± 5,05 (26) 15,58	24,28 ± 4,00 (49) 30,85	30,26 ± 2,65 (32) 34,41	26,43 ± 3,61 (13) 35,31
MY ^a	(mLCH ₄ g ⁻¹ DQOr) ^{b,c}	232 ± 53 (22) 334	169 ± 72 (27) 300	283 ± 24 (28) 313	249 ± 93 (23) 315	297 ± 17 (28) 328	301 ± 12 (29) 319	289 ± 32 (17) 329

Tabela 21. Desempenho dos reatores metanogênicos em termos da estabilidade operacional, produção de biogás e metano, e remoção de matéria orgânica (cont.).

Reator		UASB			ASTBR			
COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)		15	20	25	15	20	25	30
Variável-resposta	Unidade							
CH ₄ (biogás)	(%)	60,3 ± 11,3 (24) 70,0	63,8 ± 6,5 (45) 77,8	66,9 ± 2,1 (28) 70,7	57,0 ± 17,6 (26) 73,1	67,6 ± 3,2 (49) 73,4	68,9 ± 3,2 (32) 80,3	71,0 ± 1,9 (17) 73,8
AP	(mgCaCO ₃ L ⁻¹)	5.265 ± 423 (16) 5980	4.695 ± 554 (20) 5550	4.320 ± 633 (20) 5260	4.970 ± 1.007 (17) 6225	5.770 ± 693 (21) 6735	4.795 ± 506 (21) 5695	5.535 ± 213 (12) 5880
Razão AI/AP	(-)	0,53 ± 0,10 (16) 0,75	0,49 ± 0,21 (20) 1,05	0,36 ± 0,08 (20) 0,52	0,66 ± 0,19 (17) 0,98	0,26 ± 0,10 (21) 0,54	0,26 ± 0,06 (21) 0,34	0,21 ± 0,04 (12) 0,28
pH	(-)	7,9 ± 0,3 (29) 8,5	8,5 ± 0,3 (30) 9,2	8,5 ± 0,4 (33) 9,2	7,8 ± 0,3 (33) 8,3	8,6 ± 0,2 (31) 9,1	8,5 ± 0,2 (35) 8,8	8,5 ± 0,2 (18) 8,8

Notas: ^aCondições normais de temperatura e pressão (CNTPs - 0°C, 1 atm); ^bDQOr = DQO removida; ^cCalculado em termos da remoção de DQO solúvel. Valores entre parênteses correspondem ao número de amostragens. Valores em **negrito** correspondem aos máximos observados para cada condição de carga.

Siglas – Variáveis-resposta: ER_{DQOt} = eficiência de remoção de DQO total, ER_{DQOs} = eficiência de remoção de DQO solúvel, SSVe = concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente, VBG = vazão de biogás, PVM = produção volumétrica de metano, VMM = vazão molar de metano, MY = rendimento de metano, CH₄ (biogás) = proporção de metano no biogás, AP = alcalinidade parcial, Razão AI/AP = razão alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial, pH = pH medido na vinhaça metanizada.

Com relação à produção de metano, os resultados obtidos corroboram o comportamento previamente discutido, também indicando um melhor desempenho do sistema com células imobilizadas (Tabela 21). Comparando-se inicialmente as características da composição do biogás, observa-se um comportamento instável do reator UASB em relação ao ASTBR (Figura 40), em especial após o aumento da COVa de 15 para 20 kgDQO m⁻³ d⁻¹ (Figura 40a, ~60° dia de operação). No caso do ASTBR, um pequeno incremento na proporção de CO₂ também foi observado no período em questão (Figura 40b), contudo, o sistema se recuperou rapidamente. Situação semelhante foi observada a partir da redução da quantidade de bicarbonato fornecida aos reatores (~180° dia), porém a proporção de metano apresentou novo incremento a partir do reajuste da alcalinidade parcial, levando a um pico de 80,3% no ASTBR (Figura 40b e Tabela 21). O ajuste da vinhaça afluenta ao reator em termos de alcalinidade a bicarbonato mostrou-se uma estratégia efetiva para eliminar as limitações associadas ao relativo baixo TDH imposto aos reatores⁶², uma vez que neste estudo a biomassa metanogênica foi aclimatada a elevadas dosagens de NaHCO₃ desde a partida dos sistemas.

Os valores médios referentes à composição do biogás obtidos para os dois reatores metanogênicos apresentam magnitude semelhante (Tabela 21), embora para as cargas de 20 e 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹, melhores condições tenham sido observadas para o ASTBR – 67,6 e 68,9%, respectivamente. A aplicação da COVa de 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹ levou a um sensível aumento na proporção de metano no biogás coletado no ASTBR, a qual chegou a 71,0% (Tabela 21), em termos de valores médios. Apenas para a COVa inicial (15 kgDQO m⁻³ d⁻¹) o UASB apresentou melhor desempenho em termos qualitativos da produção de biogás (60,3% vs. 57,0% de metano, Tabela 21), estando este comportamento provavelmente associado à melhor partida observada no reator de manta de lodo. De qualquer forma, este comportamento corrobora a importância de não se considerar isoladamente o aumento da proporção de CO₂ como parâmetro para identificação de instabilidades na operação de sistemas anaeróbios, tendo em vista que o mesmo torna-se aparente apenas quando o acúmulo de ácidos já predomina no sistema (Dilallo e Albertson, 1961) – Reação (24).

Em termos quantitativos, com exceção da primeira fase de operação (COVa = 15 kgDQO m⁻³ d⁻¹), uma maior discrepância foi observada com relação ao desempenho dos

⁶²Para uma dada concentração inicial de matéria orgânica, observa-se o aumento da AP com o aumento do TDH, tendo em vista uma conversão mais eficiente de substrato a HCO₃⁻ (Ripley et al., 1986).

sistemas metanogênicos, a qual pode ser atribuída à desestabilização do UASB após o aumento da COVa de 15 para 20 kgDQO m⁻³ d⁻¹. Na Figura 41 são apresentados os perfis temporais referentes à VBG, PVM, VMM e MY obtidos ao longo da operação dos dois reatores. Os valores médios e máximos referentes a cada variável-resposta também são agrupados na Tabela 21. Embora o reator UASB tenha recuperado o desempenho com relação à remoção de matéria orgânica, conforme previamente discutido, o patamar atingido pelos parâmetros associados tanto à produção de biogás como de metano apresentou-se consideravelmente inferior ao observado para o ASTBR.

Figura 40. Variação temporal da composição do biogás nos reatores: (a) UASB e (b) ASTBR. Legenda: metano (-●-), gás carbônico (-○-).

Considerando os dados referentes à COVa de 20 kgDQO m⁻³ d⁻¹, os valores médios (Tabela 21) obtidos para a VBG, PVM e VMM foram, respectivamente, 55, 70 e 60% inferiores no reator UASB. Para a COVa de 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹, tais valores chegaram a 25, 50 e 30%, ainda consideravelmente inferiores aos obtidos para o ASTBR. As limitações com

relação à produção de biogás no reator UASB também podem estar associadas ao aspecto pastoso e ao excesso de sólidos inertes presentes na biomassa utilizada na inoculação do reator, tendo a manta de lodo atuado como uma barreira à liberação das bolhas. Tal fato foi agravado pela baixa velocidade ascensional aplicada no reator, de modo que a baixa turbulência no meio também limitou o desprendimento do biogás.

No caso do ASTBR, considerando a aplicação da COVa de $30 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, as produções de biogás (VBG) e de metano (PVM, VMM e MY) mostraram-se ligeiramente inferiores aos valores verificados para a COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Tabela 21), corroborando a constatação da operação do sistema em condições de carga orgânica aquém, embora próximas, das ideais. Conforme apresentado anteriormente (Figura 39), a correlação entre os valores médios de PVM (Tabela 21) e a COVa indicaram um valor de $\sim 26 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ para a carga orgânica ótima, similar à estimada a partir das correlações com a eficiência de remoção de DQO.

Com relação aos dados de rendimento de metano, e focando a análise no reator de leito fixo estruturado, os valores obtidos experimentalmente ($249\text{-}301 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$, Tabela 21), independentemente da COVa, mostraram-se superiores aos comumente relatados na literatura, considerando a aplicação da digestão anaeróbia no tratamento de vinhaça bruta: $190\text{-}240 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$ (Sánchez Riera et al., 1985 – vinhaça de melaço, operação a 40°C); $210\text{-}290 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$ (Bories et al., 1988 – vinhaça de melaço, operação a 37°C); $170 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$ (Shrihari e Tare, 1989 – vinhaça de melaço, operação a 35°C); $222 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$ (Souza et al., 1992 – vinhaça de mosto misto, operação a 55°C) e $179\text{-}234 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$ (Ferraz Jr. et al., 2016 – vinhaça de mosto misto, operação a 55°C).

Os resultados obtidos neste trabalho, ainda em termos do MY, são compatíveis aos obtidos em Ferraz Jr. et al. (2016), autores que também reportaram um rendimento de metano médio de $306 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}$ para uma COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ na fase metanogênica de um sistema combinado empregado no tratamento termofílico (55°C) de vinhaça. Tais resultados corroboram o fato de que a aplicação de sistemas anaeróbios combinados do tipo acidogênico-metanogênico no tratamento de efluentes propicia melhores condições para extração de energia destes, conforme discutido na revisão de literatura. Ressalta-se que o desempenho global do sistema combinado, em termos da remoção de matéria orgânica e da produção de metano, será abordado de maneira mais criteriosa no próximo item (5.2.1, p. 220). Particularmente, o potencial energético associado à biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar será apresentado em detalhes a partir do item 5.3.1, p. 251, tendo em vista diferentes cenários para o aproveitamento das correntes de biogás.

Figura 41. Produção de biogás e metano na fase metanogênica (ASTBR e UASB): (a) vazão de biogás (VBG), (b) produção volumétrica de metano (PVM), (c) vazão molar de metano (VMM) e (d) rendimento de metano (MY). Legenda: ASTBR (-■-), UASB (-□-).

5.2.1 Desempenho Global dos Sistemas Combinados: Remoção de Matéria Orgânica e Produção de Metano

A comparação dos resultados obtidos neste trabalho, tanto em termos de remoção de matéria orgânica como quanto à recuperação de energia, com os obtidos em sistemas convencionais, precisa levar em consideração a operação sequencial dos reatores. Desta forma, pode-se definir um TDH único para o sistema de tratamento, bem como é possível calcular a eficiência de remoção global de matéria orgânica neste. Considerando a remoção global de matéria orgânica – DQOt e DQOs, na Tabela 22 são apresentados os valores obtidos ao longo da operação do sistema combinado. Novamente os dados foram agrupados de acordo com a carga orgânica aplicada nos reatores metanogênicos, tendo em vista que as condições operacionais impostas a estes governaram a remoção de matéria orgânica no sistema. Ressalta-se, ainda, que no cálculo da eficiência global de remoção de DQOt e DQOs foram utilizados valores médios da DQO afluente medida em cada coleta de vinhaça (Tabela 6, p. 101), uma vez que previamente à alimentação dos reatores metanogênicos a vinhaça acidificada era armazenada. Portanto, para fins de cálculo, a DQOt e a DQOs na vinhaça bruta, i.e., afluente ao reator acidogênico, compreenderam $28,3 \pm 4,6$ e $23,4 \pm 3,3$ g L⁻¹, respectivamente.

Tabela 22. Eficiência de remoção global de DQO nos sistemas anaeróbios combinados

Reator	APBR + UASB			APBR + ASTBR			
COVa	15	20	25	15	20	25	30
(kg DQO m ⁻³ d ⁻¹)							
ERG _{DQOt} (%)	58,0 ± 3,5	63,8 ± 8,6	75,5 ± 4,1	63,2 ± 2,5	72,1 ± 6,8	82,6 ± 4,9	81,7 ± 4,3
	(22)	(27)	(28)	(23)	(28)	(29)	(17)
	62,0	73,1	82,3	68,6	80,6	89,3	84,6
ERG _{DQOs} (%)	61,8 ± 4,2	68,6 ± 6,9	75,8 ± 4,2	68,8 ± 3,1	77,2 ± 4,8	84,2 ± 4,0	82,2 ± 5,1
	(22)	(27)	(28)	(23)	(28)	(29)	(17)
	66,4	75,2	84,3	73,0	84,4	88,7	86,0

Notas: Valores entre parênteses correspondem ao número de amostragens. Valores em **negrito** correspondem aos máximos observados para cada condição de carga.

Variáveis-resposta: ERG_{DQOt} = eficiência de remoção global de DQO total; ERG_{DQOs} = eficiência de remoção global de DQO solúvel.

A partir da Tabela 22 nota-se que o sistema APBR+ASTBR apresentou desempenho consideravelmente superior quando comparado ao APBR+UASB, conforme esperado. Na

aplicação da COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ no ASTBR, a ERG_{DQOt} chegou a 82,6%, em termos de valores médios, com máximo de 88,7%. No sistema combinado com o reator de manta de lodo na fase metanogênica, a ERG_{DQOt} compreendeu 75,5%. Embora o reator UASB tenha apresentado maior instabilidade operacional, tendo em vista fatores associados ao lodo rico em sólidos inertes utilizado na inoculação, a eficiência global de remoção de matéria orgânica obtida, especificamente para a COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Tabela 22), foi comparável aos valores consultados na literatura, normalmente obtidos a partir da operação de reatores mesofílicos sob menores condições de COVa e maiores TDHs.

Na Tabela 23 são agrupados dados comparativos de desempenho de reatores de alta taxa aplicados no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar, com ênfase em reatores de leito fixo e reatores de manta de lodo. Considerando os sistemas mesofílicos, eficiências de remoção de DQO semelhantes às obtidas neste trabalho são reportadas, tais como: 76% (Costa et al., 1986), 73,8% (Bories et al., 1988), 78,1% (Shrihare e Tare, 1989) e 80% (Kumar et al., 2007). Contudo, na maioria dos estudos analisados a carga orgânica aplicada foi inferior a $20 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, para valores de TDH consideravelmente superiores ao utilizado no presente estudo. Em Shrihari e Tare (1989) e Driessen et al. (1994) o TDH aplicado nos reatores compreendeu 10 d, enquanto que em Craveiro et al. (1986), Rintala (1991) e Kumar et al. (2007) os valores variaram na faixa de 3,8 a 8,5 d.

Com relação aos estudos baseados na operação de sistemas termofílicos, os resultados obtidos para os sistemas combinados, tanto para este trabalho como no caso de Ferraz Jr. et al. (2016), também mostraram-se superiores quando comparados a sistemas formados unicamente por reatores metanogênicos. Em Rintala (1991) e Harada et al. (1996) a remoção de DQOt atingiu apenas 20 e 40%, respectivamente. Enquanto Harada et al. (1996) atribuíram o baixo desempenho do reator UASB à recalcitrância da vinhaça de melaço utilizada, em Rintala (1991) os autores associaram limitações na partida do sistema ao tipo de inóculo utilizado. Neste caso, foi utilizado lodo granular mesofílico de um reator UASB em escala plena, aplicado no tratamento de água residuária do processamento de batata, de modo que nos primeiros 40 dias de operação a ER_{DQOt} se estabilizou em apenas 20%.

Döll e Foresti (2010) também atribuíram limitações no desempenho de um reator termofílico operado em bateladas sequenciais aplicado no tratamento de vinhaça ao tipo de inóculo utilizado. Os autores inocularam dois reatores – mesofílico (35°C) e termofílico (55°C) – com lodo mesofílico proveniente de um reator UASB aplicado no tratamento do efluente de um abatedouro de frango, associando uma maior estabilidade ao sistema operado a 35°C . A carga orgânica máxima aplicada no reator mesofílico foi aproximadamente sete vezes superior à aplicada no termofílico ($5,70$ vs. $35,94 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$).

Tabela 23. Comparativo entre reatores metanogênicos de alta taxa aplicados no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar.

Referência	Reator	Condições operacionais			Desempenho do reator	
		COVa	TDH	Temperatura	ERG _{DQOt}	MY
		(kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)		(°C)	(%)	(mLCH ₄ g ⁻¹ DQOr) ^a
Este trabalho	APBR ^b (2,3 L) + ASTBR ^c (2,5 L)	25	29,5 h ^d	55	82,6	301
	APBR ^b (2,3 L) + UASB ^c (3,5 L)	25	29,5 h ^d	55	75,5	283
Sánchez Riera et al. (1985)	UASB (120 L)	11,2-23,3	4-2 d	40	68,6-72,2	230-300
Costa et al. (1986)	UASB (11 m ³)	18,3	20 h	nd	76,0	280
Craveiro et al. (1986)	UASB (11 m ³)	6,4	4,9 d	28-33	88,5	220
Bories et al. (1988)	APBR (10 m ³)	9,2-20,4	3,3-2,5 d	37	65,1-73,8	181-253
Shrihari e Tare (1989)	APBR (nd)	25	10 d	35	78,1	170
Rintala (1991)	UASB (5,8 L)	5-20	3,8 d	38-40	65,0	nd
Rintala (1991)	UASB (5,8 L)	2-20	3,8 d	55	20,0	nd
Souza et al. (1992)	UASB (75 m ³)	26,5	10 h	55-57	71,7	222

Tabela 23. Comparativo entre reatores metanogênicos de alta taxa aplicados no tratamento de vinhaças de cana-de-açúcar (cont.).

Referência	Reator	Condições operacionais			Desempenho do reator	
		COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	TDH	Temperatura (°C)	ERG _{DQOt} (%)	MY (mLCH ₄ g ⁻¹ DQOr) ^a
Driessen et al. (1994)	UASB (42,5 L)	10	10 d	nd	67,0	nd
Harada et al. (1996)	UASB (140 L)	23,5	10,4 h	55	40,0	120
Kumar et al. (2007)	HUASB (15 L)	4,53-11,13	8,5-4 d	nd	62,0-80,0	310
España-Gamboa et al. (2012)	UASB (3 L)	17,05	7,5 d	30	69,0	260
Siqueira et al. (2013)	AFBR (4,2 L)	3,33-26,19	24 h	30	53,0-70,0	288
Ferraz Jr. et al. (2016)	UASB (10 L)	25	34 h	55	60,7	234
	APBR ^b (2,3 L) + UASB ^c (3,5 L)	25	33 h ^e	55	74,6	306

Notas: ^aCondições normais de temperatura e pressão (CNTPs - 0°C, 1 atm); ^bReator acidogênico; ^cReator metanogênico; ^dTDH = 7,5 h (APBR) + 22 h (ASTBR ou UASB); ^eTDH = 10 h (APBR) + 23 h (UASB); nd = dado não disponível.

Siglas - Reator: AFBR = *anaerobic fluidized-bed reactor*, APBR = *anaerobic packed-bed reactor*, ASTBR = *anaerobic structured-bed reactor*, HUASB = *hybrid upflow anaerobic sludge blanket reactor*, UASB = *upflow anaerobic sludge blanket reactor*; Condições operacionais: COVa = carga orgânica volumétrica aplicada, TDH = tempo de detenção hidráulica; Desempenho do reator: ERG_{DQOt} = eficiência de remoção global de DQO total, MY = rendimento de metano.

Conforme brevemente discutido, a pré-adaptação do inóculo utilizado neste trabalho à vinhaça e a condições termofílicas de temperatura deve ser considerada um dos fatores que contribuíram para o desempenho estável e eficiente do ASTBR, utilizando-se como referência os trabalhos no qual a inoculação dos sistemas termofílicos foi feita a partir de lodo mesofílico⁶³. No trabalho de Ferraz Jr. et al. (2016) também foi empregado o lodo termofílico proveniente da Usina São Martinho na inoculação dos reatores metanogênicos, i.e., um reator UASB precedido de um APBR acidogênico e um reator UASB em fase única. Neste caso, o sistema combinado apresentou desempenho semelhante ao do sistema APBR+UASB estudado no presente trabalho ($ERG_{DQO} \sim 75\%$, Tabela 23), enquanto o reator UASB operado em fase única apresentou limitações, tanto na remoção de DQO como na produção de metano. Nos dois reatores, entretanto, a concentração total de ácidos orgânicos ($HAc + HPr + HBu$) atingiu cerca de 5.000 mg L^{-1} durante a aplicação da $COVa$ de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, valor aproximadamente três vezes superior ao reportado para o reator UASB neste trabalho, sob a mesma condição de carga, conforme discutido no próximo item.

Neste ponto ressalta-se, novamente, a vantagem da separação de fases em sistemas termofílicos como uma estratégia para obtenção da estabilidade operacional (De Gioannis et al., 2008; Massanet-Nicolau et al., 2015). O desequilíbrio de reatores termofílicos está frequentemente associado ao desbalanceamento entre as populações acidogênicas e as metanogênicas, fato que leva ao acúmulo de ácidos orgânicos devido à rápida velocidade de acidificação do substrato (Yu et al., 2015). Desta forma, a operação de uma fase acidogênica separada tende a evitar o acúmulo de ácidos e a consequente inibição da metanogênese, além de potencializar a recuperação de energia do processo anaeróbico a partir da geração de $BioH_2$, conforme amplamente discutido a partir da seção 5.1, p. 149.

Considerando aspectos energéticos, especificamente sobre produção de metano, a partir dos dados compilados na Tabela 23 também é possível notar melhores cenários para os sistemas combinados, tendo em vista elevados valores de rendimento de metano para a aplicação de elevadas cargas orgânicas em reduzidos tempos de detenção hidráulica. Tal fato é atribuído à pronta disponibilização de acetato à biomassa metanogênica (Lee e Chung,

⁶³Segundo van Lier et al. (1993), a aclimação de inóculos mesofílicos para condições termofílicas deve ser promovida de maneira lenta e gradual, não ultrapassando 1°C a cada 1-2 semanas. Um dos fatores que pode demandar tal cautela na partida de sistemas anaeróbios termofílicos a partir de inóculos mesofílicos compreende a menor velocidade de crescimento dos micro-organismos sob condições de elevadas de temperatura, sendo tal característica uma consequência de dois aspectos (Amani et al., 2015): uma maior velocidade de decaimento da biomassa termofílica, uma vez que as células apresentam uma maior suscetibilidade à lise sob tais condições e, um maior requerimento energético para manutenção. Desta forma, o aumento abrupto da temperatura no meio reacional propicia uma elevada perda de células, sobretudo das populações metanogênicas, fato que favorece o acúmulo de ácidos orgânicos nos reatores termofílicos. Daí o interesse no uso de reatores de alta taxa, com elevado tempo de retenção celular, em sistemas termofílicos, tendo em vista as limitações dos reatores com crescimento suspenso em manter elevadas densidades de células no meio reacional (van Lier et al., 1993).

2010), seja diretamente pela fração de HAc proveniente da etapa acidogênica ou indiretamente pela conversão dos ácidos propiônico e butírico a acetato na etapa de acetogênese. Comportamento semelhante foi observado a partir da separação de fases em processos anaeróbios aplicados em diferentes tipos de resíduos e águas residuárias, tais como resíduos alimentares (Lee e Chung, 2010), biomassa celulósica (Parawira et al., 2008; Massanet-Nicolau et al., 2015), vinhaças resultantes do processamento de mandioca (Luo et al., 2011) e de milho (Nasr et al., 2012), dentre outros.

5.2.2 Distribuição de Metabólitos Solúveis na Fase Metanogênica

Analisando-se os produtos intermediários gerados no processo de degradação da matéria orgânica, o comportamento discrepante observado nos dois reatores metanogênicos pode ser compreendido de maneira mais completa, conforme apresentado nas Figuras 42 e 43 e na Tabela 24. Em termos da concentração total de ácidos orgânicos (HAc + HPr + HBU, Tabela 24), menores valores foram observados para o ASTBR ao longo da operação, exceto para a aplicação da COVa de $15 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Este fato provavelmente decorre da partida mais eficiente do reator UASB, conforme previamente discutido, levando a um menor acúmulo de ácidos. Entretanto, ainda considerando a COVa de $15 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, a razão HPr/HAc calculada para o reator UASB foi aproximadamente 70% superior à observada para o ASTBR (1,65 vs. 0,99, Tabela 24), característica que resulta da contínua redução da concentração de HPr no reator de leito fixo (Figura 43).

A partir da Figura 42 nota-se que as concentrações de HPr estiveram em maior proporção em praticamente todo o período de operação do reator UASB, apresentando inclusive incrementos após cada aumento de COVa nos reatores. Para as cargas de 20 e $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, a concentração de HPr no efluente do reator UASB atingiu praticamente o dobro da observada no ASBTR (Tabela 24). Conforme previamente indicado, acredita-se que o acúmulo de HPr no UASB tenha decorrido de sobrecargas localizadas no leito de lodo, tendo em vista a atuação deste como uma barreira ao escoamento. A desestabilização do sistema após o primeiro aumento de COVa (15 para $20 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) resultou de tal comportamento, uma vez que as condições de sobrecargas locais foram intensificadas pelo fornecimento de maiores quantidades de matéria orgânica.

Destaca-se, apenas, que a estratégia operacional empregada na recuperação do UASB – lavagem do sistema com água – após o choque de carga (15 para $20 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) levou a um aumento na proporção de ácido acético ($\text{COVa} = 20 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, Figura 42b) devido a expressiva redução na concentração de HPr (Figura 42a), corroborando a melhora de

desempenho observada. Além disso, a lavagem de ácidos imposta ao reator possibilitou uma maior robustez ao sistema no segundo aumento de COVa (20 para 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹), muito embora a proporção de ácido propiônico tenha se elevado consideravelmente (razão HPr/HAc = 5,61), como resultado do decréscimo nas concentrações de HAc concomitantemente a um novo aumento nos teores de HPr (Figura 42a).

Figura 42. Metabólitos solúveis quantificados no efluente do reator UASB: (a) perfil temporal de concentração e (b) proporção.

No caso do ASTBR, os aumentos de COVa também levaram a incrementos na concentração de HPr (Figura 43), a qual atingiu, entretanto, valores consideravelmente inferiores aos observados para o reator UASB (Tabela 24). Para as cargas de 25 e 30

$\text{kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, observaram-se picos de concentração de HPr no efluente do ASTBR (Figura 43a), levando inclusive a ligeiros incrementos na proporção deste ácido (Figura 43b), apesar da manutenção da estabilidade operacional no sistema. Acredita-se que tais perturbações estejam relacionadas com as características composicionais da vinhaça acidificada aplicada nos reatores, e não com a desestabilização do reator, conforme abordado na sequência, a partir da discussão do comportamento da razão HPr/HAc. Em termos da concentração de HAc, os valores observados no efluente do ASTBR ($458\text{--}649 \text{ mg L}^{-1}$, $\text{COVa} = 25\text{--}30 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) foram cerca de 1,5-2,5 vezes maiores em comparação ao do reator UASB para COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (286 mg L^{-1}).

Figura 43. Metabólitos solúveis quantificados no efluente do ASTBR: (a) perfil temporal de concentração e (b) proporção.

Tabela 24. Concentrações médias e máximas de ácidos orgânicos voláteis no efluente dos reatores metanogênicos.

Reator	UASB			ASTBR			
COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	15	20	25	15	20	25	30
HAc (mg L ⁻¹)	1.669 ± 801 (14) 3.236	1.023 ± 550 (19) 2.592	286 ± 92 (22) 442	2.493 ± 1.240 (14) 4.663	1.350 ± 611 (19) 2.495	458 ± 238 (22) 1.093	649 ± 261 (14) 979
HPr (mg L ⁻¹)	2.463 ± 1.212 (14) 4.222	1.552 ± 1.111 (19) 3.372	1.490 ± 398 (22) 2.155	1.872 ± 706 (14) 2.977	879 ± 468 (19) 2.016	683 ± 325 (22) 1.461	638 ± 249 (14) 948
HBu (mg L ⁻¹)	311 ± 333 (14) 1.447	258 ± 88 (19) 493	64 ± 24 (22) 120	468 ± 489 (14) 2.015	227 ± 119 (19) 711	60 ± 17 (22) 113	55 ± 8 69
HAc + HPr + HBu (mg L ⁻¹)	4.443 ± 1.490 (14) 7.176	2.833 ± 1.324 (19) 5.331	1.840 ± 448 (22) 2.478	4.832 ± 1.642 (14) 7.570	2.456 ± 898 (19) 4.458	1.201 ± 508 (22) 2.297	1.342 ± 480 (14) 1.973
Razão HPr/HAc (-)	1,65 ± 0,91 (14) 3,62	1,81 ± 1,54 (19) 4,96	5,61 ± 2,05 (22) 9,44	0,99 ± 0,57 (14) 2,02	0,73 ± 0,40 (19) 1,65	1,59 ± 0,70 (22) 3,93	1,03 ± 0,26 1,56

Notas: Valores entre parênteses correspondem ao número de amostragens; valores em **negrito** correspondem aos máximos observados para cada condição de carga.

Metabólitos: HAc = ácido acético, HPr = ácido propiônico, HBu = ácido butírico.

Analisando-se especificamente o comportamento da razão HPr/HAc para os reatores (Figura 44, Tabela 24), menores valores foram observados no efluente do ASTBR, refletindo a operação mais estável deste. Destaca-se, ainda, a provável influência da composição da vinhaça acidificada sobre a dinâmica do acúmulo de HPr e HAc na fase metanogênica, sendo os efeitos mais evidentes para o reator UASB (Figura 44). Durante a aplicação das cargas de 20 e 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹ notam-se alguns picos da razão HPr/HAc na vinhaça acidificada, os quais coincidem com os picos observados para a razão no efluente do reator UASB. Particularmente, no período próximo ao segundo aumento de COVa (20 para 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹) o acúmulo de HPr na vinhaça acidificada potencializou o acúmulo deste ácido no UASB, observando-se um pico de 9,44 para razão HPr/HAc (Figura 44, Tabela 24). Tendo em vista que elevadas concentrações de HPr podem produzir efeitos tóxicos sobre as populações metanogênicas (Li J. et al., 2012), seu aporte em sistemas já desbalanceados pode potencializar o colapso destes. Baseando-se em valores médios (Tabela 24), a razão HPr/HAc para COVa de 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹ foi aproximadamente 3,5 vezes maior no reator UASB, em comparação ao ASTBR.

Figura 44. Perfis temporais da razão HPr/HAc na vinhaça acidificada (-◇-) e nos efluentes do ASTBR (-■-) e do reator UASB (-□-).

O valor observado para a razão HPr/HAc no efluente do ASTBR aparentemente também sofreu influência da variação composicional da vinhaça acidificada, porém, os efeitos foram menos evidentes, provavelmente devido à maior robustez do sistema com células imobilizadas. O valor pico observado para a razão HPr/HAc neste caso foi de 3,93 (COVa = 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹, Tabela 24), a partir do qual nota-se um contínuo decréscimo com o

estabelecimento de um patamar próximo a 1,2 ($\sim 175^\circ$ dia de operação). Comportamento semelhante foi observado para o efluente do reator UASB, porém, o valor atingido foi de aproximadamente 4,1. Novamente, o padrão da razão HPr/HAc no efluente dos reatores coincidiu com o da vinhaça acidificada, tendo em vista a estabilização da razão no valor de 0,4 nesta.

Em estudo prévio Hill et al. (1987) apontaram o valor de 1,4 como referência para previsão da estabilidade operacional a partir da razão HPr/HAc, sendo condições de desequilíbrio observadas para valores superiores. Baseando-se nos valores médios obtidos para os reatores (UASB = 1,65/1,81/5,61 e ASTBR = 0,99/0,73/1,59/1,03, Tabela 24), notam-se valores abaixo da referência no caso do ASTBR, com exceção do calculado para a COVa de 25 kgDQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$ (1,59). Conforme indicado previamente, tal comportamento provavelmente resulta do aporte de maiores concentrações de HPr pela vinhaça acidificada. No caso do UASB, apenas para a COVa de 25 kgDQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$ a razão HPr/HAc (5,61) mostrou-se consideravelmente superior ao valor de referência, também reiterando-se a influência da vinhaça acidificada. Apesar da correspondência com o valor de referência, destaca-se que não é adequada a fixação de valores específicos em termos das concentrações de AGVs, bem como parâmetros correlatos, para inferir sobre a estabilidade de sistemas metanogênicos, uma vez que cada um apresenta suas próprias condições normais de operação, dependendo das características do substrato e das condições operacionais (Ahring et al., 1995). De qualquer forma, com relação à razão HPr/HAc, seu monitoramento pode prover respostas rápidas sobre a estabilidade nos reatores, uma vez que, segundo Marchaim e Krause (1993), alterações na referida razão precedem alterações em outros parâmetros de monitoramento, tais como as proporções de CH_4 e CO_2 no biogás.

Baseando-se na dinâmica do HPr nos reatores metanogênicos, considera-se pertinente discutir alguns aspectos da produção deste ácido no processo de biodigestão. O acúmulo de HPr no reator UASB sugere a exposição da biomassa metanogênica a alguma forma de inibição, seja pela suplementação deficiente de alcalinidade, aporte de concentrações excessivas de sólidos suspensos ou sobrecarga orgânica, corroborando a queda na eficiência de remoção de DQO previamente discutida. O acúmulo dos ácidos butírico e principalmente propiônico em sistemas metanogênicos compreende uma resposta das bactérias ao acúmulo de hidrogênio associado a picos de carga (Mosey, 1983), de modo que quanto maior a carga aplicada, maior tende a ser a proporção relativa dos referidos ácidos. Tendo em vista que sistemas termofílicos suportam maiores cargas em comparação aos mesofílicos (Wilkie et al., 2000), maiores proporções do HBu e HPr são esperadas no efluente dos reatores. Contudo, tal

característica não implica necessariamente em perdas de desempenho, conforme observado na operação do reator de leito fixo.

Em sistemas anaeróbios de alta taxa a conversão do HPr a HAc geralmente compreende a primeira rota a sofrer interferência de perturbações (Wiegant et al., 1986), tais como eventos de sobrecarga orgânica e/ou de tóxicos. Este comportamento decorre da maior quantidade de energia necessária para promover a supracitada conversão ($\Delta G = + 62,3 \text{ kJ mol}^{-1}$, 55°C), utilizando-se a conversão do HBu a HAc como referência ($\Delta G = + 37,9 \text{ kJ mol}^{-1}$, 55°C) (Amani et al., 2015). Particularmente, em sistemas termofílicos, sobretudo quando submetidos a elevadas cargas orgânicas, a degradação do HPr caracteriza-se como mais lenta, sendo comumente observado o acúmulo deste ácido nos reatores (Wiegant et al., 1985 e 1986; Souza et al., 1992; Uemura e Harada, 1995; Harada et al., 1996; Syutsubo et al., 1998; Speece et al., 2006), mesmo em sistemas operados sob condições estáveis, como no caso do ASTBR.

A título de comparação, a proporção de HPr quantificada no efluente do ASTBR (~40-50%, Figura 43b) é condizente com a reportada por Wiegant et al. (1985) (66%), a partir da operação de um digestor termofílico (55°C) alimentado em modo semicontínuo com vinhaça de beterraba. Contudo, neste caso a carga aplicada no reator compreendeu apenas $6,34 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, aproximadamente 4-5 vezes inferior à aplicada no reator de leito fixo estruturado. Harada et al. (1996) verificaram o predomínio de HPr a partir da aplicação de cargas superiores a $10 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ em um reator UASB submetido ao tratamento de vinhaça de melaço de cana-de-açúcar, também operado sob condições termofílicas (55°C). Previamente, Uemura e Harada (1995) já haviam observado o acúmulo de HPr no efluente de um reator UASB alimentado com efluente sintético a base de sacarose sob condições termofílicas (55°C). Os autores sugeriram, assim como Wiegant et al. (1985) e Speece et al. (2006), que a degradação do ácido propiônico tende a ser a etapa limitante em processos anaeróbios termofílicos, independentemente do tipo de substrato utilizado e das condições operacionais.

