

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**INFLUÊNCIA DA TAXA DE CARREGAMENTO ORGÂNICO NA DEGRADAÇÃO
ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATOR DE LEITO FLUIDIZADO**

Laura Maria Siqueira

**SÃO CARLOS
2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**INFLUÊNCIA DA TAXA DE CARREGAMENTO ORGÂNICO NA DEGRADAÇÃO
ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATOR DE LEITO FLUIDIZADO**

Laura Maria Siqueira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Silva

SÃO CARLOS

2008

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S618it

Siqueira, Laura Maria.

Influência da taxa de carregamento orgânico na
degradação anaeróbia da vinhaça em reator de leito
fluidizado / Laura Maria Siqueira. -- São Carlos : UFSCar,
2008.

130 f.

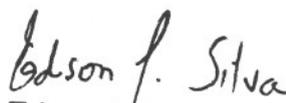
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2008.

1. Cana-de-açúcar. 2. Vinhaça. 3. Reator de leito
fluidificado. 4. Biofilme. 5. Biogás. I. Título.

CDD: 633.61 (20^a)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE
LAURA MARIA SIQUEIRA APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS, EM 24 DE ABRIL DE 2008.

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Edson Luiz Silva
Orientador, PPG-EQ/UFSCar



Prof. Dr. Alberto Colli Badino Junior
PPG-EQ/UFSCar



Prof. Dr. Edson Aparecido Abdul Nour
FEC/UNICAMP

"Nas grandes batalhas da
vida, o primeiro passo para
a vitória é o desejo de
vencer!"

(Mahatma Gandhi)

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Amália e
Geraldo, ao meu irmão Luíz
Gustavo e à minha avó
Dírssa.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado saúde, disposição e coragem para enfrentar os obstáculos e chegar até aqui e pela família maravilhosa que tenho e que me incentivam sempre.

Aos meus pais, Amália e Geraldo, minha avó Dirssa, meu irmão Luiz Gustavo e todos meus familiares pela compreensão, amor e confiança. Devo tudo o que sou hoje a vocês.

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Silva pela oportunidade, orientação, incentivo, por acreditar em mim para a realização deste trabalho e, principalmente, sua dedicação.

Aos colegas do Laboratório de Controle Ambiental II, Géssia, Aruana, Sylvia, Jorge, Eduardo e Alexandre pelos momentos de descontração e por terem me ajudado sempre que precisei.

À Shida pela grande ajuda e dedicação durante toda a parte experimental, principalmente durante a realização da atividade metanogênica.

Ao Gilberto pela coleta da vinhaça e ajuda em algumas análises.

Às minhas amigas mais que especiais, Camila Ramos, Ediane Scherer, Fernanda Ferrari e Vanessa Ferreira, pelo carinho, apoio, incentivo, por me agüentarem nos momentos de stress, mas, principalmente, pela amizade.

Aos amigos que conheci em São Carlos e com os quais tive o privilégio de conviver: Zá, Deise, Nickeli, Graciela, Eduardo (Japa), Alexandre, Cezar, Maristela, Lidi, Cris, Paty, Lucas, Rachel, Aruana, Natália, Renata, Bruna, Géssia, Lili, Sandra, Gian, André, Thiago, Marcelo, Robson, Karol, Ivana, Letícia, Patrícia e Ramirez.

Aos amigos de Guaxupé que, apesar da minha ausência, sempre me apoiaram.

À Usina da Serra (Ibaté/SP) pelo fornecimento da vinhaça utilizada durante todo o trabalho.

Ao técnico Oscar da Silva pela construção do reator e pela ajuda realizada durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Ao técnico Amadeus pela grande ajuda durante a parte experimental.

A todo pessoal do Laboratório de Processos Biológicos (LPB) do Departamento de Hidráulica e Saneamento da USP, principalmente Tininha, Eloísa

Pozzi, Dani Vich, Lorena e Nora Kátia que estavam sempre dispostas a ajudar seja na realização de microscopia ou dúvidas sobre o trabalho.

Ao Sr. Nelson Gallo do Instituto de Física da Universidade de São Paulo pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Ao Professor Titular Eugênio Foresti e à Dra. Márcia Damianovic pelas contribuições ao trabalho no exame de qualificação.

Ao CNPq pela bolsa e FAPESP pelo apoio financeiro e pelo investimento no Laboratório de Controle Ambiental II do Departamento de Engenharia Química da UFSCar.

RESUMO

Neste trabalho estudou-se a degradação anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar em reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF) durante 255 dias, sob condição mesofílica (35°C). O reator, construído em acrílico e com volume total de 4.192 cm³, foi preenchido com partículas de poliestireno como meio suporte, ocupando 70 % do volume total, e operado com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 24 h. O inóculo utilizado foi lodo granular de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) tratando água residuária de abatedouro de aves. Vinhaça de mosto misto coletada em três lotes na Usina da Serra (Ibaté/SP) foi usada na alimentação do reator. A adaptação da biomassa à vinhaça diluída, com demanda química de oxigênio (DQO) de 5.000 mg/L, ocorreu de forma rápida (14 dias) no próprio reator. As concentrações médias de vinhaça tratadas foram de 2.273, 4.891, 8.192, 10.353, 15.244 e 20.073 mg/L com taxas de carregamento orgânico (TCO) aplicadas de 3,33; 6,68; 10,33; 14,44; 19,87 e 26,19 kg/m³.d e respectivas eficiências de redução de DQO de 53, 67, 59, 66, 70 e 51 %. O potencial hidrogeniônico (pH) efluente manteve-se entre 7,8 e 8,6 durante toda pesquisa. As concentrações de alcalinidade a bicarbonato (AB) e ácidos voláteis totais (AVT) aumentaram com aumento da TCO variando entre 918 mgCaCO₃/L e 7.275 mgCaCO₃/L e 365 mgHAc/L e 3.146 mgHAc/L, respectivamente. A produtividade de biogás no reator alcançou 5,37 m³/m³.d para TCO aplicada de 25,32 kg/m³.d. Os testes de atividade metanogênica específica (AME) revelaram possível predomínio de metanogênese hidrogenotrófica. Exames de microscopia ótica permitiram constatar a presença de espécies semelhantes às arqueias metanogênicas do gênero *Methanosarcina* durante a adaptação do inóculo, ocorrendo seleção e predominância, no decorrer da operação do reator de bacilos, cocos e espécies semelhantes às arqueias do gênero *Methanosaeta*. Assim, observou-se a importância do tratamento da vinhaça, pois além da melhoria da qualidade do efluente a ser descartado no solo, tratado e tamponado, também gerou grande quantidade de energia (biogás).

Palavras-chave: vinhaça de cana, processo anaeróbio, leito fluidizado, biogás, biofilme.

ABSTRACT

In this work, the mesophilic anaerobic degradation (35 °C) of the sugar cane vinasse was studied in an anaerobic fluidized bed reactor (RALF) for 255 days. The reactor, built in acrylic and with a total volume of 4,192 cm³, was filled with polystyrene particles as a means support, occupying 70 % of the total volume, and operated with hydraulic retention time (TDH) of 24 h. The inoculum used was granular sludge taken from a upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) treating poultry slaughterhouse wastewater. Mixed must vinasse collected in three lots from “Usina da Serra” (Ibaté/SP) was used in the feed of the reactor. Biomass adaptation to diluted vinasse, with COD of 5,000 mg/L, occurred very fast (14 days) in the reactor itself. Vinasse average concentrations treated were 2,273; 4,891; 8,192; 10,353; 15,244 and 20,073 mg/L with applied organic load rates (OLRs) of 3.33, 6.68, 10.33, 14.44, 19.87 and 26.19 kg/m³.d and reduction efficiency of COD of 53, 67, 59, 66, 70 and 51 % respectively. The effluent pH remained between 7.8 and 8.6 throughout the research. The alkalinity concentrations to bicarbonate (AB) and total volatile acids (TVA) increased with the increase of OLR ranging between 918 mgCaCO₃/L and 7,275 mgCaCO₃/L and, 365 mgHAc/L and 3,146 mgHAc/L, respectively. The productivity of biogas in the reactor reached 5.37 m³/m³.d with applied OLR of 25.32 kg/m³.d. The methanogenic activity experiments (AME) revealed possible predominance of hydrogenotrophic methanogen. Opticum microscopic exams made it possible to verify the presence of methanogenic *Methanosarcina*-like archaea during the inoculum adaptation, selection and predominance taking place over the reactor operation of bacillus, coccus and methanogenic *Methanosaeta*-like archaea. This way it was observed the importance of the vinasse treatment, for besides the improvement of the quality improvement of the effluent to be land disposed, treated and buffered, it also generated a lot of energy (biogas).

Key words: sugarcane vinasse, anaerobic process, fluidized bed, biogas, biofilm.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Fluxograma do processo de fabricação do açúcar e álcool a partir do melaço da cana-de-açúcar. Fonte: Adaptado de Nandy et al. (2002).	7
Figura 2.2 - Seqüências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (com redução de sulfato). Fonte: Chernicharo (1997).	18
Figura 2.3 – MEV apresentando o padrão de colonização em anéis Rasching feitos de Siran no tratamento anaeróbio de condensados de sulfeto: (a) interior e (b) superfície dos macroporos. Fonte: Melidis et al. (2003).	25
Figura 3.1 – Local onde foi coletada a vinhaça utilizada nos experimentos. Fonte: Ribas (2006).....	41
Figura 3.2 – Partículas de poliestireno.	42
Figura 3.3 – Esquema da instalação piloto: (1) RALF, (2) entrada do afluente, (3) amostradores, (4) recirculação, (5) saída do efluente, (6) bomba de alimentação, (7) bomba de recirculação, (8) reservatório de alimentação, (9) banho termostatizado, (10) balões de ar com nitrogênio, (11) encamisamento para o banho, (12) reservatório do efluente, (13) medidor de biogás, (14) câmara de captação de gás, (15) distribuidor da alimentação e pontos de coleta: (a) afluente, (b) efluente e (c) mangueira para coleta de metano.....	44
Figura 3.4 – Reator anaeróbio de leito fluidizado.	45
Figura 3.5 – Topo do reator (biogás armazenado no <i>headspace</i> e mangueira de saída do efluente).....	46
Figura 3.6 – Dispositivo utilizado para medir a produção de biogás.	46
Figura 4.1 – Consumo de vinhaça pelos microrganismos durante o período de adaptação.....	58
Figura 4.2 – Monitoramento do pH durante a adaptação.	59

Figura 4.3 – Morfologias observadas no inóculo com aumento de 1500x: (a) morfologias semelhantes a <i>Methanosarcina sp</i> (b) fluorescência de a (c) diversidade de bacilos e alguns cocos (d) morfologias semelhantes a <i>Methanosaeta sp</i>	60
Figura 4.4 – Variação da DQO afluente (■), efluente (●) e eficiência de redução de DQO (◆) ao longo do tempo.	62
Figura 4.5 – Variação da vazão efluente ao longo do tempo.	65
Figura 4.6 – Variação temporal da taxa de carregamento orgânico aplicada real (■) e DQO afluente (▲) e efluente (●).	66
Figura 4.7 – Variação temporal da taxa de carregamento orgânico real aplicada (■) e removida (●) e eficiência de redução (◆).	68
Figura 4.8 – Variação da TCO aplicada real em função da TCO removida real.....	68
Figura 4.9 – Variação do pH afluente (●) e efluente (■) com o tempo.	74
Figura 4.10 – Variação da alcalinidade a bicarbonato afluente (●) e efluente (■) com o tempo.	76
Figura 4.11 – Monitoramento da razão de Al/AP durante todo experimento.....	78
Figura 4.12 – Variação dos ácidos voláteis totais afluente (●) e efluente (■) com o tempo.	79
Figura 4.13 – Porcentagem dos AOVs no afluente em função das fases de operação do reator.....	81
Figura 4.14 – Porcentagem de AOVs no efluente em função das fases de operação do reator.....	82
Figura 4.15 – Monitoramento de sólidos totais afluente (■) e efluente (●) ao longo dos dias de operação do RALF.	86
Figura 4.16 – Monitoramento da concentração de sólidos fixos afluente (■) e efluente (●) ao longo do período de operação do reator.....	87

Figura 4.17 – Monitoramento da concentração de sólidos voláteis no afluente (■) e efluente (●) ao longo das fases de operação do reator.....	88
Figura 4.18 – Monitoramento da concentração de sólidos suspensos voláteis afluente (■) e efluente (●) ao longo do período de operação do reator.....	91
Figura 4.19 – Efeito da TCO aplicada real sobre SSV no efluente.....	92
Figura 4.20 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura: (a) bacilos curvos – Fase II, (b) bacilos, cocos e morfologias semelhantes à <i>Methanosaeta</i> – Fase II, (c) morfologias semelhantes à <i>Methanosaeta</i> – Fase III e (d) bacilos retos, curvos e cocos – Fase V.....	94
Figura 4.21 – Microscopias de contraste de fase durante alguns períodos de operação do RALF: (a) bacilos curvos – Fase I, (b) leveduras e bacilos – Fase I, (c) filamentos e cocos – Fase III e (d) presença de bacilos curvos, bacilos retos e cocos – Fase VI.....	95
Figura 4.22 – Perfil de biomassa ao longo do leito do RALF (Fase VI).....	97
Figura 4.23 – Variação do rendimento de metano (■) e do rendimento máximo teórico (-) ao longo dos dias de operação do reator.....	99
Figura 4.24 – Variação da produção (■) e da produtividade (●) de biogás no RALF com o tempo.....	100
Figura 4.25 – Monitoramento da produção de biogás (■) ao longo das fases de operação e com a TCO aplicada real (●).	102
Figura 4.26 – Variação da produtividade de biogás com a TCO aplicada real.....	102
Figura 4.27 – Variação da concentração de CH ₄ no biogás gerado ao longo das fases de operação do RALF.....	103
Figura 4.28 – Monitoramento do nitrogênio total Kjeldahl no afluente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.....	106

Figura 4.29 – Monitoramento do fosfato no afluente (■) e efluente (●) ao longo dos dias de operação.....	107
Figura 4.30 – Monitoramento de cálcio total no afluente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.	110
Figura 4.31 – Monitoramento de potássio total no afluente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.	111
Figura 4.32 – Monitoramento de magnésio total no afluente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.	112
Figura 4.33 – Produção cumulativa de metano no <i>headspace</i> ao longo do tempo.	114
Figura 4.34 – Valores das AMEs obtidos para o acetato de sódio e diferentes concentrações de vinhaça.....	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Valores médios e desvio padrão na caracterização da vinhaça de melaço de beterraba, caldo de cana, melaço de cana e matérias-primas celulósicas.	9
Tabela 2.2 – Composição química da vinhaça proveniente de diferentes mostos. ...	11
Tabela 2.3 – Valores de DQO para vinhaças provenientes de diferentes tipos de mostos, em mg/L O ₂	12
Tabela 2.4 – Valores de DBO para vinhaças provenientes de diferentes tipos de mostos, em mg/L O ₂	12
Tabela 2.5 – Equivalência entre 1m ³ dos diferentes tipos de vinhaça com alguns fertilizantes minerais.....	14
Tabela 2.6 - Processos típicos e desempenho para processos anaeróbios usados para tratamento de água residuária.	20
Tabela 2.7 - Características de diferentes tipos de reatores.	21
Tabela 2.8 – Resumo dos estudos mais significativos relacionados ao tratamento anaeróbio de vinhaça de diversas origens.	39
Tabela 3.1 – Características do meio suporte utilizado como dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidização.....	42
Tabela 3.2 – Parâmetros utilizados no RALF durante o período de adaptação.	47
Tabela 3.3 – Características das fases de operação do RALF.	48
Tabela 3.4 – Frequência da realização das análises para o afluente e o efluente em todas as fases de operação.	49
Tabela 4.1 – Valores médios dos principais parâmetros caracterizados dos três lotes de vinhaça utilizados no tratamento anaeróbio.	54

Tabela 4.2 – Valor médio e respectivo desvio padrão de algumas características principais do inóculo utilizado.....	56
Tabela 4.3 – Resultados obtidos durante a fase de adaptação no RALF em circuito fechado.	57
Tabela 4.4 – Valores médios obtidos para DQO afluente e efluente e sua respectiva duração e eficiência de redução ao longo das fases de operação do RALF.....	61
Tabela 4.5 - Valores médios de vazão, TDH, TDHr, altura do leito e TCO média aplicada para cada fase de operação.	65
Tabela 4.6 – Concentração de vinhaça, TCO média aplicada e removida, eficiência de redução e relação $AB_{\text{efluente}}/AB_{\text{afluente}}$ ao longo do período de operação.....	69
Tabela 4.7 – Comparação entre diferentes pesquisas sobre tratamento anaeróbio da vinhaça de cana-de-açúcar (mosto misto).	70
Tabela 4.8 – Comparação entre diferentes pesquisas sobre tratamento anaeróbio da vinhaça de diversas origens.....	72
Tabela 4.9 – Valores médios dos ácidos orgânicos voláteis no afluente efluente durante operação do RALF.	84
Tabela 4.10 – Monitoramento dos sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no efluente ao longo das fases de operação do reator.	90
Tabela 4.11 – Valores médios e desvio padrão da análise de fosfato e N_{Total} Kjeldahl afluente e efluente ao longo de cada fase.....	105
Tabela 4.12 – Valores médios e desvio padrão das análises de Ca_{Total} , K_{Total} e Mg_{Total} presentes no afluente e efluente ao longo de cada fase.	109
Tabela 4.13 – Concentrações de vinhaça e acetato de sódio utilizados para os testes de AME.	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAFEB	Reator Anaeróbio de Leito Fixo – Filme Expandido
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AFB	Leito Fluidizado Anaeróbio
APHA	American Public Health Association
ASBBR	Reator Biofilme Anaeróbio Batelada Sequencial
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CNTP	Condições Normais de Temperatura e Pressão
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
CSTR	Reator Contínuo de Tanque Agitado
DGGE	Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante
FID	Detector de ionização de chama
FISH	Hibridização de Fluorescência In Situ
GAC	Carbônio Ativado Granular
GLP	Gás Liquefeito de Petróleo
IUASB	Istambul UASB
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
OTU	Unidade Taxonômica Operacional
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
RAHLF	Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo
RALF	Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado
rDNA	r Ácido Desoxirribonucleico
rRNA	r Ácido Ribonucléico
TCD	Detector de Ionização de Chama
TUASB	Tekirdag UASB
UASB	Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e de Manta de Lodo

LISTA DE SÍMBOLOS

AB	Alcalinidade Bicarbonato	[mg/L]
AI/AP	Alcalinidade Intermediária/Alcalinidade Parcial	[-]
AME	Atividade Metanogênica Específica	[gDQO-CH ₄ /gSVT.d]
AOV	Ácidos Orgânicos Voláteis	[mg/L]
AT	Alcalinidade Total	[mg/L]
AVT	Ácidos Voláteis Totais	[mg/L]
Ca _{Total}	Cálcio Total	[mg/L]
C _f	Concentração de Vinhaça durante Adaptação	[mg/L]
C/N	Carbono/Nitrogênio	[-]
C:N:P	Carbono: Nitrogênio: Fósforo	[-]
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio	[mg/L]
DQO	Demanda Química de Oxigênio	[mg/L]
DQO:N:P	DQO:Nitrogênio:Fósforo	[-]
E _m	Eficiência da Fermentação Metanogênica	[-]
F:M	Alimento:Microorganismo	[-]
HAc	Ácido Acético	[-]
H _f	Altura correspondente a Massa de Partículas em Leito Fluidizado	[cm]
H ₀	Altura correspondente a Massa de Partículas em Leito Fixo	[cm]
KH ₂ PO ₄	Dihidrogenofosfato de Potássio	[-]
K _{Total}	Potássio Total	[mg/L]
M	Massa de Partícula usada no Reator	[g]
Mg _{Total}	Magnésio Total	[mg/L]
N _{Total Kjeldahl}	Nitrogênio Total Kjeldahl	[mg/L]
P _{Total}	Fósforo Total	[mg/L]
Q _r	Vazão de Recirculação	[L/h]
rpm	Rotações por Minuto	[-]

S_{Total}	Enxofre Total	[mg/L]
SFT	Sólidos Fixos Totais	[mg/L]
SSF	Sólidos Suspensos Fixos	[mg/L]
SST	Sólidos Suspensos Totais	[mg/L]
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis	[mg/L]
ST	Sólidos Totais	[mg/L]
SV_{ad}	Sólidos Voláteis aderidos	[mg/L]
SVT	Sólidos Voláteis Totais	[mg/L]
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico	[kg/m ³ .d]
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica	[h]
TRC	Tempo de Retenção Celular	[h]
V_{mf}	Velocidade Mínima Fluidização	[cm/s]
ρ	Densidade	[g/cm ³]
Φ	Dimensão	[mm]

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	II
AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XIII
LISTA DE SÍMBOLOS	XIV
CAPÍTULO 1	1
1.1. INTRODUÇÃO	1
1.2. OBJETIVOS	5
CAPÍTULO 2	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1. VINHAÇA	6
2.1.1. Características e composição da vinhaça	6
2.1.2. Agente poluidor e fertilizante	10
2.1.3. Formas de disposição e tratamento da vinhaça	15
2.2. DIGESTÃO ANAERÓBIA	16
2.2.1. Etapas da digestão anaeróbia	16
2.3. REATORES EMPREGADOS NO TRATAMENTO ANAERÓBIO	19
2.3.1. Meio Suporte e Biofilme	22
2.4. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS	25
2.5. TRATAMENTO ANAERÓBIO DA VINHAÇA	29
2.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
CAPÍTULO 3	40
3. MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1. INÓCULO	40

3.2. ÁGUA RESIDUÁRIA	40
3.3. SUPORTE DE IMOBILIZAÇÃO DA BIOMASSA ANAERÓBIA	42
3.4. REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIZADO	43
3.5. ADAPTAÇÃO DO INÓCULO À VINHAÇA E PARTIDA DO REATOR	47
3.6. ANÁLISES REALIZADAS	49
3.6.1. Determinação de ácidos orgânicos voláteis por cromatografia	50
3.6.2. Caracterização microbiológica do biofilme anaeróbio	50
3.6.3. Exames microbiológicos.....	51
3.6.4. Determinação da concentração de metano.....	51
3.6.5. Avaliação da atividade metanogênica específica.....	51
CAPÍTULO 4.....	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPONENTES DOS LOTES DE VINHAÇA UTILIZADOS	53
4.2. ADAPTAÇÃO DA BIOMASSA AO SUBSTRATO	56
4.2.1. Aspectos morfológicos presentes na biomassa adaptada à vinhaça	59
4.3. DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATOR DE LEITO FLUIDIZADO	61
4.3.1. Remoção da matéria orgânica presente na vinhaça	61
4.3.2. Demais parâmetros monitorados	74
4.3.3. Análises microbiológicas da biomassa imobilizada ao longo das fases de operação	92
4.3.4. Análise da produção e concentração de biogás.....	98
4.4. CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE E EFLUENTE ATRAVÉS DE ANÁLISES DE NUTRIENTES.....	104
4.5. ENSAIOS DE ATIVIDADE METANOGENICA ESPECÍFICA PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE VINHAÇA COMPARADOS AO ACETO DE SÓDIO.....	113
CAPÍTULO 5.....	117
5. CONCLUSÕES	117
SUGESTÕES.....	119
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	120

CAPÍTULO 1

1.1. INTRODUÇÃO

Uma das fontes de poluição mais agressivas às águas subterrâneas e, conseqüentemente, aos aquíferos, é aquela produzida pela percolação de resíduos colocados em solos permeáveis, que não dispõem de nenhum método artificial de proteção das camadas superficiais da terra que o constituem. São exemplos de fontes de poluição dos lençóis freáticos os líquidos gerados pela degradação e/ou percolação de resíduos sólidos industriais ou urbanos, inadequadamente dispostos em áreas permeáveis, e por aplicações exageradas de vinhaça (SABADIA, 1994).

As perspectivas atuais de aumento substancial da produção de álcool no Brasil é fato marcante, pois além do aumento da frota veicular movida a álcool devido ao lançamento dos veículos *flex fuel* (carros bicombustíveis podendo ser abastecidos com álcool ou gasolina), existe também o consumo de álcool anidro no mercado interno e externo fazendo crescer a preocupação com o destino a ser dado à vinhaça, e remetem à busca de uma utilização econômica e tecnologicamente adequada, sem acrescentar risco de poluição ao meio ambiente.

A indústria sucroalcooleira caracteriza-se pela produção de grande quantidade de resíduos, sendo alguns considerados como subprodutos, tais como bagaço, a torta de filtro e a vinhaça. O maior problema da agroindústria canavieira, com relação à vinhaça, é a grande quantidade gerada, em torno de 10 a 15 litros para cada litro de combustível produzido, que pelas suas características de baixo potencial hidrogeniônico (pH) e elevada demanda química de oxigênio (DQO), se encontra entre os rejeitos industriais de maior potencial poluidor. Por outro lado a classificação da vinhaça como subproduto ao invés de resíduo industrial é devido a inúmeras utilizações que a mesma possa ser direcionada, podendo produzir energia elétrica alternativa, sem causar danos ao meio ambiente (GRANATO et al., 2002).

Lamo (1991) demonstrou o potencial energético de uma tonelada de cana, ou seja, a geração de $909,90 \cdot 10^3$ kcal de energia (álcool + biogás), porém caso não se aproveite o biogás resultante da biodigestão da vinhaça deixa-se de recuperar 7,5% do total de energia disponível em uma tonelada de cana.

A equivalência energética do biogás em relação a outros combustíveis é determinada levando em conta o poder calorífico e a eficiência média de combustão. A partir desses dados, pode-se estimar o potencial brasileiro de substituição desses energéticos pelo biogás.

Em 1997, as importações de óleo diesel representaram cerca de 18 % do consumo nacional desse energético. Estima-se, assim, que o biogás poderia reduzir aproximadamente 28 % dessas importações. Em relação ao gás liquefeito de petróleo (GLP) e o carvão mineral, verifica-se que o biogás corresponderia a 18,9 % e 42,1 %, respectivamente. No que diz respeito ao GLP, importa-se cerca de 40 % do consumo nacional. Estima-se que 46,7 % dessas importações poderiam ser substituídas pelo biogás. Quanto à eletricidade, o biogás representaria 1,27 % do consumo nacional, o que corresponde a 3,7 milhões de MWh, ou seja, o equivalente ao consumo anual de uma cidade do porte de Belo Horizonte (cerca de 2 milhões de habitantes) (POMPERMAYER e PAULA JÚNIOR, 2000).

Por outro lado, caso a vinhaça não seja tratada e o biogás aproveitado, danos podem ser causados ao realizar seu descarte nos rios. Para comprovar que a vinhaça era a principal causadora da intensa poluição dos cursos d'água, Lima (1955) *apud* Freire e Cortez (2000) coletou amostras de água ao longo de 12 km do rio Piracicaba e afluentes e, após analisá-las, verificou que antes do início da safra alcooleira de 1953/1954, os valores encontrados para demanda bioquímica de oxigênio (DBO) giravam em torno de 1,0 a 2,5 mg/L; ao iniciar o funcionamento das usinas canavieiras, o número começou a se elevar, atingindo, dois meses depois, a cifra de 25 mg/L, continuando a subir e atingindo, ao final de mais dois meses, DBO igual a 400 mg/L, superando o nível no mês seguinte mesmo após o término da safra alcooleira. Sendo assim, a eliminação da vinhaça em leitos d'água foi vetada por dispositivos legais desde 1934, por diversos artigos do Código Penal Brasileiro, Leis Estaduais e Portarias. A partir de novembro de 1978, após o Proálcool estar implantado, o Ministério do Interior publicou a Portaria nº 323 proibindo terminantemente o lançamento direto e indireto de vinhaça em qualquer coleção hídrica pelas destilarias, obrigando as indústrias a apresentarem projetos para a implantação de sistemas e/ou utilização da vinhaça (GRANATO et al., 2002).

Algumas alternativas para utilização da vinhaça podem ser citadas como a concentração do resíduo, ração animal, fabricação de tijolos, fertirrigação e geração de biogás através da digestão anaeróbia.