Quanto ao reator UASB, a elevada proporção de HPr quantificada na vinhaça metanizada (~70-80% a partir da COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, Figura 42b) decorreu, além das características intrínsecas ao processo anaeróbio termofílico, das limitações do sistema estudado, tendo em vista as condições de sobrecarga orgânica associadas ao tipo de inóculo utilizado. No trabalho de Wiegant et al. (1985) os autores também estudaram um reator UASB sob condições termofílicas, verificando elevadas proporções de HPr (70-90%) na vinhaça metanizada quando cargas orgânicas superiores a $40 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ foram aplicadas. A eficiência de remoção de DQOt no estudo supracitado atingiu valores na faixa de 50 a 55%,

semelhantes ao valor observado neste estudo, especificamente quando o reator UASB foi submetido a perturbações devido ao primeiro aumento de carga (54,9%, COVa = 20 kgDQO m⁻³ d⁻¹, Tabela 21, p. 214).

Wiegant et al. (1985) reportaram concentrações de ácidos orgânicos próximas a 10.000 mg L⁻¹ para condições crescentes de COVa, valor consideravelmente superior aos obtidos neste trabalho – a concentração média total de ácidos orgânicos no efluente do reator UASB atingiu valores próximos a 2.000-2.500 mg L⁻¹ durante a aplicação das cargas de 20 e 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹ (Tabela 24). Para as mesmas condições de carga – e mesmo para uma COVa de 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹, concentrações médias de ácidos ainda menores foram observadas no ASTBR – 1.200 a 1.300 mg L⁻¹ (Tabela 24), corroborando o melhor desempenho operacional observado para o sistema com células imobilizadas. Concentração similar de ácidos orgânicos (1.600 mg L⁻¹) foi reportada por Souza et al. (1992), em estudo também baseado na aplicação de um reator UASB no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar sob condições similares de COVa e temperatura (26,5 kgDQO m⁻³ d⁻¹, 55°C). Embora tais concentrações sejam praticamente três vezes superiores às comumente observadas em reatores mesofílicos aplicados no tratamento de vinhaça (~500 mg L⁻¹, Craveiro et al., 1986), a estabilidade da digestão anaeróbia termofílica foi mantida com sucesso.

5.2.3 Balanço de Massa para a Fase Metanogênica

Assim como apresentado para a fase acidogênica, determinou-se o balanço de massa para os reatores operados na fase metanogênica, buscando-se aferir a confiabilidade das metodologias analíticas. Neste caso, novamente foram calculados dois balanços distintos, referentes à distribuição de compostos solúveis (balanço de massa da fase solúvel, BMFS) e à conversão da DQOt afluente em metabólitos, metano e sólidos (balanço de massa global, BMG). Ressalta-se, entretanto, que o BMFS foi calculado apenas para a corrente efluente aos reatores (vinhaça metanizada), uma vez que o balanço para a corrente afluente corresponde ao previamente apresentado para a vinhaça acidificada (seção 5.1.3, p. 187). Na Figura 45 são apresentados o BMFS e o BMG referentes à operação do reator UASB e do ASTBR, enquanto que nas Tabelas 25 e 26 são compiladas as contribuições de cada grupo de compostos analisados para os balanços de massa calculados, respectivamente para o reator UASB e para o ASTBR. Ressalta-se que os dados de monitoramento foram divididos em função das cargas orgânicas aplicadas nos reatores, i.e., 15, 20, 25 e 30 kgDQO m⁻³ d⁻¹, procurando-se diferenciar a dinâmica da conversão de DQO e da produção de metano para cada condição estudada.

Figura 45. Balanço de massa para fase solúvel do efluente (a) do ASTBR e (b) do reator UASB e balanço de massa global para o (c) ASTBR e (d) reator UASB. Notas: ^aDQOs efluente ao ASTBR; ^bDQOs efluente ao reator UASB; ^{c,d}Cálculos em relação à DQOt afluyente aos reatores.

Tabela 25. Balanço de massa da fase solúvel e balanço de massa global calculados para o reator UASB.

Balanço de massa	COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	Proporção na DQO medida (%)						
		Carboidratos	Metabólitos ^a	DQOs efluente	Metano	SSV	Fração discriminada ^b	Fração não discriminada
BMFS	15	3,4 ± 0,7	53,3 ± 22,4	-	-	-	56,7 ± 22,4	43,3 ± 22,4
	20	4,4 ± 0,8	56,8 ± 17,8	-	-	-	61,2 ± 17,9	38,8 ± 17,9
	25	4,8 ± 0,6	47,9 ± 5,9	-	-	-	52,7 ± 6,3	47,3 ± 6,3
BMG	15	-	-	42,4 ± 11,5	29,1 ± 12,9	6,3 ± 1,5	77,6 ± 8,1	22,4 ± 8,1
	20	-	-	41,1 ± 7,1	36,6 ± 25,8	8,0 ± 2,1	85,7 ± 21,4	14,3 ± 21,4
	25	-	-	34,6 ± 8,2	38,5 ± 5,4	9,6 ± 1,0	82,7 ± 7,7	17,3 ± 7,7

Notas: ^aEtanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico; ^bCarboidratos + metabólitos para BMFS, DQOs efluente + metano + SSV para BMG.

Siglas: BMFS = balanço de massa na fase solúvel; BMG = balanço de massa global.

Tabela 26. Balanço de massa da fase solúvel e balanço de massa global calculados para o ASTBR.

Balanço de massa	COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	Proporção na DQO medida (%)						
		Carboidratos	Metabólitos ^a	DQOs efluente	Metano	SSV	Fração discriminada ^b	Fração não discriminada
BMFS	15	3,9 ± 1,1	47,9 ± 13,5	-	-	-	51,8 ± 13,4	48,1 ± 13,4
	20	7,2 ± 1,0	62,1 ± 17,7	-	-	-	69,3 ± 18,0	30,7 ± 18,0
	25	8,5 ± 1,4	60,9 ± 21,7	-	-	-	69,4 ± 22,4	30,6 ± 22,5
	30	10,2 ± 0,9	57,0 ± 4,8	-	-	-	67,3 ± 4,9	32,7 ± 4,9
BMG	15	-	-	46,5 ± 15,6	31,6 ± 18,1	14,9 ± 7,6	93,1 ± 8,0	6,9 ± 8,0
	20	-	-	28,7 ± 3,1	53,2 ± 5,2	8,2 ± 1,4	90,2 ± 3,5	9,8 ± 3,5
	25	-	-	24,9 ± 5,0	58,5 ± 13,9	10,0 ± 6,7	93,3 ± 13,6	6,7 ± 13,6
	30	-	-	22,5 ± 4,8	49,8 ± 5,7	10,0 ± 1,6	82,3 ± 7,6	17,7 ± 7,6

Notas: ^aEtanol, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico; ^bCarboidratos + metabólitos para BMFS, DQOs efluente + metano + SSV para BMG.

Siglas: BMFS = balanço de massa na fase solúvel; BMG = balanço de massa global.

A partir das Figuras 45a-b observa-se uma tendência crescente dos valores calculados para o BMFS com o aumento da COVa, indicando a conversão dos compostos previamente não identificados a ácidos orgânicos. Conforme apresentado anteriormente, o BMFS estimado para a vinhaça acidificada, i.e., afluenta aos reatores metanogênicos, atingiu um valor médio de 43,9% (Tabela 19, p. 188), chegando a 61,2% no efluente do reator UASB (COVa = 20 kgDQO m⁻³ d⁻¹, Tabela 25) e 69,3-69,4% no do ASTBR (COVa = 20-25 kgDQO m⁻³ d⁻¹, Tabela 26). Novamente atribui-se a fração não discriminada (Figura 45, Tabelas 25 e 26) à não quantificação de outros compostos orgânicos presentes na vinhaça, com destaque para a presença das melanoidinas, uma vez que a vinhaça metanizada ainda apresentava cor elevada.

As melanoidinas são macromoléculas formadas por meio da reação de Maillard – ou reação do tipo carbonila-amina – entre aminoácidos e açúcares sob condições de temperatura elevada (Ryan et al., 2008; Liang et al., 2009 e 2010). Tais substâncias apresentam propriedades antioxidantes, as quais lhes conferem características recalcitrantes ao tratamento biológico (Liang et al., 2009), explicando a coloração ainda amarelo-amarronzada da vinhaça metanizada. Embora a estrutura molecular das melanoidinas não seja conhecida com exatidão, suas moléculas comportam-se como a matéria orgânica natural, i.e., substâncias húmicas, em solução aquosa, sendo sua remoção possível por meio da aplicação de processos físico-químicos convencionais de tratamento, em especial a coagulação-floculação (Ryan et al., 2008).

A diferença observada entre o BMFS calculado para os reatores metanogênicos, com valores maiores geralmente associados ao ASTBR, provavelmente decorre da maior instabilidade do reator de manta de lodo, a qual propiciou uma conversão menos eficiente dos compostos previamente não identificados a ácidos orgânicos. Apenas para a COVa de 15 kgDQO m⁻³ d⁻¹ o BMFS foi ligeiramente superior para o reator UASB – 56,7% (Tabela 25) vs. 51,8% (Tabela 26), corroborando a melhor partida deste reator em comparação ao ASTBR. Com relação ao balanço de massa global (Figuras 45c-d), tendência semelhante à do BMFS foi observada, verificando-se cenários menos favoráveis para o reator de manta de lodo. No ASTBR os valores calculados para a relação entre a DQOt estimada e a medida atingiram patamares geralmente superiores a 90% (Tabela 26), ficando entre 80-85% no reator UASB (Tabela 25). As perdas no reator UASB podem estar associadas à ineficiência do sistema para liberar o biogás formado, tendo em vista o aprisionamento das bolhas na manta de lodo. A fração de metano gerada ao longo do período operacional compreendeu menos de 40% da DQOt afluenta ao reator UASB (Tabela 25), independentemente da condição de carga. No caso do ASTBR, valores superiores a 50% foram observados quando o sistema atingiu a estabilidade operacional, chegando a 58,5% (Tabela 26, em termos de valores

médios) para a COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Por fim, ressalta-se que os valores referentes ao BMG do ASTBR são similares aos reportados previamente por Ferraz Jr. et al. (2016) – 93,5-99,6%, a partir da operação de um reator UASB alimentado com vinhaça acidificada, sob condições equivalentes de carga e temperatura.

5.2.4 Estrutura e Dinâmica Microbiana nos Reatores Metanogênicos

Uma das principais vantagens de análises moleculares baseadas no emprego do NGS sobre outras técnicas, tais como a clonagem, a PCR/DGGE⁶⁴ e o T-RFLP⁶⁵, compreende a ampla cobertura de espécies nas amostras. No caso dos reatores metanogênicos, o Illumina MiSeq foi empregado no sequenciamento da região V4 do 16S RNAr para avaliar os domínios *Bacteria* e *Archaea* em amostras do inóculo (IN) e dos dois reatores (UASB e ASTBR) na COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. As regiões V1-V4 fornecem estimativas mais acuradas em relação às outras. Além disso, a região V4 é comumente usada para a análise simultânea das comunidades de bactérias e arqueias nas amostras (Kim et al., 2011). Mais de 100 mil *reads* filtradas foram obtidas para cada amostra, observando-se 13 (1,6%) e 796 (98,3%) OTUs com origem nos domínios *Archaea* e *Bacteria*, respectivamente (Tabela 27).

Em termos gerais, a abundância relativa de sequências de arqueias reportadas em estudos anteriores apresentaram variações expressivas. Sundberg et al. (2013) estudaram a comunidade microbiana de 21 reatores em escala-plena (todos em fase única) usando o sequenciamento massivo (pirosequenciamento 454) do gene 16S do RNAr. Os reatores incluíram sete sistemas (seis mesofílicos e um termofílico) aplicados na digestão de lodo e 14 sistemas (10 mesofílicos e quatro termofílicos) aplicados no processamento de resíduos de diferentes origens, tais como matadouros, restaurantes e domicílios. Para condições termofílicas, as sequências de arqueias contabilizaram apenas 6% do total de *reads*. Cerca de 20% das *reads* correspondentes às arqueias foram encontradas em um reator aplicado no tratamento de lodo primário a 38°C. Wirth et al. (2012) também estudaram a estrutura microbiana de um reator de mistura completa em escala de bancada (5 L) tratando silagem de milho, utilizando, para tanto, a plataforma de sequenciamento Applied Biosystems SOLiD 4. A abundância relativa para sequências de arqueias reportadas por esses autores foi equivalente a 10%. Outros estudos indicaram valores na faixa de 0,5-1,25% para abundância relativa de arqueias (Li et al., 2013; Solli et al., 2014), os quais são consistentes com os resultados observados neste estudo.

⁶⁴Eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE, do inglês *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*).

⁶⁵Polimorfismo do tamanho e composição de bases de fragmentos terminais de restrição (T-RFLP, do inglês *Terminal Fragment Length Polymorphism*).

Tabela 27. Compilação dos resultados das análises moleculares para a fase metanogênica: número de *reads*, OTUs observadas e índices de riqueza e diversidade.

Amostra	Inóculo ^a	ASTBR	UASB	Total
<i>Reads</i> brutas	880.844	406.232	284.520	1.571.596
<i>Reads</i> qualitativamente filtradas	224.204	154.707	107.303	486.214
<i>Reads</i> classificadas em OTUs	188.384	129.720	89.586	219.306
<i>Reads</i> (Domínio <i>Archaea</i>)	1.213	4.040	17.465	21.505
<i>Reads</i> (Domínio <i>Bacteria</i>)	187.171	125.680	72.121	197.801
OTUs observadas	538	434	512	809
OTUs (Domínio <i>Archaea</i>)	12	8	11	13
OTUs (Domínio <i>Bacteria</i>)	526	426	501	796
Índice de Chao 1 ^b	552	452	519	-
Índice de Shannon ^c	3,23	3,16	3,82	-
Estimador de Good ^d	0,99	0,99	0,99	-

Notas: ^aReferente ao lodo termofílico proveniente de reator UASB em escala plena aplicado no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar; ^bValor que estima a riqueza total de espécies a partir da abundância (Dias, 2004), baseando-se no número de classes raras encontradas em uma amostra; ^cÍndice de diversidade que retorna a probabilidade de um de dois indivíduos retirados ao acaso de uma grande e infinita comunidade pertencerem a espécies diferentes (Dias, 2004); ^dValor que estima a porcentagem do número total de espécies que é representada em uma amostra, i.e., estimador que retorna a probabilidade da próxima *read* pertencer a uma OTU que já tenha sido identificada.

Complementando a comparação da diversidade nas comunidades microbianas em cada ambiente, i.e., cada reator, a análise de rarefação considerando 97% de identidade de sequências foi utilizada para caracterizar a riqueza das comunidades em nível de espécie (Figura 46a). Neste caso, os resultados indicaram um ligeiro decréscimo na riqueza das comunidades no ASTBR e no UASB em comparação ao inóculo, padrão também evidenciado pelos índices de Shannon e Chao 1 (Tabela 27). Além disso, valores superiores a 0,99 foram obtidos para o estimador de Good nas três amostras, caracterizando uma profunda cobertura das espécies dominantes (Tabela 27).

O diagrama de Venn indicou que 225 OTUs foram identificadas apenas no inóculo, enquanto 84 e 57 OTUs foram identificadas exclusivamente nas amostras dos reatores UASB e ASTBR, respectivamente (Figura 46b). Por outro lado, um elevado número de OTUs (231) foi identificado simultaneamente nas três amostras, sendo 131 comuns aos reatores UASB e ASTBR (Figura 46b). Tais resultados já eram esperados, uma vez que o inóculo usado foi obtido em um reator submetido a condições semelhantes – em termos de substrato (vinhaça de cana-de-açúcar) e temperatura (55°C) – às usadas nos experimentos. Além disso, o reduzido

número de OTUs exclusivas (aproximadamente 10%) observadas nos reatores indica a aplicação de condições operacionais semelhantes nos sistemas, corroborando a constatação de que o desempenho inferior associado ao UASB decorreu das limitações da própria configuração do reator, tendo em vista o acúmulo de sólidos inertes na região da manta de lodo.

Figura 46. Composição microbiana das amostras obtidas a partir do inóculo (IN) e dos reatores UASB e ASTBR baseando-se no 16S RNAr (região V4) – dados derivados do DNA metagenômico: (a) curvas de rarefação e (b) diagrama de Venn.

5.2.4.1 Distribuição Taxonômica de Bactérias e Arqueias em Nível de Filo/Gênero

A abundância relativa de bactérias e arqueias nas três amostras, i.e., inóculo, ASTBR e UASB, foi analisada nos níveis de filo e gênero (Figura 47). Os principais filos bacterianos incluíram: *Thermotogae*, *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*. No caso das arqueias, o filo mais abundante foi o *Euryarchaeota* (19%), o qual engloba todos os micro-organismos metanogênicos conhecidos (Angel et al., 2012). Aproximadamente 9% das sequências não foram classificadas no nível de filo (Figura 47a).

Comparativamente ao inóculo, mudanças consideráveis foram observadas na comunidade microbiana a partir da operação dos reatores. Enquanto os filos bacterianos *Tenericutes* e *Bacteroidetes* caracterizaram-se como os mais abundantes (respectivamente 33 e 18%) no inóculo, os filos *Thermotogae* (19-38%) e *Firmicutes* (30-34%) predominaram nos dois reatores ao final da terceira fase da operação ($COVa = 25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) (Figura 47a). Entretanto, é importante destacar que recentemente o filo *Tenericutes* foi geneticamente separado do *Firmicutes* por razões de linhagens bacterianas ancestrais (Ludwig e Schleifer, 2005; Ludwig et al., 2009), de modo que informações complementares sobre funções metabólicas ainda não estão disponíveis na literatura.

Em termos da distribuição taxonômica em nível de gênero/espécie, a função dos micro-organismos afiliados aos domínios *Bacteria* e *Archaea* nas três amostras consideradas pode ser resumida em bactérias fermentativas (*Anaerobaculum*, *Arcobacter*, *Fervidobacterium*, *Coprothermobacter* e *Macellibacteroides*); bactérias sintróficas (*Syntrophaceticus* e *Tepidanaerobacter*); micro-organismos produtores de metano (*Methanosarcina* e *Methanothermobacter*); BRS (*Thermodesulfobivrio*); e, micro-organismos com funções não definidas (*060F05-B-SD-P93* e *Mesotoga*), conforme revelado pelo NGS (Figura 47b).

O gênero *Fervidobacterium* representou o principal grupo de micro-organismos fermentativos no inóculo (15,4%, Figura 47b), sendo tal gênero caracterizado por bactérias termofílicas que utilizam uma ampla gama de substratos e apresentam elevadas taxas de crescimento, com tempo de geração normalmente inferior a 2 h (Patel et al., 1985; Friedrich e Antranikian, 1996; Cai et al., 2007). Sequências atribuídas a este gênero não foram detectadas nos reatores em escala de bancada (Figura 47b), sendo tal fato coerente, uma vez que o inóculo proveio de um sistema em fase única, i.e., contemplando necessariamente todas as etapas do processo anaeróbio (Figura 2, p. 57). No mesmo contexto, os gêneros *Coprothermobacter*, *Paludibacter* e *Macellibacteroides*, também caracterizados por micro-

organismos fermentativos, apresentaram elevada abundância relativa no inóculo (2,6-4,6%), a qual decresceu nos reatores UASB (0,1-1,3%) e no ASTBR (0,1-0,3%) (Figura 47b).

Figura 47. Composição microbiana das amostras obtidas a partir do inóculo (IN) e dos reatores UASB e ASTBR baseando-se no 16S RNAr (região V4) – dados derivados do DNA metagenômico: domínios *Bacteria* e *Archaea* nos níveis de (a) filo e (b) gênero (abundâncias relativas > 1,0% são apresentadas).

Micro-organismos pertencentes ao gênero *Coprothermobacter* apresentam propriedades proteolíticas, conforme reportado em estudos prévios. Em Menes et al. (2001) a persistência de *Coprothermobacter* em um ambiente enriquecido com micro-organismos degradadores de ácidos graxos de cadeia longa foi justificada pela sua capacidade de utilizar substâncias proteicas disponibilizadas a partir da lise celular. No presente estudo, a presença de tais micro-organismos pode estar relacionada ao elevado TRC aplicado nos sistemas. Particularmente no caso do UASB, a conformação da manta de lodo associada à baixa velocidade ascensional também contribuiu para um maior acúmulo de biomassa no reator, i.e., aumentando a ciclagem celular. Por sua vez, micro-organismos pertencentes aos gêneros *Paludibacter* e *Macellibacteroides* são capazes de utilizar diversos açúcares como substrato, sendo os principais produtos da fermentação (baseando-se no metabolismo da glicose) os ácidos propiônico, acético e succínico (em menores proporções) (*Paludibacter*, Ueki et al., 2006) e os ácidos láctico, acético, butírico e isobutírico (*Macellibacteroides*, Jabari et al. 2012).

O gênero *Arcobacter* também caracterizou outro grupo detectado no inóculo (5,3%, Figura 47b) e ausente nos reatores metanogênicos. Micro-organismos relacionados a este gênero têm sido frequentemente associados à resistência a múltiplas drogas, com destaque para os antibióticos (Fera et al., 2003; Ju et al. 2016). No contexto das biorrefinarias, alguns antibióticos podem ser utilizados durante a etapa de fermentação do mosto, como parte do controle microbiano do processo. Tal prática busca principalmente a eliminação de bactérias produtoras de ácido láctico do meio, as quais competem com as leveduras pelo substrato disponível. A detecção de *Arcobacter* exclusivamente no inóculo pode ser justificada pela presença mais acentuada da etapa de acidogênese no reator termofílico em fase única, diferentemente dos sistemas operados em escala de bancada (caracterizados pela separação de fases). Os resultados de Wu et al. (2016) corroboram tal constatação, baseando-se na avaliação de genes de resistência a antibióticos (GRAs) em reatores anaeróbios de bancada com separação de fases operados a 35 e 55°C. Em suma, os autores concluíram que após a etapa acidogênica termofílica (55°C), diversos grupos microbianos, incluindo os carreados dos GRAs, foram destruídos pela elevada temperatura e pela pressão seletiva da própria acidogênese, i.e., acúmulo de ácidos. Desta forma, no presente estudo, os GRAs provavelmente foram liberados e degradados após a acidificação da vinhaça.

Adicionalmente ao emprego de antibióticos como método de controle da competição microbiana por substrato, o emprego de ácido sulfúrico nas dornas de fermentação é

característica comum do processo Melle-Bointot⁶⁶, buscando simultaneamente a inibição bacteriana e a prevenção da floculação das leveduras (Barth et al., 2014). As elevadas concentrações de sulfato observadas nas vinhaças de cana-de-açúcar (400-3.730⁶⁷ mg L⁻¹, Tabela 1, p. 52; 1.044-2.079 mg L⁻¹, Tabela 6, p. 101) compreendem uma característica direta deste processo, o que favorece a presença de micro-organismos atuantes no ciclo do enxofre em sistemas anaeróbios aplicados no tratamento da água residuária em questão (item 3.2, p. 56). Diversos grupos microbianos do ciclo do enxofre foram detectados nas três amostras analisadas para a fase metanogênica, sendo o gênero *Thermodesulfovibrio*, que engloba BRS, o mais abundante no ASTBR (3%, Figura 47b). A abundância relativa deste gênero no reator UASB e no inóculo atingiu os valores de 1,6 e 0,1%, respectivamente (Figura 47b). Comparativamente às demais amostras, o domínio do gênero *Thermodesulfovibrio* no ASTBR provavelmente decorreu da própria configuração do reator e do tipo de material suporte utilizado, uma vez que em estudo prévio Silva et al. (2006) associaram à espuma de poliuretano melhores condições para a aderência de BRS. Outros gêneros de bactérias oxidadoras/redutoras de sulfato detectados nas amostras incluíram *Desulfotibacter*, *Desulfotobacterium*, *Desulfobulbus*, *Desulfocapsa*, *Desulfomicrobium*, *Desulfovibrio*, *Desulfurispora*, *Desulfuromonas*, *Dethiobacter*, *Sulfuricurvum*, *Sulfurimonas* e *Sulfurospirillum*, entretanto, a abundância relativa observada para cada um foi inferior a 1%.

O gênero *060F05-B-SD-P93* apresentou abundância relativa de 38,4, 4,8 e 1,9% nas amostras referentes ao ASTBR, UASB e inóculo (Figura 47b), respectivamente. Baseando-se na base de dados Silva v119 (Pruesse et al., 2007), tal gênero é composto por espécies ainda não cultivadas, de modo que a literatura ainda não apresenta informações sobre este grupo. Entretanto, micro-organismos afiliados a este gênero provavelmente contribuíram para a estabilidade operacional do ASTBR. Em contrapartida, o gênero *Mesotoga* foi exclusivamente detectado no reator UASB (14,0%, Figura 47b), estando praticamente ausente nas demais amostras (0,2%). Tais micro-organismos também foram detectados em um ASBR usado na produção de metano a partir de glicerol (COVa de 2,5 kgDQO m⁻³ d⁻¹), sendo a estratégia de alimentação baseada na sobrecarga de substrato (Vásquez e Nakasaki, 2016). Tal característica também corrobora a hipótese associada à ocorrência de sobrecargas

⁶⁶O processo Melle-Bointot é caracterizado pela recuperação das leveduras a partir da centrifugação do vinho após a etapa de fermentação (BNDES e CGEE, 2008). Neste caso, a corrente de leveduras recuperadas (creme de levedura) é inicialmente diluída em água, sofrendo em seguida a adição de ácido sulfúrico até que o pH do meio seja reduzido a pelo menos 2,5. Tal procedimento previne simultaneamente a contaminação bacteriana do meio e a floculação do fermento (Oliva-Neto et al., 2013; Barth et al., 2014), garantindo condições que permitam o máximo aproveitamento dos açúcares pelas leveduras. Posteriormente, as leveduras são reinseridas na cadeia produtiva.

⁶⁷Concentrações referentes a vinhaças resultantes do processamento de caldo e/ou caldo + melaço de cana-de-açúcar.

orgânicas localizadas no reator UASB devido ao acúmulo de sólidos inertes na manta de lodo, conforme discutido anteriormente (item 5.2, p. 204).

Com relação aos micro-organismos atuantes na etapa de acetogênese, as sequências associadas ao gênero *Syntrophaceticus* foram similares no ASTBR (4,3%) e no UASB (5%), enquanto sua abundância relativa no inóculo pode ser considerada desprezível (0,1%) (Figura 47b). Os micro-organismos pertencentes ao gênero em questão apresentaram capacidade de oxidar o acetato em cocultivo com arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (Westerholm et al., 2010). Desta forma, os resultados observados no presente estudo estão em acordo com os fundamentos do processo anaeróbio, uma vez que ambos os reatores metanogênicos em escala de bancada foram alimentados com vinhaça acidificada oriunda de um reator aplicado na produção de hidrogênio.

Finalmente, com relação à etapa de metanogênese, uma expressiva diversidade de micro-organismos afiliados ao domínio *Archaea* foi detectada nas três amostras, especialmente no ASTBR. Entretanto, apenas dois gêneros apresentaram abundância relativa maior do que 1,0%. O gênero *Methanosarcina* foi o mais abundante, apresentando abundâncias relativas de 0,3, 1,8 e 17,0% no inóculo, ASTBR e UASB (Figura 47b), respectivamente. A presença deste gênero tem sido verificada em reatores anaeróbios termofílicos, sendo as maiores abundâncias associadas a elevadas concentrações de acetato (Griffin et al., 1998, Chachkhiani et al., 2004, Hori et al., 2006). Além disso, *Methanosarcina* sp. são conhecidas pela tolerância a uma variedade de condições de estresse, o que explica sua persistência e dominância no reator UASB, independentemente das limitações operacionais observadas no sistema.

O segundo gênero mais abundante associado ao grupo das arqueias, *Methanothermobacter*, representou 0,2, 1,0 e 1,8% da abundância relativa nas amostras provenientes do inóculo, ASTBR e UASB (Figura 47b), respectivamente. Este gênero inclui diversos membros termofílicos e hidrogenotróficos capazes de reduzir o CO₂ a CH₄ utilizando o H₂ como doador de elétrons, ou em alguns casos usando o formiato como fonte de elétrons (Wasserfallen et al., 2000, Nakamura et al., 2013). Entretanto, considerando a abundância relativa dos micro-organismos envolvidos na etapa acetogênica, as associações sintróficas entre bactérias e arqueias mais prováveis nos dois reatores incluem os gêneros *Syntrophaceticus* e *Methanosarcina*.

Em uma última constatação, a diferença de sequências totais afiliadas ao domínio *Archaea* nos reatores ASTBR e UASB pode estar relacionada ao fato de que apenas 55% das *reads* foram classificadas no nível de gênero (Figura 47b). Tais resultados podem decorrer de diferentes aspectos, tais como: [i] a região do 16S RNAr analisada (V4) representa apenas

uma das nove regiões variáveis do gene; [ii] limitações de análise, uma vez que apenas uma base de dados foi utilizada na classificação; e, [iii] um amplo espectro de micro-organismos, tendo em vista que as sequências não classificadas podem representar novas espécies, i.e., ainda não descritas. Particularmente, este último aspecto reforça a necessidade de estudos microbiológicos complementares para elucidar as funções dos micro-organismos não classificados.

5.2.5 Considerações Finais – Fase Metanogênica

Os resultados associados à operação da fase metanogênica confirmaram a aplicabilidade da digestão anaeróbia termofílica no tratamento da vinhaça, considerando a possibilidade de se associar o emprego de elevadas cargas orgânicas à obtenção de uma operação estável, em termos da remoção de matéria orgânica e da produção de metano. Embora o aspecto não granular, bem como o elevado teor de sólidos inertes, do lodo utilizado na inoculação tenha prejudicado consideravelmente o desempenho do reator UASB, o sucesso na operação do ASTBR pode ser parcialmente atribuído à pré-adaptação deste inóculo a condições termofílicas, bem como à vinhaça de cana-de-açúcar como substrato. O fornecimento de concentrações adequadas de alcalinidade a bicarbonato também se mostrou essencial à estabilidade operacional do sistema, ressaltando-se a necessidade de estudos complementares visando à otimização do emprego de compostos químicos e/ou outras estratégias de alcalinização.

Destaca-se que grande parte do sucesso da operação do ASTBR deve ser atribuída à própria configuração do reator, tendo em vista o crescimento microbiano aderido da biomassa adaptada em um sistema que previne a ocorrência de obstruções ao fluxo de água residuária, característica que provavelmente ocasionou as perdas de desempenho observadas no reator UASB. Semelhanças nas comunidades microbianas dos dois sistemas corroboram tal constatação. Desta forma, os resultados obtidos nesta fase do trabalho também permitem confirmar a segunda sub-hipótese elencada inicialmente – **“a aplicação do reator de leito fixo estruturado no tratamento da vinhaça na fase metanogênica tende a apresentar melhor desempenho em termos da estabilidade operacional, remoção de matéria orgânica e produção de metano, em comparação à utilização do reator de fluxo ascendente e manta de lodo, configuração convencionalmente aplicada em sistemas de alta taxa”** (seção 2, p. 45). Ressalta-se, entretanto, que o desempenho do UASB ainda pode ser considerado satisfatório, tendo em vista a obtenção de níveis de remoção de DQO superiores aos observados em reatores operados em menores cargas orgânicas.

5.3 Avaliação Tecnológica da Biodigestão da Vinhaça em Biorrefinarias de Açúcar e Etanol de Primeira Geração

As melhores condições operacionais obtidas durante a etapa experimental, considerando ambas as etapas acidogênica e metanogênica, foram empregadas na simulação de cenários para recuperação de energia por meio da digestão anaeróbia da vinhaça em biorrefinarias de açúcar e etanol de grande porte na indústria brasileira (capacidade de moagem equivalente a 4 MTC no período de safra). Conforme previamente indicado, os cenários foram baseados na aplicação de diferentes acionadores primários para geração de energia elétrica e térmica a partir do biogás, incluindo motores de combustão interna e turbinas a gás, estando estas acopladas ou não a turbinas a vapor. Os cenários incluíram a produção de etanol, e consequentemente a geração de vinhaça, nos períodos de safra (200 dias) e entressafra (130 dias), simulando-se o emprego da cana energia neste.

A avaliação tecnológica abordou, além de aspectos técnicos, i.e., geração de energia, aspectos ambientais e econômicos da implantação da biodigestão nas destilarias, discutindo-se sua viabilidade e, por consequência, identificando-se as opções mais atrativas ao setor. Atenção especial foi conferida ao emprego de alcalinizantes na planta de biodigestão, avaliando-se a influência de diferentes opções para o ajuste do pH da vinhaça na etapa metanogênica. Especificamente quanto à planta de biodigestão, destaca-se a apresentação de *layouts* com potencial para instalação nas destilarias brasileiras, tendo em vista a consideração de aspectos atualmente contemplados no projeto de estações de tratamento de águas residuárias em geral.

Inicialmente, são apresentados os resultados obtidos para a simulação do processo de biodigestão, considerando as vazões de biogás- H_2 e biogás- CH_4 e o respectivo PCI destas, bem como características do consumo de produtos químicos para o ajuste do pH da vinhaça. Neste ponto, também é pertinente apresentar os parâmetros de entrada utilizados na estimativa da produção de biogás, de acordo com as Equações (10) e (11), p. 130, considerando as melhores condições observadas durante a etapa experimental descrita nas seções 5.1 e 5.2. No caso da simulação da etapa metanogênica para biodigestão com separação de fases, os parâmetros utilizados referem-se aos obtidos a partir da aplicação da COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ no ASTBR no presente trabalho; para o processo conduzido em fase única os dados de desempenho foram obtidos a partir de Ferraz Jr. et al. (2016), também considerando a aplicação de uma COVa de $25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ em um UASB operado sob condições termofílicas (55°C). As informações supracitadas são agrupadas nas Tabelas 28 e 29, discriminando-se valores para os períodos de safra e entressafra.

Tabela 28. Parâmetros de entrada e resultados obtidos (produção de biogás) para os cenários energéticos a partir da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar.