Recentemente, em março de 2005, foi homologada a Norma Técnica da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (CETESB) P4.231 intitulada “Vinhaça: critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola”, que tem como objetivos estabelecer os critérios e procedimentos para a aplicação de vinhaça, gerada pela atividade sucroalcooleira no processamento da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. A referida norma levou em consideração aspectos da Legislação Federal e Estadual, além de normas técnicas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e CETESB para estabelecer os critérios e procedimentos propostos para a utilização da vinhaça.

Nos últimos anos, foi verificada adequada eficiência dos processos anaeróbios no tratamento de vasta gama de efluentes líquidos, entre os quais os compostos tóxicos (como, por exemplo, o fenol, presente na vinhaça) e, como consequência, tornou-se uma alternativa para a remoção dos químicos chamados recalcitrantes, como substâncias sintéticas ou naturais de estrutura complexa. Particularmente no Brasil, os processos biológicos anaeróbios metanogênicos de tratamento de resíduos têm grande importância, tanto para a estabilização da matéria orgânica poluente de origem doméstica como a de origem industrial (CAMPOS, 1994), cujos rejeitos podem conter diferentes compostos recalcitrantes.

O processo de tratamento biológico anaeróbio de águas residuárias, em comparação ao aeróbio, tem vantagens em relação à economia de energia e recuperação, apresenta baixa produção de biomassa residual e gera um resíduo de valor, o gás metano (CH_4). Porém, pode apresentar desvantagens em relação à qualidade do efluente e velocidade de tratamento (WANG et al., 1986).

O reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF) tem atraído grande interesse, e vem sendo objeto de intensa pesquisa, principalmente a partir do final da década de 70. Este tipo de reator mostrou-se tecnicamente adequado e foi aplicado com sucesso no tratamento de: águas residuárias municipais (JERIS & OWENS, 1975), efluentes industriais (HICKEY & OWENS, 1981) e, águas residuárias contendo compostos tóxicos/recalcitrantes, como os fenóis e clorofenóis (HAKULINEN & SALKINOJA-SALONEN, 1981).

Os reatores de leito fluidizado, com biomassa aderida ao meio suporte, apresentam vantagens suplementares como a de evitar a colmatação do leito, comum nos processos de leito fixo, além de promover rápida difusão do substrato

pela biomassa. Estas características fazem do reator anaeróbio de leito fluidizado uma boa opção para o tratamento de águas residuárias (SREEKRISHNAN et al., 1991).

Vários tipos de reatores, como por exemplo, reator anaeróbio de fluxo ascendente e de manta de lodo (UASB), reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) e reator de biofilme anaeróbio batelada seqüencial (ASBBR), foram estudados no tratamento de vinhaça de diferentes origens, respectivamente por Souza et al. (1992), Telh (2001) e Ribas (2006).

Pesquisa recente desenvolvida por Damiano (2005) com reator anaeróbio de leito fluidizado escala de bancada no tratamento de vinhaça, sob condições mesofílicas, indicou o potencial desse reator na degradação desse tipo de efluente industrial. Nessa pesquisa, o reator foi operado por 122 dias, variando o valor de DQO de 1.009 mg/L a 15.874 mg/L, obtendo resultados de eficiência de redução de DQO média de 51 a 70 %.

Neste contexto, dando continuidade à pesquisa de Damiano (2005), este trabalho teve como objetivos gerais estudar o potencial de um consórcio de microrganismos anaeróbios na degradação da vinhaça, avaliar a eficiência do reator de leito fluidizado, escala piloto, no tratamento de concentrações superiores de DQO aplicada que a pesquisa anterior, ou seja, variando de 2.000 a 20.000 mg/L, ampliando o trabalho com a quantificação da produção de biogás gerado e avaliação da variação de concentração de alguns nutrientes presentes no afluente e efluente durante a pesquisa.

1.2. OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa foi avaliar o desempenho do reator anaeróbio de leito fluidizado em escala piloto para o tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar sob condição mesofílica.

Os objetivos específicos foram:

- a) avaliar a eficiência de redução de DQO do RALF submetido a aumento progressivo de taxa de carregamento orgânico;
- b) quantificar a produção de biogás gerado durante a operação contínua do reator;
- c) avaliar a diversidade microbiana desenvolvida no RALF através da formação e desenvolvimento do biofilme anaeróbio no meio suporte por microscopia ótica e eletrônica de varredura;
- d) avaliar o potencial da biomassa aderida ao meio suporte, obtido após término da operação do reator, durante os ensaios de atividade metanogênica específica.

CAPÍTULO 2

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. VINHAÇA

2.1.1. Características e composição da vinhaça

A produção do etanol de matérias-primas agrícolas para uso como combustível alternativo tem atraído interesse no mundo inteiro devido à crescente demanda por fontes limitadas de energia não renováveis e variabilidade dos preços do óleo e gás natural. Na safra 2006/2007, de acordo com os dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), o Brasil produziu 429,47 milhões de toneladas de cana-de-açúcar destinadas à indústria sucroalcooleira. A produção nacional de açúcar foi de 30,22 milhões de toneladas e a de álcool foi de 17,47 bilhões de litros de álcool durante a safra.

Nandy et al. (2002) apresentaram um fluxograma do processo integrado de fabricação de açúcar e álcool a partir da cana-de-açúcar incluindo o gerenciamento da água residuária (vinhaça) que está apresentado na Figura 2.1.

Observa-se que, assim que chega à usina, a cana-de-açúcar é lavada e moída nas moendas para extração do caldo de cana, solução impura contendo sacarose em solução, glicose, levulose, matéria nitrogenada, etc. Após ser submetido ao processo de clarificação, concentração e centrifugação do caldo de cana, obtêm-se o açúcar comercial e o mel. Este, depois de passar por um novo processo de cozimento para obtenção do açúcar de segunda, transforma-se em mel final, também chamado mel pobre ou melaço. (FREIRE e CORTEZ, 2000).

Os subprodutos gerados da usina de açúcar compreendem bagaço (resíduo do esmagamento da cana), torta de filtro (lama e resíduo sujo da clarificação do caldo) e melaço (resíduo final da cristalização do açúcar). O bagaço é usado como combustível nas caldeiras, a lama prensada não tem aplicação industrial direta seguindo para a compostagem e o melaço, depois de diluído, dá origem ao mosto de melaço que é enviado às dornas de fermentação.

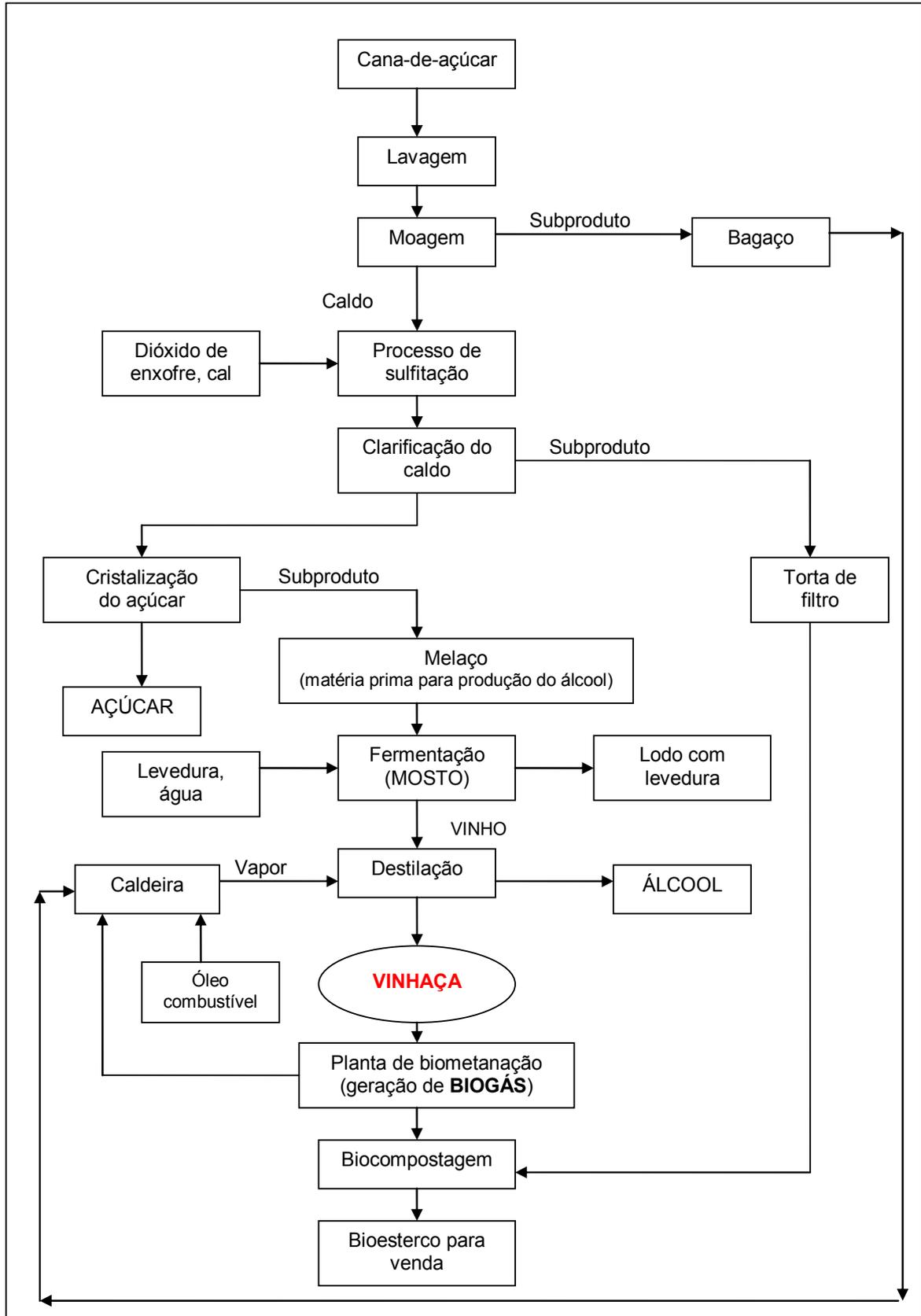


Figura 2.1 – Fluxograma do processo de fabricação do açúcar e álcool a partir do melaço da cana-de-açúcar. Fonte: Adaptado de Nandy et al. (2002).

Todos os líquidos susceptíveis a sofrer fermentação são denominados mostos. Portanto, pode-se ter mostos das mais variadas origens, como: mosto de mandioca, mosto de uva, mosto de cana, etc.

Uma vez fermentados, os mostos passam a chamar-se vinhos, os quais, depois de centrifugados com o objetivo de recuperar o fermento, que é reutilizado na fermentação, são encaminhados à destilação, resultando na produção de álcool hidratado e no resíduo que é a vinhaça (também conhecida como restilo, vinhoto, caldas, garapão, etc).

Portanto, pode-se ter vinhaça de mandioca, trigo, arroz, milho, aveia, uva, cana-de-açúcar, beterraba, materiais celulósicos, entre outros dependendo do mosto do qual a originou (CRUZ, 1991, WILKIE et al., 2000).

Geralmente, a vinhaça é da cor marrom claro e tem conteúdo de sólidos totais variando de 2 a 4 % quando ela é obtida do caldo da cana e da cor marrom escuro com conteúdo de sólidos totais variando de 5 a 10 % quando produzida do melaço da cana (CORTEZ et.al., 1998). A grande quantidade de pigmento marrom presente na vinhaça é dificilmente degradada por tratamentos convencionais e podem até mesmo aumentar durante o tratamento anaeróbio devido à repolimerização dos compostos. Os compostos fenólicos (ácidos húmico e tânico) oriundos da matéria-prima, formação de melanoidinas a partir da reação de Maillard entre açúcares (carboidratos) e proteínas (grupos amino), caramelos do superaquecimento de açúcares e furfurais da hidrólise ácida contribuem para a cor do efluente (KORT, 1979).

No Brasil, as primeiras tabelas de composição da vinhaça foram apresentadas por Almeida (1952), que também mostrou o seu aproveitamento como fertilizante, evidenciando ser um resíduo rico em matéria orgânica e potássio, mas pobre em fósforo e nitrogênio. Os seus estudos demonstraram uma acentuada variação na composição química da vinhaça com quatro fatores básicos: natureza e composição da matéria-prima, do mosto e do vinho, tipo e trabalho do aparelho destilatório (ALMEIDA, 1966 e BOLSANELLO & VIEIRA, 1980). Sua cor, conteúdo de sólidos totais e acidez são parâmetros que variam de acordo com o tipo de vinhaça e processos e tratamentos usados.

Convém ressaltar que os teores dos elementos contidos na vinhaça podem sofrer alterações em virtude da prioridade da produção. Quando o processo objetiva a fabricação de álcool, obtêm-se maiores quantidades de vinhaça de mosto misto e

de caldo, fazendo com que os teores de cálcio e de sulfato utilizados no processo de fabricação do açúcar diminuam substancialmente.

Vários estudos têm examinado as características da vinhaça, em termos de sua carga orgânica e conteúdo nutricional, de diferentes matérias-primas produtoras de etanol como mostrado na Tabela 2.1 para melaço de beterraba, caldo de cana-de-açúcar, melaço de cana-de-açúcar e celulose oriunda da matéria-prima.

Analisando a Tabela 2.1, a vinhaça de melaço de cana apresenta valores mais elevados de DBO, DQO, razão DQO/DBO, potássio, fósforo e sulfato enquanto a vinhaça de caldo de cana apresenta os valores mais baixos de DQO e DBO.

Tabela 2.1 – Valores médios e desvio padrão na caracterização da vinhaça de melaço de beterraba, caldo de cana, melaço de cana e matérias-primas celulósicas.