Cenário Energético		CE-1 ^{a,b}		CE-2 ^{a,b}		CE-3 ^{a,b}		CE-4 ^{a,b}		CE-5 ^c		
		Safra	Entressafra	Safra	Entressafra	Safra	Entressafra	Safra	Entressafra	Safra	Entressafra	
Parâmetros de entrada	Q _{EtOH} (m ³ h ⁻¹)	44,68	30,52	44,68	30,52	44,68	30,52	44,68	30,52	44,68	30,52	
	Q _{vinhaça} (m ³ h ⁻¹)	382,81	264,20	382,81	264,20	382,81	264,20	382,81	264,20	382,81	264,20	
	Q _{vinhaça} /Q _{EtOH}	8,57	8,66	8,57	8,66	8,57	8,66	8,57	8,66	8,57	8,66	
	CH (g L ⁻¹ ou kg m ⁻³)	-	-	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	5,60	-	-	
	EC _{CH} (%)	-	-	70,50	70,50	70,50	70,50	70,50	70,50	-	-	
	HY (molH ₂ mol ⁻¹ CH)	-	-	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	-	-	
	Biogás-H ₂	%H ₂ ^d	-	-	37,00	37,00	37,00	37,00	37,00	37,00	-	-
		%CO ₂ ^d	-	-	63,00	63,00	63,00	63,00	63,00	63,00	-	-
	DQO (g L ⁻¹ ou kg m ⁻³)		22,30 ^e	16,50 ^e	22,30 ^e	16,50 ^e	22,30 ^e	16,50 ^e	22,30 ^e	16,50 ^e	28,30 ^f	21,00 ^f
	ER _{DQO} (%)		73,90	73,90	73,90	73,90	73,90	73,90	73,90	73,90	60,70	60,70
	MY (m ³ CH ₄ kg ⁻¹ DQO) ^g		0,362	0,362	0,362	0,362	0,362	0,362	0,362	0,362	0,281	0,281
	Biogás-CH ₄	%CH ₄ ^h	70,64	70,64	70,64	70,64	70,64	70,64	74,70	74,70	58,94	58,94
		%CO ₂ ^h	29,26	29,26	29,26	29,26	29,26	29,26	25,20	25,20	40,96	40,96
		%H ₂ S ^h	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

Tabela 28. Parâmetros de entrada e resultados obtidos (produção de biogás) para os cenários energéticos a partir da biodigestão da vinhaça de cana-de-açúcar (cont.).

Cenário Energético			CE-1 ^{a,b}		CE-2 ^{a,b}		CE-3 ^{a,b}		CE-4 ^{a,b}		CE-5 ^c	
			Safra	Entressafra	Safra	Entressafra	Safra	Entressafra	Safra	Entressafra	Safra	Entressafra
Resultados obtidos	Biogás-H ₂	Q (m ³ h ⁻¹) ^g	-	-	1.030,61 ^d ; 381,382 ⁱ	704,56 ^d ; 260,69 ⁱ	1.030,61	704,56	1.030,61 ^d ; 381,382 ⁱ	704,56 ^d ; 260,69 ⁱ	-	-
	Biogás-CH ₄	Q (m ³ h ⁻¹) ^g	3.149,20	1.600,12	3.160,60	1.605,90	3.160,60	1.605,90	3.160,38	1.606,02	3.078,79	1.495,30
		PCI (MJ m ⁻³) ^g	20,92	20,92	20,92	20,92	-	-	21,96	21,96	17,45	17,45
	Biohythane	Q (m ³ h ⁻¹) ^g	-	-	-	-	4.191,21	2.130,46	-	-	-	-
		PCI (MJ m ⁻³) ^g	-	-	-	-	16,07	16,07	-	-	-	-

Notas: ^aValores de EC_{CH}, HY e %H₂ obtidos para períodos de produção contínua de biogás-H₂ no presente trabalho (Tabela 16); ^bValores de ER_{DQO}, MY e %CH₄ obtidos para aplicação da COVa de 25 kgDQO m⁻³ d⁻¹ no ASTBR (Tabela 21); ^cValores de ER_{DQO}, MY e %CH₄ reportados por Ferraz Jr. et al. (2016); ^dBiogás-H₂ bruto, i.e., desconsiderando-se a etapa posterior de remoção de CO₂; ^eDQO da vinhaça acidificada; ^fDQO da vinhaça bruta; ^gTemperatura = 55°C; ^hValores obtidos considerando a remoção de H₂S até o nível máximo (~1.000 ppm_v) recomendado para o MCI modelo J620 GS-F12 (GE Jenbacher GmbH & Co. OHG, Jenbach, Áustria); ⁱBiogás-H₂ purificado, i.e., considerando a remoção de CO₂ para venda ou injeção no reator metanogênico.

Tabela 29. Alternativas consideradas para a alcalinização da vinhaça na fase metanogênica na avaliação tecnológica.

Biodigestão			Duas fases ^a (CE-1 a CE-4)		Uma fase ^b (CE-5)	
Ajuste de pH			Safra	Entressafra	Safra	Entressafra
NaHCO ₃ - total	Dosagem	(gNaHCO ₃ g ⁻¹ DQO)	0,28	0,28	0,44	0,44
		(gNaHCO ₃ L ⁻¹ vinhaça)	6,25 ^c	6,25 ^c	12,5 ^d	12,5 ^d
	Período de aplicação (d)		200	130	200	130
	Consumo anual total (ton)		11,4·10 ³	5,1·10 ³	21,6·10 ³	9,6·10 ³
NaHCO ₃ - partida	Dosagem	(gNaHCO ₃ g ⁻¹ DQO)	0,28	-	0,44	-
		(gNaHCO ₃ L ⁻¹ vinhaça)	6,25 ^c	-	12,5 ^d	-
	Período de aplicação (d)		50	-	50	-
	Consumo anual total (ton)		2,8·10 ³	-	5,4·10 ³	-
NaOH- total	Dosagem	(gNaOH g ⁻¹ DQO) ^e	4·10 ⁻³	4·10 ⁻³	4·10 ⁻³	4·10 ⁻³
		(gNaOH L ⁻¹ vinhaça)	89,2·10 ⁻³	89,2·10 ⁻³	113,2·10 ⁻³	113,2·10 ⁻³
	Período de aplicação (d)		200	130	200	130
	Consumo anual total (ton)		162,6	72,3	195,6	86,9

Notas: ^aDQO (vinhaça acidificada) = 22,3 g L⁻¹; ^bDQO (vinhaça bruta) = 28,3 g L⁻¹; ^cValor utilizado neste trabalho; ^dFerraz Jr. et al. (2016); ^eSouza et al. (1992).

Baseando-se nos valores reportados na Tabela 28, algumas ressalvas devem ser mencionadas com relação à composição do biogás-CH₄, tendo em vista concentrações de metano ligeiramente superiores às obtidas experimentalmente neste trabalho (~70%) e no estudo de Ferraz Jr. et al. (2016) (~58%). Para fins de condução das simulações, independentemente do tipo de acionador primário, considerou-se a remoção de H₂S visando ao atendimento da concentração máxima (2,000 mg Nm⁻³CH₄⁶⁸ ou ~1,000 ppm_v) permitida do referido gás na entrada do MCI simulado. A literatura indica o valor de 10,000 ppm_v para a concentração máxima de H₂S admitida em turbinas a gás (EPA, 2007; Allegue e Hinge, 2014), portanto, o valor considerado apresenta-se consideravelmente abaixo do limite de referência. Utilizando-se como referência a concentração de H₂S assumida para o biogás-CH₄ bruto, i.e., 1% ou 10,000 ppm_v (item 4.3.1, p. 127), seria necessária uma remoção de

⁶⁸Quanto menor o teor de metano no biogás, maior a vazão deste para que se atinja uma determinada produção de energia a partir de sua aplicação em um acionador primário. Desta forma, maiores quantidades de constituintes gasosos potencialmente agressivos, tais como o H₂S, podem ser aplicadas nos acionadores. Buscando evitar problemas dessa natureza, os limites de concentração de H₂S, bem como de outros poluentes, estabelecidos pelos fabricantes dos acionadores primários são normalmente reportados em termos da quantidade de metano (Environmental Agency, 2010).

aproximadamente 90% deste gás para adequação da corrente de biogás na admissão dos acionadores.

Dentre as tecnologias de purificação de biogás atualmente disponíveis no mercado, destaca-se que o nível de remoção de H_2S requerido nos cenários analisados pode ser atingido a partir do emprego de processos biológicos, os quais são tão eficientes quanto e apresentam importantes vantagens em comparação aos métodos físico-químicos convencionais⁶⁹, tais como (Allegue e Hinge, 2014; Lebrero et al., 2016): menores custos de operação; eliminação do emprego de catalisadores; não geração de correntes secundárias, as quais demandam tratamento adicional; e, possibilidade de recuperação de enxofre elementar, dependendo do tipo de tecnologia selecionada.

As principais opções biotecnológicas para remoção de H_2S incluem a [i] dosagem de ar ou oxigênio diretamente nos reatores (tanto no *headspace* quanto na fase líquida), promovendo condições microaeróbias, e [ii] o emprego de biofiltros (estacionários ou rotativos). Para a concentração de H_2S considerada no biogás- CH_4 bruto, estudos indicam remoções superiores a 97% a partir da aplicação da microaeração nos digestores, levando a concentrações residuais de H_2S na faixa de 50 a 260 ppm_v (Muñoz et al., 2015). Reitera-se que, para a análise econômica, considerou-se a remoção de H_2S por meio de processo biológico, utilizando-se, para tanto, dados referentes aos custos de instalação e operação obtidos na literatura.

Em termos da alcalinização da vinhaça, especificamente na fase metanogênica (Tabela 29), as três opções consideradas incluíram a aplicação de NaHCO_3 durante todo o período de operação dos reatores (NaHCO_3 -total), a aplicação de NaHCO_3 apenas durante a partida dos reatores metanogênicos (50 primeiros dias, NaHCO_3 -partida) e a substituição do NaHCO_3 por NaOH , também considerando a aplicação em todo o período operacional (NaOH -total). A opção “ NaHCO_3 -total” simula as condições experimentais utilizadas na operação dos reatores metanogênicos na presente pesquisa, enquanto as outras duas representam alternativas que priorizam reduções na quantidade e, conseqüentemente, nos custos com produtos químicos na planta em escala plena. Conforme indicado no item 5.2 (p. 210), acredita-se que a adaptação da biomassa metanogênica a concentrações decrescentes⁷⁰ de NaHCO_3 ainda na partida dos reatores pode levar a sistemas robustos em operações no longo prazo, embora deva-se

⁶⁹Os métodos físico-químicos para remoção de H_2S do biogás incluem tecnologias baseadas no emprego de adsorção (p.ex. adsorção em carvão ativado, peneiras moleculares e óxidos de ferro); absorção e lavagem (p.ex. lavagem com água, absorção física e absorção química por meio de catalisadores); e, separação por membranas (Allegue e Hinge, 2014; Muñoz et al., 2015; Lebrero et al., 2016).

⁷⁰ Para fins de estimativa de custos e impactos ambientais, considerou-se uma dosagem fixa de NaHCO_3 na alternativa “ NaHCO_3 -partida” (6,25 g L⁻¹, Tabela 29), embora na prática a dosagem seria continuamente reduzida, tendo em vista a geração de alcalinidade no próprio sistema a partir da atividade das arqueias metanogênicas ($\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{CH}_4$).

ressaltar que estudos complementares são necessários para comprovar tal hipótese, sobretudo em sistemas aplicados no tratamento da vinhaça. Quanto ao emprego do NaOH, resultados promissores foram reportados por Souza et al. (1992), baseando-se em níveis de remoção de DQO superiores a 70% para dosagens mínimas de soda ($4 \text{ g kg}^{-1}\text{DQO}$, Tabela 29). Adianta-se que neste estudo implicações diretas das diferentes estratégias de alcalinização da vinhaça serão esclarecidas a partir das avaliações econômica e ambiental da implantação da biodigestão nas usinas, conforme abordado nas seções 5.3.2 e 5.3.3.

5.3.1 Avaliação Tecnológica: Aspectos Energéticos da Biodigestão da Vinhaça

Os resultados referentes à produção de energia a partir da digestão anaeróbia da vinhaça são inicialmente compilados na Tabela 30 e nas Figuras 48 e 49, incluindo a produção total de energia elétrica (PTE_{el}) e térmica (PTE_{tm}), a produtividade de energia em função das vazões de vinhaça ($\text{PRE}_{\text{el}}^{\text{vin}}$ e $\text{PTE}_{\text{tm}}^{\text{vin}}$) e biogás ($\text{PRE}_{\text{el}}^{\text{biog}}$ e $\text{PTE}_{\text{tm}}^{\text{biog}}$) e as eficiências de conversão dos acionadores primários simulados (η_{el} e η_{total}). As diferenças observadas entre os valores de $\text{PRE}_{\text{el}}^{\text{vin}}$ para a safra e entressafra (Tabela 30) decorrem de aspectos composicionais considerados para a vinhaça em cada período, uma vez que durante a entressafra a planta produtiva comporta-se como uma destilaria autônoma, i.e., toda a cana-de-açúcar (cana energia) é direcionada para produção de etanol. Por consequência, menores concentrações de matéria orgânica são observadas na vinhaça neste caso, uma vez que não há o aporte da matéria orgânica residual do melaço previamente à fermentação (Fuess e Garcia, 2014b).

Baseando-se inicialmente na comparação dos cenários estudados, em geral, a aplicação do biohythane como combustível (CE-3), independentemente do tipo de acionador primário, propiciou ganhos energéticos⁷¹ (PTE_{el} e $\text{PRE}_{\text{el}}^{\text{vin}}$) em relação aos cenários baseados no emprego do biogás- CH_4 , seja este oriundo de plantas de biodigestão com ou sem separação de fases (Tabela 30). Utilizando-se os cenários com MCI (safra) como exemplo, comparativamente à biodigestão sem separação de fases (CE-5) e com separação de fases, mas sem o aproveitamento energético direto do biogás- H_2 (CE-1 e CE-2), a $\text{PRE}_{\text{el}}^{\text{vin}}$ verificada para o cenário com uso do biohythane foi 22,3 e 7,3% superior (Tabela 30 e Figuras 48c-d), respectivamente. Nos cenários com o emprego da TBG, tais valores atingiram respectivamente 29,3 e 5,1% (Tabela 30 e Figuras 48c-d).

⁷¹Nesta seção é dada maior ênfase aos resultados de produção de energia elétrica (eletricidade) a partir do biogás, uma vez que, em um primeiro momento, esta apresenta maior potencial para aplicação/comercialização no contexto das biorrefinarias de açúcar e etanol comparativamente à energia térmica. Entretanto, algumas considerações sobre a recuperação de calor nos processos também são apresentadas ao longo do texto, exaltando-se a eficiência global de recuperação de energia a partir da biodigestão da vinhaça.

Tabela 30. Compilação dos resultados obtidos para geração de energia a partir da vinhaça de cana-de-açúcar simulando-se diferentes acionadores primários.

Cenário energético	Conteúdo energético do biogás (MW) ^{a,b}			PTE _{el} (PTE _{tm}) (MW)			Eletricidade gerada (MWh)			PRE _{el} ^{vin} (safra/ entressafra)	PRE _{el} ^{biog} (safra/ entressafra)
	Safra	Entressafra	Total	Safra	Entressafra	Total	Safra	Entressafra	Total	(kWh m ⁻³ vinhaça)	(kWh m ⁻³ biogás)
CE-1-MCI	18,3	9,3	27,6	7,0 (6,8)	3,6 (3,4)	10,6 (10,2)	33,4·10 ³	11,2·10 ³	44,6·10 ³	18,19 / 13,46	2,22 / 2,22
CE-1-TBG				7,5 (7,8)	3,8 (4,0)	11,3 (11,8)	36,2·10 ³	11,8·10 ³	48,0·10 ³	19,68 / 14,49	2,39 / 2,39
CE-1-CC				10,3 (-)	5,2 (-)	15,5 (-)	49,3·10 ³	16,2·10 ³	65,5·10 ³	26,81 / 19,74	3,26 / 3,26
CE-2-MCI	18,4	9,3	27,7	7,0 (6,8)	3,6 (3,4)	10,6 (10,2)	33,4·10 ³	11,2·10 ³	44,6·10 ³	18,27 / 13,52	2,22 / 2,22
CE-2-TBG				7,5 (7,8)	3,8 (4,0)	11,3 (11,8)	36,3·10 ³	11,8·10 ³	48,1·10 ³	19,75 / 14,49	2,39 / 2,38
CE-2-CC				10,3 (-)	5,2 (-)	15,5 (-)	49,4·10 ³	16,2·10 ³	65,6·10 ³	26,91 / 19,74	3,26 / 3,25
CE-3-MCI	18,7	9,5	28,2	7,5 (7,0)	3,8 (3,5)	11,3 (10,5)	35,8·10 ³	11,8·10 ³	47,6·10 ³	19,50 / 14,37	1,79 / 1,78
CE-3-TBG				7,9 (8,3)	4,0 (4,2)	11,9 (12,5)	38,0·10 ³	12,5·10 ³	50,5·10 ³	20,68 / 15,17	1,89 / 1,88
CE-3-CC				10,8 (-)	5,5 (-)	16,3 (-)	51,9·10 ³	17,2·10 ³	69,1·10 ³	28,23 / 20,71	2,58 / 2,57
CE-4-MCI	19,3	9,8	29,1	7,4 (7,0)	3,8 (3,5)	11,2 (10,5)	35,6·10 ³	11,8·10 ³	47,4·10 ³	19,41 / 14,36	2,36 / 2,36

Tabela 30. Compilação dos resultados obtidos para geração de energia a partir da vinhaça de cana-de-açúcar simulando-se diferentes acionadores primários (cont.).

Cenário energético	Conteúdo energético do biogás (MW) ^{a,b}			PTE _{el} (PTE _{tm}) (MW)			Eletricidade gerada (MWh)			PRE _{el} ^{vin} (safra/ entressafra) (kWh m ⁻³ vinhaça)	PRE _{el} ^{biog} (safra/ entressafra) (kWh m ⁻³ biogás)
	Safra	Entressafra	Total	Safra	Entressafra	Total	Safra	Entressafra	Total		
CE-4-TBG	19,3	9,8	29,1	7,9 (8,2)	4,0 (4,2)	11,9 (12,4)	37,9·10 ³	12,5·10 ³	50,4·10 ³	20,61 / 15,17)	2,50 / 2,50
CE-4-CC				10,7 (-)	5,5 (-)	16,2 (-)	51,7·10 ³	17,2·10 ³	68,9·10 ³	28,06 / 20,66	3,40 / 3,40
CE-5-MCI	14,9	7,2	22,1	6,1 (5,1)	2,8 (2,7)	8,9 (7,8)	29,3·10 ³	8,7·10 ³	38,0·10 ³	15,95 / 10,52	1,86 / 1,86
CE-5-TBG				6,1 (6,4)	3,0 (3,1)	9,1 (9,5)	29,4·10 ³	9,4·10 ³	38,8·10 ³	15,99 / 11,25	1,99 / 1,99
CE-5-CC				8,4 (-)	4,0 (-)	12,4 (-)	40,1·10 ³	12,5·10 ³	52,6·10 ³	21,83 / 15,36	2,71 / 2,71

Notas: ^aConteúdo energético = PCI · Q_{biogás}; ^bBiogás = biogás-CH₄ ou biohythane.

Siglas: PTE_{el} = produção total de energia elétrica; PTE_{tm} = produção total de energia térmica; PRE_{el}^{vin} = produtividade de energia elétrica pela vazão de vinhaça; PRE_{el}^{biog} = produtividade de energia elétrica pela vazão de biogás.

Figura 48. Produção total de energia (PTE) na (a) safra e (b) entressafra, produtividade de energia pela vazão de vinhaça (PRE^{vin}) na (c) safra e (d) entressafra e produtividade de energia pela vazão de biogás (PRE^{biog}) na (e) safra e (d) entressafra para diferentes acionadores primários. Legenda: cenários energéticos (CE-1 – CE-5); acionadores primários (MCI = motor de combustão interna; TBG = turbina a gás; CC = ciclo combinado).

Figura 49. Eficiência de conversão total e elétrica nos diferentes acionadores primários simulados. Nota: $^a\eta_{el} = \eta_{total}$. Legenda: cenários energéticos (CE-1 – CE-5); acionadores primários (MCI = motor de combustão interna; TBG = turbina a gás; CC = ciclo combinado).

De fato, independentemente do tipo de acionador primário, a eficiência de conversão nos cenários com biohythane mostrou-se superior aos demais casos (Figura 49). Estes resultados corroboram os usualmente observados em experimentos que investigam o desempenho de acionadores, principalmente motores, submetidos à aplicação de misturas hidrogênio/metano, destacando-se que nesta pesquisa foram observados ganhos energéticos mesmo para a simulação da aplicação do biogás- H_2 sem remoção de CO_2 .

Conforme abordado na seção 3.3.1, p. 81, a mistura do hidrogênio ao metano, seja este proveniente do gás natural ou biogás, propicia uma série de vantagens ao processo de combustão, decorrentes do aumento da faixa de inflamabilidade e da velocidade de chama do metano, bem como da redução de sua temperatura de ignição (Karim et al., 1996; Park et al., 2011; Liu et al., 2013). Tais características propiciam uma queima mais eficiente do combustível primário (CH_4), reduzindo perdas de calor para vizinhança, sobretudo em motores. Considerando especificamente o emprego do biogás como combustível, a adição de hidrogênio tende a minimizar os efeitos da diluição causada pela presença do gás carbônico,

fato que favorece o emprego de condições de excesso de ar (Çeper, 2012), tais como aquelas utilizadas nas simulações nesta pesquisa⁷². Destaca-se que a proporção de hidrogênio em relação à quantidade de biogás-CH₄ no cenário CE-3 correspondeu a 12,1⁷³ e 16,2%⁷⁴, respectivamente nos períodos de safra e entressafra, caracterizando um valor dentro da faixa comumente observada nos estudos baseados na aplicação do hythane® obtido por vias não biológicas (10-25%, Liu et al., 2013).

Em termos da produção de energia pela vazão de biogás (Tabela 30 e Figuras 48e-f), entretanto, o emprego do biohythane (CE-3) indicou valores aproximadamente 20-25% inferiores aos obtidos para os demais cenários com separação do processo de biodigestão (CE-1, CE-2 e CE-4), fato que pode ser explicado pela maior vazão de biogás aplicada nos motores ou turbinas neste caso. A vazão de biohythane foi aproximadamente 32,6% superior à de biogás-CH₄ nos cenários sem aproveitamento energético do hidrogênio (CE-1 e CE-2) ou com injeção deste no reator metanogênico (CE-4) (Tabela 28).

Considerando a purificação do biogás-H₂ com posterior injeção do H₂ na fase metanogênica (CE-4), os resultados obtidos foram semelhantes aos observados para o uso do biohythane. Neste caso, o incremento na PTE_{el} e PRE_{el}^{vin} , comparado à biodigestão com separação de fases sem o aproveitamento energético do biogás-H₂ (CE-1 e CE-2), resultou do incremento no poder calorífico do biogás-CH₄ pelo aumento da proporção de metano (21,96 vs. 20,92 MJ m⁻³, 55°C, Tabela 28). A literatura apresenta poucos relatos de experimentos baseados na aplicação de hidrogênio em reatores metanogênicos, com o objetivo de estimular a metanogênese hidrogenotrófica ($4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$, Reação 1, p. 88) e, simultaneamente, incrementar a produção de metano, propiciar o consumo de gás carbônico e melhorar a qualidade e as propriedades de combustão do biogás. Dentre os poucos trabalhos, Vatsala (1992), Luo e Angelidaki (2012) e Luo et al. (2012) reportaram aumentos na produção de metano na faixa de 22 a 30% em comparação a sistemas operados sem a injeção de H₂, caracterizando valores consideravelmente superiores ao estimado neste trabalho para o cenário CE-4 (aumento de 5,7% na proporção de metano: 70,6 vs. 74,7%, Tabela 28). Tais diferenças decorrem basicamente de dois aspectos, resultantes de menores vazões de biogás-CH₄ nos estudos citados, tendo em vista a aplicação de menores cargas nos reatores, e,

⁷²Simulações com MCI a partir do emprego da razão ar-combustível estequiométrica levaram a perdas no desempenho do motor a partir do emprego do biohythane (CE-3), utilizando-se os demais cenários contemplando a biodigestão com separação de fases como referência (CE-1, CE-2 e CE-4). De acordo com Porpatham et al. (2008), maiores concentrações de oxigênio, i.e., admissão de ar em excesso no motor, propiciam maiores taxas de liberação de calor no processo de combustão, fato que também favorece o papel do hidrogênio como potencializador da produção de energia elétrica.

⁷³Valor calculado a partir da razão entre a vazão de hidrogênio no biogás-H₂, i.e., 381,38 m³ h⁻¹ (safra, Tabela 28), e vazão total de biogás-CH₄ (3.160,60 m³ h⁻¹, Tabela 28).

⁷⁴Valor calculado a partir da razão entre a vazão de hidrogênio no biogás-H₂, i.e., 260,69 m³ h⁻¹ (entressafra, Tabela 28), e a vazão total de biogás-CH₄ (1.605,90 m³ h⁻¹, Tabela 28).

particularmente no caso de Luo et al. (2012), da aplicação de H₂ puro (produzido via eletrólise da água) nos reatores, possibilitando o emprego de maiores vazões em comparação ao H₂ produzido na via biológica.

Eventuais prejuízos à atividade acetogênica, relacionados à disponibilização de H₂ em excesso nesse tipo de configuração, conforme indicado anteriormente⁷⁵, teoricamente seriam evitados a partir da utilização do ASTBR, baseando-se na resistência à transferência de massa intrínseca a reatores de leito fixo. Destaca-se, entretanto, a necessidade de remoção de CO₂ da corrente de biogás-H₂ previamente à injeção no reator metanogênico, buscando-se evitar problemas quanto ao balanço de carbono inorgânico no meio, bem como a diluição do biogás-CH₄ pelo excesso de CO₂ fornecido na corrente de biogás-H₂⁷⁶. Tal característica compreende o principal ponto limitante em comparação ao cenário CE-3, uma vez que neste a remoção de CO₂ não se mostrou necessária, observando-se inclusive níveis ligeiramente superiores de geração de eletricidade (Tabela 30).

Retomando a comparação dos cenários, destacam-se os ganhos na recuperação de energia a partir da separação de fases do processo de biodigestão. Independentemente do tipo de acionador primário utilizado, a PTE_{el} e a PRE_{el}^{vin} (Tabela 30 e Figuras 48a-d) mostraram-se aproximadamente 20% inferiores no processo de biodigestão em fase única (CE-5) no período de safra, utilizando-se como referência os cenários com separação de fases sem o aproveitamento energético direto do biogás-H₂ (CE-1 e CE-2). Em comparação ao uso do biohythane para produção de energia (CE-3), tal valor ficaria na faixa de 25 a 30%, dependendo do tipo de tecnologia de conversão. Tais resultados decorrem da melhora de desempenho esperada para sistemas anaeróbios submetidos à separação das etapas acidogênica e metanogênica, tendo em vista os aspectos previamente elencados, em especial o aumento na biodegradabilidade de compostos orgânicos complexos e a consequente menor suscetibilidade da etapa metanogênica a sobrecargas orgânicas. Utilizando-se dados comparativos da literatura, em Luo et al. (2011) e Ferraz Jr. et al. (2016) o incremento na extração de energia a partir de sistemas anaeróbios combinados compreendeu, respectivamente, 11 e 25,7%. No caso de Nasr et al. (2012) tal valor chegou a 18,5%, utilizando-se vinhaça de milho como substrato.

⁷⁵Recapitulando da seção 3.3.1, p. 81, a disponibilização de H₂ em quantidades excessivas tende a inibir a atividade acetogênica, limitando a degradação do HPr ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 3\text{H}_2 + \text{CO}_2$, Reação 2, p. 89) e do HBu ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$, Reação 3, p. 89). Para tanto, é interessante a imposição de certa resistência à transferência de massa no meio, buscando-se evitar tais efeitos adversos. Esta condição, entretanto, não tende a prejudicar a atividade das arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, considerando sua maior afinidade pelo hidrogênio molecular.

⁷⁶Embora na mistura do biogás-H₂ e do biogás-CH₄ para formação do biohythane tenha ocorrido uma diluição do PCI do biogás-CH₄ (Tabela 28), as melhores propriedades de queima do hidrogênio provavelmente compensaram os efeitos da diluição.

Considerando a PRE_{el}^{biog} (Tabela 30), comportamento semelhante foi observado na comparação do processo em fase única (CE-5) com os demais cenários que consideram separação de fases (excluindo-se o uso do biohythane, i.e., CE-1, CE-2 e CE-4), sendo a PRE_{el}^{biog} cerca de 15-20% inferior no primeiro. Tal diferença é consequência direta do menor PCI do biogás-CH₄ neste caso (17,45 MJ m⁻³, 55°C, Tabela 28), tendo em vista a menor proporção de metano no biogás resultante da fase única. Em comparação ao biohythane (CE-3), a PRE_{el}^{biog} calculada foi superior na biodigestão em fase única (CE-5), fato que decorre novamente do aumento expressivo da corrente de biogás afluyente à planta de geração de energia no caso da mistura das correntes de biogás-H₂ e biogás-CH₄.

Focando a análise no desempenho dos acionadores primários considerados, independentemente do cenário energético, os melhores resultados foram observados para as simulações com ciclo combinado, conforme esperado. A recuperação do calor no ciclo Rankine, a partir do acoplamento da turbina a vapor, possibilitaria a obtenção de eficiências de conversão elétrica superiores a 50% (Figura 49). Em comparação à recuperação de calor nos sistemas de cogeração e, tendo em vista a autossuficiência das usinas em termos da produção da energia térmica (vapor) requerida no processo (Cavalett et al., 2012), o incremento da geração de energia elétrica por meio do ciclo combinado pode representar uma alternativa atrativa do ponto de vista econômico, levando a uma maior receita com a venda de eletricidade, conforme abordado nas próximas seções.

Por fim, algumas considerações sobre a geração de energia térmica a partir do biogás são pertinentes neste ponto. Em geral, a implantação de acionadores primários acoplados a sistemas de recuperação de calor (cenários com MCI e TBG) levaria a eficiências globais de conversão de energia na faixa de 80-85% (Figura 49), observando-se proporções equivalentes para as conversões elétrica e térmica (Figura 48). Tais valores ressaltam a potencial utilização da vinhaça como fonte de energia nas biorrefinarias, de modo que, dentre as aplicações da energia térmica, verifica-se a possibilidade do emprego direto nos processos industriais, tais como em etapas de secagem e no acionamento de equipamentos, bem como no aquecimento de edifícios (EPA, 2015; Moraes et al., 2015). Baseando-se na configuração atualmente observada nas biorrefinarias da agroindústria brasileira, a eventual utilização da energia térmica produzida a partir do biogás poderia se dar, por exemplo, a partir da substituição do vapor de baixa pressão como fonte de calor complementar em processos de tratamento e evaporação do caldo e destilação do etanol, embora se adiante a necessidade de estudos que apontem a viabilidade de tais modificações. Particularmente, a energia térmica pode ser revertida diretamente para a planta de biodigestão, considerando a secagem do lodo resultante dos descartes de biomassa, bem como a manutenção da temperatura nos reatores.

5.3.1.1 Recuperação de Energia a partir do Biogás Gerado nas Destilarias

Baseando-se especificamente na produção de energia elétrica obtida a partir das simulações, determinou-se o potencial de recuperação da energia do biogás resultante da biodigestão da vinhaça utilizando-se diferentes valores de referência, tais como dados da geração hidroelétrica e termoelétrica (a partir do bagaço e fontes fósseis) no Brasil. Nas Figuras 50 e 51 são apresentados, respectivamente, os valores do potencial energético (PE) da vinhaça estimados para cada cenário e dados comparativos de produção de energia (elétrica) a partir do biogás reportados em trabalhos correlatos. O PE obtido para os cenários com separação de fases no processo de biodigestão (CE-1 a CE-4) atingiu valores nas faixas de 0,56-0,87 MJ L⁻¹_{EtOH} ou 8,35-12,97 kWh TC⁻¹ (safra) e 0,42-0,65 MJ L⁻¹_{EtOH} ou 6,52-10,04 kWh TC⁻¹ (entressafra), caracterizando patamares cerca de 15-25% superiores aos observados para os cenários contemplando a biodigestão em fase única (Figura 50), i.e., 0,49-0,67 MJ L⁻¹_{EtOH} ou 7,33-10,03 kWh TC⁻¹ (safra) e 0,33-0,48 MJ L⁻¹_{EtOH} ou 5,10-7,45 kWh TC⁻¹ (entressafra).

Com relação ao PE estimado para a vinhaça em outros trabalhos (0,44-2,61 MJ L⁻¹_{EtOH}, Figura 51a), os valores obtidos neste estudo apresentaram-se em uma faixa intermediária, devendo-se apresentar algumas considerações sobre as estimativas. Embora diferentes condições tenham sido ponderadas em cada situação comparada, p.ex., capacidade de moagem da usina, proporção de vinhaça gerada, concentração de matéria orgânica no efluente, PCI do biogás, dentre outros aspectos, infere-se a provável superestimação do PE da vinhaça a partir de valores muito superiores aos obtidos para os cenários com CC neste estudo (0,83-0,87 MJ L⁻¹_{EtOH}, período de safra, CE-1 a CE-4, Figura 50a), uma vez que nestes casos simulou-se o aproveitamento máximo do biogás em termos da geração de energia elétrica. Além disso, em comparação às estimativas, o emprego de simulações permite a obtenção de resultados mais condizentes com a realidade, levando a valores de produção de energia potencialmente alcançáveis nas plantas industriais.

Comparando-se os valores de PTE_{el} (Figura 51b), os maiores valores observados neste estudo, mesmo ao se considerar apenas dados do período de safra (7,0-10,8 MW), decorrem principalmente de diferenças no porte das plantas produtivas simuladas, o qual influencia o volume de vinhaça gerada durante a operação da planta. A título de exemplificação, Rocha et al. (2010) e Moraes et al. (2014) consideraram dados de uma usina com capacidade de processamento igual a 2 MTC por safra, valor 50% inferior ao do cenário base usado neste estudo. No caso de Albanez et al. (2016) a capacidade de processamento da usina considerada foi de 3,3 MTC por safra. Maiores discrepâncias entre os valores de PE e PTE_{el} não foram

observadas devido à menor proporção de vinhaça gerada na planta considerada neste estudo (~8,6, Tabela 28 vs. ~10-15, Tabela 5, p. 92). Apenas destaca-se o caso de Albanez et al. (2016), trabalho no qual foi estimada uma PTE_{el} (17 MW, Figura 51b) equiparável aos valores obtidos para produção de energia elétrica acumulada nos períodos de safra e entressafra neste estudo (10,3-16,3 MW, Figura 51b), atentando-se, novamente, para a provável superestimação do potencial energético da vinhaça no referido caso.

Figura 50. Potencial energético (PE) estimado para a vinhaça nos diferentes cenários avaliados para os períodos de (a) e (b) safra e (c) e (d) entressafra.

Figura 51. Comparativo entre a produção de energia elétrica no presente estudo e trabalhos correlatos consultados na literatura: (a) potencial energético (PE) e (b) produção total de energia elétrica (PTE_{el}). Notas: Valores referentes aos cenários ^aCE-3-CC (safra); ^bCE-1-MCI (entressafra); ^cCE-3-CC (safra + entressafra); ^dCE-1-MCI (safra + entressafra); ^eCE-3-CC (safra) e ^fCE-1-MCI (safra). Valores comparativos de PE estimados conforme indicado na Tabela 5, p. 92.

Ainda analisando-se a PTE_{el} nos cenários propostos, é importante ressaltar que a operação das biorrefinarias no período de entressafra poderia propiciar um incremento de aproximadamente 50% na produção de eletricidade a partir do biogás, utilizando-se os valores obtidos para a safra como referência (Tabela 30). Apesar do valor expressivo, ressalta-se novamente que, para fins de simulação, assumiu-se que o sistema de biodigestão apresentaria o mesmo desempenho durante todo o período operacional, independentemente do tipo de cana-de-açúcar processada, i.e., convencional (safra) ou energia (entressafra) e, conseqüentemente, das características composicionais da vinhaça. Portanto, simulações mais

adequadas para a biodigestão no período de entressafra ainda requerem o emprego de parâmetros de desempenho experimentalmente obtidos a partir de vinhaças de cana energia (muito semelhantes às provenientes de usinas autônomas). De qualquer forma, os valores apresentados neste estudo fornecem uma base consistente para entender a maximização da recuperação de energia por meio da biodigestão da vinhaça em biorrefinarias futuras, tendo em vista a operação das destilarias durante o período de entressafra.

Em termos de comparações mais amplas e, utilizando-se inicialmente o consumo de eletricidade nas biorrefinarias como referência (21,1 kWh TC⁻¹, CONAB, 2011), a energia elétrica proveniente do biogás (8,35-12,97 kWh TC⁻¹, período de safra, CE-1 a CE-4, Figura 50b) poderia suprir entre 40-60% da demanda nos processos, dependendo do acionador primário considerado. Baseando-se na produção termoeleétrica a partir da queima do bagaço nos sistemas de cogeração (46,2 kWh TC⁻¹, CONAB, 2011), incrementos superiores a 50% poderiam ser observados na quantidade de eletricidade exportada para a rede (25,1 kWh TC⁻¹, CONAB, 2011) em plantas com ciclo combinado. Para o caso específico da usina simulada neste estudo, o incremento na fração de eletricidade excedente a partir da inserção da energia do biogás chegaria a no máximo 7%, resultado diretamente associado à otimização⁷⁷ dos processos e operações na planta e à queima de 50% da palha nas unidades de cogeração, em adição ao bagaço. Em termos da recuperação de calor nos cenários com MCI e TBG (8,17-9,94 kWh TC⁻¹), pouco mais do que 2-3% da energia térmica consumida nas destilarias (300 kWh TC⁻¹, Lamonica, 2007) teoricamente poderiam ser supridos a partir do biogás, o que caracteriza a maximização da produção de energia elétrica a partir do biogás como uma opção mais atrativa ao setor sucroalcooleiro.

A energia elétrica produzida por meio da biodigestão da vinhaça na usina simulada poderia abastecer populações superiores a 140 e 60 mil habitantes⁷⁸ respectivamente nos períodos de safra e entressafra, utilizando-se como base os cenários com CC, corroborando a relevância das biorrefinarias para autoprodução e geração distribuída de eletricidade⁷⁹. Segundo dados do Ministério de Minas e Energia (MME), o setor sucroalcooleiro concentra a maior autoprodução de eletricidade na indústria brasileira, respondendo por mais de 47% do

⁷⁷Conforme indicado na seção 4.3, p. 124, o cenário base usado neste trabalho incluiu uma usina otimizada, caracterizada pela inclusão de alternativas tecnológicas para aumentar a eficiência do aproveitamento energético, sobretudo vapor, nos processos, bem como reduzir perdas na recuperação de etanol (Cavalett et al., 2012). A otimização energética, associada ao emprego da palha como combustível complementar nas caldeiras, confere à usina simulada uma maior geração de eletricidade excedente em comparação à usualmente observada nas destilarias, por isso a menor a capacidade de recuperação energética do biogás proveniente da biodigestão da vinhaça neste caso específico.

⁷⁸Estimativa baseada em um consumo residencial mensal de 163 kWh (EPE, 2014), assumindo-se um número médio de três habitantes por residência, i.e., consumo per capita de 54,3 kWh hab⁻¹ mês⁻¹.

⁷⁹A geração distribuída (ou descentralizada) de eletricidade aproxima as unidades produtoras dos consumidores, levando a importantes vantagens sobre a geração centralizada, tais como reduções nos investimentos e nas perdas em linhas de transmissão.

total⁸⁰. Em uma análise mais ampla e, novamente focando na produção de energia elétrica, a produção total de eletricidade a partir do biogás nas destilarias brasileiras na safra 2014/2015 atingiria valores na faixa de $4,4\text{-}6,9 \cdot 10^6$ MWh (equivalente 841-1.319 MW em termos de potência⁸¹), baseando-se no PE estimado nos cenários com separação de fases na biodigestão no período de safra (CE-1 a CE-4, Figura 50a) e em uma produção total de etanol equivalente a 28,66 bilhões de litros no referido período (CONAB, 2015). Utilizando-se a produção termoeletrica total a partir da queima do bagaço em 2014 no Brasil ($32,6 \cdot 10^6$ MWh, UNICA, 2016) como referência, a energia obtida a partir da vinhaça corresponderia de 13,8 a 21,2% desta, dependendo do acionador primário. Em relação ao total de termoeletricidade exportada para rede ($19,4 \cdot 10^6$ MWh, UNICA, 2016), i.e., descontando-se as parcelas de eletricidade consumidas nas próprias usinas, incrementos na faixa de 23,0-35,7% poderiam ser observados.

Em outra comparação, utilizando-se dados da geração hidro- e termoeletrica brasileira como referência, contribuição expressiva do potencial energético da vinhaça para o abastecimento dos consumidores também poderia ser observada. Na Figura 52 é apresentado um comparativo entre a quantidade de eletricidade potencialmente recuperável a partir do biogás e a potência instalada das maiores usinas hidro- e termoeletricas em operação no Brasil, baseando-se em dados de dezembro de 2014. No caso das usinas termoeletricas, foram considerados dados de plantas operadas com óleo combustível e carvão mineral. Com referência à geração hidrelétrica, com base na faixa de potência elétrica passível de produção a partir do biogás para a safra 2014/2015 ($PE_{\text{biog}}^{2014/2015}$, 841-1.319 MW), cerca de 15-20% da produção das usinas de Tucuruí e Itaipu⁸², maiores plantas geradoras do Brasil, poderiam ser recuperados no caso da aplicação do ciclo combinado ao biohythane (Figure 52a, cenário CE-3-CC), observando-se valores superiores a 80% ao se considerar usinas de menor porte. Mesmo ao se considerar dados do cenário CE-1-MCI, associado ao menor PE dentre os cenários avaliados com separação de fases na biodigestão, cerca de 50% da potência instalada de usinas como as de São Simão e Jupiá (Figura 52a) poderiam ser substituídos pela energia do biogás.

Patamares ainda mais expressivos seriam verificados em relação às usinas térmicas, conforme observado nas Figuras 52b-c. Somando-se a potência das dez usinas a base de óleo combustível listadas na Figura 52b (2.416 MW), a energia do biogás supriria cerca de 35-55%

⁸⁰Capacidade total equivalente a 20.898 MW (dados de dezembro de 2014), englobando, além da autoprodução de eletricidade nas usinas, parcelas provenientes da indústria siderúrgica, de papel e celulose, mineração, agropecuária, dentre outras (MME, 2015).

⁸¹Valores de potência elétrica calculados para uma duração média da safra nacional de cana-de-açúcar equivalente a 218 dias (CONAB, 2011).

⁸²Utilizando-se apenas a produção nacional da usina (7.000 MW) como referência.

do total, dependendo do cenário energético considerado, de modo que a produção de 7-8 usinas⁸³ poderia ser completamente substituída pela bioenergia do biogás no cenário mais favorável (CE-3-CC). No caso das termoeletricas operadas com carvão (PTM = 3.277 MW), tais valores ficariam na faixa de 25-40%. Desta forma, os resultados obtidos por meio da simulação do PE da biodigestão como tecnologia central no tratamento da vinhaça indicam sua relevância ao setor sucroenergético, enfatizando-se o desperdício energético associado à aplicação da vinhaça *in natura* na fertirrigação. Todavia, embora os melhores cenários energéticos tenham sido observados para a biodigestão com separação de fases associada ao emprego do ciclo combinado na geração de eletricidade, ressalta-se a necessidade da consideração de aspectos econômicos e ambientais para adequada definição da viabilidade das opções tecnológicas consideradas, conforme abordado nas próximas seções.

5.3.2 Avaliação Tecnológica: Aspectos Econômicos

Em termos da análise econômica, inicialmente destacam-se aspectos da estimativa do investimento com as plantas de biodigestão, baseando-se na construção de reatores e tanques e aquisição de equipamentos. Conforme indicado anteriormente, a estimativa dos custos de instalação da planta de biodigestão de vinhaça teve auxílio do Dr. Moacir Messias de Araujo Junior (Bio Proj Tecnologia Ambiental), consultor técnico na área de projeto, implantação e operação de estações de tratamento de águas residuárias. Nas Tabelas 31 e 32 são listados, respectivamente para os sistemas com e sem separação de fases, os equipamentos e unidades permanentes (obras de construção civil) considerados, incluindo a capacidade, a quantidade e o custo de cada item. Por sua vez, os fluxogramas de processo simplificados das plantas de biodigestão são apresentados nos Apêndices B (biodigestão em duas fases, p. 335) e C (biodigestão em fase única, p. 341).

A separação de fases do processo de biodigestão (Tabela 31) levaria a um investimento aproximadamente 63% superior em comparação ao sistema em fase única (Tabela 32), observando-se influência direta das obras civis nos custos estimados. Embora na etapa metanogênica do processo com separação de fases um menor custo seria observado para instalação dos reatores (R\$ 11,8 vs. 14,2 milhões, Tabelas 31 e 32), a necessidade de um tanque de equalização adicional para coleta da vinhaça acidificada e ajuste do pH/alcalinidade levaria a um investimento com obras de construção civil ligeiramente superior (R\$ 15,8 milhões, Tabela 31) nesta configuração.

⁸³ Aparecida (241 MW), Pernambuco III (201 MW), Santana (178 MW), Palmeiras de Goiás (176 MW), Viana (175 MW), Termoparaíba (171 MW), Termonordeste (171 MW) e Campina Grande (169 MW) (MME, 2015).

Figura 52. Contribuição da eletricidade recuperável a partir da biodigestão da vinhaça em relação à geração (a) hidro- e (b) e (c) termoeletrica brasileira: Notas: ^aPotência elétrica referente ao lado nacional da usina (7.000 MW); ^bUsinas térmicas operadas com óleo combustível; ^cUsinas térmicas operadas com carvão mineral. Dados de potência hidro- e termoeletrica (PHE e PTM, respectivamente) obtidos a partir de MME (2015).

Tabela 31. Obras de engenharia e equipamentos necessários para instalação da planta de biodigestão com separação de fases na biorrefinaria.

Etapa do processo	Obra civil/ Equipamento	Identificação ^a	Material	Capacidade	Quantidade	Valor (R\$)	
						Unitário	Total
Equalização	Tanque de equalização	TQ-01	Concreto armado	1.051,25 m ³	3	R\$ 1.366.625,00 ^b	R\$ 4.099.875,00
Fase acidogênica	Bomba dosadora	BD-01	-	15,95 L min ⁻¹	2	R\$ 5.000,00	R\$ 10.000,00
	Medidor <i>online</i> de pH	pH	-	-	1	R\$ 15.000,00	R\$ 15.000,00
	Bomba centrífuga (alimentação reatores)	BC-01	-	127,60 m ³ h ⁻¹	4	R\$ 17.150,72	R\$ 68.602,86
	Reator de leito fixo empacotado	RE-01	Concreto armado	1.820,00 m ³	3	R\$ 2.366.000,00	R\$ 7.098.000,00
	Material suporte 01	PEBD	Polietileno de baixa densidade	-	1.875,90 m ³	R\$ 2.000,00 ^c	R\$ 3.751.800,00
	Tela para confinamento do meio suporte	TL	Aço inoxidável	-	1.560,00 m ²	R\$ 200,00 ^d	R\$ 312.000,00
	Selo hídrico	SH-01	Aço inoxidável	-	3	R\$ 8.000,00	R\$ 24.000,00
	Medidor de vazão de biogás	VBG	-	-	1	R\$ 20.000,00	R\$ 20.000,00
Fase metanogênica	Tanque de equalização	TQ-02	Concreto armado	3.062,46 m ³	1	R\$ 3.981.198,00	R\$ 3.981.198,00
	Bomba centrífuga (recirculação)	BC-02	-	ndf	2	R\$ 10.295,81	R\$ 20.591,61
	Medidor <i>online</i> de pH	pH	-	-	1	R\$ 15.000,00	R\$ 15.000,00
	Bomba dosadora	BD-02	-	ndf	2	R\$ 5.000,00	R\$ 10.000,00
	Bomba centrífuga (alimentação reatores)	BC-03	-	76,60 m ³ h ⁻¹	6	R\$ 10.295,81	R\$ 61.774,84
	Reator de leito fixo estruturado	RE-02	Concreto armado	1.820,00 m ³	5	R\$ 2.366.000,00	R\$ 11.830.000,00
	Material suporte 02	PU	Poliuretano	-	338,00 m ³	R\$ 2.000,00 ^c	R\$ 676.000,00

Tabela 31. Obras de engenharia e equipamentos necessários para instalação da planta de biodigestão com separação de fases na biorrefinaria (cont.).

Etapa do processo	Obra civil/ Equipamento	Identificação ^a	Material	Capacidade	Quantidade	Valor (R\$)	
						Unitário	Total
Fase metanogênica	Tela para confinamento do meio suporte	TL	Aço inoxidável	-	2.600,00 m ²	R\$ 200,00 ^d	R\$ 520.000,00
	Selo hídrico	SH-02	Aço inoxidável	-	5	R\$ 8.000,00	R\$ 40.000,00
	Medidor de vazão de biogás	VBG	-	-	1	R\$ 20.000,00	R\$ 20.000,00
Investimento com obras de construção civil e aquisição de equipamentos							R\$ 32.573.842,31
Investimento total ^e							R\$ 39.088.610,77

Notas: ^aVide Apêndice B, p. 335; ^bInclui custos com materiais, i.e., concreto, estruturas metálicas e de madeira e mão-de-obra para instalação; ^cPor unidade de volume (m³) de meio suporte; ^dPor unidade de área (m²) de tela; ^eInclui custos de instalação (mão-de-obra + equipamentos) mecânico-hidráulica, elétrica e de automação (20% do investimento com obras civis e equipamentos); ndf = não definido.

Tabela 32. Obras de engenharia e equipamentos necessários para instalação da planta de biodigestão em fase única na biorrefinaria.

Etapa do processo	Obra civil/ Equipamento	Identificação ^a	Material	Capacidade	Quantidade	Valor (R\$)	
						Unitário	Total
Equalização	Tanque de equalização	TQ-01	Concreto armado	1.051,25 m ³	3	R\$ 1.366.625,00 ^b	R\$ 4.099.875,00
Fase metanogênica	Bomba centrífuga (recirculação)	BC-02	-	ndf	2	R\$ 8.575,36	R\$ 17.150,72
	Medidor <i>online</i> de pH	pH	-	-	1	R\$ 15.000,00	R\$ 15.000,00
	Bomba dosadora	BD-02	-	ndf	2	R\$ 5.000,00	R\$ 10.000,00
	Bomba centrífuga (alimentação reatores)	BC-03	-	63,80 m ³ h ⁻¹	7	R\$ 8.575,36	R\$ 60.027,51
	Reator de leito fixo estruturado	RE-02	Concreto armado	1.820,00 m ³	6	R\$ 2.366.000,00	R\$ 14.196.000,00
	Material suporte 02	PU	Poliuretano	-	436,80 m ³	R\$ 2.000,00 ^c	R\$ 873.600,00
	Tela para confinamento do meio suporte	TL	Aço inoxidável	-	3.360,00 m ²	R\$ 200,00 ^d	R\$ 672.000,00
	Selo hídrico	SH-02	Aço inoxidável	-	6	R\$ 8.000,00	R\$ 48.000,00
	Medidor de vazão de biogás	VBG	-	-	1	R\$ 20.000,00	R\$ 20.000,00
Investimento com obras de construção civil e aquisição de equipamentos							R\$ 20.011.653,22
Investimento total ^e							R\$ 24.013.983,87

Notas: ^aVide Apêndice C, p. 341; ^bInclui custos com materiais, i.e., concreto, estruturas metálicas e de madeira e mão-de-obra para instalação; ^cPor unidade de volume (m³) de meio suporte; ^dPor unidade de área (m²) de tela; ^eInclui custos de instalação (mão-de-obra + equipamentos) mecânico-hidráulica, elétrica e de automação (20% do investimento com obras civis e equipamentos); ndf = não definido

Na Figura 53 são apresentados os valores estimados para o investimento total das plantas de biodigestão e geração de energia em cada cenário, observando-se valores nas faixas de R\$ 85,07 a 103,51 milhões e R\$ 63,79 a 68,41 milhões respectivamente para configurações com e sem separação de fases. Em todos os casos o investimento com a planta de geração de energia contabilizou parcelas superiores a 50% do total, independentemente do acionador primário, sendo os maiores valores associados aos casos baseados na simulação das TBG. Tal fato decorre do maior custo do sistema de recuperação de energia térmica, utilizando-se como referência o acoplamento da TBV como alternativa. Em termos da remoção de CO₂ do biogás-H₂ (CE-2 e CE-4), cerca de 7-8% do investimento total seriam destinados ao sistema de purificação (Figura 53), enquanto que parcelas inferiores a 1% seriam necessárias para instalação do sistema de remoção de H₂S do biogás-CH₄. Por fim, comparativamente ao investimento com a biorrefinaria (R\$ 1.079,52 milhões), o custo de instalação da planta de biodigestão e geração de energia seria inferior a 10% do total, independentemente do cenário energético.

Baseando-se na análise de diferentes indicadores (Tabela 33 e Figura 54), a biodigestão da vinhaça mostrou-se economicamente viável em todos os cenários analisados, tendo em vista a obtenção de valores positivos para o VPL e de valores de TIR superiores à TMA (referência igual a 12%). Inicialmente destaca-se que para um mesmo cenário energético, a alteração do tipo de acionador primário levou a alterações mínimas nos valores de VPL, TIR e tempo de retorno do investimento (Tabela 33), embora as melhores condições, i.e., maiores VPL e TIR e menores tempos de retorno, sempre tenham sido associadas ao uso do ciclo combinado. Considerando os cenários com separação de fases do processo anaeróbio, a opção sem o aproveitamento do biogás-H₂ (CE-1) apresentou os maiores valores para o VPL e a TIR, os quais decresceram ligeiramente para os casos com purificação e venda do biogás-H₂ (CE-2), geração de energia a partir do biohythane (CE-3) e purificação e injeção do biogás-H₂ na fase metanogênica (CE-4), nesta ordem (Tabela 33).

Embora uma menor geração de energia tenha sido reportada para o cenário CE-1, utilizando-se os cenários CE-3 e CE-4 como referência, características específicas de cada configuração explicam o comportamento observado para os indicadores econômicos, tais como: a instalação do sistema de purificação de biogás-H₂ em CE-2 e CE-4 (Figura 53a) e o maior investimento com a planta geração de energia em CE-3 e CE-4, baseando-se no maior conteúdo energético⁸⁴ dos gases nestes casos (biohythane e biogás-CH₄ com maior teor de CH₄, respectivamente, Tabela 30, p. 252).

⁸⁴Um maior conteúdo energético implica um maior número de acionadores primários para garantir um aproveitamento eficiente do biocombustível, levando a maiores custos de investimento.

Figura 53. (a) Investimento total com as plantas de biodigestão e de geração de energia e (b) distribuição relativa do investimento segundo os diferentes componentes das plantas.

Tabela 33. Indicadores econômicos e custos de produção obtidos a partir da análise econômica da biodigestão da vinhaça segundo diferentes cenários.

Estratégia de alcalinização/ajuste de pH ^a	Indicador econômico	Cenário					
		CB-0	CE-1 (variação ^b , %)	CE-2 (variação ^b , %)	CE-3 (variação ^b , %)	CE-4 (variação ^b , %)	CE-5 (variação ^b , %)
NaHCO ₃ -total ^c	VPL (R\$ milhões)	1.135,45	834,90-850,86 (1,9)	819,76-835,77 (1,9)	807,29-824,09 (2,1)	807,21-823,92 (2,1)	640-83-650,91 (1,6)
	VPL/Investimento	1,05	0,71-0,73 (2,4)	0,69-0,71 (2,4)	0,69-0,70 (2,6)	0,68-0,70 (2,6)	0,56-0,57 (2,0)
	TIR (%)	23,89	20,41-20,59 (0,9)	20,23-20,41 (0,9)	20,14-20,33 (0,9)	20,10-20,29 (0,9)	18,75-18,87 (0,6)
	Tempo de retorno descontado (anos)	5,18	6,57-6,66 (1,4)	6,67-6,76 (1,6)	6,70-6,81 (1,5)	6,73-6,83 (1,5)	7,59-7,67 (1,1)
	Custo do etanol (R\$ L ⁻¹)	0,88	1,00 (-)	1,01 (-)	1,01 (-)	1,01 (-)	1,08-1,09 (0,9)
	Custo da eletricidade (R\$ MWh ⁻¹)	86,89	98,49-98,96 (0,5)	99,29-99,76 (0,5)	99,61-100,10 (0,5)	99,54-100,03 (0,5)	106,98-107,26 (0,3)
NaHCO ₃ -partida ^d	VPL (R\$ milhões)	1.135,45	1.033,71-1.049,67 (1,5)	1.018,56-1.034,57 (1,6)	1.006,10-1.022,89 (1,7)	1.006,02-1.022,72 (1,7)	1.017,62-1.027,67 (1,0)
	VPL/Investimento	1,05	0,88-0,90 (2,0)	0,86-0,88 (2,1)	0,86-0,87 (2,2)	0,85-0,87 (2,2)	0,87-0,90 (0,6)
	TIR (%)	23,89	22,17-22,36 (0,8)	21,99-22,17 (0,8)	21,91-22,10 (0,9)	21,86-22,05 (0,9)	22,23-22,35 (0,6)
	Tempo de retorno descontado (anos)	5,18	5,75-5,82 (1,3)	5,83-5,90 (1,3)	5,85-5,93 (1,3)	5,88-5,95 (1,3)	5,75-5,80 (0,9)

Tabela 33. Indicadores econômicos e custos de produção obtidos a partir da análise econômica da biodigestão da vinhaça segundo diferentes cenários (cont.).

Estratégia de alcalinização/ajuste de pH ^a	Indicador econômico	Cenário					
		CB-0	CE-1 (variação ^b , %)	CE-2 (variação ^b , %)	CE-3 (variação ^b , %)	CE-4 (variação ^b , %)	CE-5 (variação ^b , %)
NaHCO ₃ -partida ^d	Custo do etanol (R\$ L ⁻¹)	0,88	0,91-0,92 (1,1)	0,92-0,93 (1,1)	0,93 (-)	0,93 (-)	0,92-0,93 (1,1)
	Custo da eletricidade (R\$ MWh ⁻¹)	86,89	90,22-90,66 (0,5)	91,06-91,50 (0,5)	91,34-91,80 (0,5)	91,27-91,73 (0,5)	91,23-91,50 (0,3)
NaOH-total ^c	VPL (R\$ milhões)	1.135,45	1.073,33-1.089,29 (1,5)	1.058,19-1.074,20 (1,5)	1.045,73-1.062,52 (1,6)	1.045,64-1.062,35 (1,6)	1.094,09-1.104,17 (0,9)
	VPL/Investimento	1,05	0,91-0,93 (2,0)	0,90-0,91 (2,0)	0,89-0,91 (2,1)	0,88-0,90 (2,1)	0,95-0,97 (1,3)
	TIR (%)	23,89	22,52-22,70 (0,8)	22,33-22,51 (0,8)	22,26-22,45 (0,9)	22,20-22,39 (0,8)	22,90-23,03 (0,6)
	Tempo de retorno descontado (anos)	5,18	5,61-5,69 (1,3)	5,69-5,76 (1,3)	5,71-5,79 (1,3)	5,74-5,81 (1,3)	5,49-5,54 (0,9)
	Custo do etanol (R\$ L ⁻¹)	0,88	0,90 (-)	0,91 (-)	0,91 (-)	0,91 (-)	0,89-0,90 (1,1)
	Custo da eletricidade (R\$ MWh ⁻¹)	86,89	88,57-89,00 (0,5)	89,42-89,85 (0,5)	89,69-90,15 (0,5)	89,62-90,08 (0,5)	88,04-88,31 (0,3)

Notas: ^aNa fase metanogênica; ^bVariação = [(maior valor – menor valor)/(menor valor)]·100; ^cAplicação durante toda a operação dos reatores (safra + entressafra); ^dAplicação durante os primeiros 50 dias da safra.

Siglas - Indicador econômico: VPL = valor presente líquido, TIR = taxa interna de retorno; Cenário: CB-0 = cenário base, CE-1–CE-5 = cenários energéticos.

Figura 54. VPL, investimento total e TIR estimados para os cenários com (a) e (b) motor de combustão interna, (c) e (d) turbina a gás, e (e) e (f) ciclo combinado.

A comparação entre os cenários com biodigestão em fase única (CE-5) e os com a acidificação prévia da vinhaça (CE-1 a CE-4) depende diretamente da estratégia de alcalinização utilizada na fase metanogênica, baseando-se na influência do tipo e quantidade de alcalinizante sobre os indicadores econômicos calculados. Na estratégia “NaHCO₃-total”, baseada na aplicação contínua de NaHCO₃ durante os períodos de safra e entressafra, os valores obtidos para o VPL e a TIR seriam, respectivamente, 30 e 9% superiores nos cenários com separação de fases (Tabela 33). Embora o investimento e, consequentemente, o custo

operacional, tenha sido pelo menos 24-27% inferior nos sistemas com biodigestão em fase única (Figuras 53 e 54a-c), o maior custo com insumos (NaHCO_3) nestes (R\$ 110,42 vs. 58,26-64,65 milhões ao ano, Tabela 34) levaria a cenários economicamente menos favoráveis, refletindo os maiores custos de produção de etanol e eletricidade obtidos para o cenário CE-5 (Tabela 33 e Figura 55). Ressalta-se, entretanto, que tal estratégia de alcalinização seria impraticável em plantas de biodigestão na escala considerada, sendo a receita anual com a venda de eletricidade oriunda do biogás inferior a 20% dos gastos com alcalinizantes nas plantas com separação de fases (R\$ 10,07 vs. 64,65 milhões, dados referentes ao cenário CE-3-CC).

Tabela 34. Custo anual dos alcalinizantes nos cenários energéticos avaliados.

Estratégia de alcalinização/ ajuste de pH	Custo anual (R\$ milhões ano ⁻¹)		
	Duas fases		Uma fase (CE-5)
	(CE-1)	(CE-2 a CE-4) ^a	
NaHCO_3 -total	58,26	64,65	110,42
NaHCO_3 -partida	10,08	16,47	19,11
NaOH-total	0,48	6,87	0,58

Nota: ^aInclui consumo de NaOH na etapa acidogênica.

Comportamento distinto seria observado ao se considerar as alternativas propostas para alcalinização dos reatores metanogênicos. O emprego de NaHCO_3 apenas na partida dos sistemas anaeróbios, i.e., estratégia “ NaHCO_3 -partida”, indicou um considerável aumento no VPL e na TIR para todos os casos, destacando-se a obtenção de valores semelhantes para tais indicadores (respectivamente nas faixas de R\$ 1.006,02-1.049,67 milhões e 21,86-22,36%, Tabela 33), independentemente da separação de fases da biodigestão. Nesta estratégia a aplicação da biodigestão em fase única (CE-5) seria economicamente menos atrativa apenas em relação aos cenários CE-1 e CE-2, baseando-se no VPL (Tabela 33). Ao se considerar a substituição do NaHCO_3 pelo NaOH (estratégia “NaOH-total”), a separação de fases da biodigestão não produziria efeitos econômicos positivos em comparação aos processos em fase única, independentemente da aplicação do biogás- H_2 (Tabela 33), ainda ressaltando-se, contudo, a proximidade dos valores (incluindo os custos de produção de etanol e eletricidade, conforme indicado na Tabela 33 e Figura 55). O menor custo operacional da planta de biodigestão nos cenários “CE-5” explica tal comportamento, compensando as menores receitas com a venda de eletricidade produzida a partir do biogás.

Figura 55. Custos estimados para a produção de etanol e eletricidade nas biorrefinarias nos cenários com (a) e (b) motor de combustão interna, (c) e (d) turbina a gás, e (e) e (f) ciclo combinado.

Em suma, os resultados obtidos a partir da análise econômica ressaltam a viabilidade do escalonamento da biodigestão com separação de fases para o tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar, baseando-se na obtenção de cenários econômicos melhores ou virtualmente idênticos aos verificados para processos em fase única (Tabela 33), mesmo ao se considerar os maiores investimentos (Figuras 53 e 54a-c) e o consumo adicional de produtos químicos,

i.e., NaOH, na etapa acidogênica (Tabela 34). Entretanto, destaca-se a necessidade de mecanismos que tornem mais atrativa a instalação de plantas de biodigestão nas biorrefinarias, recompensando sistemas que permitam a obtenção de maiores produções de eletricidade e, concomitantemente, reduzam potenciais efeitos adversos decorrentes do gerenciamento inadequado da vinhaça (restrições ambientais e legais). Para tanto, subsídios que visem à redução dos custos de instalação e, sobretudo, ao aumento da lucratividade com a comercialização de eletricidade são requeridos (Salomon e Lora, 2009; Moraes et al., 2015; Junqueira et al., 2016). Mecanismos que estimulem a venda de créditos de carbono também se caracterizam como aspectos relevantes, aumentando a receita das usinas ao minimizar emissões de GEEs, sobretudo óxidos de nitrogênio (Oliveira B.G. et al., 2013; Moraes et al., 2014), a partir da remoção controlada da fração orgânica biodegradável da vinhaça. Além disso, conforme detalhadamente abordado nesta seção, a otimização da alcalinização na etapa metanogênica, baseando-se no estudo de diferentes alternativas, também constitui fator de grande relevância para redução dos custos na ampliação das plantas de tratamento anaeróbio nas biorrefinarias, tendo em vista a influência do tipo e quantidade de produto químico sobre a lucratividade dos sistemas (Tabela 33). Na seção 5.3.2.1 são discutidos, em caráter complementar, impactos dos custos de alcalinização, bem como de variações dos custos de investimento e do preço de venda da eletricidade, sobre o retorno financeiro das biorrefinarias com biodigestão da vinhaça.

Em uma última constatação, destaca-se que, embora o cenário base (CB-0) tenha apresentado melhores resultados econômicos em relação aos cenários energéticos avaliados, i.e., maiores VPL e TIR e um menor tempo de retorno (Tabela 33 e Figura 54), tal configuração não se caracteriza como uma referência adequada, tendo em vista as limitações associados à fertirrigação com vinhaça *in natura*, tanto em termos de efeitos adversos ao ambiente (Tabela 2, p. 54) quanto ao se considerar o desperdício energético. Além disso, dependendo da estratégia de alcalinização, o VPL e a TIR obtidos para os cenários com implantação da biodigestão podem atingir patamares tão altos quanto os estimados para o cenário base (Tabela 33), daí a necessidade da consideração dos aspectos ambientais para o fechamento da avaliação tecnológica, conforme abordado a partir do item 5.3.3.

5.3.2.1 *Análise de Sensibilidade: Impactos sobre o Desempenho Econômico da Biorrefinaria*

A análise de sensibilidade compreende uma metodologia utilizada para identificar as variações mais importantes em um dado modelo, medindo a resposta deste perante modificações realizadas nas variáveis de entrada (Watanabe et al., 2016). Na prática, varia-se

o valor de uma dada variável (p.ex. preços de matérias-primas e insumos, preços de vendas de produtos) em uma determinada faixa, fixando-se as demais variáveis para que não ocorra a sobreposição de efeitos na resposta do modelo. Embora não existam regras rígidas para determinar a faixa de variação, o que eventualmente pode levar a cenários distantes da realidade (Watanabe et al., 2016), na prática, a análise de sensibilidade permite identificar quais aspectos de um projeto devem ser prioritariamente modificados para que se obtenham melhores desempenhos econômicos, i.e., uma maior lucratividade.

No presente estudo, as respostas do desempenho econômico da biorrefinaria (segundo o VPL e a TIR) foram avaliadas a partir de quatro variáveis, incluindo: [i] o investimento total nas plantas de biodigestão e geração de eletricidade; [ii] o investimento nas plantas de biodigestão; [iii] o custo da alcalinização; e, [iv] o preço de venda (e a quantidade) da eletricidade obtida a partir do biogás. O desempenho econômico foi avaliado em uma faixa de variação de $\pm 50\%$, sendo os valores referentes a 0% equivalentes aos obtidos na avaliação econômica apresentada no item 5.3.2, exceto pelo preço de venda da eletricidade. Neste caso, o valor utilizado como referência correspondeu a R\$ 251,00 MWh⁻¹ (EPE, 2016)⁸⁵, utilizando-se como base o valor pago pela Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL) para aquisição da energia gerada a partir do biogás⁸⁶ em uma planta termoelétrica com capacidade de 20,8 MW.

Na prática, as variações nos custos de investimento podem representar eventuais incentivos para instalação das plantas de biodigestão (p.ex. tarifas reduzidas para aquisição de matérias-primas e importação de equipamentos, tais como os acionadores primários) ou o encarecimento das matérias-primas e equipamentos, tendo em vista flutuações do mercado financeiro. Alterações no preço de venda da eletricidade também podem advir de incentivos governamentais, assim como no caso relatado para o leilão de bioenergia (maiores preços), ou de uma maior oferta de bioenergia (menores preços). Por fim, os custos de alcalinização podem variar a partir do barateamento/encarecimento dos produtos químicos utilizados, bem como da otimização do emprego destes na planta de biodigestão, conforme amplamente discutido no item 5.2. Na Tabela 35 são apresentados os valores de referência (0%) para as quatro variáveis consideradas na avaliação de sensibilidade. Ressalta-se que foram

⁸⁵Na avaliação econômica apresentada na seção 5.3.2 considerou-se o valor de R\$ 146,00 MWh⁻¹ (EPE, 2014 – Tabela 15, p. 142) para o preço de venda da eletricidade gerada a partir do biogás.

⁸⁶Este valor deriva do primeiro leilão de energia (Leilão A-5) vencido por um projeto de biogás no Brasil, tendo em vista um projeto apresentado pelo grupo Raízen. A ANEEL usa leilões públicos para a aquisição de energias renováveis a partir de diferentes fontes, buscando encorajar a produção de bioenergia, descentralizar a produção de eletricidade exportada à rede, e diversificar a matriz energética brasileira (Fuess e Garcia, 2015). Historicamente, os projetos referentes ao uso do biogás estiveram ausentes nos leilões públicos de bioenergia no Brasil, devido a maior lucratividade de outras fontes de energia, tais como a eólica, a biomassa em geral e o bagaço (Moraes et al., 2015).

considerados apenas os cenários com ciclo combinado, tendo em vista a maior capacidade de recuperação de energia associada a despenhos econômicos equivalentes aos dos demais acionadores primários considerados.

Tabela 35. Valores de referência (0%) usados na análise de sensibilidade.