Matéria-prima	Produção de vinhaça/etanol (L/L)	DBO (g/L)	DQO (g/L)	DQO/DBO	*N _{Total} Kjeldahl (mg/L)	**P _{Total} (mg/L)	***K _{Total} (mg/L)	****S _{Total} como SO ₄ ⁻² (mg/L)	pH
Melaço de beterraba	11,6 ± 0,3	44,9 ± 21,7	91,1 ± 38,9	1,95 ± 0,21	3.569 ± 2.694	163 ± 66	10.030 ± 6.322	3.716 ± 2.015	5,35 ± 1,02
Caldo de cana	16,3 ± 5,3	16,7 ± 3,4	30,4 ± 8,2	1,96 ± 0,35	628 ± 316	130 ± 110	1.952 ± 1.151	1.356 ± 1.396	4,04 ± 0,49
Melaço de cana	14,0 ± 3,3	39,0 ± 10,8	84,9 ± 30,6	2,49 ± 0,57	1.229 ± 639	187 ± 350	5.124 ± 3.102	3.478 ± 2.517	4,46 ± 0,35
Celulósicos	11,1 ± 4,14	27,6 ± 15,2	61,3 ± 40,0	2,49 ± 0,54	2.787 ± 4.554	28 ± 30	39 ± -	651 ± 122	5,35 ± 0,53

Fonte: Wilkie et al. (2000)

* N_{Total} Kjeldahl: nitrogênio total Kjeldahl

** P_{Total}: fósforo total

*** K_{Total}: potássio total

**** S_{Total}: enxofre total

Geralmente, as características da vinhaça de matérias celulósicas parecem comparáveis àquelas das matérias-primas convencionais e, portanto, métodos de tratamento da vinhaça e utilização aplicados para as matérias-primas convencionais devem ser também aplicados as matérias-primas celulósicas. Duas possíveis

exceções à similaridade das características das vinhaças celulósicas e convencionais que merecem atenção são o potencial para níveis elevados de metais pesados do processo de hidrólise ácida e a presença de inibidores incomuns, tais como extratos da madeira dura associados com compostos fenólicos presentes na matéria-prima (RANATUNGA et al., 1997).

Na Tabela 2.2, está representada a composição química das vinhaças provenientes de diferentes mostos, em diferentes anos, segundo diversos autores.

Os valores mostrados nestas tabelas permitem que se obtenha uma idéia comparativa sobre a variabilidade da composição das vinhaças, não só em função do tipo, mas também em função de características regionais e de safra.

Analisando os dados apresentados nesta tabela, pode-se observar que em geral, a vinhaça de mosto de melaço é mais rica em matéria orgânica e elementos minerais que a do mosto misto e de caldo.

Dentre os macronutrientes, o potássio aparece como elemento predominante, com teores razoáveis de cálcio e sulfato e pobre em nitrogênio, fósforo e magnésio. Dos micronutrientes analisados, o ferro aparece em maior concentração, seguido do manganês, cobre e zinco, em pequenas concentrações (GONÇALVES, 2000).

2.1.2. Agente poluidor e fertilizante

A vinhaça é hoje um dos assuntos mais discutidos no contexto da agroindústria açucareira e alcooleira, por apresentar um elevado potencial poluidor por um lado e um alto valor fertilizante por outro. Segundo Wilkie et al. (2000), a vinhaça é gerada em grandes volumes (16,3 L, em média, por litro de etanol produzido, neste caso, do processamento da cana-de-açúcar) e possui um enorme potencial poluidor, além de problemas de insalubridade como mau cheiro, devido à formação de gases decorrentes da decomposição anaeróbia, podendo apresentar características de toxicidade, turbidez e cor à água (CRUZ, 1991).

Tabela 2.2 – Composição química da vinhaça proveniente de diferentes mostos.

Referência	Tipo de vinhaça														
	Mosto de Melação					Mosto Misto					Mosto de Caldo				
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
N*	1,19	0,57	0,79	0,70	0,60	0,85	0,48	0,43	0,36	0,33	0,53	0,28	0,35	0,26	0,25
P ₂ O ₅ *	0,18	0,10	0,14	0,34	0,22	0,12	0,09	0,14	0,61	0,24	0,10	0,09	0,11	0,49	0,18
K ₂ O*	6,15	3,95	5,50	7,59	5,06	3,75	3,34	2,61	2,59	2,17	2,39	1,29	1,15	1,72	1,93
CaO*	2,14	1,85	2,25	2,41	2,10	1,43	1,33	1,46	0,57	0,84	0,60	0,13	0,76	0,17	0,56
MgO*	0,96	0,98	1,01	1,40	0,83	0,84	0,58	0,51	0,54	0,33	0,36	0,21	0,30	0,41	0,33
SO ₄ *				1,05					1,60					2,03	
Mat.Org*			56,9		47,4			45,1		19,1			34,7		15,3
Fe**			119,74	66,54	52,0			129,70	47,2	57,20			110,05	21,22	45,20
Cu**			9,39	3,35	2,90			56,88	2,16	3,60			17,56	1,44	0,90
Zn**			3,09	2,92	4,30			19,79	1,89	2,20			2,28	1,84	2,80
Mn**			11,06	5,54	6,70			5,50	1,90	5,90			9,66	6,03	5,10
C**		11,2	1,72	16,42			8,7	1,36	9,51			6,7	0,91	7,58	
C/N			20,23	22,55				35,72	39,98				31,35	31,12	
pH	4,59	4,2	4,20	4,37	4,16	4,38	4,4	3,80	3,99	3,60	3,85	3,7	3,60	3,57	3,84

Fonte: Bichara (1988)

*kg/m³ **ppm

(1) Rosseto et.al.(1978), (2) Rodella et.al.(1980), (3) Bolsanello & Vieira (1980), (4) Vasconselos & Oliveira (1981), (5) Medeiros (1981)

Um critério quantitativo para expressar a carga poluente da vinhaça é a utilização das demandas química e bioquímica de oxigênio, onde a relação DBO/DQO informa a biodegradabilidade da água residuária. Alguns valores aproximados de DQO e DBO estão apresentados nas Tabelas 2.3 e 2.4.

Tabela 2.3 – Valores de DQO para vinhaças provenientes de diferentes tipos de mostos, em mg/L O₂.

Fonte	Tipo de vinhaça		
	Mosto de Melão*	Mosto Misto**	Mosto de Caldo***
Int (1979)	57.500 – 72.500	-	23.000 – 46.500
Nicolaiewsky (1982)	63.700	-	26.000
Melo & Souza (1982)	65.000	45.000	33.000
Percebon et al. (1984)	-	45.000	15.000 – 33.000
CETESB (1986)	65.000	45.000	15.000 – 33.000

Fonte: Bichara (1988)

* proveniente da separação do açúcar cristalizado e do mel final

** mistura dos dois tipos de mosto

*** proveniente da cana-de-açúcar moída

Tabela 2.4 – Valores de DBO para vinhaças provenientes de diferentes tipos de mostos, em mg/L O₂.

Fonte	Vinhaça			Média Geral
	Mosto de Melão*	Mosto Misto**	Mosto de Caldo***	
Almeida (1955)	-	-	-	>20.000
Glória (1975)	16.000	-	5.000	-
Int (1976)	23.100 – 28.900	-	-	-
Medeiros (1981)	-	-	-	20.000 – 35.000
Dias (1981)	-	-	-	23.000 – 29.000
Melo & Souza (1982)	25.000	19.800	16.400	
Percebon et al. (1984)	-	19.000	6.000 – 16.500	

Fonte: Bichara (1988)

* proveniente da separação do açúcar cristalizado e do mel final

** mistura dos dois tipos de mosto

*** proveniente da cana-de-açúcar moída

As Tabelas 2.3 e 2.4 permitiram observar que as relações DBO/DQO obtidas por Melo & Souza (1982) variaram de 0,50; 0,44 e 0,38, para vinhaças de mosto de

caldo, misto e melação, respectivamente. Valores semelhantes para as relações DBO/DQO foram obtidos por Percebon et al. (1984), ou seja, 0,40-0,50 e 0,42 para vinhaças de mosto de caldo e misto, respectivamente, indicando a baixa biodegradabilidade da vinhaça sendo que a vinhaça de mosto de caldo apresentou maior biodegradabilidade em relação as de mosto misto e melação.

A vinhaça vem sendo utilizada como fertilizante de maneira cada vez mais intensa. O reconhecimento do seu valor como fonte de nutrientes pode ser avaliado através do exame de sua composição química.

Segundo Glória et.al. (1973), a vinhaça de mosto de melação é mais rica em nutrientes (principalmente potássio, cálcio e magnésio) e matéria orgânica do que a vinhaça de mosto de caldo e de mosto misto. Dentre os elementos minerais determinados, as vinhaças evidenciaram maior riqueza de potássio. Entretanto, dos componentes analisados o de maior concentração foi a matéria orgânica.

A sua disposição no solo passou a ser a solução mais recomendada tecnicamente, esbarrando, porém, em algumas dificuldades de ordem prática, assim como: seu elevado volume e características corrosivas que dificultavam seu transporte. Na tentativa de viabilizar a aplicação da vinhaça no solo, foram desenvolvidas técnicas de complementação com fertilizantes minerais, fertirrigação, caminhões equipados com tanques resistentes a corrosão, etc (CRUZ, 1991).

No trabalho desenvolvido por Silva & Orlando Filho (1981) foi mostrado o elevado potencial fertilizante da vinhaça, com destaque especial para o potássio. Com base nos valores exibidos na Tabela 2.2, calculou-se a correspondência entre a quantidade (em metros cúbicos) de cada um dos tipos de vinhaça com os fertilizantes minerais mais usuais, em relação ao seu principal elemento nutriente (uréia, 45 % N, sulfato de amônia, 20 % N, superfosfato triplo, 48 % de P_2O_5 e cloreto de potássio, 60 % de K_2O). Esses resultados estão apresentados na Tabela 2.5.

Tabela 2.5 – Equivalência entre 1m³ dos diferentes tipos de vinhaça com alguns fertilizantes minerais

Tipo de vinhaça	kg de Fertilizante			
	Uréia	Sulfato de Amônio	Superfosfato Triplo	Cloreto de Potássio
Mosto de Melaço	1,71	3,85	0,42	9,42
Mosto Misto	1,09	2,45	0,50	4,82
Mosto de Caldo	0,73	1,65	0,40	2,83

Fonte: Silva & Orlando Filho (1981)

Desta forma, em função da sua composição, a adição da vinhaça ao solo, constitui inicialmente uma fertilização orgânica, causando ao solo melhorias nas propriedades físicas, químicas, físico-químicas e biológicas, consistindo, portanto em importante insumo agrícola, se usada convenientemente. Portanto, uma preparação prévia adequada do efluente é necessária para se obter boa distribuição ao solo e minimizar efeitos prejudiciais que comprometam a qualidade da cana, salinização do solo e a possível poluição do lençol freático (SABADIA, 1994).

Diante disso, Parnaudeau et. al. (2007) investigaram os efeitos das diferentes características da matéria-prima na composição bioquímica da vinhaça e sua mineralização de carbono e nitrogênio no solo. As amostras de vinhaça foram obtidas de processos industriais similares de fermentação baseados no crescimento de microrganismos no melaço de beterraba e cana-de-açúcar e concentração de vinhaça (diluída e concentrada). As amostras derivadas da beterraba foram mais ricas em compostos nitrogenados e induziram a melhor mineralização de nitrogênio. A concentração conduziu a um pequeno aumento na abundância de compostos fenólicos e uma insignificante redução na fração instável das vinhaças parcialmente ou totalmente derivadas da beterraba. O efeito da vinhaça diluída da cana foi melhor. A vinhaça concentrada teve uma pequena fração instável e induziu a imobilização de nitrogênio no começo da incubação.

2.1.3. Formas de disposição e tratamento da vinhaça

No mundo todo, autoridades regulatórias ambientais estão estabelecendo normas rígidas para o descarte de águas residuárias industriais. No Brasil, a mais recente resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) nº 357, de 17 de março de 2005, dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, e estabelece, ainda, as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências (SILVA et al., 2007). Na Índia, por exemplo, as usinas foram solicitadas para alcançar descarte zero de vinhaça até dezembro de 2005 de acordo com a licença do Conselho Central de Controle a Poluição, a autoridade máxima de controle à poluição (CPCB, 2003 *apud* PANT et al., 2007).

De acordo com Pinto (1999), dentre as diversas formas de destinação dadas à vinhaça, a disposição “in natura” na lavoura, através da fertirrigação, apesar de contribuir para livrar os cursos d’águas superficiais desse poluente, é uma alternativa que não pode ser aplicada arbitrariamente em todas as situações. Existem limitações geográficas fazendo com que grande parte da vinhaça seja ainda descarregada em áreas de sacrifício, além de riscos de contaminação do lençol freático, através de doses excessivas (SABADIA, 1994).

Sendo assim, há a necessidade de um tratamento prévio antes do descarte da vinhaça ao solo. Luksenberg et al. (1980), em seu trabalho, descreve algumas possibilidades de tratamento da vinhaça como as lagoas de estabilização, filtros biológicos (digestão aeróbia e anaeróbia), tratamento físico-químico, produção de proteína, produção de metano, lançamento “in natura” na lavoura, reciclagem industrial, osmose reversa, evaporação, incineração e lagoas de aguapé.

2.2. DIGESTÃO ANAERÓBIA

2.2.1. Etapas da digestão anaeróbia

A despoluição da água residuária industrial tem sido cada vez mais fonte de estudos para evitar impactos ambientais. A decomposição anaeróbia da matéria orgânica pode ser considerada como uma das mais antigas tecnologias para estabilização do efluente.

O tratamento anaeróbio converte os poluentes orgânicos (DQO, DBO) presentes na água residuária em pequena quantidade de lodo e uma grande quantidade de biogás (metano e dióxido de carbono), restando uma fração de difícil degradação.

A degradação biológica de compostos orgânicos complexos ocorre em vários estágios bioquímicos consecutivos (reações em cadeia), cada qual realizado por diferentes grupos de microrganismos específicos. Vários produtos intermediários são continuamente gerados e imediatamente processados, havendo a necessidade dos vários estágios ocorrerem na mesma velocidade a fim de evitar distúrbios, como o acúmulo de ácidos, que pode resultar na falência do reator. Isso também pode ocorrer se não houver monitoramento de variáveis importantes para o controle da digestão anaeróbia como, por exemplo, temperatura, pH, nutrientes, taxa de carregamento orgânico e produção de metano por microrganismos (RAJESHWARI et al., 2000).