Cenário	Investimento total (biodigestão ^a + geração de eletricidade) (R\$ milhões)	Investimento (biodigestão ^a) (R\$ milhões)	Custo de alcalinização ^b (R\$ milhões ano ⁻¹)	Preço de venda (eletricidade do biogás) (R\$ MWh ⁻¹)
CE-1-CC	87,94	39,17	58,26	251,00
CE-2-CC	95,37	46,39	64,65	251,00
CE-3-CC	90,51	39,17	64,65	251,00
CE-4-CC	97,48	46,39	64,65	251,00
CE-5-CC	63,79	24,09	110,42	251,00

Notas: ^aInclui as etapas de purificação das correntes de biogás; ^bReferente à estratégia de alcalinização "NaHCO₃-total".

Nas Figuras 56 e 57 são apresentadas as respostas do VPL e da TIR, respectivamente, às variações impostas aos custos de investimento, custo da alcalinização e preço de venda da eletricidade. Nas condições analisadas, observa-se que, independentemente da separação de fases, ambos o VPL (Figura 56) e a TIR (Figura 57) são mais sensíveis ao custo da alcalinização, seguido dos investimentos nas plantas de biodigestão e geração de eletricidade, preço de venda da eletricidade, e investimentos nas plantas de biodigestão. A estreita faixa de variação do VPL e da TIR a partir da variação dos custos de investimento e do preço da eletricidade resultou do elevado custo relativo da alcalinização, uma vez que a estratégia “NaHCO₃-total” foi utilizada como referência (Tabela 35).

Particularmente, o cenário incluindo a biodigestão em fase única (CE-5-CC – Figuras 56e e 57e) mostrou-se mais sensível aos custos da alcalinização do que os demais cenários (CE-1-CC a CE-4-CC – Figuras 56a-d e 57a-d). Neste caso, os menores custos de investimento (Figura 53, p. 270) e de operação propiciariam maiores ganhos econômicos ao se reduzir os custos com alcalinizantes. Tal resultado corrobora a importância da otimização do emprego de alcalinizantes nas plantas de biodigestão nas biorrefinarias, tendo em vista efeitos econômicos mais significativos do que os de variáveis que dependem, em teoria, da ação de agentes externos ao setor sucroalcooleiro (i.e., subsídios governamentais para redução de custos de investimento e/ou aumento do preço de venda da eletricidade). Além disso, embora não observado claramente a partir das Figuras 56 e 57, o VPL mostrou-se mais sensível do que a TIR em todos os casos analisados.

Figura 56. Análise da sensibilidade do VPL à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “ NaHCO_3 -total” usada como referência para a alcalinização: (a) CE-1-CC, (b) CE-2-CC, (c) CE-3-CC, (d) CE-4-CC, e (e) CE-5-CC.

Os resultados da análise de sensibilidade indicam que, para a obtenção de valores de VPL e TIR equivalentes ao cenário base, i.e., R\$ 1.135,45 milhões e 23,89%, respectivamente, o preço da eletricidade precisaria ser incrementado nas faixas de 377-398% (VPL – Figura 58a) e 500-527% (TIR – Figura 58b) nos cenários com separação de fase. No caso do cenário CE-5-CC, seriam necessários acréscimos de 845% (Figura 58a) e 923%

(Figura 58b) no preço da eletricidade para se equipar os valores do VPL e da TIR, respectivamente. Por outro lado, não seria possível atingir os valores de equiparação pela diminuição dos custos de alcalinização, tendo em vista a necessidade da redução destes em níveis superiores a 100% dos valores dos custos de referência (Figuras 58c-d).

Figura 57. Análise da sensibilidade da TIR à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “ NaHCO_3 -total” usada como referência para a alcalinização: (a) CE-1-CC, (b) CE-2-CC, (c) CE-3-CC, (d) CE-4-CC, e (e) CE-5-CC.

Figura 58. Níveis de variação no preço da eletricidade e nos custos de alcalinização necessários para se obter desempenho econômico equivalente ao cenário base em termos do (a) e (c) VPL e da (b) e (d) TIR – estratégia “NaHCO₃-total” usada como referência para a alcalinização. Legenda: (■- valor referencial; □- valor necessário para equiparação com o cenário base).

Tendo em vista as limitações econômicas da estratégia de alcalinização “NaHCO₃-total”, conforme discutido no item 5.3.2, p. 274, a análise de sensibilidade foi complementada substituindo-se os valores de referência (0%) dos custos da alcalinização, utilizando-se, neste caso, a estratégia “NaHCO₃-partida”⁸⁷ como base para as estimativas do VPL e da TIR. Neste caso, comportamento distinto dos apresentados anteriormente foi observado, dependendo da separação de fases da biodigestão e do tipo de indicador econômico (i.e., VPL ou TIR), considerado. Nos cenários com separação de fases (CE-1-CC a CE-4-CC – Figuras 59a-d), o VPL mostrou-se mais sensível ao investimento total (plantas de biodigestão e de geração de eletricidade), seguido pelo preço da eletricidade e pelo custo da alcalinização, nesta ordem. Tal fato decorre dos custos com a alcalinização apresentarem menor importância relativamente ao investimento. Por outro lado, no cenário com biodigestão em fase única (CE-5-CC) o custo da alcalinização manteve-se como a variável determinante para o VPL (Figura 59e), superando os efeitos do investimento total (biodigestão + geração de eletricidade) e do preço da eletricidade. Os menores custos de investimento e operação da biodigestão em fase única (em comparação à separação de fases) tornam os gastos com a alcalinização mais

⁸⁷Valores de referência para os custos de alcalinização (R\$ milhões ano⁻¹): CE-1-CC = 10,08; CE-2-CC = 16,47; CE-3-CC = 16,47; CE-4-CC = 16,47 e CE-5-CC = 19,11.

significativos na determinação do VPL, caracterizando comportamento contrário ao observado nos casos com separação de fases, i.e., custos com alcalinização menos representativos em comparação ao investimento devido ao maior valor relativo deste.

Figura 59. Análise da sensibilidade do VPL à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “ NaHCO_3 -partida” usada como referência para a alcalinização: (a) CE-1-CC, (b) CE-2-CC, (c) CE-3-CC, (d) CE-4-CC, e (e) CE-5-CC.

Figura 60. Análise da sensibilidade da TIR à variação dos custos de investimento (biodigestão + geração de eletricidade ou somente biodigestão), custos da alcalinização e preço de venda da eletricidade – estratégia “ NaHCO_3 -partida” usada como referência para a alcalinização: (a) CE-1-CC, (b) CE-2-CC, (c) CE-3-CC, (d) CE-4-CC, e (e) CE-5-CC.

Assim como na primeira abordagem da análise de sensibilidade (estratégia “ NaHCO_3 -total” – Figuras 56 e 57), comparativamente ao VPL, a TIR mostrou-se menos sensível às variáveis analisadas ao se considerar a estratégia “ NaHCO_3 -partida” como base da alcalinização (Figura 60). Neste caso, independentemente da separação de fases, o investimento total (biodigestão + geração de eletricidade) caracterizou-se como fator mais

relevante para o desempenho econômico do projeto da biorrefinaria, seguido pelo investimento do sistema de biodigestão. Os efeitos de eventuais variações no custo da alcalinização ou no preço da eletricidade levariam a alterações marginais na TIR, utilizando-se o impacto dos investimentos como referência.

Nesta segunda abordagem, novamente não seria possível a obtenção de desempenhos econômicos equivalentes ao do cenário base apenas pela redução dos custos da alcalinização (Figuras 61c-d), em especial pela baixa relevância destes perante os investimentos nas plantas de biodigestão e geração de eletricidade. Desta forma, para se atingir desempenhos econômicos equivalentes ou superiores ao do cenário base tornar-se-ia necessário atuar simultaneamente em diferentes variáveis, considerando, por exemplo, a otimização da etapa de alcalinização (redução de custos) associada a reduções nos investimentos e/ou incrementos no preço de venda da eletricidade. Especificamente em termos do preço de venda da eletricidade, incrementos nas faixas de 84-155% e 219-277% seriam necessários para equiparação com o cenário base, utilizando-se o VPL (Figura 61a) e a TIR (Figura 61b) como referência, respectivamente, independentemente da separação de fases. Embora tais níveis sejam consideravelmente inferiores (~2-4 vezes) aos obtidos para a primeira abordagem (Figuras 58a-b), os preços de venda da eletricidade ainda mostraram-se elevados, i.e., com baixa probabilidade de serem praticados. Contudo, os resultados obtidos neste caso destacam a importância de eventuais incentivos governamentais (p.ex. redução de tarifas e subsídios para compra de materiais e importação de equipamentos) na implantação da biodigestão da vinhaça, tendo em vista o papel determinante do investimento das plantas de biodigestão e geração de eletricidade para melhora do desempenho econômico da biorrefinaria.

5.3.3 Avaliação Tecnológica: Aspectos Ambientais

Com relação à avaliação dos aspectos ambientais da implantação da biodigestão nas biorrefinarias, destaca-se inicialmente que, assim como na análise de sensibilidade, na ACV foram considerados apenas os cenários baseados no emprego do ciclo combinado como acionador primário, sendo os resultados também apresentados e discutidos para diferentes estratégias de alcalinização da fase metanogênica. A opção pelos cenários com ciclo combinado nesta etapa também se deve à possibilidade de se associar maiores produções de energia elétrica a alterações mínimas nos indicadores econômicos em comparação aos demais acionadores primários avaliados, conforme discutido nas seções 5.3.1 e 5.3.2. Na Figura 62 as categorias de impactos ambientais consideradas, i.e., mudanças climáticas (Figura 62a), toxicidade humana (Figura 62b), acidificação terrestre (Figura 62c), eutrofização (Figura

62d), ocupação da área agrícola (Figura 62e) e depleção de recursos fósseis (Figura 62f), são comparadas em termos relativos. Nesta análise, os impactos referentes a uma dada categoria são pontuados em cada cenário energético e comparados entre si, sendo o pior desempenho ambiental associado ao valor de 100%.

Figura 61. Níveis de variação no preço da eletricidade e nos custos de alcalinização necessários para se obter desempenho econômico equivalente ao cenário base em termos do (a) e (c) VPL e da (b) e (d) TIR – estratégia “NaHCO₃-partida” usada como referência para a alcalinização. Legenda: (■- valor referencial; □- valor necessário para equiparação com o cenário base).

Uma análise preliminar dos impactos relativizados (Figura 62) indica desempenhos ambientais similares ao se considerar as categorias referentes às mudanças climáticas, acidificação e ocupação da área agrícola, independentemente da implantação da biodigestão da vinhaça e da estratégia de alcalinização. No caso das categorias toxicidade humana, eutrofização e depleção de recursos fósseis, padrão semelhante pode ser observado apenas para as estratégias de alcalinização “NaHCO₃-partida” e “NaOH-total”. Os piores desempenhos ambientais foram claramente associados à estratégia “NaHCO₃-total”, em especial aos cenários baseados na biodigestão da vinhaça em sistemas sem separação de fases (CE-5-CC, Figuras 62b, 62d e 62f). Novamente, tal padrão discrepante resulta do elevado consumo de alcalinizante na fase metanogênica, tendo em vista limitações ambientais associadas à cadeia produtiva do NaHCO₃, conforme discutido com maior riqueza de detalhes na sequência do texto.

Figura 62. Comparação relativa dos impactos em categorias selecionadas nos diferentes cenários: (a) mudanças climáticas, (b) toxicidade humana, (c) acidificação terrestre, (d) eutrofização, (e) ocupação da área agrícola e (f) depleção de recursos fósseis. Análise aplicada apenas nos cenários com ciclo combinado.

A contribuição de diferentes etapas da cadeia de processamento da cana-de-açúcar, incluindo aspectos da fase agrícola, do consumo de insumos e do emprego de equipamentos, é apresentada detalhadamente para as categorias de impacto selecionadas nas Figuras 63a-b (mudanças climáticas e toxicidade humana), 64a-b (acidificação terrestre e eutrofização) e 65a-b (ocupação da área agrícola e depleção de recursos fósseis). Os impactos relativos à produção dos insumos usados na biodigestão, sobretudo para a estratégia “ $\text{NaHCO}_3\text{-total}$ ”, apresentam maior relevância ao se considerar as categorias “mudanças climáticas” (Figura

63a), “toxicidade humana” (Figura 63b), “eutrofização” (Figura 64b) e “depleção de recursos fósseis” (Figura 65b). Com relação às categorias “mudanças climáticas” e “depleção de recursos fósseis”, os efeitos adversos da produção de NaHCO_3 decorrem do elevado consumo energético, sobretudo energia térmica, observado no processo Solvay⁸⁸, principal rota utilizada na sua obtenção. Com relação à toxicidade humana, a influência do emprego de NaHCO_3 também decorre da produção e consumo de combustíveis para geração da energia requerida no processo de obtenção deste, tendo em vista a emissão de substâncias tóxicas. Efeitos do emprego de amônia no processo Solvay⁸⁸ também contribuem para os impactos referentes a esta categoria, contabilizando, entretanto, menores pontuações perante as emissões devido à queima de combustíveis fósseis. Neste caso, o processo produtivo da amônia (síntese Haber-Bosch) também requer elevadas quantidades de energia térmica, a qual provém de fontes fósseis.

Em termos da eutrofização, os impactos do emprego de elevadas quantidades de NaHCO_3 também estão associadas ao uso de NH_3 no processo de obtenção deste, tendo em vista a contribuição das emissões de compostos nitrogenados para o enriquecimento nutricional dos corpos d’água⁸⁹. Ainda em termos da eutrofização, a expressiva contribuição dos insumos utilizados na usina anexa (Figura 64b) para os impactos nesta categoria resulta das elevadas dosagens de ácido fosfórico aplicadas no tratamento do caldo⁹⁰, tendo em vista emissões consideráveis de fosfato na cadeia produtiva do referido ácido (Dias et al., 2016; Morais et al., 2016).

⁸⁸O processo Solvay caracteriza-se como a principal rota empregada na produção de carbonato e bicarbonato de sódio (respectivamente Na_2CO_3 e NaHCO_3) em escala industrial, utilizando como insumos básicos o cloreto de sódio (NaCl), o carbonato de cálcio (CaCO_3) e a amônia (NH_3). O CaCO_3 é calcinado para produção de CO_2 e óxido de cálcio (CaO) em etapa que requer quantidade expressiva de energia térmica. A produção de NaHCO_3 pode ser resumida pela equação global:

A amônia é posteriormente recuperada a partir da reação entre o cloreto de amônio (NH_4Cl) com o CaO :

⁸⁹É importante destacar que a própria emissão de NaHCO_3 no meio (a partir da aplicação da vinhaça biodigerida no solo) pode contribuir para a eutrofização dos corpos d’água, tendo em vista a ação do HCO_3^- como potencializador do crescimento de algas. Estudos indicam que o crescimento de determinadas espécies de macrófitas aquáticas submersas é estimulado em ambientes que apresentam elevada alcalinidade, i.e., elevada concentração de bicarbonato, tendo em vista a assimilação deste como fonte alternativa de carbono inorgânico (Sand-Jensen e Gordon, 1986; Vestergaard e Sand-Jensen, 2000; Freitas e Thomaz, 2011). Os resultados indicam que o bicarbonato apresenta papel mais determinante do que o fósforo e o nitrogênio, principais nutrientes associados à eutrofização, no crescimento dessas algas. De qualquer forma, as contribuições do NaHCO_3 para a categoria “eutrofização” na ACV resultaram da somatória de todas as emissões de compostos de fósforo e nitrogênio (com seus respectivos fatores de caracterização) que ocorrem ao longo de sua cadeia produtiva, e não diretamente do aporte de NaHCO_3 no meio.

⁹⁰Ácido fosfórico e calcário compreendem os principais produtos químicos empregados na etapa de clarificação do caldo, buscando-se a remoção de impurezas provenientes da etapa de extração de açúcares. Também se verifica a adição de compostos poliméricos para estimular a floculação das impurezas, o que facilita a posterior remoção das impurezas por meio da decantação (Morais et al., 2016).

Figura 63. Detalhamento dos impactos ambientais para as categorias (a) mudanças climáticas e (b) toxicidade humana nos diferentes cenários avaliados. Cenários energéticos incluem apenas o uso do ciclo combinado para recuperação de energia.

Figura 64. Detalhamento dos impactos ambientais para as categorias (a) acidificação e (b) eutrofização nos diferentes cenários avaliados. Cenários energéticos incluem apenas o uso do ciclo combinado para recuperação de energia.

Figura 65. Detalhamento dos impactos ambientais para as categorias (a) ocupação da área agrícola e (b) depleção de recursos fósseis nos diferentes cenários avaliados. Cenários energéticos incluem apenas o uso do ciclo combinado para recuperação de energia.

Destaca-se que o uso de NaOH na biodigestão da vinhaça (estratégia “NaOH-total”) levaria a menores impactos ambientais em comparação à aplicação de NaHCO_3 , independentemente do emprego deste em modo contínuo (NaHCO_3 -total) ou unicamente no período de partida dos reatores metanogênicos (NaHCO_3 -partida). Embora o processo de obtenção do NaOH⁹¹ seja mais agressivo do que o do NaHCO_3 , as menores dosagens requeridas para o primeiro na planta de biodigestão levariam a impactos praticamente idênticos ou menores aos observados no cenário base para categorias específicas – p.ex. toxicidade humana (Figura 63b) e eutrofização (Figura 64b). No estudo apresentado por Junqueira et al. (2016), os autores também associaram um desempenho ambiental menos favorável ao emprego de NaHCO_3 comparativamente ao cenário base, i.e., sem biodigestão da vinhaça. Entretanto, neste caso foi considerada a obtenção de NaHCO_3 a partir do NaOH por meio do uso das correntes de CO_2 geradas na própria usina⁹², estando as limitações ambientais do emprego do NaHCO_3 associadas ao uso indireto de elevadas quantidades de NaOH.

Com relação à ocupação da área agrícola, o aumento da produção específica de eletricidade, tendo em vista a conversão do biogás nos acionadores primários, levaria a uma ligeira diminuição dos impactos relativos à biomassa (cana convencional e cana energia) e aos insumos para a produção de etanol 1G (Figura 65a). Tal característica decorre da diminuição da quantidade de impactos alocados para o etanol, uma vez que uma maior parcela destes é atribuída aos coprodutos (no caso, a eletricidade). Consequentemente, nos cenários com biodigestão da vinhaça as pontuações dos impactos ambientais nesta categoria são menores em comparação ao cenário base, conforme apresentado nas Figuras 62e e 65a.

Ainda considerando a influência da biodigestão no desempenho ambiental da cadeia produtiva do etanol, destaca-se, por fim, a contribuição das emissões locais, resultantes das etapas de fermentação e destilação do etanol, secagem do açúcar e combustão do bagaço, palha e biogás, em categorias de impacto específicas, como no caso da acidificação terrestre (Figura 64a). Tendo em vista o residual de H_2S considerado para o biogás- CH_4 (Tabela 28, p. 247), um pequeno aumento seria observado nas emissões locais a partir da inserção da

⁹¹A obtenção da soda cáustica é majoritariamente baseada na aplicação de processos eletrolíticos, possibilitando a produção concomitante de cloro e hidrogênio a partir de uma solução de NaCl (Andrade e Zaporski, 1994). Tais processos caracterizam-se pelo elevado consumo de energia, de modo que a eletrólise pode ser conduzida a partir de três tipos de arranjos: célula de mercúrio (processo Castner-Kellner); célula de diafragma, sendo este frequentemente fabricado a partir de fibras de amianto; e, célula de membrana. Os dois primeiros casos apresentam sérias limitações ambientais, tendo em vista a toxicidade do mercúrio e do amianto. Em contrapartida, o emprego de membranas possibilita importantes vantagens, tais como: menores custos de investimento e produção e eliminação do emprego de substâncias tóxicas (Andrade e Zaporski, 1994).

⁹²A produção *in loco* de NaHCO_3 é passível de obtenção a partir da reação entre o NaOH e as correntes de CO_2 geradas na própria biorrefinaria, sejam estas provenientes da etapa de fermentação ou do biogás ($\text{CO}_2 + \text{NaOH} \rightarrow \text{NaHCO}_3$). O processo poderia ser conduzido em uma coluna empacotada, a partir do contato entre uma solução de NaOH, aplicada no topo da coluna, com o CO_2 , aplicado em contracorrente (Gebreyessus et al., 2014). No caso do emprego do biogás, poder-se-ia observar, simultaneamente à obtenção de NaHCO_3 , a purificação do biogás pela remoção do CO_2 (Osorio e Torres, 2009; Tippayawong e Thanompongchart, 2010).

biodigestão da vinhaça, i.e., de 1,69 gSO₂-eq kg⁻¹EtO (CB-0) para 1,78-1,81 gSO₂-eq kg⁻¹EtOH (CE-1 – CE-5) – Figura 64a, principalmente devido à geração de SO₂. Entretanto, este incremento observado na pontuação das emissões locais pode ser considerado desprezível em comparação à contribuição dos impactos relativos à biomassa (Figura 64a). De fato, com exceção das categorias “toxicidade humana” (Figura 63b) e “eutrofização” (Figura 64b), especificamente para a estratégia de alcalinização “NaHCO₃-total”, a contribuição dos impactos decorrentes da inserção da biodigestão na biorrefinaria é consideravelmente menor em relação à contribuição daqueles pontuados para a etapa agrícola. Dias et al. (2016) e Junqueira et al. (2016) corroboram tal constatação, indicando que a etapa agrícola é responsável pelos maiores impactos na cadeia produtiva do etanol.

Um análise geral das categorias de impacto representadas nas Figuras 63 a 65 indica que a otimização da etapa de alcalinização – neste caso, considerada como o emprego de NaOH – minimiza, mesmo que sutilmente, os impactos ambientais totais associados à produção de etanol. Particularmente, a partir da avaliação de diferentes cenários para as biorrefinarias de cana-de-açúcar, Junqueira et al. (2016) ressaltam que a inserção da biodigestão da vinhaça tem potencial para atenuar ainda mais os impactos da produção de etanol, sobretudo na fase agrícola, a partir de alternativas tecnológicas que possibilitem a redução concomitante do consumo de fertilizantes sintéticos e de diesel. Resumidamente, neste caso o potencial fertilizante da vinhaça biodigerida seria incrementado por meio da produção de um composto organomineral com a adição de amônia e ácido sulfúrico, enquanto que o biogás-CH₄ seria purificado e injetado nos motores de tratores e caminhões para substituir parte do diesel. De qualquer forma, os resultados obtidos para a avaliação ambiental no presente estudo são equivalentes aos observados para a avaliação econômica (seção 5.3.2), destacando que a biodigestão da vinhaça não onera a cadeia produtiva do etanol. Pelo contrário, observa-se a possibilidade da associação de ganhos energéticos e ambientais (em menor proporção) com a manutenção de desempenho econômico similar ao da planta sem biodigestão da vinhaça, mesmo ao se considerar a separação de fases, sendo a otimização da alcalinização dos reatores uma característica essencial para a viabilidade tecnológica do processo.

5.3.3.1 Vinhaça Biodigerida: Implicações da Alcalinização com Compostos de Sódio

Adicionalmente às limitações inerentes às cadeias produtivas dos compostos utilizados na alcalinização da vinhaça, implicações ambientais associadas ao comportamento do sódio em solos fertirrigados com vinhaça biodigerida precisam ser criteriosamente consideradas. Os

íons de sódio (Na^+) apresentam caráter altamente dispersivo, sobretudo quando hidratados, de modo a destruir agregados estáveis de solo. Este processo, conhecido como sodificação, tende a reduzir drasticamente a infiltração de água devido à obstrução dos poros do solo (Tejada e Gonzalez, 2006), reduzindo, conseqüentemente, a produtividade dos canaviais (Fuess e Garcia, 2014b). Os efeitos adversos da sodificação tendem a ser observados quando a concentração de Na^+ é muito maior (pelo menos três vezes) do que a de íons bivalentes específicos, tais como o cálcio e o magnésio, os quais apresentam caráter agregador.

Embora as concentrações de sódio determinadas nas amostras de vinhaça ao longo da safra tenham atingido valores relativamente baixos ($16,8\text{-}66,0 \text{ mg L}^{-1}$ – Apêndice A, p. 331) em comparação a outros íons, tais como o potássio ($2.500\text{-}4.175 \text{ mg L}^{-1}$ – Tabela 6, p. 101) e o sulfato ($1.044\text{-}2.079 \text{ mg L}^{-1}$ – Tabela 6, p. 101), as concentrações de Na^+ na vinhaça biodigerida poderiam atingir valores na faixa de $1.800\text{-}3.400 \text{ mg L}^{-1}$ a partir do emprego de NaHCO_3 . Tais concentrações podem chegar a patamares até quatro vezes superiores às concentrações de cálcio verificadas na vinhaça ao longo da safra (concentração mínima de 812 mg L^{-1} – Apêndice A, p. 331). As concentrações de magnésio ($189\text{-}348 \text{ mg L}^{-1}$ – Apêndice A, p. 331) seriam superadas em pelo menos 10 vezes nessas condições, utilizando-se as maiores dosagens de NaHCO_3 como referência, potencialmente elevando os riscos de sodificação do solo. Por outro lado, a aplicação de NaOH na dosagem considerada ($4 \text{ g kg}^{-1}\text{DQO}$ – Souza et al., 1992) levaria a incrementos mínimos na concentração de Na^+ na vinhaça ($51,3\text{-}65,1 \text{ mg L}^{-1}$, dependendo da aplicação da separação de fases), levando a riscos desprezíveis de sodificação a partir da aplicação da vinhaça biodigerida.

Em suma, tais resultados reforçam a necessidade da otimização da etapa de alcalinização da vinhaça nas plantas de biodigestão em escala plena, uma vez que os benefícios obtidos a partir da redução da carga orgânica poluente e da concomitante recuperação de bioenergia podem ser anulados pela perda de qualidade da vinhaça biodigerida devido ao acúmulo de compostos indesejáveis, tais como o sódio. Desta forma, ressalta-se, novamente, a importância do estudo e aplicação de estratégias alternativas para a alcalinização da vinhaça, procurando-se melhorar aspectos do desempenho econômico e ambiental da biodigestão nas usinas. O emprego de cinzas da incineração da biomassa vegetal (Banks e Lo, 2003; Podmirseg et al., 2013) e a otimização da dosagem de compostos alternativos (p.ex. ureia e calcário) apresentam-se como potenciais estratégias. Particularmente, o uso de cinzas provenientes da queima do bagaço nos sistemas de cogeração como agentes alcalinizantes complementares poderia representar uma alternativa de custo reduzido às biorrefinarias, tendo em vista a potencial eliminação dos gastos com produtos

químicos. Esta estratégia também representaria uma opção para melhorar o gerenciamento dos resíduos nas usinas, com potencial para suplementar a vinhaça com nutrientes essenciais.

5.3.4 Considerações Finais – Avaliação Tecnológica da Biodigestão

Os resultados obtidos a partir da avaliação tecnológica da biodigestão da vinhaça no contexto das biorrefinarias indicaram a relevância do aproveitamento do biogás- H_2 gerado na fase acidogênica para o processo, levando a ganhos energéticos expressivos em comparação aos sistemas sem separação de fases. Análises englobando aspectos econômicos e ambientais reforçaram tal constatação, associando aos cenários com biodigestão desempenho equivalente ao observado para o cenário base, no qual a vinhaça *in natura* é direcionada para a fertirrigação das lavouras. Em termos práticos, tais resultados ressaltam que a biodigestão da vinhaça pode incrementar a geração de energia elétrica sem reduzir a lucratividade do negócio, possibilitando melhoras, ainda que marginais, no desempenho ambiental da cadeia produtiva do etanol, desde que o emprego de alcalinizantes seja conduzido de maneira otimizada.

Tendo em vista a relevância do aspecto econômico na tomada de decisões empresariais, o desempenho da biorrefinaria com biodigestão da vinhaça poderia superar o do cenário base a partir da adequação da vinhaça biodigerida previamente à aplicação agrícola (p.ex. produção de adubo organomineral), independentemente do tipo de uso previsto para o biogás (i.e., recuperação direta de energia, substituição de diesel, etc). No presente estudo considerou-se a aplicação da vinhaça biodigerida nos mesmos moldes da utilização da vinhaça *in natura*, fato que limitou os ganhos econômicos e ambientais da aplicação da biodigestão. O estabelecimento de restrições ambientais e legais à fertirrigação com vinhaça *in natura*, atrelado ao reconhecimento das boas práticas ambientais (p.e.x. certificação da produção de etanol a partir do correto gerenciamento da vinhaça e/ou incentivos para a comercialização da eletricidade produzida a partir do biogás) também levaria a melhoras substanciais no desempenho econômico-ambiental dos cenários energéticos avaliados.

Desta forma, os resultados obtidos nesta etapa do trabalho corroboram parcialmente a terceira sub-hipótese apresentada anteriormente – **“a recuperação e utilização do biogás rico em hidrogênio produzido na etapa acidogênica do processo de biodigestão com separação de fases potencializa a recuperação de energia e, conseqüentemente, o retorno financeiro a partir da vinhaça, independentemente da rota tecnológica empregada no seu uso”** (seção 2, p. 45), uma vez que o retorno financeiro não foi efetivamente potencializado nos cenários energéticos avaliados. De qualquer forma, a possibilidade da

manutenção da lucratividade das biorrefinarias, mesmo ao se considerar os custos adicionais com a instalação e a operação das plantas de biodigestão e recuperação de energia, deve ser considerada como um aspecto tecnológico amplamente favorável neste momento. Ressalta-se, também, a necessidade de avaliações tecnológicas complementares, englobando outras estratégias para o aproveitamento das correntes de biogás e de vinhaça biodigerida, buscando-se a potencialização dos desempenhos econômico e ambiental da aplicação da biodigestão como etapa central no gerenciamento da vinhaça.

6. CONCLUSÕES

Baseando-se nos objetivos inicialmente propostos, bem como nos resultados obtidos, as principais conclusões oriundas do presente trabalho incluem:

- i. A obtenção de produções contínuas de hidrogênio, em longo prazo, é passível de obtenção em sistemas acidogênicos, desde que estratégias operacionais adequadas sejam aplicadas nos reatores. A elevada velocidade de crescimento da biomassa acidogênica permite a rápida identificação de problemas nos reatores e, de maneira semelhante, favorece a rápida observação da resposta destes perante a aplicação das estratégias operacionais. Particularmente, a manutenção de elevadas cargas orgânicas em associação ao controle do pH e da concentração de biomassa no reator, i.e., controle da carga orgânica específica (embora limitado no reator de leito fixo empacotado), mostraram-se essenciais para manutenção da produção de hidrogênio, independentemente da estabilidade desta. De maneira ampla, os resultados obtidos nesta etapa da pesquisa demonstraram a capacidade de recuperação dos sistemas acidogênicos submetidos a perdas de desempenho;
- ii. Considerando o estudo da fase metanogênica, as condições de incremento da carga orgânica (até $30 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) aplicadas nos sistemas estudados indicaram um melhor desempenho do reator de leito fixo estruturado no tratamento da vinhaça, incluindo aspectos da estabilidade operacional, remoção de matéria orgânica e produção de metano⁹³. O sucesso na operação deste reator decorreu, além das vantagens inerentes ao arranjo do leito e ao crescimento aderido, do emprego de uma biomassa termofílica adaptada à vinhaça de cana-de-açúcar na etapa de inoculação do sistema. A etapa de pré-acidificação da vinhaça também contribuiu para a estabilidade da fase metanogênica, tendo em vista o papel do reator acidogênico como atenuador de potenciais efeitos negativos da variação composicional da vinhaça ao longo da safra. Os resultados também indicam que o fornecimento de alcalinidade a bicarbonato aos sistemas mostrou-se como um fator preponderante para a obtenção de elevadas eficiências de remoção de matéria orgânica ($> 70\%$), buscando-se compensar as limitações possivelmente associadas ao reduzido TDH imposto aos reatores ($< 24 \text{ h}$);

⁹³Reitera-se que a elevada fração de sólidos inertes presente no lodo utilizado na inoculação do reator UASB pode ter influenciado negativamente o desempenho deste, limitando o real fornecimento das condições operacionais avaliadas ao sistema. Desta forma, periódicos descartes de fundo do UASB poderiam acarretar um melhor desempenho do reator. De qualquer forma, o sucesso na operação do ASTBR ressalta a importância da seleção de uma configuração adequada de reator para obtenção de desempenhos satisfatórios, uma vez que “apenas” o uso de um inóculo pré-adaptado não foi suficiente para assegurar a eficiência do sistema.

- iii. A caracterização das comunidades microbianas nos reatores operados levou a importantes considerações sobre as estratégias operacionais nos sistemas. Na fase acidogênica, em geral, os descartes de biomassa não afetaram diretamente a estrutura da comunidade estabelecida após a inoculação, estando a produção de hidrogênio provavelmente associada ao gênero *Clostridium* durante todo o período operacional. Contudo, as maiores produções de hidrogênio estiveram associadas ao gênero *Thermoanaerobacterium*, o qual foi negativamente afetado pelos descartes por requerer, aparentemente, maiores períodos de tempo para se estabelecer no reator. Por sua vez, as análises moleculares indicaram o estabelecimento de comunidades microbianas similares nos reatores metanogênicos, de modo que cinco de oito gêneros identificados (*060F05-B-SD-P93*, *Anaerobaculum*, *Methanosarcina*, *Syntrophaceticus* e *Thermodesulfovibrio*) foram observados nos dois sistemas. Tais resultados suportam a observação de que a discrepância observada entre os reatores provavelmente resultou de aspectos intrínsecos da construção e operação dos sistemas, novamente destacando-se o potencial do leito fixo estruturado; e,
- iv. O aproveitamento da corrente de biogás rica em hidrogênio proveniente da fase acidogênica, independentemente de seu uso, i.e., mistura com biogás-CH₄ para formação do biohythane ou injeção no reator metanogênico, permite a obtenção de incrementos na extração de energia a partir da vinhaça. Tais resultados reforçam a necessidade da otimização da produção de biohidrogênio a partir da vinhaça, uma vez que os ganhos energéticos inerentes à separação de fases são potencializados. A produção de eletricidade apresentou-se como a alternativa mais atrativa para o aproveitamento direto do biogás nas biorrefinarias, tendo em vista o reduzido potencial de aplicação da energia térmica recuperada em acionadores primários convencionais. Em termos gerais, o principal resultado da etapa de avaliação tecnológica da biodigestão compreendeu a demonstração da viabilidade econômica do escalonamento dos sistemas anaeróbios com separação de fases para o tratamento de vinhaça nas biorrefinarias de cana-de-açúcar, independentemente dos maiores custos de investimento e de operação. Contudo, a otimização do emprego de alcalinizantes apresenta papel primordial na obtenção de melhores cenários econômicos, também atuando positivamente no desempenho ambiental da biodigestão. Dependendo dos custos com alcalinizantes, o investimento nas plantas de biodigestão e geração de energia a partir do biogás pode ter papel relevante no desempenho econômico da biorrefinaria, sendo incentivos do setor público determinantes para incrementar a lucratividade das usinas.

A partir dos resultados obtidos também são apresentadas as respostas às sub-hipóteses formuladas nas etapas iniciais da pesquisa:

- i. **O emprego de rotinas operacionais específicas na operação do reator anaeróbio acidogênico, principalmente com relação à adoção de procedimentos para o descarte do excesso de biomassa e controle do pH, permite a obtenção de produções contínuas de hidrogênio em longo prazo:** tendo em vista a obtenção de uma produção contínua de hidrogênio em um período operacional de 240 dias, conclui-se que a presente hipótese foi **atendida**. Contudo, estudos adicionais ainda são requeridos para a manutenção de produções estáveis de hidrogênio ao longo da operação, considerando-se, por exemplo, o refinamento das estratégias estudadas neste trabalho;
- ii. **A aplicação do reator de leito fixo estruturado no tratamento da vinhaça na fase metanogênica tende a apresentar melhor desempenho em termos da estabilidade operacional, remoção de matéria orgânica e produção de metano, em comparação à utilização do reator de fluxo ascendente e manta de lodo, configuração convencionalmente aplicada em sistemas de alta taxa:** de fato, o sistema metanogênico com células imobilizadas apresentou melhor desempenho em relação ao reator com manta de lodo, portanto, também se conclui que esta hipótese foi plenamente **atendida**; e,
- iii. **A recuperação e utilização do biogás rico em hidrogênio produzido na etapa acidogênica do processo de biodigestão com separação de fases potencializa a recuperação de energia e, consequentemente, o retorno financeiro a partir da vinhaça, independentemente da rota tecnológica empregada no seu uso:** neste caso, a recuperação do biogás produzido no reator acidogênico mostrou-se determinante para incrementar a produção de energia nos sistemas com biodigestão da vinhaça em duas fases. Entretanto, a potencialização do retorno financeiro das biorrefinarias não foi plenamente observada para os cenários avaliados, muito embora desempenhos econômicos equivalentes ao do cenário base, i.e., sem biodigestão, tenham sido atingidos, independentemente dos maiores custos de investimento e operação devido à instalação das plantas de tratamento e dos acionadores primários. Desta forma, conclui-se que a hipótese proposta foi **parcialmente atendida**, sendo necessário o estudo de estratégias tecnológicas complementares para garantir maiores lucratividades a partir da implantação da biodigestão como etapa central no gerenciamento da vinhaça de cana-de-açúcar.

Por fim, em termos gerais, os resultados corroboram a hipótese central da pesquisa (**a biodigestão anaeróbia termofílica com separação de fases compreende a rota tecnológica mais adequada para o processamento da vinhaça de cana-de-açúcar, tendo em vista o aumento na eficiência de utilização da matéria-prima base nas biorrefinarias**), tendo em vista inúmeros aspectos vantajosos da aplicação da biodigestão nas condições testadas, em especial: estabilidade operacional da fase metanogênica aliada à potencialização da extração de energia da vinhaça por meio do metano, viabilidade econômica do escalonamento das plantas de biodigestão e a adequabilidade ambiental do processo, atentando-se para as implicações do emprego de alcalinizantes.

7. RECOMENDAÇÕES, SUGESTÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Algumas recomendações e sugestões são propostas para futuros trabalhos sobre a aplicação da biodigestão com separação de fases no tratamento da vinhaça, especialmente em termos do desenvolvimento de experimentos:

- i. **Desenvolver/aprimorar metodologias para uma melhor caracterização composicional da vinhaça:** considerando a complexidade composicional da vinhaça, uma caracterização mais robusta torna-se necessária para permitir uma melhor compreensão do papel dos diferentes compostos nos processos de bioconversão, especialmente na etapa acidogênica. Desta forma, o acompanhamento de diferentes compostos, tais como o ácido láctico e de açúcares específicos, levaria a um melhor entendimento das rotas metabólicas estabelecidas nos reatores. O aprimoramento das metodologias analíticas também permitiria a obtenção de cálculos de balanço de massa mais acurados;
- ii. **Melhorar/implementar o controle da carga orgânica específica na fase acidogênica:** tendo em vista a relevância do controle da concentração de sólidos para produção de hidrogênio, em particular, a renovação da biomassa, recomenda-se a operação de um reator de leito fixo estruturado na fase acidogênica. Conforme indicado ao longo do texto, tal configuração impede o acúmulo excessivo de sólidos no leito, sendo possível, em teoria, um melhor controle da concentração de sólidos no reator. Acredita-se que, com esta estratégia, seria possível o estabelecimento de produções contínuas e estáveis de hidrogênio em longo prazo;
- iii. **Definir/otimizar uma estratégia de alcalinização para a fase metanogênica:** considerando os impactos do emprego de altas dosagens de bicarbonato de sódio sobre o desempenho econômico e ambiental da biodigestão, torna-se imperativa a otimização da alcalinização da vinhaça previamente à etapa metanogênica. Para tanto, alternativas simples, como o uso de hidróxido de sódio, acoplado ou não à recirculação do efluente, devem ser testadas experimentalmente. Outras opções incluem estudos mais criteriosos sobre a aplicação de alcalinizantes alternativos, tais como a ureia, bem como uma avaliação integrada de diferentes processos, tais como a geração in loco de bicarbonato de sódio acoplada à purificação (remoção de CO₂) das correntes de biogás;
- iv. **Estudo da carga orgânica específica no reator de leito estruturado metanogênico:** assim como feito para a fase acidogênica, acredita-se que a análise da carga orgânica

específica na fase metanogênica, sobretudo para o reator de leito estruturado, levaria a uma comparação mais adequada de diferentes configurações de reatores. Utilizando-se os sistemas operados neste estudo como referência, embora cargas orgânicas equivalentes tenham sido aplicadas nos reatores, em teoria, a carga orgânica específica no reator de leito estruturado foi superior à do UASB, dada a menor concentração de biomassa naquele. Desta forma, o estudo proposto neste item confirmaria a capacidade do reator de leito fixo estruturado em manter uma operação estável associada a uma eficiente conversão de matéria orgânica mesmo quando submetido a maiores cargas orgânicas específicas;

- v. **Estudo da biodigestão da vinhaça com períodos de safra e entressafra:** tendo em vista o cenário base proposto na avaliação tecnológica da biodigestão, torna-se necessário obter os dados de desempenho dos sistemas anaeróbios considerando-se a operação das biorrefinarias nos períodos de safra e entressafra. Tal estudo forneceria informações sobre o comportamento dos reatores a partir da mudança do tipo de vinhaça durante a entressafra (i.e., de destilaria anexa para autônoma), de modo a fornecer dados para novas simulações do processo;
- vi. **Estudo da repartida dos reatores metanogênicos e estratégias para operação na entressafra:** concomitantemente ao estudo proposto no item [iv], a avaliação de estratégias para a repartida dos reatores metanogênicos após a entressafra, bem como para a operação destes sem o uso de vinhaça durante o referido período (p.ex. com melaço ou outros substratos orgânicos), permitiria definir a(s) melhor(es) alternativa(s) para a operação das plantas de biodigestão nas biorrefinarias de cana-de-açúcar;
- vii. **Complemento da avaliação tecnológica da biodigestão da vinhaça:** neste caso, sugere-se a proposição de estratégias adicionais para o aproveitamento das correntes de biogás, bem como para o gerenciamento da vinhaça biodigerida, procurando-se potencializar o retorno financeiro das biorrefinarias caracterizadas pela aplicação da biodigestão da vinhaça. Esta etapa representa um complemento para a verificação da terceira sub-hipótese elencada neste trabalho; e,
- viii. **Escalonamento dos sistemas anaeróbios com separação de fases:** acredita-se que as informações acumuladas no presente trabalho, complementadas a partir das avaliações propostas nos itens [i] e [ii], permitam a ampliação de escala da biodigestão com separação de fases para o tratamento da vinhaça. Tal abordagem permitirá entender os reais potenciais do sistema proposto, sobretudo em termos da recuperação de bioenergia, bem como identificar limitações (inerentes ao escalonamento) e propor alternativas para saná-las. A eliminação da pré-filtração da vinhaça seria uma provável

estratégia adotada no escalonamento, dada a maior capacidade de bombeamento dos sistemas.

As oportunidades para recuperação de bioprodutos a partir da vinhaça são muitas, baseando-se na geração direta ou indireta de biogás e metabólitos de alto valor agregado por meio da conversão controlada da matéria orgânica (vide seção 3.3.1, p. 81). Entretanto, tendo em vista aplicações em curto prazo, o escalonamento dos sistemas anaeróbios aplicados no processamento da vinhaça nas biorrefinarias deveria ser pautado em opções mais conservadoras. A recuperação de bioprodutos específicos da vinhaça, tais como biopolímeros e metabólitos da acidogênese, ainda depende de estudos fundamentais e avaliações tecnológicas, as quais irão futuramente prover as condições ótimas para exploração dos potenciais da vinhaça e indicar se o escalonamento destes sistemas é viável, considerando as esferas técnica, econômica e ambiental. Em uma abordagem preliminar, a aplicação da biodigestão como uma tecnologia robusta para o processamento da vinhaça deveria ser disseminada na indústria sucroalcooleira brasileira. Portanto, a geração direta de bioenergia a partir do biogás tende a caracterizar a finalidade mais imediata da biodigestão nas biorrefinarias, uma vez que inúmeros aspectos favoráveis são observados: [i] a maturidade tecnológica de acionadores primários de grande escala, os quais aliam elevadas eficiências de conversão à robustez operacional; [ii] a possibilidade de se recuperar eletricidade e energia térmica a partir do biogás; e, [iii] a infraestrutura já existente nas biorrefinarias, tanto para aplicação interna quanto para a exportação da energia.

A posterior diversificação das alternativas para exploração da vinhaça dependerá intimamente do perfil da cada biorrefinaria, de modo a se considerar diferentes aspectos: [i] tipo de destinação dada aos resíduos sólidos, i.e., bagaço e palha; [ii] maturidade tecnológica dos bioprocessos alternativos; e, [iii] localização da biorrefinaria em relação à rede de gás natural. A cogeração de energia a partir dos resíduos lignocelulósicos tende a favorecer usos da vinhaça que não objetivem a produção direta de energia a partir do biogás, uma vez que a eletricidade e o vapor obtidos a partir do bagaço e da palha suprem completamente a demanda energética das usinas. Entretanto, esta opção não elimina a possibilidade do emprego do biogás para incrementar o balanço energético nas biorrefinarias. A produção de biometano, i.e., biogás-CH₄ purificado, também compreende uma opção tecnológica prontamente acoplável à implementação da biodigestão da vinhaça nas biorrefinarias, objetivando a substituição do diesel em operações de transporte e/ou a injeção na rede de gás natural. Entretanto, atenção especial deve ser dada à distância das usinas em relação aos gasodutos, uma vez que os custos de distribuição do biometano são proibitivos para longas distâncias.

Por fim, independentemente do uso proposto para o biogás, a separação de fases caracteriza-se como uma opção economicamente viável para plantas de biodigestão em escala plena nas biorrefinarias. Em um primeiro momento, a acidificação da vinhaça pode ser usada exclusivamente para incrementar a biodegradabilidade do substrato e a recuperação de energia a partir do metano, como destacado em arranjos experimentais. Particularmente, a atenuação de variações composicionais da vinhaça, comuns ao longo da safra, no reator acidogênico reforça a relevância da aplicação da biodigestão com separação de fases neste caso. A não utilização do biogás- H_2 ou outros tipos de bioprodutos da acidogênese não onera a viabilidade econômica da separação de fases, conforme observado no presente estudo (particularmente para o cenário energético CE-1). Em aplicações a médio e longo prazo, os reatores acidogênicos implementados poderiam ser modificados para se adequar aos bioprocessos desejados, sendo a extensão das modificações dependentes do tipo de bioproduto a ser obtido. Por exemplo, a recuperação de metabólitos deverá requerer, principalmente, modificações nos parâmetros operacionais dos sistemas e na dosagem de produtos químicos em vez de aspectos da instalação dos reatores. Por sua vez, reatores adicionais seriam requeridos ao se considerar a produção de biopolímeros a partir da vinhaça acidificada, também demandando a instalação de aeradores. De qualquer forma, a etapa metanogênica se encaixará em diferentes pontos do processo global da biodigestão, independentemente do tipo de bioproduto recuperado a partir da fase acidogênica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aberg, K., Pommer, L., Nordin, A. (2015) Syngas production by combined biomass gasification and in situ biogas reforming. *Energy Fuels* 29, 3725–3731.
- Abreu, A.A., Danko, A.S., Alves, M.M. (2007) Bio-hydrogen production in an EGSB reactor under mesophilic, thermophilic and hyperthermophilic conditions. In: *Proceedings of the 11th World Congress on Anaerobic Digestion*, Brisbane, Australia. pp. 1–6.
- Adorno, M.A.T., Hirasawa, J.S., Varesche, M.B.A. (2014) Development and validation of two methods to quantify volatile acids (C2-C6) by GC/FID: headspace (automatic and manual) and liquid-liquid extraction (LLE). *AJAC* 5, 406–414.
- Agler, M.T., Garcia, M.L., Lee, E.S., Schlicher, M., Angenent, L.T. (2008) Thermophilic anaerobic digestion to increase the net energy balance of corn grain ethanol. *Environ. Sci. Technol.* 42, 6723–6729.
- Ahn, J.H., Sang, B.I., Um, Y. (2011) Butanol production from thin stillage using *Clostridium pasteurianum*. *Bioresour. Technol.* 102, 4934–4937.
- Ahring, B.K., Sandberg, M., Angelidaki, I. (1995) Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digesters. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43, 559–565.
- Akram, M., Tan, C.K., Garwood, R., Thai, S.M. (2015) Vinasse – a potential biofuel – cofiring with coal in a fluidised combustor. *Fuel* 158, 1006–1015.
- Akutsu, Y., Li, Y.Y., Harada, H., Yu, H.Q. (2009a) Effects of temperature and substrate concentration on biological hydrogen production from starch. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 2558–2566.
- Akutsu, Y., Lee, D.Y., Li, Y.Y., Noike, T. (2009b) Hydrogen production potentials and fermentative characteristics of various substrates with different heat-pretreated natural microflora. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 5365–5372.
- Albanez, R., Chiaranda, B.C., Ferreira, R.G., França, A.L.P., Honório, C.D., Rodrigues, J.A.D., Ratusznei, S.M., Zaiat, M. (2016) Anaerobic biological treatment of vinasse for environmental compliance and methane production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 178, 21–43.
- Albuquerque, M.G.E., Eiroa, M., Torres, C., Nunes, B.R., Reis, M.A.M. (2007) Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses. *J. Biotechnol.* 130, 411–421.
- Allegue, L.B., Hinge, J. (2014) Biogas upgrading – evaluation of methods for H₂S removal. Danish Technological Institute. Disponível em: <http://www.teknologisk.dk/_/media/60599_Biogas%20upgrading.%20Evaluation%20of%20methods%20for%20H2S%20removal.pdf>. Acesso: 15 set. 2015.
- Almeida Jr., A.B., Nascimento, C.W.A., Sobral, M.F., Silva, F.B.V., Gomes, W.A. (2011) Fertilidade do solo e absorção de nutrientes em cana-de-açúcar fertilizada com torta de filtro. *Rev. bras. eng. agríc. ambient.* 15(10), 1004–1013.
- Amani, T., Nosrati, M., Mousavi, S.M., Elyasi, Sh. (2015) Study of microbiological and operational parameters in thermophilic syntrophic degradation of volatile fatty acids in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *J. Environ. Chem. Eng.* 3, 507–514.
- Amend, J.P., Shock, E.L. (2001) Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 25, 175–243.

- Amorim, N.C.S., Alves, I., Martins, J.S., Amorim, E.L.C. (2014) Biohydrogen production from cassava wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor. *Braz. J. Chem. Eng.* 31, 603–612.
- Amulya, K., Reddy, M.V., Mohan, S.V. (2014) Acidogenic spent wash valorization through polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesis coupled with fermentative biohydrogen production. *Bioresour. Technol.* 158, 336–342.
- Andrade, J.E.P., Zaporski, J. (1994) A indústria de cloro-soda. *Revista do BNDES* 1(2), 183–226.
- Andreani, A.L., Torres, D.G.B., Schultz, L., Carvalho, K.Q., Gomes, S.D. (2015) Hydrogen production from cassava processing wastewater in an anaerobic fixed bed reactor with bamboo as the support material. *Eng. agríc.* 35, 578–587.
- Angel, R., Claus, P., Conrad R. (2012) Methanogenic archaea are globally ubiquitous in aerated soils and become active under wet anoxic conditions. *ISME J.* 6, 847–862.
- Angelidaki, I., Sanders, W. (2004) Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 3, 117–129.
- Annachhatre, A.P. (1996) Anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Resour. Conserv. Recy.* 16, 161–166.
- Antonopoulou, G., Gavala, H.N., Skiadas, I.V., Lyberatos, G. (2010) Influence of pH on fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 1921–1928.
- Antonopoulou, G., Gavala, H.N., Skiadas, I.V., Lyberatos, G. (2011) Effect of substrate concentration on fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 4843–4851.
- Anzola-Rojas, M.P., Zaiat, M. (2016) A novel anaerobic down-flow structured-bed reactor for long-term stable H₂ energy production from wastewater. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 91, 1551–1561.
- Anzola-Rojas, M.P., Fonseca, S.G., Silva, C.C., Oliveira, V.M., Zaiat, M. (2015) The use of the carbon/nitrogen ration and specific organic loading rate as tools for improving biohydrogen production in fixed-bed reactors. *Biotechnol. Rep.* 5, 46–54.
- Anzola-Rojas, M.P., Zaiat, M., De Wever, H. (2016) Improvement of hydrogen production via ethanol-type fermentation in an anaerobic down-flow structured bed reactor. *Bioresour. Technol.* 202, 42–49.
- APHA, AWWA, WEF (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st. ed. Washington DC, APHA.
- Aquino, S.F., Stuckey, D.C. (2006) Chromatographic characterization of dissolved organics in effluents from two anaerobic reactors treating synthetic wastewater. *Water Sci. Technol.* 54(2), 193–198.
- Asaithambi, P., Susree, M., Saravanathamizhan, R., Matheswaran, M. (2012) Ozone assisted electrocoagulation for the treatment of distillery effluent. *Desalination* 297, 1–7.
- Athanasopoulos, N. (1987) Anaerobic treatment of beet molasses alcoholic fermentation wastewater in a downflow filter. *Resour. Conserv.* 17, 147–150.
- Baghchehsaraee, B., Nakhla, G., Karamanev, D., Margaritis, A. (2009) Effect of extrinsic lactic acid on fermentative hydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 2573–2579.

- Banks, C.J., Lo, H.M. (2003) Assessing the effects of municipal solid waste incinerator bottom ash on the decomposition of biodegradable waste using a completely mixed anaerobic reactor. *Waste Manage. Res.* 21(3), 225–234.
- Banu, J.R., Kaliappan, S., Rajkumar, M., Beck, D. (2006) Treatment of spent wash in anaerobic mesophilic suspended growth reactor (AMSGR). *J. Environ. Biol.* 27(1), 111–117.
- Barca, C., Soric, A., Ranava, D., Giudici-Orticoni, M.T., Ferrasse, J.H. (2015) Anaerobic biofilm reactors for dark fermentative hydrogen production from wastewater: a review. *Bioresour. Technol.* 185, 386–398.
- Barrera, E.L., Rosa, E., Spanjers, H., Romero, O., De Meester, S., Dewulf, J. (2016) A comparative assessment of anaerobic digestion power plants as alternative to lagoons for vinasse treatment: life cycle assessment and exergy analysis. *J. Clean. Prod.* 113, 459–471.
- Bartels, J.R., Pate, M.B., Olson, N.K. (2010) An economic survey of hydrogen production from conventional and alternative energy sources. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 8371–8384.
- Barth, D., Monteiro, A.R.S., Costa, M.M., Virkajärvi, I., Sacon, V., Wilhelmsom, A. (2014) DesinFix TM 135 in fermentation process for bioethanol production. *Braz. J. Microbiol.* 45, 323–325.
- Batalha, B.H.L., Parlatore, A.C. (1993) Controle da qualidade de água para consumo humano: bases conceituais e operacionais. 1. ed. São Paulo, CETESB.
- Bauer, C.G., Forest, T.W. (2001) Effect of hydrogen addition on the performance of methane-fueled vehicles. Part I: effect on S.I. engine performance. *Int. J. Hydrogen Energy* 26, 55–70.
- BNDES, CGEE (2008) Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. 1 ed. Rio de Janeiro, BNDES.
- Bolger, A.M., Lohse, M., Usadel, B. (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30, 2114–2120.
- Boncz, M.A., Formagini, E.L., Santos, L.S., Marques, R.D., Paulo, P.L. (2012) Application of urea dosing for alkalinity supply during anaerobic digestion of vinasse. *Water Sci. Technol.* 66, 2453–2460.
- Bonini, M.A. (2012) Cultivo heterotrófico de *Aphanothece microscopica* Nägeli e *Chlorella vulgaris* em diferentes fontes de carbono e em vinhaça. Araras. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos.
- Bonomi, A., Cavalett, O., Cunha, M.P., Lima, M.A.P. (2016) Virtual biorefinery: an optimization strategy for renewable carbon valorization. 1st. ed. London, Springer.
- Bories, A., Raynal, J., Bazile, F. (1988) Anaerobic digestion of high-strength distillery wastewater (cane molasses stillage) in a fixed-film reactor. *Biol. Waste.* 23, 251–267.
- Borzacconi, L., López, I., Viñas, M. (1995) Application of anaerobic digestion to the treatment of agroindustrial effluents in Latin America. *Water Sci. Technol.* 32(12), 105–111.
- Braga, A.F.M., Ferraz Jr., A.D.N., Zaiat, M. (2016) Thermophilic biohydrogen production using a UASB reactor: performance during long-term operation. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 91, 967–976.
- Budinich, M.F., Perez-Díaz, I., Cai, H., Rankin, S.A., Broadbent, J.R., Steele, J.L. (2011). Growth of *Lactobacillus paracasei* ATCC 334 in a cheese model system: a biochemical approach. *J. Dairy Sci.* 94, 5263–5277.

- Buitrón, G., Carvajal, C. (2010) Biohydrogen production from Tequila vinasses in an anaerobic sequencing batch reactor: effect of initial substrate concentration, temperature and hydraulic retention time. *Bioresour. Technol.* 101, 9071–9077.
- Buitrón, G., Kumar, G., Martinez-Arce, A., Moreno, G. (2014) Hydrogen and methane production via a two-stage processes (H_2 -SBR + CH_4 -UASB) using tequila vinasses. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 19249–19255.
- Cabello, P.E., Scognamiglio, F.P., Terán, F.J.C. (2009) Tratamento de vinhaça em reator anaeróbico de leito fluidizado. *EA* 6(1), 321–338.
- Cai, J., Wang, Y., Liu, D., Zeng, U.Y., Xue, Y.M.A., Feng, Y. (2007) *Fervidobacterium changbaicum* sp. nov., a novel thermophilic anaerobic bacterium isolated from a hot spring of the Changbai Mountains, China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57(10), 2333–2336.
- Camiloti, P.R., Mockaitis, G., Rodrigues, J.A.D., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E., Zaiat, M. (2014) Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 89, 1044–1050.
- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R. (2011) Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 4516–4522.
- Carvalho-Netto, O.V., Bressiani, J.A., Soriano, H.L., Fiori, C.S., Santos, J.M., Barbosa, G.V.S., Xavier, M.A., Landell, M.G.A., Pereira, G.A.G. (2014) The potential of the energy cane as the main biomass crop for the cellulosic industry. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 1(20), 1–8.
- Cassidy, D.P., Hirl, P.J., Belia, E. (2008) Methane production from ethanol co-products in anaerobic SBRs. *Water Sci. Technol.* 58, 789–793.
- 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., Maciel Filho, R., Rossell, C.E.V., Bonomi, A. (2012) Environmental and economic assessment of sugarcane first generation biorefineries in Brazil. *Clean Technol. Environ.* 14(3), 399–410.
- CEPEA (2014) Indicadores de preços. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba. Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/indicador/>>. Acesso: 10 ago. 2015.
- Çeper, B.A. (2012) Use of hydrogen-methane blends in internal combustion engines. In: Minic, D. (Ed.) *Hydrogen energy – challenges and perspectives*. Rijeka, Croatia, InTech. pp. 175–200. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/hydrogen-energy-challenges-and-perspectives/use-of-hydrogen-methane-blends-in-internal-combustion-engines>>. Acesso em: 15 set. 2015.
- CETESB (2006) Norma P4.231: Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola. São Paulo, CETESB.
- Chachkhiani, M., Dabert, P., Abzianidze, T., Partskhaladze, G., Tsiklauri, L., Dudaui, T., Godon, J.J. (2004) 16S rDNA characterisation of bacterial and archaeal communities during start-up of anaerobic thermophilic digestion of cattle manure. *Bioresour. Technol.* 93, 227–232.
- Chan, Y.J., Chong, M.F., Law, C.L., Hassell, D.G. (2009) A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chem. Eng. J.* 155, 1–18.
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. (2008) Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresour. Technol.* 99, 4044–4064.

- Chernicharo, C.A.L. (2007) *Anaerobic reactors*. 1st. ed. London, IWA Publishing.
- Ciranna, A., Ferrari, R., Santala, V., Karp, M. (2014) Inhibitory effects of substrate and soluble end products on biohydrogen production of the alkalithermophile *Caloramator celer*: kinetic, metabolic and transcription analyses. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 6391–6401.
- Coimbra-Araújo, C.H., Mariane, L., Bley Jr., C., Frigo, E.P., Frigo, M.S., Araújo, I.R.C., Alves, H.J. (2014) Brazilian case study for biogas energy: production of electric power, heat and automotive energy in condominiums of agroenergy. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 40, 826–839.
- CONAB (2011) A geração termoelétrica com a queima do bagaço de cana-de-açúcar no Brasil: análise do desempenho da safra 2009-201. Brasília, CONAB. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_05_05_15_45_40_geracao_termo_baixa_res..pdf>. Acesso: 26 mai. 2015.
- CONAB (2014) Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar. V. 1. – Safra 2014/2015. N. 4 – Quarto Levantamento. Abril/2015. Brasília, CONAB. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_08_49_33_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf>. Acesso: 08 fev. 2016.
- Contreras, A.M., Rosa, E., Pérez, M., van Langenhove, H., Dewulf, J. (2009) Comparative life cycle assessment of four alternatives for using by-products of cane sugar production. *J. Clean. Prod.* 17, 772–779.
- Costa, F.J.C.B., Rocha, B.B.M., Viana, C.E., Toledo, A.C. (1986) Utilization of vinasse effluents from an anaerobic reactor. *Water Sci. Technol.* 18(12), 135–141.
- Craveiro, A.M., Soares, H.M., Schmidell, W. (1986) Technical aspects and cost estimations for anaerobic systems treating vinasse and brewery/soft drink wastewaters. *Water Sci. Technol.* 18(12), 123–134.
- Cruz, L.F.L.S., Duarte, C.G., Malheiros, T.F., Pires, E.C., 2013. Análise da viabilidade técnica, econômica e ambiental das atuais formas de aproveitamento da vinhaça: fertirrigação, concentração e biodigestão. *RBCIAMB* 29, 111–127.
- Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E. (2009) Dynamics of sulfidogenesis associated to methanogenesis in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor. *Process Biochem.* 44, 1050–1054.
- Dareioti, M.A., Vavouraki, A.I., Kornaros, M. (2014) Effect of pH on the anaerobic acidogenesis of agroindustrial wastewaters for maximization of bio-hydrogen production: a lab-scale evaluation using batch tests. *Bioresour. Technol.* 162, 218–227.
- Davila-Vazquez, G., León-Rodríguez, A., Alatraste-Mondragón, F., Razo-Flores, E. (2011) The buffer composition impacts the hydrogen production and the microbial community composition in non-axenic cultures. *Biomass Bioenergy* 35, 3174–3181.
- de Bazúa, C.D., Cabrero, M.A., Poggi, H.M. (1991) Vinasses biological treatment by anaerobic and aerobic processes: laboratory and pilot-plant tests. *Bioresour. Technol.* 35, 87–93.
- De Gioannis, G., Diaz, L.F., Muntoni, A., Pisanu, A. (2008) Two-phase anaerobic digestion within a solid waste/wastewater integrated management system. *Waste Manage.* 28, 1801–1808.
- Dias, S.C. (2004) Planejando estudos de diversidade e riqueza: uma abordagem para estudantes de graduação. *Acta Sci. Biol. Sci.* 26(4), 373–379.

- Dias, M.O.S., Modesto, M., Ensinas, A.V., Nebra, S.A., Maciel Filho, R., Rossell, C.E.V. (2011) Improving bioethanol production from sugarcane: evaluation of distillation, thermal integration and cogeneration systems. *Energy* 36, 3691–3703.
- Dias, M.O.S., Junqueira, T.L., Cavalett, O., Cunha, M.P., Jesus, C.D.F., Rossell, C.E.V., Maciel Filho, R., Bonomi, A. (2012) Integrated versus stand-alone second generation ethanol production from sugarcane bagasse and trash. *Bioresour. Technol.* 103,152–161
- Dias, M.O.S., Junqueira, T.L., Cavalett, O., Pavanello, L.G., Cunha, M.P., Jesus, C.D.F., Maciel Filho, R., Bonomi, A. (2013) Biorefineries for the production of first and second generation ethanol and electricity from sugarcane. *Appl. Energy* 109, 72–78.
- Dias, M.O.S., Junqueira, T.L., Sampaio, I.L.M., Chagas, M.F., Watanabe, M.D.B., Morais, E.R., Gouveia, V.L.R., Klein, B.C., Rezende, M.C.A.F., Cardoso, T.F., Souza, A., Jesus, C.D.F., Pereira, L.G., Rivera, E.C., Maciel Filho, R., Bonomi, A. (2016) Use of the VSB to assess biorefinery strategies. In: Bonomi, A., Cavalett, O., Cunha, M.P., Lima, M.A.P. (Eds.) *Virtual biorefinery: an optimization strategy for renewable carbon valorization*. 1st ed. New York, Springer. pp. 189–256.
- Diez-Gonzalez, F., Russell, J.B., Hunter, J.B. (1995) The role of an NAD-independent lactate dehydrogenase and acetate in the utilization of lactate by *Clostridium acetobutylicum* P262. *Arch. Microbiol.* 164(1), 36–42.
- Dilallo, R., Albertson, O.E. (1961) Volatile acids by direct titration. *J. Water Pollut. Control Fed.* 33(4), 356–365.
- DOE (2016) Alternative fuels data center: global ethanol production. US Department of Energy, Energy Efficiency & Renewable Energy. Disponível em: <www.afdc.gov/data/10331>. Acesso: 11 jan. 2016.
- Döll, M.M.R., Foresti, E. (2010) Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em AnSBBR operado a 55 e 35°C. *Eng. Sanit. Ambient.* 15, 275–282.
- Dong-Jie, N., Jing-Yuan, W., Bao-Ying, W., You-Cai, Z. (2011) Effect of Mo-containing additives on biohydrogen fermentation from cassava's stillage. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 5289–5295.
- Driessen, W., Tielbaard, M.H., Vereijken, T.L.F.M. (1994) Experience on anaerobic treatment of distillery effluent with the UASB process. *Water Sci. Technol.* 30(12), 193–201.
- Dubois, S.M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956) Colorimetric methods for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28, 13–21.
- Ecoinvent (2007) Ecoinvent reports No.1-25. Dübendorf, Swiss Centre for Life Cycle Inventories.
- Edgar, R.C. (2013) UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat. Methods* 10, 996–998.
- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., Knight, R. (2011) UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 27, 2194–2200.
- EIA (2015) Monthly energy review, December 2015. DOE/EIA-0035(2015/12). Washington DC, US Energy Information Administration. Disponível em: <<http://www.eia.gov/totalenergy/data/monthly/pdf/mer.pdf>>. Acesso: 11 jan. 2016.
- Environmental Agency (2010) Guidance on gas treatment technologies for landfill gas engines – LFTGN06 v2 2010. Almondsbury, Bristol, UK. Disponível em: <https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/321612/LFTGN06.pdf> Acesso: 17 set. 2015.

- EPA (2007) Biogas combined heat and power catalog of technologies. U.S. Environmental Protection Agency, Combined Heat and Power Partnership. Disponível em: <http://www3.epa.gov/chp/documents/biomass_chp_catalog.pdf>. Acesso: 17 set. 2015.
- EPA (2015) Catalog of CHP technologies. U.S. Environmental Protection Agency, Combined Heat and Power Partnership. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/catalog_of_chp_technologies.pdf>. Acesso: 11 jan. 2016.
- EPE (2014) Anuário estatístico de energia elétrica 2014 – ano base 2013. Rio de Janeiro, EPE. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/AnuarioEstatisticodeEnergiaEletrica/Anu%C3%A1rio%20Estat%C3%ADstico%20de%20Energia%20El%C3%A9trica%202014.pdf>> Acesso: 11 jan. 2016.
- EPE (2016) 23º leilão de energia nova A-5. Empresa de Pesquisa Energética. Disponível em: <http://www.epe.gov.br/leiloes/Documents/Leil%C3%A3o%20de%20Energia%20A-5%202016/Resultado_completo_site_23_len.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2016.
- España-Gamboa, E., Mijangos-Cortes, J., Barahona-Perez, L., Dominguez-Maldonado, J., Hernández-Zarate, G., Alzate-Gaviria, L. (2011) Vinasses: characterization and treatments. *Waste Manage. Res.* 29, 1235–1250.
- España-Gamboa, E., Mijangos-Cortés, J., Hernández-Zárate, G., Maldonado, J.A.D., Alzate-Gaviria, L. (2012) Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. *Biotechnol. Biofuels* 5:82.
- Fera, M.T., Maugeri, T.L., Giannone, M., Gugliandolo, C., La Camera, E., Blandino, G., Carbone, M. (2003) In vitro susceptibility of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* to different antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents* 21, 488–491.
- Fernandes, B.S., Peixoto, G., Albrecht, F.R., del Aguila, N.K.S., Zaiat, M. (2010) Potential to produce biohydrogen from various wastewaters. *Energy Sustain. Dev.* 14, 143–148.
- Fernandes, B.S., Saavedra, N.K., Maintinguer, S.I., Sette, L.D., Oliveira, V.M., Varesche, M.B.A., Zaiat, M. (2013) The effect of biomass immobilization support material and bed porosity on hydrogen production in an upflow anaerobic packed-bed bioreactor. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 170, 1348–1366.
- Fernández, N., Montalvo, S., Borja, R., Guerrero, L., Sánchez, E., Cortés, I., Colmenarejo, M.F., Travieso, L., Raposo, F. (2008) Performance evaluation of an anaerobic fluidized bed reactor with natural zeolite as support material when treating high-strength distillery wastewater. *Renew. Energy* 33, 2458–2466.
- Ferraz Jr., A.D.N., Zaiat, M., Guta, M., Elbeshbjshy, E., Hafez, H., Nakhlab, G. (2014a) Impact of organic loading rate on biohydrogen production in an up-flow anaerobic packed bed reactor (UAnPBR). *Bioresour. Technol.* 164, 371–379.
- Ferraz Jr., A.D.N., Wenzel, J., Etchebehere, C., Zait, M. (2014b) Effect of organic loading rate on hydrogen production from sugarcane vinasse in thermophilic acidogenic packed bed reactors. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 16852–16862.
- Ferraz Jr., A.D.N., Etchebehere, C., Zaiat, M. (2015a) 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. *Bioresour. Technol.* 186, 81–88.
- Ferraz Jr., A.D.N., Etchebehere, C., Zaiat, M. (2015b) Mesophilic hydrogen production in acidogenic packed-bed reactors (APBR) using raw sugarcane vinasse as substrate: influence of support materials. *Anaerobe* 34, 94–105.