Simplificando o processo de degradação, quatro fases principais podem ser distinguidas (Figura 2.2), podendo haver a inclusão de uma quinta fase, dependendo da composição química do despejo a ser tratado, como a seguir:

- **Hidrólise:** hidrólise de materiais particulados complexos (polímeros) em materiais dissolvidos mais simples (moléculas menores), os quais podem atravessar as paredes celulares dos microrganismos fermentativos. Esta conversão de materiais particulados em materiais dissolvidos é conseguida através da ação de exoenzimas excretadas pelas bactérias fermentativas hidrolíticas.
- **Acidogênese:** os produtos solúveis oriundos da fase de hidrólise são metabolizados no interior das células das bactérias fermentativas, sendo convertidos

em diversos compostos mais simples, os quais são então excretados pelas células. Os compostos produzidos incluem ácidos graxos voláteis, álcoois, ácido láctico, gás carbônico, hidrogênio, amônia e sulfeto de hidrogênio, além de novas células bacterianas. Como os ácidos graxos voláteis são os principais produtos dos organismos fermentativos, estes são usualmente designados de bactérias fermentativas acidogênicas (exemplo, espécies *Clostridium* e *Bacteroids*).

- **Acetogênese:** as bactérias acetogênicas são responsáveis pela oxidação dos produtos gerados na fase acidogênica em substrato apropriado para as bactérias metanogênicas. Os produtos gerados pelas bactérias acetogênicas são o hidrogênio, o dióxido de carbono e o acetato.

- **Metanogênese:** etapa final do processo de degradação anaeróbia de compostos orgânicos em metano e dióxido de carbono efetuada pelas arqueas metanogênicas. Em função de sua afinidade por substrato e magnitude de produção de metano, as metanogênicas são divididas em dois grupos principais:

- Metanogênicas acetoclásticas: formam metano a partir do ácido acético ou metanol. São os microrganismos predominantes na digestão anaeróbia, responsáveis por cerca de 60 a 70 % de toda a produção de metano. Pertencem a dois gêneros principais: *Methanosarcina* (formato de cocos) e *Methanosaeta* (formato de filamentos).

- Metanogênicas hidrogenotróficas: praticamente todas as espécies conhecidas de bactérias metanogênicas são capazes de produzir metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono. Os gêneros mais frequentemente isolados em reatores anaeróbios são: *Methanobacterium*, *Methanospirillum* e *Methanobrevibacter*.

- **Sulfetogênese:** a produção de sulfetos é um processo no qual o sulfato e outros compostos a base de enxofre são utilizados como aceptores de elétrons durante a oxidação de compostos orgânicos. Durante este processo, sulfato, sulfito e outros compostos sulfurados são reduzidos a sulfeto, através da ação de um grupo de microrganismos anaeróbios estritos, denominadas bactérias redutoras de sulfato (ou bactérias sulforedutoras).

Na presença de sulfato, as bactérias redutoras de sulfato (BRS) passam a competir com os microrganismos fermentativos, acetogênicos e metanogênicos pelos substratos disponíveis. A importância dessa competição bacteriana é maior

quando ocorre o aumento da concentração relativa de SO_4^{-2} em relação à concentração de DQO.

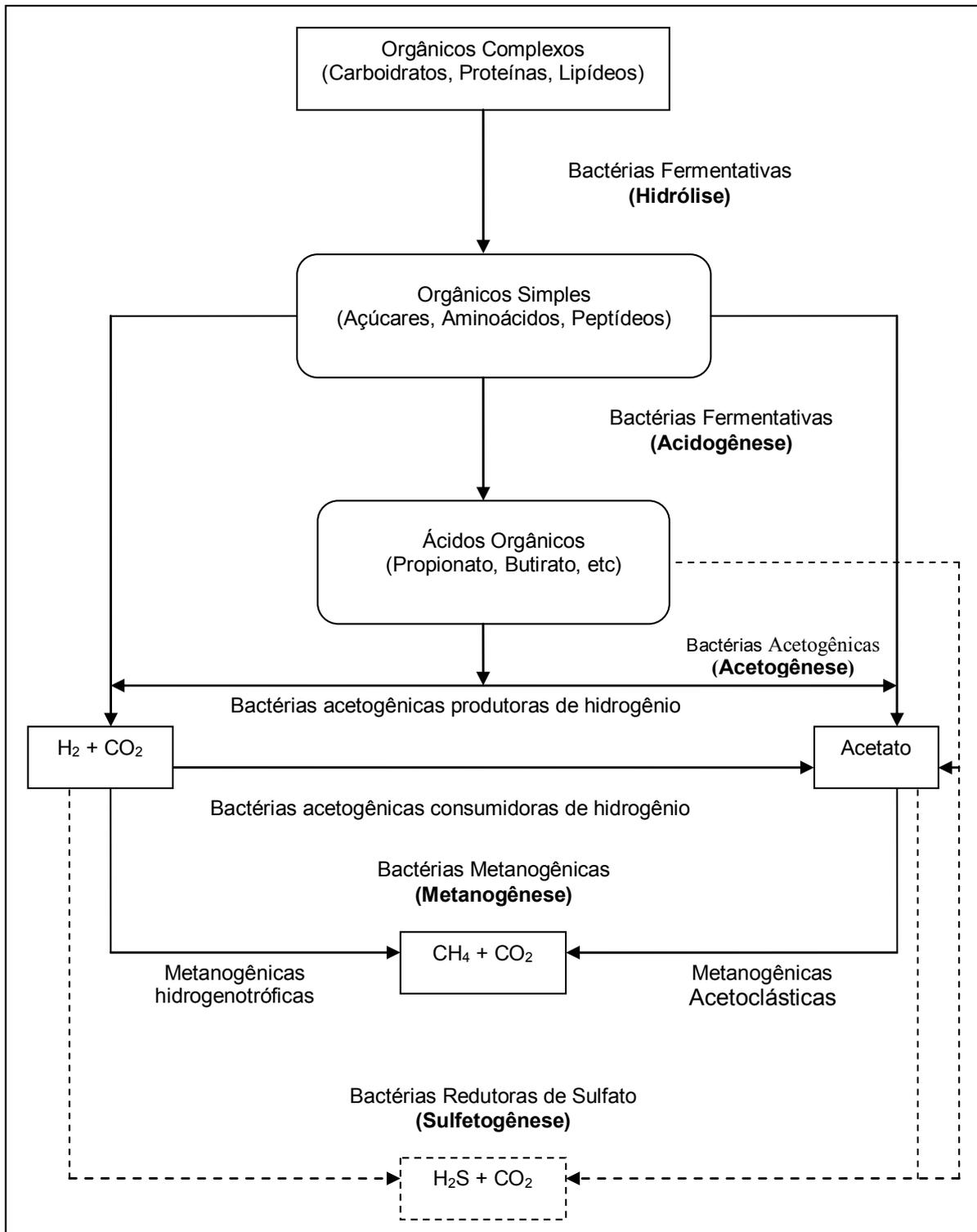


Figura 2.2 - Seqüências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (com redução de sulfato). Fonte: Chernicharo (1997).

2.3. REATORES EMPREGADOS NO TRATAMENTO ANAERÓBIO

Em anos recentes, atenção considerável tem sido dada ao desenvolvimento de reatores para tratamento anaeróbio de resíduos conduzindo a conversão de moléculas orgânicas em biogás.

Devido à necessidade da operação dos reatores anaeróbios com baixos tempos de detenção hidráulica (TDH) e elevados tempos de retenção celular (TRC), foram desenvolvidos sistemas que incorporaram mecanismos de retenção de biomassa, denominados sistemas de alta taxa. Os reatores anaeróbios de alta taxa podem ser classificados em dois grandes grupos, de acordo com o tipo de crescimento de biomassa no sistema: crescimento disperso ou aderido (CHERNICHARO, 1997).

Os dois processos mais conhecidos para o tratamento anaeróbio com crescimento aderido são os filtros anaeróbios e os processos de leito expandido/fluidizado, utilizados para o tratamento de resíduos orgânicos carbonáceos (METCALF & EDDY, 1979).

Estes reatores de alta taxa, podem suportar carregamentos orgânicos elevados de até 24 kgDQO/m³.d e alta velocidade de fluxo ascendente de 2-3 m/h a um baixo tempo de detenção hidráulica (LETTINGA, 1995 *apud* RAJESHWARI et. al., 2000). Entretanto, a eficiência de tratamento desses reatores é sensível a parâmetros como composição da água residuária, especialmente a concentração dos vários íons e presença de compostos tóxicos tal como fenol (RAJESHWARI et. al., 2000).

Todos os processos modernos de biometanação de alta taxa são baseados no conceito de retenção de biomassa por algum modo de imobilização ou auto-imobilização (reator UASB) do lodo bacteriano (ALVES et. al., 1994). Esta é alcançada por um dos métodos abaixo:

- Formação de agregados de lodo altamente sedimentados combinados com separação de gás e lodo sedimentando, por exemplo, reator UASB e reator anaeróbio com crescimento disperso.
- Adesão bacteriana em partículas de materiais suportes de alta densidade, por exemplo, reatores de leito fluidizado e reatores anaeróbios de leito expandido.

- Imobilização do lodo agregado entre o empacotamento do material fornecido para o reator, por exemplo, filtro anaeróbio de fluxo descendente e filtro anaeróbio de fluxo ascendente e RAHLF.

O tipo de reator tem influência significativa na retenção e estratificação da biomassa, características que determinam limitações de ordem cinéticas e termodinâmicas (AQUINO, 2005).

Alguns exemplos de reatores de alta taxa estão apresentados na Tabela 2.6.

Tabela 2.6 - Processos típicos e desempenho para processos anaeróbios usados para tratamento de água residuária.

Reator	DQO afluente (mg/L)	TDH (h)	Taxa de Carregamento Orgânico (kgDQO/m ³ .d)	Eficiência de Redução de DQO (%)
Processo de contato anaeróbio	1.500-5.000	2-10	0,48-2,40	75-90
UASB	5.000-15.000	4-12	4,00-12,01	75-85
Leito fixo	10.000-20.000	24-28	0,96-4,81	75-85
Leito expandido	5.000-10.000	5-10	4,81-9,61	80-85

Fonte: Gavrilescu (2002)

Os reatores e processos mais comuns podem ser agrupados da seguinte maneira: digestão anaeróbia de mistura completa, processos de contato anaeróbio, leito de fluxo ascendente, leito de fluxo descendente, leito fluidizado, leito expandido, UASB.

A Tabela 2.7 resume algumas das características importantes desses reatores.

Tabela 2.7 - Características de diferentes tipos de reatores.

Tipo de reator anaeróbio	Duração da partida (mês)	Efeito de canais preferenciais	Reciclo do efluente	Dispositivo de separação gás-sólido	Meio suporte	Taxas de carregamento típicas (kgDQO/m ³ .d)	TDH (d)
CSTR*	-	Não possui	Não requer	Não requer	Não essencial	0,25-3	10-60
Contato	-	Não existe	Não requer	Não requer	Não essencial	0,25-4	12-15
UASB	4-16	Baixo	Não requer	Essencial	Não essencial	10-30	0,5-7
Filtro Anaeróbio	3-4	Alto	Não requer	Benéfico	Essencial	1-40	0,5-12
AAFEB**	3-4	Pouco	Requer	Não requer	Essencial	1-50	0,2-5
AFB***	3-4	Não existe	Requer	Benéfico	Essencial	1-100	0,2-5

Fonte: Rajeshwari et al. (2000)

* CSTR: Reator Contínuo de Tanque Agitado

** AAFEB: Reator Anaeróbio de Leito Fixo – Filme Expandido

*** AFB: Leito Fluidizado Anaeróbio

A configuração mais popular de reator de alta taxa é o reator UASB que vem sendo usado extensivamente no tratamento anaeróbio de efluentes de diferentes fontes, principalmente, indústrias alimentícias, cervejarias e água residuária municipal. A biomassa ativa na forma de grânulos de lodo é retida no reator por decantação direta alcançando elevados tempos de retenção celular. A principal vantagem é que este sistema requer menores investimentos quando comparado aos filtros anaeróbios e reatores de leito fluidizado. Entre as desvantagens, ele tem um longo período de partida necessitando de quantidade suficiente de lodo para uma partida mais rápida. Além disso, pode ocorrer significativa lavagem da biomassa durante a fase inicial do processo.

Por outro lado, em reatores de filme fixo há a necessidade de meio suporte para imobilização da biomassa. A água residuária é distribuída ascendente/descendente ao meio suporte. Esses reatores oferecem vantagens como simplicidade de construção, eliminação de mistura mecânica, melhor estabilidade às altas taxas de carregamento e capacidade de resistir a

grandes cargas de choque tóxicas e orgânicas (RAJESHWARI et al., 2000), mas possui, como principal limitação, volume relativamente grande comparado a outros reatores de alta taxa devido ao volume ocupado pelo meio. Outra restrição é o entupimento do reator devido ao aumento da espessura do biofilme e/ou alta concentração de sólidos suspensos na água residuária.

Outro reator que tem a necessidade de meio suporte para o crescimento e fixação do biofilme é o reator anaeróbio de leito fluidizado. A fluidização é aplicada com a finalidade de se obter um contato mais íntimo e uniforme entre um ou mais fluidos e partículas sólidas. Um leito é considerado fluidizado quando as partículas sólidas se comportam como um líquido. Isso acontece quando o peso das partículas equivale ao empuxo provocado pelo fluido, fazendo com que as partículas se movam em torno das suas posições inicialmente fixas. Sob estado de fluidização, cada meio provém uma grande área de superfície para formação e crescimento do biofilme. A capacidade de fixação da biomassa mantém e promove a eficiência e estabilidade ao sistema, possibilitando altas taxas de carregamento orgânico e melhor resistência a presença de inibidores.

A tecnologia de leito fluidizado é mais efetiva do que a tecnologia de filtro anaeróbio, pois ela favorece o transporte de células microbianas do bulk para a superfície e aumenta o contato entre os microrganismos e substrato (SOWMEYAN et al., 2007). Estes reatores têm várias vantagens sob os filtros anaeróbios tais como eliminação do entupimento do leito, baixa perda hidráulica combinada com melhor circulação hidráulica e boa área de superfície por unidade de volume do reator. Finalmente, o custo capital é menor devido aos volumes reduzidos do reator. Entretanto, a recirculação do efluente pode ser necessária para alcançar a expansão do leito como no caso de reator de leito expandido.

2.3.1. Meio Suporte e Biofilme

Reatores com células imobilizadas são largamente utilizados em situações em que a capacidade do bioreator, quando usando livremente microrganismos suspensos, é limitada pela concentração de biomassa ativa e tempo de residência hidráulico. A imobilização microbiana é especialmente útil para produtores

anaeróbios de metano limitados pelo crescimento lento e necessidade de muita energia (MELIDIS et al., 2003).

No caso de reatores anaeróbios de leito fluidizado, a biomassa deve constituir apenas um biofilme. Este é definido como uma estrutura complexa de células e produtos celulares, como polímeros extracelulares, que formam grânulos grandes e densos livremente ou crescem fixos a superfície dos sólidos fixos (biofilmes estáticos) ou em suportes suspensos (biofilmes suportados em partículas) (NICOLELLA et al., 2000). Ou seja, em biofilmes, os microrganismos são incrustados em uma matriz de substâncias poliméricas orgânicas extracelulares produzidas pela atividade microbiana e também pode conter substâncias inorgânicas e abióticas (MUSSATI et al., 2005).

Sabe-se que o melhor material suporte a ser utilizado para a imobilização microbiana será aquele que permitir obter melhores eficiências de remoção de substrato para a mesma carga orgânica aplicada, mesmo tipo de substrato e nas mesmas condições de operação. Seu desempenho está ligado à capacidade de retenção de biomassa que, por sua vez, está relacionada com a rugosidade, hidrofobicidade, interações eletrostáticas e com a porosidade e tamanho dos poros do suporte. Outros requisitos desejáveis para materiais suportes são: serem estruturalmente resistentes, biológicos e quimicamente inertes, suficientemente leves, possuírem grande área específica, possibilitarem a colonização acelerada dos microrganismos, apresentarem formato não achatado ou liso e preços reduzidos.

O material mais amplamente utilizado é a areia, provavelmente por razões de disponibilidade e custo (HEIJNEN et al., 1986). Outros materiais têm sido testados como vidro poroso (JÖRDENING, 1992), carvão ativado (FOX et al., 1990), sepiolita (BALAGUER et al., 1992), poliestireno (DAMIANO, 2005) e zeólitas (FERNÁNDEZ et al., 2007).

A influência do tipo de suporte na adesão e formação do biofilme de culturas puras e mistas foi estudada por Gjaltema et al. (1997a) *apud* Nicolella et al. (2000) usando suportes suspensos (esferas de vidro padrões, rugosas, hidrofóbicas e carregadas positivamente, areia e grãos de basalto) em reatores de leito fluidizado trifásico em escala de laboratório. Os resultados mostraram claramente que nesse tipo de reator as condições hidrodinâmicas e colisões entre as partículas controlaram a formação do biofilme. O aumento da rugosidade da superfície dos suportes promoveu o acúmulo de biofilme nos suportes suspensos, enquanto que as

características físico-químicas da superfície dos suportes provaram ser menos importantes.

Os materiais suportes convencionais fabricados para adsorção microbiana e formação do biofilme têm a principal desvantagem do desprendimento da biomassa devido às forças abruptas hidrodinâmicas e interações partículas-partículas durante colisões. A colonização microbiana nos macroporos da alta área da superfície dos materiais suportes evita o risco de desprendimento da biomassa, proporcionando acúmulo substancial de biomassa por unidade de volume do reator.

Sabe-se que a imobilização em suportes porosos pode ser problemática devido a efeitos difusionais internos enquanto que a utilização de suportes inertes, como argila, pode ter efeito estimulatório ou inibitório na atividade metanogênica devido às interações químicas entre o material e o meio de cultura (MURRAY e van den BERG, 1981; BONASTRE e PARIS, 1988).

A capacidade do reator (expressa em termos do coeficiente tempo-espço) de imobilização das células depende, em uma dada concentração, da atividade específica dos microrganismos. Esta, por sua vez, reduz dentro dos microporos devido à limitação de difusão dos substratos. Este fato pode ser visualizado na Figura 2.3 investigando a distribuição de espécies metanogênicas acetoclásticas dentro da estrutura dos macroporos de esferas de vidro perfuradas (Siran) por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Observa-se que na superfície dos poros houve predomínio de *Methanosarcina barkeri* reduzindo dentro dos poros, tornando predominante os filamentos de *Methanosaeta concilii* (WANDREY et al., 1983 e BRUNE et al., 1982 *apud* MELIDIS et al., 2003).

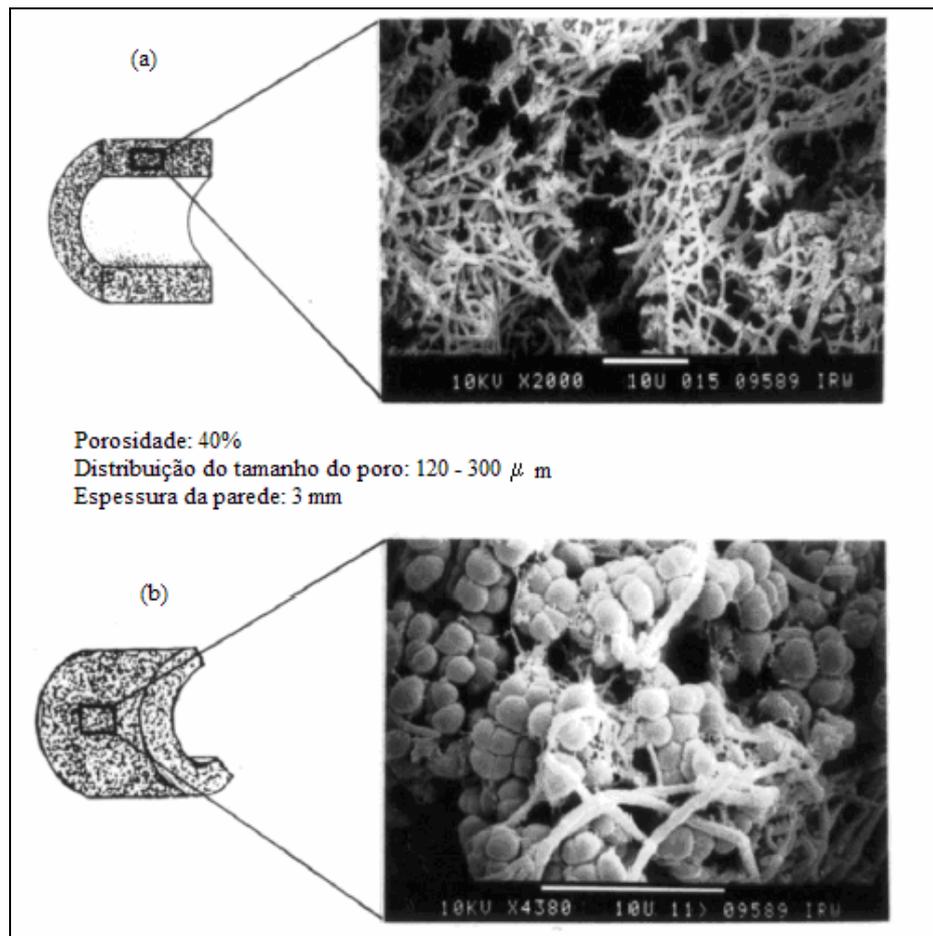


Figura 2.3 – MEV apresentando o padrão de colonização em anéis Rasching feitos de Siran no tratamento anaeróbio de condensados de sulfeto: (a) interior e (b) superfície dos macroporos. Fonte: Melidis et al. (2003).

2.4. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

Em geral, os níveis populacionais relativos aos grupos microbianos (acidogênicos, acetogênicos, metanogênicos) e as espécies de cada grupo presente dependem das características da água residuária bem como das condições operacionais e ambientais, como por exemplo, o tipo de substrato e a taxa de carregamento orgânico, configuração do sistema, tipo de material suporte inerte e ação da tensão de cisalhamento. Qualquer tipo de perturbação no sistema pode conduzir a mudanças nos tipos das espécies e seus níveis populacionais relativos, que refletem consequentemente no desempenho do reator, tornando-se evidente a

importância do desenvolvimento de um biofilme bem balanceado e adaptado e métodos para monitorar sua estrutura (MUSSATI et al., 2005).

Os esforços para avaliar as comunidades microbianas de processos de tratamentos anaeróbios têm utilizado principalmente os parâmetros clássicos, tais como os sólidos suspensos voláteis (SSV) ou usado isolamento de culturas puras e microscopia eletrônica de varredura para obter conhecimento tanto da morfologia quanto da composição das populações anaeróbias coexistindo na estrutura do biofilme dos digestores. Tanto os parâmetros clássicos quanto MEV são capazes de fornecer informações sobre os microrganismos, mas podem não ser suficientes.

Um parâmetro importante, para a eficiência de sistemas de tratamento anaeróbio é a capacidade metanogênica acetoclástica, que pode ser determinada medindo-se a atividade metanogênica específica (AME). Entretanto, nenhum desses parâmetros pode explicar o sistema de tratamento biológico onde as falhas sempre permanecem inexplicadas, parcialmente devido à falta de informação sobre os microrganismos constituintes. A determinação dos princípios básicos da estrutura e função dos microrganismos que governam os processos de tratamento biológicos podem ajudar no projeto de sistemas de tratamento biológico otimizado com taxas menores de falhas (AKARSUBASI et al., 2005), mas o número de espécies procarióticas conhecidas atualmente (incluindo os 2 domínios: *Bacteria* e *Archaea*) é muito pequeno comparado com a diversidade de microrganismos e ilustra como é difícil obter um quadro completo da diversidade bacteriana de um ecossistema confiando apenas na metodologia convencional (SANZ et al., 2007).

Recentemente, mais pesquisas foram conduzidas para relacionar a eficiência dos sistemas de tratamento biológico à sua comunidade microbiana usando técnicas moleculares tais como análise de fragmentos de genes clonados 16S rRNA, eletroforese de gel gradiente desnaturante (DGGE) e/ou hibridização de fluorescência in situ (FISH) com investigações de DNA (CURTIS et al., 2003; FERNANDEZ et al., 1999; GODON et al., 1997; PEREIRA et al., 2002 *apud* AKARSUBASI et al., 2005).

A possibilidade de identificar populações específicas de microrganismos em seu habitat nativo sem a necessidade de isolá-los está revolucionando a ecologia microbiana e originando várias novas aplicações em numerosos campos de pesquisa.

No tratamento de água residuária, as técnicas de biologia molecular têm sido aplicadas principalmente ao estudo de flocos (lodo ativado) e biofilmes que crescem em sistemas de tratamento aeróbio (filtros biológicos) (SANZ et al., 2007), embora venha crescendo rapidamente o uso em biofilmes anaeróbios.

As técnicas moleculares desenvolvidas durante a década de 1990 revolucionaram a pesquisa ecológica microbiana. Entre elas, a clonagem e a criação de uma biblioteca genética, DGGE e FISH se sobressaem. Tanto o DGGE quanto o FISH têm sido extensamente empregados.

A técnica FISH está sendo atualmente usada para a elucidação da composição, quantificação e distribuição de grupos bacterianos diferentes em grânulos e biofilmes, bem como sua estrutura (SANZ et al., 2007). As publicações que detalham mais a aplicação de FISH em digestão anaeróbia têm lidado com a interação e distribuição de grupos tróficos tais como a bactéria que reduz o sulfato e a arquea metanogênica em reatores metanogênicos/sulfetogênicos (SANTEGOEDS et al., 1999 *apud* SANZ et al., 2007) ou diferenciação entre a metanobactéria acetoclástica e hidrogenotrófica, e dentro deste grupo entre *Methanosaeta* e *Methanosarcina* (GONZÁLEZ-GIL et al., 2001; ROCHELEAU et al., 1999 *apud* SANZ et al., 2007).

Por outro lado, o DGGE é um método rápido e simples que fornece padrões de bandas características para amostras diferentes, permitindo rápida descrição da amostra, enquanto retém a possibilidade de uma análise genética mais completa pelo sequenciamento de bandas particulares. Os métodos com base na reação em cadeia polimerase (PCR), ou seja, clonagem e DGGE têm se mostrado adequados para identificar os microrganismos que formam o lodo.

A técnica do DGGE é menos utilizada no tratamento de água residuária anaeróbia, embora ultimamente venha sendo amplamente utilizada. Assim, por exemplo, o DGGE tem sido usado para a avaliação da diversidade microbiana do lodo granular de reatores UASB que tratam águas residuárias de cervejarias, destilarias de álcool e fábricas de polpa celulósica não branqueada.

A descrição global da população de um ecossistema de digestão anaeróbia foi estudada por Godon et al.(1997) através do uso de identificação de pequenas subunidades rDNA. O reator de leito fluidizado, que foi alimentado com vinhaça de vinho, possui várias vantagens para essa análise. Um leito fluidizado gera um ecossistema com base no biofilme, o qual é muito estável ao longo do tempo. O

substrato quase estéril garante que não ocorram mudanças dos microrganismos encontrados no biofilme. Isto permite investigar uma comunidade microbiana estável. Após amplificação do PCR, quatro pequenas subunidades de conjuntos de clone de rDNA de populações de *Bacteria*, *Archaea*, *Procarya* e *Eucarya* foram estabelecidas. A estrutura da comunidade foi determinada por análises filogenéticas de unidade taxonômica operacional (OTU) de 579 sequências parciais de rDNA. Um total de 146 OTUs foram encontradas compreendendo 133, 6 e 7 domínios de *Bacteria*, *Archaea* e *Eucarya*, respectivamente. Três das seis OTUs da *Archaea* corresponderam a 95% da população *Archaea* e são muito parecidas com as espécies metanogênicas conhecidas: *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina frisius* e *Methanobacterium formicum*. Em contraste, as três outras OTUs da *Archaea* são incomuns e são relativas a microrganismos termofílicos tais como *Crenarchaea* ou *Thermoplasma* spp.

A aplicação mais importante de DGGE é monitorar mudanças dinâmicas em comunidades microbianas, especialmente quando muitas amostras têm que ser processadas. Há múltiplas aplicações de DGGE referente a processos de digestão anaeróbia tais como os estudos sobre diferenças entre os reatores mesofílicos e termofílicos, demonstrando a biodiversidade mais baixa em reatores termofílicos usados para o tratamento de águas residuárias geradas pela indústria farmacêutica (LAPARA et al., 2000); a análise das mudanças observadas na diversidade bacteriana de um digestor anaeróbio tratando resíduo sólido urbano (SILVEY et al., 2000) e estudos sobre as mudanças em comunidades bacterianas em um CSTR em resposta à taxa de diluição (UENO et al., 2001).