- Ferraz Jr., A.D.N., Koyama, M.H., Araújo Jr., M.M., Zaiat, M. (2016) Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. *Renew. Energy* 89, 245–252.
- Ferreira, L.F.R., Aguiar, M.M., Messias, T.G., Pompeu, G.B., Lopez, A.M.Q., Silva, D.P., Monteiro, R.T. (2011) Evaluation of sugar-cane vinasse treated with *Pleurotus sajor-caju* utilizing aquatic organisms as toxicological indicators. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 74, 132–137.
- Fontes Lima, D.M., Zaiat, M. (2012) The influence of the degree of back-mixing on hydrogen production in an anaerobic fixed-bed reactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 37, 9630–9635.
- Fontes Lima, D.M., Moreira, W.K., Zaiat, M. (2013) Comparison of the use of sucrose and glucose as substrate for hydrogen production in an upflow anaerobic fixed-bed reactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 15074–15083.
- Fortin, D., Davis, B., Beveridge, T.J. (1996) Role of *Thiobacillus* and sulfate-reducing bacteria in iron biocycling in oxic and acidic mine tailings. *FEMS Microbiol. Ecol.* 21, 11–24.
- Freitas, A., Thomaz, S.M. (2011) Inorganic carbon shortage may limit the development of submersed macrophytes in habitats of the Paraná River basin. *Acta Limnol. Bras.* 23(1), 57–62.
- Friedrich, A.B., Antranikian, G. (1996) Keratin degradation by *Fervidobacterium pennavorans*, a novel thermophilic anaerobic species of the order Thermotogales. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(8), 2875–2882.
- Fuess, L.T., Garcia, M.L. (2014a) Anaerobic digestion of stillage to produce bioenergy in the sugarcane-to-ethanol industry. *Environ. Technol.* 35, 333–339.
- Fuess, L.T., Garcia, M.L. (2014b) Implications of stillage land disposal: a critical review on the impacts of fertigation. *J. Environ. Manage.* 145, 210–229.
- Fuess, L.T., Garcia, M.L. (2015) Bioenergy from stillage anaerobic digestion to enhance the energy balance ratio of ethanol production. *J. Environ. Manage.* 162, 102–114.
- Fynn, G., Syafila, M. (1990) Hydrogen regulation of acetogenesis from glucose by freely suspended and immobilised acidogenic cells in continuous culture. *Biotechnol. Lett.* 12(8), 621–626.
- Garcia, M.L., Angenent, L.T. (2009) Interaction between temperature and ammonia in mesophilic digesters for animal waste treatment. *Water Res.* 43, 2373–2382.
- Gebreyesus, S.D., Kaba, T., Chandravanshi, B.G. (2014) Removing carbon dioxide from a stationary source through co-generation of carbonate/bicarbonate: the case of Muger cement factory. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 8(1), 75–85.
- Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P.N.L., Esposito, G. (2015) A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: process parameters and use of by-products. *Appl. Energy* 144, 73–95.
- Godoi, L.A.G., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E. (2015) Sulfidogenesis interference on methane production from carbohydrate-rich wastewater. *Water Sci. Technol.* 72, 1644–1652.
- Goedkoop, M.J., Heijungs, R., Huijbregts, M., De Schryver, A., Struijs, J., van Zelm, R. (2009) ReCiPe 2008 – A life cycle impact assessment method which comprises harmonised category indicators at the midpoint and the endpoint level. 1st ed. Report I: Characterisation. Disponível em: <http://www.leidenuniv.nl/cml/ssp/publications/recipe_characterisation.pdf>. Acesso 04 jun. 2016.

- Gomes, B.C., Rosa, P.R.F., Etchebehere, C., Silva, E.L., Varesche, M.B.A. (2015) Role of homo- and heterofermentative lactic acid bacteria on hydrogen-producing reactors operated with cheese whey wastewater. *Int. J. Hydrogen Energy* 40, 8650–8660.
- Gomes, S.D., Fuess, L.T., Pentead, E.D., Lucas, S.D.M., Gotardo, J.T., Zaiat, M. (2015) The application of an innovative continuous multiple tube reactor as a strategy to control the specific organic loading rate for biohydrogen production by dark fermentation. *Bioresour. Technol.* 197, 201–207.
- Gomes, S.D., Fuess, L.T., Mañunga, T., Gomes, P.C.F.L., Zaiat, M. (2016) Bacteriocins of lactic acid bacteria as a hindering factor for biohydrogen production from cassava flour wastewater in a continuous multiple tube reactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 41, 8120–8131.
- Goyal, S.K., Seth, R., Handa, B.K. (1996) Diphasic fixed-film biomethanation of distillery spentwash. *Bioresour. Technol.* 56, 239–244.
- Granato, E.F. (2003) Geração de energia através da biodigestão anaeróbica da vinhaça. Bauru. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista.
- Griffin, M.E., McMahon, K.D., Mackie, R.I., Raskin, L. (1998) Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters. *Biotechnol. Bioeng.* 57, 342–355.
- Guo, X.M., Trably, E., Latrille, E., Carre, H., Steyer, J.P. (2010) Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: a review. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 10660–10673.
- Hafez, H., Nakhla, G., Naggar, H.E., Elbeshbishy, E., Baghchehsaraee, B. (2010) Effect of organic loading on a novel hydrogen bioreactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 81–92.
- Hallenbeck, P.C. (2009) Fermentative hydrogen production: principles, progress, and prognosis. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 7379–7389.
- Halmeman, M.C.R., Souza, S.N.M., Oyama, P.T. (2008) Potential and costs for the production of electrolytic hydrogen in alcohol and sugar cane plants in the central and south regions of Brazil. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 6858–6864.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001) PAST : paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4(1):4.
- Harada, H., Uemura, S., Chen, A.C., Jayadevan, J. (1996) Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor. *Bioresour. Technol.* 55, 215–221.
- Harde, S.M., Jadhav, S.B., Bankar, S.B., Ojamo, H., Granström, T., Singhal, R.S., Survase, S.A. (2016) Acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation using the root hydrolysate after extraction of forskolin from *Coleus forskohlii*. *Renew. Energy* 86, 594–601.
- Hawkes, F.R., Dinsdale, R., Hawkes, D.L., Hussy, I. (2002) Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. *Int. J. Hydrogen Energy* 27, 1339–1347.
- Heijnen, J.J., Mulder, A., Enger, W., Hoeks, F. (1989) Review on the application of anaerobic fluidized bed reactors in waste-water treatment. *Chem. Eng. J.* 41, B37–B50.
- Heywood, J.B. (1988) Internal combustion engine fundamentals. 1st. ed. New York, McGraw-Hill.
- Hill, D.T., Cobb, S.A., Bolte, J.P. (1987). Using volatile fatty acid relationships to predict anaerobic digester failure. *Trans. ASAE.* 30(2), 496–501.

- Hori, T., Haruta, S., Ueno, Y., Ishii, M., Igarashi, Y. (2006) Dynamic transition of a methanogenic population in response to the concentration of volatile fatty acids in a thermophilic anaerobic digester. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1623–1630.
- Huijbregts, M.A.J., Rombouts, L.J., Ragas, A.M., van de Meent, D. (2005) Human-toxicological effect and damage factors of carcinogenic and non-carcinogenic chemicals for life cycle impact assessment. *Integr. Environ. Assess. Manage.* 1(3), 181–244.
- Hulshoff Pol, L.W., Lens, P.N.L., Stams, A.J.M., Lettinga, G. (1998) Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. *Biodegradation* 9, 213–224.
- Hwang, M.H., Jang, N.J., Hyunb, S.H., Kima, I.S. (2004) Anaerobic biohydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH. *J. Biotechnol.* 111, 297–309.
- Hwang, J.H., Cha, G.C., Jeong, T.Y., Kim, D.J., Bhatnagar, A., Min, B., Song, H., Choi, J.A., Lee, J.H., Jeong, D.W., Chung, H.K., Park, Y.T., Choi, J., Abou-Shanab, R.A.I., Oh, S.E., Jeon, B.H. (2009a) Effect of COD/SO₄²⁻ ratio and Fe(II) under the variable hydraulic retention time (HRT) on fermentative hydrogen production. *Water Res.* 43, 3525–3533.
- Hwang, J.H., Choi, J.A., Abou-Shanab, R.A.I., Bhatnagar, A., Min, B., Song, H., Kumar, E., Choi, J., Lee, E.S., Kim, Y.J., Um, S., Lee, D.S., Jeon, B.H. (2009b) Effect of pH and sulfate concentration on hydrogen production using anaerobic mixed microflora. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 9702–9710.
- Infantes, D., González del Campo, A., Villaseñor, J., Fernández, F.J. (2011) Influence of pH, temperature and volatile fatty acids on hydrogen production by acidogenic fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 15595–15601.
- Infantes, D., González del Campo, A., Villaseñor, J., Fernández, F.J. (2012) Kinetic model and study of the influence of pH, temperature and undissociated acids on acidogenic fermentation. *Biochem. Eng. J.* 66, 66–72.
- IPCC (2007) *Climate Change 2007: The physical science basis – Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge; New York, Cambridge University Press.
- ISO (2006a) International Standard ISO 14040: Environmental management – Life cycle assessment – Principles and framework. Geneva, ISO.
- ISO (2006b) International Standard ISO 14044: Environmental management – Life cycle assessment – Requirements and guidelines. Geneva, ISO.
- Jabari, L., Gannoun, H., Cayol, J.L., Hedi, A., Sakamoto, M., Falsen, E., Ohkuma, M., Hamdi, M., Fauque, G., Ollivier, B., Fardeau, M.L. (2012) *Macellibacteroides fermentans* gen. nov., sp. nov., a member of the family Porphyromonadaceae isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir wastewaters. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62, 2522–2527.
- Jang, Y.S., Im, J.A., Choi, S.Y., Lee, J.I., Lee, S.Y. (2014) Metabolic engineering of *Clostridium acetobutylicum* for butyric acid production with high butyric acid selectivity. *Metab. Eng.* 23, 165–174.
- Jankowska, E., Chwiałkowska, J., Stodolny, M., Oleskowicz-Popiel, P. (2015) Effect of pH and retention time on volatile fatty acids production during mixed culture fermentation. *Bioresour. Technol.* 190, 274–280.
- Jeong, C., Kim, T., Lee, K., Song, S., Chun, K.M. (2009) Generating efficiency and emissions of a spark-ignition gas engine generator fuelled with biogas–hydrogen blends. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 9620–9627.

- Jhung, J.K., Choi, E. (1995) A comparative study of UASB and anaerobic fixed film reactors with development of sludge granulation. *Water Res.* 29, 271–277.
- Jo, J.H., Lee, D.S., Park, D., Park, J.M. (2008) Biological hydrogen production by immobilized cells of *Clostridium tyrobutyricum* JM1 isolated from a food waste treatment process. *Bioresour. Technol.* 99, 6666–6672.
- Ju, F., Li, B., Ma, L., Wang, Y., Huanq, D., Zhang, T. (2016) Antibiotic resistance genes and human bacterial pathogens: co-occurrence, removal, and enrichment in municipal sewage sludge digesters. *Water Res.* 91, 1–10.
- Junqueira, T.L., Moraes, B., Gouveia, V.L.R., Chagas, M.F., Morais, E.R., Watanabe, M.D.B., Zaiat, M., Bonomi, A. (2016) Use of VSB to plan research programs and public policies. In: Bonomi, A., Cavalett, O., Cunha, M.P., Lima, M.A.P. (Eds.) *Virtual biorefinery: an optimization strategy for renewable carbon valorization*. 1st ed. New York, Springer. pp. 257–282.
- Junqueira, T.L., Chagas, M.F., Gouveia, V.L.R., Rezende, M.C.A.F., Watanabe, M.D.B., Jesus, C.D.F., Cavalett, O., Milanez, A.Y., Bonomi, A. (2017) Techno-economic analysis and climate change impacts of sugarcane biorefineries considering different time horizons. *Biotechnol. Biofuels* 10:50.
- Karhadkar, P.P., Handa, B.K., Khanna, P. (1990) Pilot-scale distillery spentwash biomethanation. *J. Environ. Eng.* 116(6), 1029–1045.
- Karim, G.A., Wierzbza, I., Al-Alousi, Y., 1996. Methane-hydrogen mixtures as fuels. *Int. J. Hydrogen Energy* 21, 625–631.
- Karlsson, A., Vallin, L., Ejlerstson, J. (2008) Effects of temperature, hydraulic retention time and hydrogen extraction rate on hydrogen production from the fermentation of food industry residues and manure. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 953–962.
- Karthic, P., Shiny, J. (2012) Comparison and limitations of biohydrogen production processes. *Res. J. Biotechnol.* 7(2), 59–71.
- Ke, S., Shi, Z., Fang, H.H.P. (2005) Applications of two-phase anaerobic degradation in industrial wastewater treatment. *Int. J. Environ. Pollut.* 23(1), 65–80.
- Kennedy, K.J., Droste, R.L. (1986) Anaerobic fixed-film reactors treating carbohydrate wastewater. *Water Res.* 20(6), 685–695.
- Khanal, S.K. (2008) *Anaerobic biotechnology for bioenergy production: principles and applications*, 1st. ed. New Delhi, Blackwell Publishing.
- Khanal, S.K., Chen, W.H., Li, L., Sung, S. (2004) Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. *Int. J. Hydrogen Energy* 29, 1123–1131.
- Kim, M., Morrison, M., Yu, Z. (2011) Evaluation of different partial 16S rRNA gene sequence regions for phylogenetic analysis of microbiomes. *J. Microbiol. Methods.* 84, 81–87.
- Kim, T.H., Lee, Y., Chang, K.H., Hwang, S.J. (2012) Effects of initial lactic acid concentration, HRTs, and OLRs on bio-hydrogen production from lactate-type fermentation. *Bioresour. Technol.* 103, 136–141.
- Kongjan, P., O-Thong, S., Angelidaki, I. (2011) Biohydrogen production from desugared molasses (DM) using thermophilic mixed cultures immobilized on heat treated anaerobic sludge granules. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 14261–14269.
- Kumar, G.S., Gupta, S.K., Singh, G. (2007) Biodegradation of distillery spent wash in anaerobic hybrid reactor. *Water Res.* 41, 721–730.

- Kumar, G., Lay, C.H., Chu, C.Y., Wu, J.H., Lee, S.C., Lin, C.Y. (2012) Seed inocula for biohydrogen production from biodiesel solid residues. *Int. J. Hydrogen Energy* 37, 15489–15495.
- Lamaison, F.C., Andrade, P.A.M., Bigaton, A.D., Andreote, F.D., Antônio, R.V., Reginatto, V., 2015. Long-term effect of acid and heat pretreatment of sludge from a sugarcane vinasse treatment plant on the microbial community and on thermophilic biohydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy* 40, 14124–14133.
- Lamonica, H.M. (2007) Produção de vapor e eletricidade – a evolução do setor sucroalcooleiro. In: II Workshop de Gestão de Energia e Resíduos na Agroindústria Sucroalcooleira, Pirassununga. Disponível em: <<http://www.usp.br/green/downloads/5%20-%20Helcio%20M.%20Lamonica.pdf>>. Acesso: 15 fev. 2016.
- Lay, J.J. (2000) Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. *Biotechnol. Bioeng.* 68, 269–278.
- Lazaro, C.Z., Perna, V., Etchebehere, C., Varesche, M.B.A. (2014) Sugarcane vinasse as substrate for fermentative hydrogen production: the effects of temperature and substrate concentration. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 6407–6418.
- Lazaro, C.Z., Varesche, M.B.A., Silva, E.L. (2015) Sequential fermentative and phototrophic system for hydrogen production: An approach for Brazilian alcohol distillery wastewater. *Int. J. Hydrogen Energy* 40, 9642–9655.
- Lebrero, R., Toledo-Cervantes, A., Muñoz, R., Del Nery, V., Foresti, E. (2015) Biogas upgrading from vinasse digesters: a comparison between an anoxic biotrickling filter and an algal-bacterial photobioreactor. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 91, 2488–2495.
- Lee, Y.W., Chung, J. (2010) Bioproduction of hydrogen from food waste by pilot-scale combined hydrogen/methane fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 11746–11755.
- Lee, D.H., Lee, D.J. (2008) Hydrogen economy in Taiwan and biohydrogen. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 1607–1618.
- Leite, J., Fernandes, B.S., Pozzi, E., Barboza, M., Zaiat, M. (2008) Application of an anaerobic packed-bed bioreactor for the production of hydrogen and organic acids. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 579–586.
- Lens, P.N.L., Visser, A., Janssen, A.J.H., Hulshoff Pol, L.W., Lettinga, G. (1998) Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 28(1), 41–88.
- Li, Y.F., Ren, N.Q., Chen, Y., Zheng, G.X. (2007) Ecological mechanism of fermentative hydrogen production by bacteria. *Int. J. Hydrogen Energy* 32, 755–760.
- Li, J., Zheng, G., He, J., Chang, S., Qin, Z. (2009) Hydrogen-producing capability of anaerobic activated sludge in three types of fermentations in a continuous stirred-tank reactor. *Biotechnol. Adv.* 27, 573–577.
- Li, J., Ban, Q., Zhang, L., Jha, A.K. (2012) Syntrophic propionate degradation in anaerobic digestion: a review. *Int. J. Agric. Biol.* 14, 843–850.
- Li, Y.C., Liu, Y.F., Chu, C.Y., Chang, P.L., Hsu, C.W., Lin, P.J., Wu, S.Y. (2012) Techno-economic evaluation of biohydrogen production from wastewater and agricultural waste. *Int. J. Hydrogen Energy* 37, 15704–15710.
- Li, A., Chu, Y., Wang, X., Ren, L., Yu, J., Liu, X., Yan, J., Zhang, L., Wu, S., Li, S. (2013) A pyrosequencing-based metagenomic study of methane-producing microbial community in solid-state biogas reactor. *Biotechnol. Biofuels* 6:3.

- Liang, Q., Lloyd-Jones, G., 2010. *Sphingobium scionense* sp. nov., an aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from contaminated sawmill soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 413–416.
- Liang, G.Z., Wang, Y., Zhou, Y., Liu, H., Wu., Z. (2009) Variables affecting melanoidins removal from molasses wastewater by coagulation/flocculation. *Sep. Purif. Technol.* 68, 382–389.
- Liang, G.Z., Wang, Y., Zhou, Y., Liu, H., Wu., Z. (2010) Stoichiometric relationship in the coagulation of melanoidins-dominated molasses wastewater. *Desalination* 250, 42–48.
- Lin, C.Y., Chen, H.P. (2006) Sulfate effect on fermentative hydrogen production using anaerobic mixed microflora. *Int. J. Hydrogen Energy* 31, 953–960.
- Liu, Z., Zhang, C., Lu, Y., Wu, X., Wang, L., Wang, L., Han, B., Xing, X.H. (2013) States and challenges for high-value biohythane production from waste biomass by dark fermentation technology. *Bioresour. Technol.* 135, 292–303.
- Liu, K., Atiyeh, H.K., Stevenson, B.S., Tanner, R.S., Wilkins, M.R., Huhnke, R.L. (2014) Continuous syngas fermentation for the production of ethanol, n-propanol and n-butanol. *Bioresour. Technol.* 151, 69–77.
- Liu, Y.Y., Xu, J.L., Zhang, Y., Liang, C.Y., He, M.C., Yuan, Z.H., Xie, J. (2016) Reinforced alkali-pretreatment for enhancing enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. *Fuel Process. Technol.* 143, 1–6.
- Lora, E.E.S., Andrade, R.V., Martinez, J.D., Rocha, M.H., Sales, C.A.V.B., Mendoza, M.A.G., Obando, D.S. (2012) Gaseificação e pirólise para a conversão da biomassa em eletricidade e biocombustíveis. In: Lora, E.E.S., Venturini, O.J. (Coord.) *Biocombustíveis*. 1. ed. Rio de Janeiro, Interciência. pp. 411–498.
- Ludwig, W., Schleifer, K.H. (2005) Molecular phylogeny of bacteria based on comparative sequence analysis of conserved genes. In: Sapp, J. (Ed.) *Microbial phylogeny and evolution: concepts and controversies*. 1st ed. New York, Oxford University Press. pp. 70–98.
- Ludwig, W., Schleifer, K.H., Whitman, W.B. (2009) Revised road map to the phylum Firmicutes. In: De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., Whitman, W.B. (Eds.) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd ed., vol. 3. New York, Springer. pp. 1–13.
- Luo, G., Angelidaki, I. (2012) Integrated biogas upgrading and hydrogen utilization in an anaerobic reactor containing enriched hydrogenotrophic methanogenic culture. *Biotechnol. Bioeng.* 109, 2729–2736.
- Luo, G., Xie, L., Zou, Z., Wang, W., Zhou, Q., Shim, H. (2010a) Anaerobic treatment of cassava stillage for hydrogen and methane production in continuously stirred tank reactor (CSTR) under high organic loading rate (OLR). *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 11733–11737.
- Luo, G., Xie, L., Zou, Z., Wang, W., Zhou, Q. (2010b) Evaluation of pretreatment methods on mixed inoculum for both batch and continuous thermophilic biohydrogen production from cassava stillage. *Bioresour. Technol.* 101, 959–964.
- Luo, G., Xie, L., Zou, Z., Wang, W., Zhou, Q. (2010c) Exploring optimal conditions for thermophilic fermentative hydrogen production from cassava stillage. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 6161–6169.
- Luo, G., Xie, L., Zhou, Q., Angelidaki, I. (2011) Enhancement of bioenergy production from organic wastes by two-stage anaerobic hydrogen and methane production process. *Bioresour. Technol.* 102, 8700–8706.

- Luo, G., Johansson, S., Boe, K., Xie, L., Zhou, Q., Angelidaki, I. (2012) Simultaneous hydrogen utilization and in situ biogas upgrading in an anaerobic reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 109, 1088–1094.
- Ma, F., Naeve, N., Wang, M., Jiang, L., Chen, R., Zhao, S. (2010) Hydrogen-enriched compressed natural gas as a fuel for engines. In: Potocnik, M. (Ed.) *Natural Gas*. Rijeka, Croatia, InTech. pp. 307–332. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/natural-gas/hydrogen-enriched-compressed-natural-gas-as-a-fuel-for-engines>>. Acesso: 26 out. 2015.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H., Stahl, D.A. (2014) *Brock biology of microorganisms*, 14th. ed. Boston, Pearson College Division.
- Marang, L., Jiang, Y., van Loosdrecht, M.C.M., Kleerebezem, R. (2013) Butyrate as preferred substrate for polyhydroxybutyrate production. *Bioresour. Technol.* 142, 232–239.
- Marchaim, U., Krause, C. (1993) Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 43, 195–203.
- Mariakakis, I., Bischoff, P., Krampe, J., Meyer, C., Steinmetz, H. (2011) Effect of organic loading rate and solids retention time on microbial population during bio-hydrogen production by dark fermentation in large lab-scale. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 11690–11700.
- Mariano, A.P., Keshtkar, M.J., Atala, D.I.P., Mauger Filho, F., Wolf Maciel, M.R., Maciel Filho, R., Stuart, P. (2011) Energy requirements for butanol recovery using the flash fermentation technology. *Energy Fuels* 25, 2347–2355.
- Massanet-Nicolau, J., Dinsdale, R., Guwy, A., Shipley, G. (2015) Utilising biohydrogen to increase methane production, energy yields and process efficiency via two stage anaerobic digestion of grass. *Bioresour. Technol.* 189, 379–383.
- Matsumoto, M., Nishimura, Y. (2007) Hydrogen production by fermentation using acetic acid and lactic acid. *J. Biosci. Bioeng.* 103, 236–241.
- McCarty, P.L., Smith, D.P. (1986) Anaerobic wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* 20, 1200–1206.
- McMurdie, P.J., Holmes, S. (2013) phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE* 8(4), e61217.
- Melo, H.F. (2006) Resposta ao estresse ácido em leveduras da fermentação alcoólica industrial. Recife. Tese (Doutorado) – Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco.
- Menes, R.J., Fernández, A., Muxí, L. (2001) Physiological and molecular characterisation of an anaerobic thermophilic oleate-degrading enrichment culture. *Anaerobe* 7, 17–24.
- MME (2015) Capacidade instalada de geração elétrica – Brasil e mundo (2014). Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/documents/1138787/0/Capacidade+Instalada+de+EE+2014.pdf/cb1d150d-0b52-4f65-a86b-b368ee715463>>. Acesso em: 21 mar. 2016.
- Mockaitis, G., Rodrigues, J.A.D., Foresti, E., Zaiat, M. (2012) Toxic effects of cadmium (Cd^{2+}) on anaerobic biomass: kinetic and metabolic implications. *J. Environ. Manage.* 106, 75–84.
- Mockaitis, G., Pantoja, J.L.R., Rodrigues, J.A.R., Foresti, E., Zaiat, M. (2014) Continuous anaerobic bioreactor with a fixed-structure bed (ABFSB) for wastewater treatment with low solids and low applied organic loading content. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 37, 1361–1368.

- Mohan, S.V., Venkateswar Reddy, M., Venkata Subhash, G., Sarma, P.N. (2010) Fermentative effluents from hydrogen producing bioreactor as substrate for poly(β -OH) butyrate production with simultaneous treatment: an integrated approach. *Bioresour. Technol.* 101, 9382–9386.
- Mohd Yasin, N.H., Rahman, N.A., Man, H.C., Mohd Yusoff, M.Z., Hassan, M.A. (2011) Microbial characterization of hydrogen-producing bacteria in fermented food waste at different pH values. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 9571–9580.
- Moletta, R. (2005) Winery and distillery wastewater treatment by anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* 51(1), 137–144.
- Moraes, B.S., Junqueira, T.L., Pavanello, L.G., Cavalett, O., Mantelatto, P.E., Bonomi, A., Zaiat, M. (2014) Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: profit or expense? *Appl. Energy* 113, 825–835.
- Moraes, B.S., Zaiat, M., Bonomi, A. (2015) Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: challenges and perspectives. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 44, 888–903.
- Morais, E.R., Junqueira, T.L., Sampaio, I.L.M., Dias, M.O.S., Rezende, M.C.A.F., Jesus, C.D.F., Klein, B.C., Gómez, E.O., Mantelatto, P.E., Maciel Filho, R., Bonomi, A. (2016) Biorefinery alternatives. In: Bonomi, A., Cavalett, O., Cunha, M.P., Lima, M.A.P. (Eds.) *Virtual biorefinery: an optimization strategy for renewable carbon valorization*. 1st ed. New York, Springer. pp. 53–132.
- Mosey, F.E. (1983) Mathematical modeling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. *Water Sci. Technol.* 15(8–9), 209–232.
- Moura, R.B., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E. (2012) Nitrogen and carbon removal from synthetic wastewater in a vertical structured-bed reactor under intermittent aeration. *J. Environ. Manage.* 98, 163–167.
- Muñoz, R., Meier, L., Diaz, I., Jeison, D. (2015) A critical review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for an integral biogas upgrading. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 14, 727–759.
- Nagata, Y., Endo, R., Ito, M., Ohtsubo, Y., Tsuda, M. (2007) Aerobic degradation of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) in bacteria and its biochemical and molecular basis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76, 741–752.
- Nakamura, K., Takahashi, A., Mori, C., Tamaki, H., Mochimaru, H., Nakamura, K., Takamizawa, K., Kamagata, Y. (2013) *Methanothermobacter tenebrarum* sp. nov., a hydrogenotrophic, thermophilic methanogen isolated from gas-associated formation water of a natural gas field. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 715–722.
- Nandy, T., Shastry, S., Kaul, S.N. (2002) Wastewater management in a cane molasses distillery involving bioresource recovery. *J. Environ. Manage.* 65, 25–38.
- Nasr, N., Elbeshbishy, E., Hafez, H., Nakhla, G., El Nagggar, M.H. (2012) Comparative assessment of single-stage and two-stage anaerobic digestion for the treatment of thin stillage. *Bioresour. Technol.* 111, 122–126.
- Nogueira, C.E.C., Souza, S.N.M., Micuanski, V.C., Azevedo, R.L. (2015) Exploring possibilities of energy insertion from vinasse biogas in the energy matrix of Paraná State, Brazil. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 48, 300–305.

- Noike, T. (2002) Biological hydrogen production of organic wastes – development of the two-phase hydrogen production process. In: Proceedings of the International Symposium on Hydrogen and Methane Fermentation of Organic Waste, Tokyo. pp. 31–39.
- Noike, T., Takabatake, H., Mizuno, O., Ohba, M. (2002) Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria. *Int. J. Hydrogen Energy* 27, 1367–1371.
- Nonato, R.V., Mantelatto, P.E., Rossell, C.E.V. (2001) Integrated production of biodegradable plastic, sugar and ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 1–5.
- NREL (2003) Gas-fired distributed energy resource technology characterizations. NREL/TP-620-34783. Golden, Colorado, USA, US Department of Energy. Disponível em: <www.nrel.gov/docs/fy04osti/34783.pdf>. Acesso: 11 jan. 2016.
- Ogg, C.D., Patel, B.K.C. (2009) *Caloramator australicus* sp. nov., a thermophilic, anaerobic bacterium from the Great Artesian Basin of Australia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59, 95–101.
- Oh, S.E., van Ginkel, S., Logan, B.E. (2003) The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. *Environ. Sci. Technol.* 37, 5186–5190.
- Olguín, E.J., Sánchez-Galván, G., González-Portela, R.E., López-Vela, M. (2008) Constructed wetland mesocosms for the treatment of diluted sugarcane molasses stillage from ethanol production using *Pontederia sagittata*. *Water Res.* 42, 3659–3666.
- Oliva-Neto, P., Dorta, C., Carvalho, A.F.A., Lima, V.M.G., Silva, D.F. (2013) The Brazilian technology of fuel ethanol fermentation – yeast inhibition factors and new perspectives to improve the technology. In: Méndez-Vilas, A. (Org.) *Materials and processes for energy: communicating current research and technological developments*. 1st ed. Badajoz, Formatex. pp. 371–379.
- Oliveira, B.G., Carvalho, J.L.N., Cerri, C.E.P., Cerri, C.C., Feigl, B.J. (2013) Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. *Geoderma* 200–201, 77–84.
- Oliveira, F.M.V., Pinheiro, I.O., Souto-Maior, A.M., Martin, C., Gonçalves, A.R., Rocha, G.J.M. (2013) Industrial-scale steam explosion pretreatment of sugarcane straw for enzymatic hydrolysis of cellulose for production of second generation ethanol and value-added products. *Bioresour. Technol.* 130, 168–173.
- Osorio, F., Torres, J.C. (2009) Biogas purification from anaerobic digestion in a wastewater treatment for biofuel production. *Renew. Energy* 34, 2164–2171.
- O-Thong, S., Prasertsan, P., Birkelandd, N. (2009) Evaluation of methods for preparing hydrogen-producing seed inocula under thermophilic condition by process performance and microbial community analysis. *Bioresour. Technol.* 100, 909–918.
- Pacheco, J.M., Hoff, D.N. (2013) Fechamento de ciclo de matéria e energia no setor sucroalcooleiro. *SeD* 4(2), 215–236.
- Palacio, J.C.E., Angarita, E.E.Y., Lora, E.E.S., Venturini, E.J. (2012) Cogeração a partir de resíduos na indústria de biocombustíveis: sucroalcooleira e de biodiesel. In: Lora, E.E.S., Venturini, O.J. (Coord.) *Biocombustíveis*. 1. ed. Rio de Janeiro, Interciência. pp. 811–895.
- Parawira, W., Read, J.S., Mattiasson, B., Björnsson, L. (2008) Energy production from agricultural residues: high methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion. *Biomass Bioenergy* 32, 44–50.

- Park, C.; Park, S.; Lee, Y.; Kim, C.; Lee, S.; Moriyoshi, Y. (2011) Performance and emission characteristics of a SI engine fueled by low calorific biogas blended with hydrogen. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 10080–10088.
- Patel, B.K.C.; Morgan, H.W.; Daniel, R.M. (1985) *Fervidobacterium nodosum* gen. nov. and spec. nov., a new chemoorganotrophic, caldophilic, anaerobic bacterium. *Arch. Microbiol.* 141(1), 63–69.
- Pauss, A., Andre, G., Perrier, M., Guiot, S.R. (1990) Liquid-to-gas mass transfer in anaerobic processes: inevitable transfer limitations of methane and hydrogen in the biomethanation process. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(6), 1636–1644.
- Pawar, S.S., van Niel, E.W.J. (2013) Thermophilic biohydrogen production: how far are we? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 7999–8009.
- Peixoto, G., Saavedra, N.K., Varesche, M.B., Zaiat, M. (2011) Hydrogen production from soft-drink wastewater in an upflow anaerobic packed-bed reactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 8953–8966.
- Peixoto, G., Pantoja-Filho, J.L.R., Agnelli, J.A.B., Barboza, M., Zaiat, M. (2012) Hydrogen and methane production, energy recovery, and organic matter removal from effluents in a two-stage fermentative process. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 168, 651–671.
- Penteado, E.D., Lazaro, C.Z., Sakamoto, I.K., Zaiat, M. (2013) Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 6137–6145.
- Perna, V., Castelló, E., Wenzel, J., Zampol, C., Fontes Lima, D.M., Borzacconi, L., Varesche, M.B., Zaiat, M., Etchebehere, C. (2013) Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 54–62.
- Podmirseg, S.M., Seewald, M.S.A., Knapp, B.A., Bouzid, O., Biderre-Petit, C., Peyret, P., Insam, H. (2013) Wood ash amendment to biogas reactors as an alternative to landfilling? A preliminary study on changes in process chemistry and biology. *Waste Manage. Res.* 31(8), 829–842.
- Poggi-Varaldo, H.M., Munoz-Paez, K.M., Escamilla-Alvarado, C., Robledo-Narváez, P.N., Ponce-Noyola, M.T., Calva-Calva, G., Ríos-Leal, E., Galíndez-Mayer, J., Estrada-Vázquez, C., Ortega-Clemente, A., Rinderknecht-Seijas, N.F. (2014) Biohydrogen, biomethane and bioelectricity as crucial components of biorefinery of organic wastes: a review. *Waste Manage. Res.* 32, 353–365.
- Porpatham, E., Ramesh, A., Nagalingam, B. (2007) Effect of hydrogen addition on the performance of a biogas fuelled spark ignition engine. *Int. J. Hydrogen Energy* 32, 2057–2065.
- Porpatham, E., Ramesh, A., Nagalingam, B. (2008) Investigation on the effect of concentration of methane in biogas when used as a fuel for a spark ignition engine. *Fuel* 87, 1651–1659.
- Poveda, M.M.R. (2014) Análise econômica e ambiental do processamento da vinhaça com aproveitamento energético. São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Energia e Ambiente, Universidade de São Paulo.
- Prada, S.M., Guekezian, M., Suárez-Iha, M.E.V. (1998) Metodologia analítica para a determinação de sulfato em vinhoto. *Quím. Nova* 21, 249–252.
- PRé Consultants (2016). SimaPro Life Cycle Assessment software. Disponível em: <<http://www.pre-sustainability.com/simapro>>. Acesso: 16 abr. 2016.

- Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B.M., Ludwig, W., Peplies, J., Glöckner, F.O. (2007) SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Res.* 35, 7188–7196.
- Química e derivados (2015) Mercado – preço à vista sem impostos coletados em São Paulo entre os dias 27 e 30 de novembro de 2015 (Ano LI, n. 563). Disponível em: <<http://www.quimica.com.br/pquimica/revistas/qd563/index.html>>. Acesso: 10 abr. 2016.
- Radivojevic, J., Skaro, S., Senerovic, L., Vasiljevic, B., Guzik, M., Kenny, S.T., Maslak, V., Nikodinovic-Runic, J., O'Connor, K.E. (2016) Polyhydroxyalkanoate-based 3-hydroxyoctanoic acid and its derivatives as a platform of bioactive compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 161–172.
- Rajeshwari, K.V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, K., Kishore, V.V.N. (2000) State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 4, 135–156.
- Reddy, M.V., Nikhil, G.N., Venkata Mohan, S., Swamy, Y.V., Sarma, P.N. (2012) *Pseudomonas otitidis* as a potential biocatalyst for polyhydroxyalkanoates (PHA) synthesis using synthetic wastewater and acidogenic effluents. *Bioresour. Technol.* 123, 471–479.
- Regestein, L., Doerr, E.W., Staaden, A., Rehmann, L. (2015) Impact of butyric acid on butanol formation by *Clostridium pasteurianum*. *Bioresour. Technol.* 196, 153–159.
- Reis, M.A.M., Gonçalves, L.M.D., Carrondo, M.J.T. (1988) Sulphate removal in acidogenic phase anaerobic digestion. *Environ. Technol.* 9, 775–784.
- Reis, M.A.M., Lemos, P.C., Martins, M.J., Costa, P.C., Gonçalves, L.M.D., Carrondo, M.J.T. (1991) Influence of sulfates and operational parameters on volatile fatty acids concentration profile in acidogenic phase. *Bioprocess Eng.* 6, 145–151.
- Ren, N., Xing, D., Rittmann, B.E., Zhao, L., Xie, T., Zhao, X. (2007) Microbial community structure of ethanol type fermentation in bio-hydrogen production. *Environ. Microbiol.* 9(5), 1112–1125.
- Ren, N.Q., Cao, G.L., Wang, A.J., Lee, D.J., Guo, W.Q., Zhu, Y.H. (2008) Dark fermentation of xylose and glucose mix using isolated *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 6124–6132.
- Renó, M.L.G., Lora, E.E.S., Venturini, O.J. (2012) Biocombustíveis de segunda geração – combustíveis líquidos pela rota BTL. In: Lora, E.E.S., Venturini, O.J. (Coord.) *Biocombustíveis*. 1. ed. Rio de Janeiro, Interciência. pp. 499–533.
- Rintala, J. (1991) High-rate anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Water Sci. Technol.* 24(1), 69–74.
- Ripley, L.E., Boyle, W.C., Converse, J.C. (1986) Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *J. Water Pollut. Control Fed.* 58(5), 406–411.
- Rocha, M.H., Lora, E.E.S., Venturini, O.J., Escobar, J.C.P., Santos, J.J.C.S., Moura, A.G. (2010) Use of the life cycle assessment (LCA) for comparison of the environmental performance of four alternatives for the treatment and disposal of bioethanol stillage. *Int. Sugar J.* 112, 611–622.
- Rocha, G.J.M., Martín, C., Silva, V.F.N., Gómez, E.O., Gonçalves, A.R. (2012a) Mass balance of pilot-scale pretreatment of sugarcane bagasse by steam explosion followed by alkaline delignification. *Bioresour. Technol.* 111, 447–452.
- Rocha, G.J.M., Gonçalves, A.R., Oliveira, B.R., Olivares, E.G., Rossell, C.E.V. (2012b) Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions

- performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production. *Ind. Crops Prod.* 35, 274–279.
- Rodrigues, J.A.R. (2011) Do engenho à biorrefinaria. A usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. *Quím. Nova* 34(7), 1242–1254.
- Rodrigues, I.J., Fuess, L.T., Biondo, L., Santesso, C.A., Garcia, M.L. (2014) Coagulation-flocculation of anaerobically treated sugarcane stillage. *Desalin. Water Treat.* 52, 4111–4121.
- Rodriguez, J., Kleerebezem, R., Lema, J.M., van Loosdrecht, M.C.M. (2006) Modeling product formation in anaerobic mixed culture fermentations. *Biotechnol. Bioeng.* 93, 592–606.
- Rosa, A.V. (2009) *Fundamentals of renewable energy processes*. 2nd. ed. Amsterdam; Boston, Elsevier Academic.
- Rosa, P.R.F., Santos, S.C., Sakamoto, I.K., Varesche, M.B.A., Silva, E.L. (2014) The effects of seed sludge and hydraulic retention time on the production of hydrogen from a cassava processing wastewater and glucose mixture in an anaerobic fluidized bed reactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 13118–13127.
- Russo, C., Sant'Anna Jr., G.L., Pereira, S.E.C. (1985) An anaerobic filter applied to the treatment of distillery wastewaters. *Agric. Wastes*, 14, 301–313.
- Ryan, D.; Gadd, A.; Kavanagh, J.; Zhou, M.; Barton, G. (2008) A comparison of coagulant dosing options for the remediation of molasses process water. *Sep. Purif. Technol.* 58, 347–352.
- Saady, N.M.C. (2013) Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 13172–13191.
- Saelee, K., Yingkamhaeng, N., Nimchua, T., Sukyai, P. (2016) An environmentally friendly xylanase-assisted pretreatment for cellulose nanofibrils isolation from sugarcane bagasse by high-pressure homogenization. *Ind. Crops Prod.* 82, 149–160.
- Salomon, K.R., Lora, E.E.S. (2009) Estimate of the electric energy generating potential for different sources of biogas in Brazil. *Biomass Bioenergy* 33, 1101–1107.
- Salomon, K.R., Lora, E.E.S., Rocha, M.H., del Olmo, O.A. (2011) Cost calculations for biogas from vinasse biodigestion and its energy utilization. *Sugar Ind.* 136(4), 217–223.
- Sánchez Riera, F., Cordoba, P., Sineriz, F. (1985) Use of the UASB reactor for the anaerobic treatment of stillage from sugar cane molasses. *Biotechnol. Bioeng.* 27, 1710–1716.
- Sand-Jensen, K., Gordon, D.M. (1986) Variable HCO_3^- affinity of *Elodea canadensis* Michaux in response to different HCO_3^- and CO_2 concentrations during growth. *Oecologia* 70, 426–432.
- Sangave, P.C., Gogate, P.R., Pandit, A.B. (2007) Combination of ozonation with conventional aerobic oxidation for distillery wastewater treatment. *Chemosphere* 68, 32–41.
- Santos, G.M. (2015) Efeito da vinhaça na produção biológica de álcoois e ácidos orgânicos voláteis por meio de consórcio microbiano. Campinas. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas.
- Santos, S.C., Rosa, P.F.R., Sakamoto, I.K., Varesche, M.B.A., Silva, E.L. (2014a) Continuous thermophilic hydrogen production and microbial community analysis from anaerobic digestion of diluted sugar cane stillage. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 9000–9011.

- Santos, S.C., Rosa, P.F.R., Sakamoto, I.K., Varesche, M.B.A., Silva, E.L. (2014b) Hydrogen production from diluted and raw sugarcane vinasse under thermophilic anaerobic conditions. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 9599–9610.
- Santos, S.C., Rosa, P.F.R., Sakamoto, I.K., Varesche, M.B.A., Silva, E.L. (2014c) Organic loading rate impact on biohydrogen production and microbial communities at anaerobic fluidized thermophilic bed reactors treating sugarcane stillage. *Bioresour. Technol.* 159, 55–63.
- Santos, C.E.D., Moura, R.B., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E. (2016) Influence of COD/N ratio and carbon source on nitrogen removal in a structured-bed reactor subjected to recirculation and intermittent aeration (SBRRIA). *J. Environ. Manage.* 166, 519–524.
- São Paulo. Secretaria de Energia (2012) Plano Paulista de Energia – PPE 2020. Disponível em: <www.energia.sp.gov.br/a2sitebox/arquivos/documentos/491.pdf>. Acesso: 15 jan. 2016.
- Sarma, S.J., Pachapur, V., Brar, S.K., Le Bihan, Y., Buelna, G. (2015) Hydrogen biorefinery: potential utilization of the liquid waste from fermentative hydrogen production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 50, 942–951.
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J., Weber, C.F. (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–7541.
- Schmidt, J.E., Ahring, B.K. (1995) Granulation in thermophilic upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Antonie van Leeuwenhoek* 68, 339–344.
- Scoma, A., Bertin, L., Fava, F. (2013) Effect of hydraulic retention time on biohydrogen and volatile fatty acids production during acidogenic digestion of dephenolized olive mill wastewaters. *Biomass Bioenergy* 48, 51–58.
- Searmsirimongkol, P., Rangsunvigit, P., Leethochawalit, M., Chavadej, S. (2011) Hydrogen production from alcohol distillery wastewater containing high potassium and sulfate using anaerobic sequencing batch reactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 12810–12821.
- Seeliger, S., Janssen, P.H., Schink, B. (2002) Energetics and kinetics of lactate fermentation to acetate and propionate via methylmalonyl-CoA or acrylyl-CoA. *FEMS Microbiol. Lett.* 211, 65–70.
- Seghezzo, L., Zeeman, G., van Lier, J.B., Hamelers, H.V.M., Lettinga, G. (1998) A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresour. Technol.* 65, 175–190.
- Seth, R., Goyal, S.K., Handa, B.K. (1995) Fixed film biomethanation of distillery spentwash using low cost porous media. *Resour. Conserv. Recy.* 14, 79–89.
- Sheehan, G.J., Greenfield, P.F. (1980) Utilisation, treatment and disposal of distillery wastewater. *Water Res.* 14, 257–277.
- Shen, G.J., Annous, B.A., Lovitt, R.W., Jain, M.K., Zeikus, J.G. (1996) Biochemical route and control of butyrate synthesis in *Butyribacterium methylotrophicum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45(3), 355–362.
- Shida, G.M., Barros, A.R., Reis, C.M., Amorim, E.L.C., Damianovic, M.H.R.Z., Silva, E.L. (2009) Long-term stability of hydrogen and organic acids production in an anaerobic fluidized-bed reactor using heat treated anaerobic sludge inoculum. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 3679–3688.

- Shivayogimath, C.B., Ramanujam, T.K. (1999) Treatment of distillery spentwash by hybrid UASB reactor. *Bioprocess Eng.* 21, 255–259.
- Show, K.Y., Lee, D.J., Chang, J.S. (2011) Bioreactor and process design for biohydrogen production. *Bioresour. Technol.* 102, 8524–8533.
- Show, K.Y., Lee, D.J., Tay, J.H., Lin, C.Y., Chang, J.S. (2012) Biohydrogen production: current perspectives and the way forward. *Int. J. Hydrogen Energy* 37, 15616–15631.
- Shrihari, S., Tare, V. (1989) Anaerobic-aerobic treatment of distillery wastes. *Water Air Soil Pollut.* 43, 95–108.
- Sikora, A., Blaszczyk, M., Jurkowski, M., Zielenkiewicz, U. (2013) Lactic acid bacteria in hydrogen-producing consortia: on purpose or by coincidence? In: Kongo, M. (Ed.) *Lactic acid bacteria – R & D for food, health and livestock purposes*. Rijeka, Croatia, InTech. pp. 487–514.
- Silva, L.C.B. (2010) Identificação de actinobactérias e *Thermoactinomyces* spp. isolados do processo de compostagem para a produção de *Agaricus brasiliensis*. Lavras. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras.
- Silva, G.A. (2012) Avaliação das tecnologias de disposição de vinhaça de cana-de-açúcar quanto ao aspecto de desenvolvimento ambiental e econômico. São Carlos. Doutorado (Tese) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- Silva, A.J., Hirasawa, J.S., Varesche, M.B., Foresti, E., Zaiat, M. (2006) Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea. *Anaerobe* 12, 93–98.
- Silva, A.J., Pozzi, E., Foresti, E., Zaiat, M. (2014) The influence of the buffering capacity on the production of organic acids and alcohols from wastewater in anaerobic reactor. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 175, 2258–2265.
- Siqueira, L.M., Damiano, E.S.G., Silva, E.L. (2013) Influence of organic loading rate on the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and biogas production in fluidized bed reactor. *J. Environ. Sci. Heal. A* 48(13), 1707–1716.
- Sivagurunathan, P., Sen, B., Lin, C.Y. (2014) Overcoming propionic acid inhibition of hydrogen fermentation by temperature shift strategy. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 19232–19241.
- Sjöblom, M., Matsakas, L., Christakopoulos, P., Rova, U. (2015) Production of butyric acid by *Clostridium tyrobutyricum* (ATCC25755) using sweet sorghum stalks and beet molasses. *Ind. Crops Prod.* 74, 535–544.
- Soam, S., Kumar, R., Gupta, R.P., Sharma, P.K., Tuli, D.K., Das, B. (2015) Life cycle assessment of fuel ethanol from sugarcane molasses in northern and western India and its impact on Indian biofuel programme. *Energy* 83, 307–315.
- Sohsalam, P., Sirianuntapiboon, S. (2008) Feasibility of using constructed wetland treatment for molasses wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 99, 5610–5616.
- Solli, L., Håvelsrud, O.E., Horn, S.J., Rike, A.G. (2014) A metagenomic study of the microbial communities in four parallel biogas reactors. *Biotechnol. Biofuels* 7:146.
- Souza, M.E. (1984) Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. *Revista DAE* 44(137), 88–94.
- Souza, M.E., Fuzaro, G., Polegato, A.R. (1992) Thermophilic anaerobic digestion of vinasse in pilot plant UASB reactor. *Water Sci. Technol.* 25(7), 213–222.

- Speece, R.E. (1981) Review – environmental requirements for anaerobic digestion of biomass. Environmental Studies Institute, Drexel University, Philadelphia.
- Speece, R.E., Boonyakitsombut, S., Kim, M., Azbar, N., Ursillo, P. (2006) Overview of anaerobic treatment: thermophilic and propionate implications. *Water Environ. Res.* 78, 460–473.
- Sreela-or, C., Imai, T., Plangklang, P., Reungsang, A. (2011) Optimization of key factors affecting hydrogen production from food waste by anaerobic mixed cultures. *Int. J. Hydrogen Energy* 36, 14120–14133.
- Sreethawong, T., Suchavadee, C., Pramoch, R., Sumaeth, C. (2010) Hydrogen production from cassava wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor: effects of operational parameters, COD:N ratio, and organic acid composition. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 4092–4102.
- Stams, A.J.M., Dijkema, C., Plugge, C.M., Lens, P. (1998) Contribution of C-NMR spectroscopy to the elucidation of pathways of propionate formation and degradation in methanogenic environments. *Biodegradation* 9, 463–473.
- Sundberg, C., Al-Soud, W.A., Larsson, M., Alm, E., Yekta, S.S., Svensson, B.H., Sørensen, S.J., Karlsson, A. (2013) 454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 85, 612–626.
- Syutsubo, K., Harada, H., Ohashi, A. (1998) Granulation and sludge retainment during start-up of a thermophilic UASB reactor. *Water Sci. Technol.* 38(8–9), 349–357.
- Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H.D., Metcalf & Eddy (2003) *Wastewater engineering: treatment and reuse*. 4th. ed. New York, McGraw-Hill.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L. (2006) Effects of two beet vinasse forms on soil physical properties and soil loss. *Catena* 68(1), 41–50.
- Thauer, R.K., Jungermann, K., Decker, K. (1977) Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41(1), 100–180.
- Tholozan, J.L., Touzel, J.P., Samain, E., Grivet, J.P., Prensier, G., Albagnac, G. (1992) *Clostridium neopropionicum* sp. nov., a strict anaerobic bacterium fermenting ethanol to propionate through acrylate pathway. *Arch. Microbiol.* 157, 249–257.
- Typpayawong, N., Thanompongchart, P. (2010) Biogas quality upgrade by simultaneous removal of CO₂ and H₂S in a packed column reactor. *Energy* 35, 4531–4535.
- Tokiwa, Y., Ugwu, C.U. (2007) Biotechnological production of (R)-3-hydroxybutyric acid monomer. *J. Biotechnol.* 132, 264–272.
- Tsuji, A., Kaneko, Y., Takahashi, K., Ogawa, M., Goto, S. (1982) The effects of temperature and pH on the growth of eight enteric and nine glucose non-fermenting species of Gram-negative rods. *Microbiol. Immunol.* 26(1), 15–24.
- Ueki, A., Akasaka, H., Suzuki, D., Ueki, K. (2006) *Paludibacter propionigenes* gen. nov., sp. nov., a novel strictly anaerobic, Gram-negative, propionate-producing bacterium isolated from plant residue in irrigated rice-field soil in Japan. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56, 39–44.
- Uemura, S., Harada, H. (1995) Inorganic composition and microbial characteristics of methanogenic granular sludge grown in a thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43, 358–364.

- UNICA (2016) A bioeletricidade da cana em números – fevereiro de 2016. São Paulo/Brasília. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/download.php?idSecao=17&id=6703271>> Acesso: 11 jan. 2016.
- Valdez-Vazquez, I., Poggi-Varaldo, H.M. (2009) Hydrogen production by fermentative consortia. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 13, 1000–1013.
- van Ginkel, S., Logan, B.E. (2005) Inhibition of biohydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9351–9356.
- van Ginkel, S.W., Oh, S.E., Logan, B.E. (2005) Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. *Int. J. Hydrogen Energy* 30, 1535–1542.
- van Haandel, A.C. (2005) Integrated energy production and reduction of the environmental impact at alcohol distillery plants. *Water Sci. Technol.* 52, 49–57.
- van Lier, J.B., Hulsbeek, J., Stams, A.J.M., Lettinga, G. (1993) Temperature susceptibility of thermophilic methanogenic sludge: implications for reactor start-up and operation. *Bioresour. Technol.* 43, 227–235.
- van Lier, J.B., Mahmoud, N., Zeeman, G. (2008) Anaerobic wastewater treatment. In: Henze, M., van Loosdrecht, M.C.M., Ekama, G.A., Brdjanovic, D. (Eds.) *Biological wastewater treatment: principles, modelling and design*. London, IWA Publishing. pp. 415–456.
- van Lier, J.B., van der Zee, F.P., Frijters, C.T.M.J., Ersahin, M.E. (2015) Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 14, 681–702.
- van Zelm, R., Huijbregts, M.A.J., van Jaarsveld, H.A., Reinds, G.J., de Zwart, D., Struijs, J., van de Meent, D. (2007) Time horizon dependent characterization factors for acidification in life-cycle assessment based on forest plant species occurrence in Europe. *Environ. Sci. Technol.* 41, 922–927.
- Vásquez, J., Nakasaki, K. (2016) Effects of shock loading versus stepwise acclimation on microbial consortia during the anaerobic digestion of glycerol. *Biomass Bioenergy* 86, 129–135.
- Vatsala, T.M. (1992) Hydrogen production from (cane-molasses) stillage by *Citrobacter freundii* and its use in improving methanogenesis. *Int. J. Hydrogen Energy* 17, 923–927.
- Vela, F.J., Gianotti, E.P., Foresti, E., Zaiat, M. (1999) Estimation of substrate effective diffusivities in anaerobic bioparticles. *Environ. Technol.* 20, 1163–1170.
- Vela, F.J., Zaiat, M., Foresti, E. (2002) Influence of the COD to sulphate ratio on the anaerobic organic matter degradation kinetics. *Water SA* 28, 213–216.
- Verma, H., Kumar, R., Oldach, P., Sangwan, N., Khurana, J.P., Gilbert, J.A., Lal, R. (2014) Comparative genomic analysis of nine *Sphingobium* strains: insights into their evolution and hexachlorocyclohexane (HCH) degradation pathways. *BMC Genomics* 15:1014.
- Vestergaard, O., Sand-Jensen, K. (2000) Aquatic macrophyte richness in Danish lakes in relation to alkalinity, transparency, and lake area. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57, 2022–2031.
- Vilela, R.S., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E. (2014) Removing organic matter from sulfate-rich wastewater via sulfidogenic and methanogenic pathways. *Water Sci. Technol.* 69, 1669–1675.
- Vlissidis, A., Zouboulis, A.I. (1993) Thermophilic anaerobic digestion of alcohol distillery wastewaters. *Bioresour. Technol.* 43, 131–140.

- Wanderley, M.C.A., Martín, C., Rocha, G.J.M., Gouveia, E.R. (2013) Increase in ethanol production from sugarcane bagasse based on combined pretreatments and fed-batch enzymatic hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 128, 448–453.
- Wang, J., Wan, W. (2009) Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 799–811.
- Wang, W., Xie, L., Luo, G., Zhou, Q. (2013) Enhanced fermentative hydrogen production from cassava stillage by co-digestion: the effects of different co-substrates. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 6980–6988.
- Wasserfallen, A., Nolling, J., Pfister, P., Reeve, J., de Macario, E.C. (2000) Phylogenetic analysis of 18 thermophilic *Methanobacterium* isolates supports the proposals to create a new genus, *Methanothermobacter* gen. nov., and to reclassify several isolates in three species, *Methanothermobacter thermautotrophicus* comb. nov., *Methanothermobacter wolfeii* comb. nov., and *Methanothermobacter marburgensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50, 43–53.
- Watanabe, M.D.B., Pereira, L.G., Chagas, M.F., Cunha, M.P., Jesus, C.D.F., Souza, A., Rivera, E.C., Maciel Filho, R., Cavalett, O., Bonomi, A. (2016) Sustainability assessment methodologies. In: Bonomi, A., Cavalett, O., Cunha, M.P., Lima, M.A.P. (Eds.) *Virtual biorefinery: an optimization strategy for renewable carbon valorization*. 1st ed. London, Springer. pp. 155–188.
- Westerholm, M., Roos, S., Schnürer, A. (2010) *Syntrophaceticus schinkii* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, syntrophic acetate-oxidizing bacterium isolated from a mesophilic anaerobic filter. *FEMS Microbiol. Lett.* 309, 100–104.
- Wiegant, W.M., Lettinga, G. (1985) Thermophilic anaerobic digestion of sugars in upflow anaerobic sludge blanket reactors. *Biotechnol. Bioeng.* 27, 1603–1607.
- Wiegant, W.M., Claassen, J.A., Lettinga, G. (1985) Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewaters. *Biotechnol. Bioeng.* 27, 1374–1381.
- Wiegant, W.M., Hennink, M., Lettinga, G. (1986) Separation of the propionate degradation to improve the efficiency of thermophilic anaerobic treatment of acidified wastewaters. *Water Res.* 20, 517–524.
- Wiegel, J., Tanner, R., Rainey, F.A. (2006) An introduction to the family Clostridiaceae. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E. (Eds.) *The Prokaryotes*. Volume 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3rd ed. New York, Springer. pp. 654–678.
- Wilkie, A.C., Riedesel, K.J., Owens, J.M. (2000) Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. *Biomass Bioenergy* 19, 63–102.
- Willington, I.P., Marten, G.G. (1982) Options for handling stillage waste from sugar-based fuel ethanol production. *Resour. Conserv.* 8, 111–129.
- Wirth, R., Kovács, E., Maróti, G., Bagi, Z., Rákhely, G., Kovács, K.L. (2012) Characterization of a biogas-producing microbial community by short-read next generation DNA sequencing. *Biotechnol. Biofuels* 5:41.
- Wu, Y., Cui, E., Zuo, Y., Cheng, W., Rensing, C., Chen, H. (2016) Influence of two-phase anaerobic digestion on fate of selected antibiotic resistance genes and class I integrons in municipal wastewater sludge. *Bioresour. Technol.* 211, 414–421.

- Xie, L., Liu, H., Chen, Y.G., Zhou, Q. (2014) pH-adjustment strategy for volatile fatty acid production from high-strength wastewater for biological nutrient removal. *Water Sci. Technol.* 69, 2043–2051.
- Yang, X., Choi, H.S., Park, C., Kim, S.W. (2015) Current states and prospects of organic waste utilization for biorefineries. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 49, 335–349.
- Yu, B., Shan, A., Zhang, D., Lou, Z., Yuan, H., Huang, X., Zhu, N., Hu, X. (2015) Dosing time of ferric chloride to disinhibit the excessive volatile fatty acids in sludge thermophilic anaerobic digestion system. *Bioresour. Technol.* 189, 154–161.
- Zaiat, M., Cabral, A.K.A., Foresti, E. (1994) Reator anaeróbio horizontal de leito fixo para tratamento de águas residuárias: concepção e avaliação preliminar de desempenho. *REBEQ* 11(2), 33–42.
- Zayas, T., Romero, V., Salgado, L., Meraz, M., Morales, U. (2007) Applicability of coagulation/flocculation and electrochemical processes to the purification of biologically treated vinasse effluent. *Sep. Purif. Technol.* 57, 270–276.
- Zheng, H.S., Guo, W.Q., Yang, S.S., Feng, X.C., Du, J.S., Zhou, X.J., Chang, J.S., Ren, N.Q. (2014) Thermophilic hydrogen production from sludge pretreated by thermophilic bacteria: analysis of the advantages of microbial community and metabolism. *Bioresour. Technol.* 172, 433–437.

APÊNDICE A:

Caracterização inorgânica das amostras de vinhaça utilizadas na etapa experimental

Tabela A1. Caracterização inorgânica das amostras de vinhaça de cana-de-açúcar coletadas ao longo da safra.

Metal ^a	Período de amostragem					
	C1 (mai-2014)	C2 (jun-2014)	C3 (jul-2014)	C4 (ago-2014)	C5 (out-2014)	C6-7 (nov/dez-2014)
Cálcio	2280	1663	812	1365	1155	2240
Magnésio	348	287	190	264	260	189
Sódio	26,5	16,8	29,1	32,9	27,3	66
Ferro	9,93	9,75	9,78	8,34	9,73	8,84
Manganês	3,61	3,01	2,01	3,79	3,73	4,33
Cobalto	0,26	0,20	0,13	0,19	0,14	0,25
Níquel	0,24	0,26	0,12	0,13	0,29	0,15
Zinco	0,77	0,35	0,43	0,32	0,54	0,38
Cobre	0,48	0,38	0,19	0,34	0,26	0,27
Chumbo	0,48	0,34	0,18	0,23	0,12	0,41
Cádmio	0,12	0,05	0,07	0,09	0,08	0,07
Cromo	0,18	0,08	0,03	0,05	0,07	0,04

Notas: ^aConcentrações em mg L⁻¹. Análises realizadas empregando-se espectrometria de absorção atômica.

APÊNDICE B:

**Planta de biodigestão anaeróbia com separação de fases para o tratamento de vinhaça
de cana-de-açúcar**

Figura B1. Fluxograma de processo simplificado proposto para a planta de biodigestão anaeróbica com separação de fases. **Fonte:** Elaboração própria.

B1. DESCRIÇÃO DA PLANTA DE BIODIGESTÃO

No período de safra a vinhaça bruta ($382,8 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) inicialmente é recebida nos tanques de equalização TQ-01A/B/C (Figura B1), de modo a se observar uma operação específica em cada unidade: enchimento, análise composicional e direcionamento para entrada dos reatores acidogênicos (após a análise composicional). Para fins de dimensionamento, considerou-se um volume útil de $1.051,25 \text{ m}^3$ para cada tanque (Tabela B1). A vinhaça bruta equalizada segue para correção do pH por meio da adição de solução de NaOH, sendo a bomba dosadora (BD-01A/B, Figura B1) conectada a um medidor *online* de pH. Na sequência, o efluente com pH ajustado é distribuído entre três reatores de leito fixo empacotado (RE-01A/B/C, Figura B1), cada um com capacidade útil de $1.064,70 \text{ m}^3$ (Tabela B1), tendo em vista o preenchimento com PEBD. O biogás- H_2 produzido é coletado no *headspace* dos três reatores, sendo as linhas interligadas e direcionadas para o devido uso (não apresentado na Figura B1). Por sua vez, a vinhaça acidificada segue para o tanque de equalização TQ-02A ($3.105,00 \text{ m}^3$, Tabela B1), no qual é feita a adição de NaHCO_3 (bomba dosadora BD-02A/B, Figura B1) para ajuste de pH e alcalinidade. Uma bomba centrífuga (BC-02A/B) faz a recirculação da vinhaça acidificada no tanque TQ-02A (Figura B1), buscando-se otimizar o emprego de alcalinizante. Na etapa metanogênica, a vinhaça acidificada é direcionada, por meio de bombas centrífugas (BC-03A/B/C/D/E/F), a cinco reatores de leito fixo estruturado operados em paralelo (RE-02A/B/C/D/E, Figura B1), cada um apresentando $1.622,40 \text{ m}^3$ de volume útil. Assim como o biogás- H_2 , o biogás- CH_4 é coletado no *headspace* dos reatores metanogênicos e as linhas são interligadas para direcionar o biogás para o devido uso, de acordo com os cenários avaliados. A vinhaça biodigerida (metanizada) é coletada na saída dos reatores e direcionada para a lavoura.

No período de entressafra, tendo em vista a menor vazão ($264,2 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) e a menor concentração de matéria orgânica na vinhaça, algumas alterações seriam necessárias na operação da planta de biodigestão, buscando-se manter, principalmente, condições de carga adequadas nos reatores. Neste caso, a vinhaça bruta inicialmente é recebida em apenas dois tanques de equalização (TQ-01A/B), sendo direcionada para o ajuste de pH (NaOH) e posteriormente para a fase acidogênica. Apenas dois reatores (RE-01A/B) seriam necessários para promover a acidificação da vinhaça, reduzindo-se, para tanto, a altura útil nas unidades para manutenção da COVa de $84,2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Tabela B1). A vinhaça acidificada segue para o tanque TQ-02A, no qual é feita a correção da alcalinidade, sendo posteriormente direcionada para três reatores metanogênicos (RE-02A/B/C). Novamente, seria necessária uma redução da altura útil em cada unidade (Tabela B1) para manutenção da COVa ótima.

Tabela B1. Características dimensionais e operacionais dos tanques de equalização e reatores na planta de biodigestão com separação de fases.

Unidade	Identificação (Figura B1)	Dimensionamento				
		Volume total (m ³)	Volume útil ^a (m ³)	L x C x Ht (m) ^b	COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	TDH (h)
Tanque de equalização	TQ-01A/B/C	1.156,37	1.051,25 ^c	14,5 x 14,5 x 5,5	-	8,0 ^d (safra)
						8,0 (entressafra)
Reator acidogênico	RE-01A/B/C	1.820,00	1.064,70 ^e (safra)	13,0 x 20,0 x 7,0	81,4 (safra)	8,3 (safra)
			819,00 ^f (entressafra)		84,2 (entressafra)	6,2 (entressafra)
Tanque de equalização	TQ-02A	3.363,75	3.105,00 ^g (safra)	22,5 x 23,0 x 6,5	-	8,0 ^d (safra)
			2.070,00 ^h (entressafra)			8,0 ^d (entressafra)
Reator metanogênico	RE-02A/B/C/D/E	1.820,00	1.622,40 ^e (safra)	13,0 x 20,0 x 7,0	25,2 (safra)	21,2 (safra)
			1.372,80 ⁱ (entressafra)		25,0 (entressafra)	15,6 (entressafra)

Notas: ^aDesconsiderando-se o *headspace*; ^bL = largura, C = comprimento, Ht = altura total; ^cAltura útil = 5,0 m; ^dValores fixados (safra); ^eAltura útil = 6,5 m; ^fAltura útil = 5,0 m; ^gAltura útil = 6,0 m; ^hAltura útil = 4,0 m; ⁱAltura útil = 5,5 m.

APÊNDICE C:

Planta de biodigestão anaeróbia em fase única para o tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar

Figura C1. Fluxograma de processo simplificado proposto para a planta de biodigestão anaeróbia em fase única. **Fonte:** Elaboração própria.

C1. DESCRIÇÃO DA PLANTA DE BIODIGESTÃO

Considerando a planta de biodigestão em fase única, no período de safra a vinhaça bruta ($382,8 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) é recebida nos tanques de equalização TQ-01A/B (Figura C1), sendo o ajuste de pH e alcalinidade realizado no tanque TQ-01C a partir da adição de NaHCO_3 (bomba dosadora BD-02A/B, Figura C1). O volume útil de cada tanque é idêntico ao da planta de biodigestão com separação de fases, i.e., $1.051,25 \text{ m}^3$. Uma bomba centrífuga (BC-02A/B) faz a recirculação da vinhaça acidificada no tanque TQ-01C (Figura C1), também buscando a otimização do emprego de alcalinizante. Em seguida, a vinhaça é direcionada, por meio de bombas centrífugas (BC-03A/B/C/D/E/F/G), a seis reatores de leito fixo estruturado operados em paralelo (RE-02A/B/C/D/E/F, Figura C1), cada um apresentando $1.747,20 \text{ m}^3$ de volume útil (Tabela C1). Diferentemente da planta com pré-acificação da vinhaça, neste caso torna-se necessária a instalação de um reator adicional para garantir uma distribuição de vazão e carga adequada, obtendo-se uma COVa próxima à considerada ótima para a fase metanogênica ($\sim 25 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, Tabela C1). O biogás- CH_4 é coletado no *headspace* dos reatores metanogênicos e as linhas são interligadas para direcionar o biogás para o devido uso, de acordo com os cenários avaliados. A vinhaça biodigerida (metanizada) é coletada na saída dos reatores e direcionada para a lavoura.

Com relação às alterações no modo de operação durante a entressafra, novamente a vinhaça bruta seria recebida em apenas dois tanques de equalização (TQ-01B/C), sendo o ajuste de pH e alcalinidade realizado no tanque TQ-01C (adição de NaHCO_3). Em seguida, a vinhaça segue para três reatores metanogênicos (RE-02A/B/C), de modo a se observar a manutenção da COVa em condições próximas à ótima (Tabela C1).

Tabela C1. Características dimensionais e operacionais dos tanques de equalização e reatores na planta de biodigestão em fase única.

Unidade	Identificação (Figura C1)	Dimensionamento				
		Volume total (m ³)	Volume útil ^a (m ³)	L x C x Ht (m) ^b	COVa (kgDQO m ⁻³ d ⁻¹)	TDH (h)
Tanque de equalização	TQ-01A/B/C	1.156,37	1.051,25 ^c	14,5 x 14,5 x 5,5	-	8,0 ^d (safra)
						8,0 (entressafra)
Reator metanogênico	RE-02A/B/C/D/E/F	1.960,00	1.747,20 ^e (safra)	14,0 x 20,0 x 7,0	24,8 (safra)	27,4 (safra)
			1.747,20 ^e (entressafra)		25,4 (entressafra)	19,8 (entressafra)

Notas: ^aDesconsiderando-se o *headspace*; ^bL = largura, C = comprimento, Ht = altura total; ^cAltura útil = 5,0 m; ^dValor fixado (safra); ^eAltura útil = 6,5 m.