Pesquisa recente foi realizada por McHugh et al. (2003) que avaliaram as estruturas da comunidade metanogênica de seis lodos anaeróbios utilizando técnicas independentes de cultura. Os lodos foram obtidos de bioreatores em escala de laboratório e grande escala, tratando uma variedade de águas residuárias de baixa e alta carga, simples e complexa em temperaturas psicrófilicas (10 – 14°C), mesofílica (37°C) e termofílica (55°C). A análise de restrição do rDNA amplificado identificou 18 unidades taxonômicas operacionais metanogênicas nas seis amostras. O sequenciamento de gene 16S rRNA e a reconstrução filogenética demonstraram que cinco grupos separados de metanogênicas foram representados com espécies dominantes semelhantes à *Methanosaeta* em todos os lodos, mas particularmente

em amostras de um bioreator psicrófilico tratando esgoto sintético de baixa carga (75% de todos os clones detectados).

Outra aplicação de técnica de biologia molecular foi através do monitoramento da estrutura da comunidade microbiana por análises de DGGE de fragmentos de genes 16S rRNA realizada por Akarsubasi et al. (2005) ao estimarem o efeito da composição do efluente de uma indústria farmacêutica sobre a diversidade da população arquea em um CSTR anaeróbio. Cinco diferentes taxas arqueais foram identificadas e as seqüências arqueais predominantes pertenceram a *Archaea* metanogênica. Duas destas apresentaram a maior identidade de seqüência com *Methanobacterium formicicum* e *Methanosaeta concilii*. Os tipos de arqueas presentes mudaram pouco em resposta a mudar a composição da alimentação, mas a relativa contribuição de organismos diferentes identificados nos perfis do DGGE arqueal realmente mudou.

2.5. TRATAMENTO ANAERÓBIO DA VINHAÇA

No Brasil, a produção do açúcar e álcool é feita a partir do processamento da cana-de-açúcar, destacando-se o Estado de São Paulo como maior produtor (OMETTO, 2000) enquanto que nos países europeus, eles são produzidos a partir do processamento da beterraba, podendo ainda ocorrer a produção através de centeio, cevada, trigo (BLONSKAJA et al., 2003) entre outros, gerando vinhaça com características semelhantes à formada a partir da cana.

Sendo assim, várias pesquisas têm sido realizadas com vinhaças de diferentes origens de acordo com o país em que a pesquisa se desenvolve como, por exemplo, no estudo preliminar realizado da degradação aeróbia da vinhaça de melaço de beterraba, realizado por Jiménez et al. (2003), usando o fungo *Penicillium decumbens*. Esta pesquisa mostrou que este fungo produz uma descolorização da vinhaça no primeiro dia de incubação alcançando uma descolorização máxima de 40% com redução simultânea de 70 % do seu conteúdo fenólico. Um estudo comparativo prévio da digestão anaeróbia desta vinhaça não tratada e previamente tratada realizado em bioreatores de células suspensas operando em modo contínuo demonstrou que para o melaço não tratado, a eficiência de redução de DQO reduziu

consideravelmente de 93,7 % a 68,6 % quando a TCO aumentou de 1,5 a 7,5 kgDQO/m³.d e TDH reduziu de 53,5 a 10,6 dias. Ao contrário, para o melaço previamente fermentado com *P. decumbens*, a redução na porcentagem de eficiência de redução de DQO com aumento da TCO foi gradual e menos notável do que aquele observado para o melaço não tratado, na mesma variação de TCO (1,5 a 7,5 kgDQO/m³.d). Este estudo também demonstrou que, no caso do melaço não tratado, a taxa de produção volumétrica do metano aumentou progressivamente com aumento na TCO de até 5,5 kgDQO/m³.d, depois observou-se redução acima da variação testada. Esta redução na produção de metano para valores de TCO mais altos demonstraram a ocorrência de um processo de inibição, que pode ser atribuído a uma inibição dos microrganismos metanogênicos a altos valores de TCO como consequência do aumento de AVT no efluente e razão AVT/alcalinidade. Outro estudo similar foi realizado por Jiménez et al. (2006), mas desta vez para análises cinética da digestão anaeróbia de vinhaça não tratada e previamente tratada com *Penicillium decumbens*.

A viabilidade do tratamento anaeróbio da vinhaça de cana-de-açúcar no Brasil foi comprovada com o uso de reatores UASB, sob condições mesofílicas e termofílicas (VAZOLLER, 1995).

A biodigestão termofílica da vinhaça alcança eficiências de tratamento e rendimento de metano similares ao tratamento mesofílico, porém, com o dobro da carga orgânica de entrada, segundo Wilkie et al. (2000), sendo, assim, um processo favorável para as indústrias que geram grande quantidade de vinhaça. Porém, atualmente, estão sendo implantados, em muitas indústrias, sistemas de aproveitamento da energia térmica do resíduo no próprio processo de produção (VACCARI et al., 2003). Portanto, com a tendência mundial crescente de implantação deste sistema, o uso de processos mesofílicos passa a ser interessante no tratamento desse despejo.

Diante desse contexto, a viabilidade da digestão anaeróbia termofílica (55-57°C) da vinhaça de cana-de-açúcar em uma planta piloto de larga escala (reator UASB de 75 m³) na Usina de Álcool São Martinho foi avaliada por Souza et al. (1992) com o objetivo de se obter a estabilidade do processo para alcançar o dobro da carga orgânica geralmente aplicada em reatores UASB mesofílicos de larga escala tratando vinhaça (de 15 para 30 kgDQO/m³.d). A vinhaça foi utilizada na maior parte dos experimentos (safra), mas, no período de entressafra, teve que ser

diluída para alcançar as características da vinhaça utilizada. O reator, por sua vez, foi operado durante 280 dias e inoculado com uma mistura de lodo mesofílico de tratamento de esgoto e estrume levando 50 dias para adaptação da cultura mesofílica a nova condição termofílica. Após alcançar taxa de carga orgânica de, aproximadamente, 15 kgDQO/m³.d, o processo começou a deteriorar-se causando um aumento na concentração de ácidos voláteis, redução do pH efluente, redução da taxa de DQO removida e do fator de produção de gás, tendo sido necessária a redução da carga orgânica para menos de 5 kgDQO/m³.d. Posteriormente, após estabilização, a carga foi aumentada para 15 kgDQO/m³.d e o reator passou a apresentar comportamento estável. A granulação foi essencial para a estabilização do processo que permitiu que a carga orgânica fosse dobrada (de 15 para 30 kgDQO/m³.d) sem aumento da concentração de ácidos voláteis e sem redução do pH efluente, da taxa de redução de DQO ou produção de gás. Com as taxas de carga orgânica alcançadas (25-30 kgDQO/m³.d), obteve-se conversão da matéria orgânica (72 % de redução de DQO) com tempo de detenção hidráulico de 10,8 horas e taxa de produção de biogás de cerca de 10 m³/m³.d. Análises do efluente mostraram um alto grau de remoção de sulfato (cerca de 98 %) e, como esperado, não houve remoção de potássio, considerado benéfico para a fertirrigação.

A possibilidade de tratamento anaeróbio termofílico de vinhaça de melaço de cana usando um reator UASB de 140 L foi testada por Harada et al. (1996) durante um período de 430 dias. As TCOs foram aplicadas até 28 kgDQO/m³.d com redução do TDH para uma concentração afluente fixa de 10 gDQO/L. Eficiências de redução de DQO durante todo o experimento foram relativamente baixas de 39 % a 67 % enquanto as remoções de DBO foram mais satisfatórias, maiores que 80 %. O baixo desempenho do reator quanto à eliminação de DQO pode ser provavelmente atribuído à baixa degradabilidade do próprio resíduo.

Pesquisa mais recente utilizando reator UASB no tratamento anaeróbio de vinhaça de cana operado em temperatura na faixa termofílica (55°C) e submetido ao aumento progressivo de carga orgânica foi estudada por Viana (2006). Após 55 dias de adaptação com carga orgânica que variou de 1 a 2 gDQO/L e TDH de 5 a 5,5 dias, o reator foi operado alcançando carga orgânica volumétrica máxima de 6,5 kg/m³.d, eficiência máxima de redução de DQO de 83 % (para carga orgânica de 3,5 gDQO/L.d) e TDH médio de 1,34 dias. Após carga de choque no sistema ao atingir carga orgânica volumétrica máxima, esta foi reduzida gradualmente para 2 kg/m³.d.

Devido a problemas operacionais, houve parada no sistema e tentativa de enriquecimento da população metanogênica através de substratos sintéticos, ácidos orgânicos voláteis e etanol diluído. Os ácidos orgânicos voláteis provocaram carga de choque e inibição do processo de degradação anaeróbia enquanto o etanol diluído foi um sucesso para recuperação do sistema.

Além do reator UASB, várias outras configurações de reatores foram avaliadas no tratamento anaeróbio da vinhaça, entre elas, o reator de leito fixo utilizado por Seth et al. (1995) usando meio suporte de baixo custo (grânulos de tijolos). Para o TDH de 3 dias, correspondendo a uma TCO de 22 kgDQO/m³.d, alcançou-se na fase metanogênica uma eficiência de redução de DQO de 71,8 % e produção de biogás de 0,45 m³/kgDQOremovida. Análises de sólidos voláteis totais revelaram que 75 % da biomassa fixa à superfície do meio suporte inerte desempenharam importante papel na eficiência do reator metanogênico. Quando comparado ao carvão ativado granular (GAC), concluiu-se que o meio suporte utilizado no estudo apresentou desempenho comparável ou até melhor devido ao tamanho dos poros do suporte.

Goyal et al. (1996) pesquisaram o tratamento anaeróbio da vinhaça de melaço de cana através de um reator de leito fixo bifásico usando carvão ativado granular como meio suporte para fixação e crescimento dos microrganismos na segunda fase. Na primeira fase, a vinhaça neutralizada foi tratada com acidogênicas para produzir ácidos orgânicos voláteis, que são facilmente utilizáveis pelas metanogênicas para produção do gás metano. Eficiência de redução de DQO de 67,1 % e produção de gás de 0,45 m³/kgDQOremovida, com 70 % de conteúdo de metano, foram alcançadas na fase metanogênica com TDH de 4 dias, correspondendo a uma TCO de 21,3 kgDQO/m³.d. Aproximadamente 50 % de redução na porosidade do meio suporte foi observada devido ao acúmulo de biomassa e inorgânicos. Nenhuma inibição aparente da atividade metanogênica foi observada até mesmo com concentração de ácido propiônico de 59,1 % (2.134 mg/L) dos ácidos voláteis totais.

O desempenho de um filtro de contato anaeróbio em série com espuma de poliuretano como material suporte no tratamento de vinhaça de cana foi analisado por Vijayaraghavan et al. (2000). O efeito do TDH na eficiência de tratamento dos reatores I e II foram estimadas para diferentes concentrações iniciais de substratos variando de 1.500 mg/L a 19.000 mg/L. O efeito de parâmetros tóxicos tais como

sulfato presente na vinhaça e os parâmetros correspondentes tais como sulfeto total e sulfeto de hidrogênio não ionizado gerados durante a digestão da vinhaça não influenciaram na toxicidade do sistema. Os resultados mostraram que em TDH de 4 dias, a porcentagem total de redução de DQO variou de 98 % a 73 % para uma DQO afluyente de 1.500 mg/L a 19.000 mg/L. O desempenho total da porcentagem de redução de DQO no reator I e II para TDHs de 2, 3 e 4 dias foram investigados. Para TDH de 3 dias, o reator II apresentou maior redução de DQO comparado ao reator I, que claramente mostrou a função do TDH na degradação da matéria orgânica presente na vinhaça acima de uma concentração de DQO afluyente de 5.000 mg/L.d.

Ribas (2006) avaliou o uso do tratamento anaeróbio termofílico (55°C) e mesofílico (35°C) de vinhaça de cana-de-açúcar em um reator contendo biomassa imobilizada em espuma de poliuretano operado em bateladas seqüenciais (ASBBR). O reator foi inoculado com lodo granular de reator UASB tratando água residuária de abatedouro de aves. Para o tratamento termofílico, a adaptação ocorreu em 50 dias sendo alimentado com vinhaça variando de 0,3 a 1,0 gDQO/L. Após essa fase, as cargas orgânicas aplicadas variaram de 0,85 a 5,24 gDQO/L.d com eficiências de redução de 43 a 78 %. O tempo de ciclo variou nas fases de operação em função das diferentes concentrações de vinhaça. Por outro lado, no tratamento mesofílico, o enriquecimento do reator ocorreu com microrganismos metanogênicos através da alimentação, durante 21 dias, com um substrato composto por etanol (aproximadamente, 2,5 gDQO/L) e sais minerais. O reator foi submetido a cargas orgânicas que variaram de 2,85 a 36 gDQO/L.d alcançando eficiência média de redução de 75 a 85 %. Análises microbiológicas revelaram predomínio de arqueias metanogênicas do gênero *Methanosarcina* e bacilos fluorescentes para tratamento termofílico e células semelhantes às arqueias do gênero *Methanosaeta* na operação mesofílica.

A biodegradação da vinhaça de cana em um reator anaeróbio híbrido, escala de laboratório, combinando manta de lodo e filtro foi analisada por Kumar et al. (2007). O estudo demonstrou que em TDH ótimo de 5 dias e TCO de 8,7 kgDQO/m³.d, a eficiência de remoção de DQO do reator foi de 79 %.

Além dos trabalhos realizados com tratamento anaeróbio de cana nas mais diversas configurações de reatores, como relatado acima, outras pesquisas foram

realizadas utilizando vinhaça de diferentes origens, mas tendo destaque especial para a utilização do reator anaeróbio de leito fluidizado.

Nesse sentido, Balaguer et al. (1997) compararam o desempenho de três diferentes meio suporte (argila, pedra-pomes e areia com 0,5 mm de diâmetro médio em todos os casos), que é um dos principais fatores que afeta a eficiência do tratamento de efluentes em RALFs, em reatores anaeróbios idênticos de leito fluidizado tratando vinhaça de vinho à temperatura de 35°C, proveniente de destilaria de vinho. Os reatores de tubo de vidro possuíam volume total de 0,63 L sendo 0,50 m comprimento e 0,032 m diâmetro interno as dimensões da zona de fluidização com 50 % a expansão do leito. O método alcalinimétrico foi usado para o controle de qualquer instabilidade nos reatores, sendo que a razão alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial (AI/AP) permaneceu abaixo de 0.4 durante a operação, indicando estabilidade do processo. A partida de todos os três reatores foi conseguida com o aumento da carga orgânica de 0,47 kgDQO/m³.d a 5,16 kgDQO/m³.d, usando metanol como co-substrato inicial, resultando em eficiências de redução de DQO de, aproximadamente, 90 % nos três reatores. Após a estabilização em 66 dias, cada reator foi operado em cinco diferentes TDH, entre 2 e 0,5 dias, para cargas orgânicas entre 9 e 36 kgDQO/m³.d, respectivamente, com uma concentração de DQO afluente de 18 kg/m³, obtendo-se eficiências de redução de DQO similares nos 3 reatores (média de 80 %). Observou-se, também, que, para a carga orgânica de 24,32 kgDQO/m³.d e TDH de 0,74 dias, foi alcançada eficiência de redução de DQO de até 84 % em todos os três reatores, mas este valor não se manteve com uma carga orgânica de 36 kgDQO/m³.d e TDH de 0,5 dias. Entretanto, a redução de eficiência observada foi maior no reator contendo areia, concluindo-se que argila e pedra-pomes poderiam ser suportes sólidos melhores nos processos biológicos de leito fluidizado.

O desempenho de tecnologias termofílicas (55°C) anaeróbias de alta taxa, filtro anaeróbio e leito fluidizado, tratando vinhaça de vinho, usando Siran e tubos plásticos enrugados como meios suportes foi comparado por Pérez et al. (1998). De acordo com os autores, o reator de leito fluidizado (25 % de expansão do leito de Siran) foi alimentado com uma carga orgânica máxima de 32 kgDQO/m³.d, obtendo-se redução orgânica de 81,5 %, mas esta degradação foi máxima (92,50 %) no TDH de 0,59 dias para carga orgânica de 25,3 kgDQO/m³.d. Por outro lado, o leito fixo com Siran teve carregamento orgânico máximo de 23 kgDQO/m³.d com eficiência de

redução de DQO de 75 %, sendo a máxima eficiência alcançada de 83,56 % no TDH de 1,20 dias e carga orgânica de 12,52 kgDQO/m³.d enquanto que o leito fixo com tubos plásticos apresentou remoções de DQO variando entre 75,5 e 47,89 % para TDH entre 2,50 e 0,82 dias e carga orgânica aumentada gradualmente de 6,29 para 19,56 kgDQO/m³.d. A exposição à sobrecarga produziu queda de pH, resultando em baixa qualidade do efluente e lavagem da biomassa, e instabilidade para redução de DQO para os reatores com Siran e com tubos plásticos, respectivamente. Segundo os autores e observando as eficiências obtidas acima, independente do tipo de suporte, o reator de leito fluidizado mostrou-se mais eficaz que os reatores de leito fixo devido, fundamentalmente, a esta tecnologia favorecer o transporte de células microbianas do bulk para a superfície (reduzindo limitações pela transferência) e aumentando o contato do substrato com a biomassa microbiana.

Dando continuidade à pesquisa anterior, Pérez et al. (2001) descreveram a biodegradação anaeróbia termofílica (55°C) da vinhaça de vinho em um reator de leito fluidizado com meio suporte poroso (Siran de 1,5-2 mm de diâmetro). Segundo os autores, resultados laboratoriais confirmaram que a tecnologia de leito fluidizado anaeróbio forneceu boa redução de DQO e produção de metano nas razões alimento:microrganismo (F:M) adequadas a qual pôde ser usada como um parâmetro para avaliação do desempenho do tratamento do leito fluidizado anaeróbio. Remoções de DQO solúveis foram observadas com redução de 96,5 a 81,5 % para TDHs de 2,5 e 0,46 dias, respectivamente, com cargas orgânicas de 5,88 e 32,3 kgDQO/m³.d e conteúdo de metano do biogás produzido alcançado 1,08 e 9,0 m³/m³.d. O pH manteve-se entre 8,57 e 7,65, durante todo o processo estável, até ocorrer um sobrecarregamento orgânico (TDH de 0,37 dias) acarretando em uma rápida queda de pH para 5,5 que resultou em um efluente de qualidade inferior (baixa eficiência de redução de substrato, 33,5 %) e cessou a geração de biogás. As razões F:M, usadas como parâmetro de avaliação do reator, foram entre 0,14 e 0,76 gDQO/gSV_{ad}.d sendo que a porcentagem da redução de DQO reduziu linearmente com aumento da razão F:M, de 96,5 % para 81,5 % com 0,04 e 0,55 gDQO/gSV_{ad}.d, respectivamente.

Fdz-Polanco et al. (2001) utilizaram RALF, volume de 1,5 litros, operado a 33°C por um período de 90 dias, internamente preenchido com carvão ativado granular com partículas de diâmetro médio entre 0,42 e 0,85 mm. O inóculo utilizado foi lodo anaeróbio de um reator de contato de indústria de levedura e o substrato

vinhaça do mosto de melaço de açúcar de beterraba com vazão de 100 mL/d, carga orgânica de 1,7 gDQO/L.d com adição de diferentes doses de sulfato e amônio. Os autores obtiveram alta taxa de redução de DQO de 93 % e concentração média de 80 % (v/v) de metano no biogás. A produção específica de metano foi constante com valor de 360 mLCH₄/gDQO removida. O pH dentro do reator variou de 7,8 a 8,3 e o potencial oxi-redução entre -425 e -435 mV.

Fernández et al. (2001) desenvolveram dois experimentos com reatores anaeróbios de leite fluidizado usando como meio suporte carvão ativado e zeólitas naturais a fim de obter altas taxas de remoção de matéria orgânica e manter as concentrações de sulfeto e amônia em variações permissíveis. Os reatores foram operados durante 120 dias alcançando taxas de carregamento orgânico de 10 kgDQO/m³.d com redução de DQO acima de 70 % e uma produção de metano de 2 L/d. Ambos meios suportes usados no RALF mostraram bons resultados no tratamento da vinhaça de cana.

Damiano (2005) avaliou o desempenho de um reator anaeróbio de leite fluidizado na degradação da vinhaça de cana-de-açúcar, sob condições mesofílicas. Inicialmente, ensaios cinéticos batelada foram realizados, com vinhaças diluídas em diferentes concentrações, apresentando reduções de DQO, que variaram com o tempo de retenção hidráulico, de 67 a 81 % e a velocidade de reação ocorrida foi considerada como sendo de ordem zero, com valor médio da constante de reação de 10,4 mg/L.h. O reator anaeróbio, de 770 cm³ e operado com TDH de 24 horas, foi inoculado com lodo proveniente de água residuária de abatedouro de aves e preenchido com partículas de poliestireno, após testes com diferentes meios suportes (poliamida, poliestireno e nylon) que apresentaram boa adesão microbiana. O reator foi operado durante 122 dias, com valores de DQO, da vinhaça diluída, variando de 1.009 mg/L a 15.874 mg/L e TCO aplicada variando de 1,0 a 15,9 kg/m³.d, apresentando eficiências médias de redução de DQO de 51 % a 70 % para valores de TCO removidas de 0,5 a 7,9 kg/m³.d. O pH manteve-se estável, entre 6,5 e 8,5, durante todo experimento. Boa adesão microbiana nas partículas de poliestireno foi encontrada através das análises de microscopia eletrônica de varredura em todas as fases do reator.

Pesquisa mais recente foi realizada por Fernández et al. (2007) que estudaram a real evidência da zeólita como meio suporte em reatores anaeróbios de leite fluidizado tratando vinhaça de cana sob condições mesofílicas, isto é, reator 1

com diâmetro das partículas entre 0,25 e 0,50 mm e reator 2 com diâmetros entre 0,50 e 0,80 mm. Através de MEV, as excelentes características físicas das zeólitas, como suporte, foram observadas. A concentração da biomassa fixa ao suporte, em ambos os reatores, variou entre 40 a 45 gSVT/L. Eficiências de redução de DQO tão altas quanto 90 % foram alcançadas para TCOs de até 20 kgDQO/L.d. Os níveis de AVT foram sempre menores que os limites sugeridos para falência do digestor. O coeficiente de produção de metano foi de 0,29 LCH₄/gDQOconsumida e foi virtualmente independente da TCO aplicada. Descobriu-se, através da técnica de hibridização (hibridização fluorescente in situ, FISH), que *Methanosaeta* e *Methanosarcina* foram os microrganismos anaeróbios predominantes que colonizaram as zeólitas, observando um número reduzido de bactérias redutoras de sulfato. Os resultados obtidos para ambos os reatores foram muito similares, mostrando que o tamanho da partícula não influencia significativamente a comunidade microbiana imobilizada na zeólita.

Após a revisão da literatura, as características principais dos estudos mais significativos sobre o tratamento anaeróbio da vinhaça de diversas origens e em diferentes configurações de reatores, citados acima, foram resumidas na Tabela 2.8.

2.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da revisão da literatura comprovou-se que devido às normas ambientais cada vez mais rígidas em relação à vinhaça está havendo a necessidade de tratamento desse resíduo, principalmente devido seu uso na fertirrigação, dentre os quais, o anaeróbio vem se destacando principalmente pela produção do biogás.

Dentre os reatores utilizados para o tratamento anaeróbio, o UASB vem dominando as pesquisas no tratamento anaeróbio da vinhaça, mas vários outros tipos de reatores têm se destacado, entre eles, o RALF, apesar da maioria dos trabalhos utilizando-o terem ocorrido fora do Brasil, com exceção de Damiano (2005).

Devido às características favoráveis do RALF como, por exemplo, melhor contato entre substrato e microrganismos, aceitação de altas taxas de carregamento orgânico e melhor resistência a presença de inibidores, juntamente com os bons

resultados obtidos nas pesquisas, optou-se pelo desafio da aplicação do tratamento anaeróbio mesofílico da vinhaça de cana-de-açúcar, com biomassa imobilizada em partículas de poliestireno, sob influência da taxa de carregamento orgânico.

É importante destacar, também, que a maioria das pesquisas sobre o tratamento anaeróbio da vinhaça ocorreu sob condição termofílica, sendo poucos os resultados em condições mesofílicas, sendo que alguns trabalhos apresentaram melhores resultados para o processo termofílico e outros não.

Tabela 2.8 – Resumo dos estudos mais significativos relacionados ao tratamento anaeróbio de vinhaça de diversas origens.

Referências	Tipo de reator	Origem da vinhaça	T (°C)	TCO (kg/m ³ .d)	TDH (h)	DQO (mg/L)	Eficiência de redução de DQO (%)
Souza et al. (1992)	UASB	Cana	55	2,5 - 30	48	-	62 - 72
Seth et al. (1995)	Leito fixo	Cana	24 – 33	33,97 – 2,78	48 – 600	66,06 – 72,79	61 – 75,74
Harada et al. (1996)	UASB	Cana	55	2,4 – 24	100,8 - 10,08	10.000	39 – 67
Goyal et al. (1996)	Leito fixo difásico	Cana	30	2,75 – 21,29	25 - 4	68.660 – 85.140	84,50 – 67,11
Balaguer et al. (1997)	RALF	Vinícola	35	9 – 36	12 – 48	18.000	93,3 – 94,1
Pérez et al. (1998) ¹	Filtro anaeróbio e RALF	Vinícola	55	11,04 - 60	5,9 – 32,31	-	81,5 – 97
Vijayaraghavan et al. (2000)	Filtro anaeróbio de contato em série	Cana	-	-	48 – 96	1.500 – 19.000	22 - 98
Pérez et al. (2001)	RALF	Vinícola	55	11,04 - 60	5,9 – 32,31	-	81,5 – 95,5
Fdz-Polanco et al. (2001)	RALF com GAC	Beterraba	33	5,3	72	1.700	87
Fernández et al. (2001)	RALF	Cana	30	1 - 10	11	33.000 – 66.000	50 - 90
Jiménez et al. (2003) ²	CSTR	Beterraba (natural)	35	1,5 – 7,5	254,40 – 1.279,20	-	93,7 – 68,6
		Beterraba (pré tratada)			369,60 – 74,40		82,6 – 63,5
Damiano (2005)	RALF	Cana	30	1,1 - 18	24	1.009 – 15.874	51 – 70
Viana (2006)	UASB	Cana	55	0,3 – 6,5	24	1.500 – 6.000	54 - 83
Ribas (2006) ³	ASBBR	Cana	35	2,85 - 36	-	2.790 – 35.940	75 - 85
Kumar et al. (2007)	Híbrido (UASB e filtro)	Cana	-	4,53 – 11,13	192 – 96	35.000 – 45.000	60 – 79
Fernández et al. (2007)	RALF	Cana	30	2 - 20	11	-	65 - 90

¹Dados referentes a variação entre os três tipos de reatores operados (reator no início da fluidização, com 25 % de expansão do leito e filtro anaeróbio).

²Apenas dados do tratamento anaeróbio. ³Dados relacionados apenas ao tratamento anaeróbio mesofílico.

CAPÍTULO 3

3. MATERIAIS E MÉTODOS

As metodologias empregadas nas análises no decorrer da pesquisa, assim como a configuração do reator anaeróbio de leito fluidizado utilizado estão descritas a seguir.

3.1. INÓCULO

A inoculação do reator foi feita com lodo biológico oriundo de reator UASB, o qual tratava água residuária de abatedouro de aves (Dacar Industrial S/A, sediada em Tietê/SP). Devido à presença de grânulos, o lodo foi triturado em liquidificador para obtenção de um inóculo mais homogêneo.

3.2. ÁGUA RESIDUÁRIA

Vinhaça “in natura” de mosto misto proveniente da Usina da Serra, localizada na cidade de Ibaté, SP (DQO de, aproximadamente, 40.000 mg/L), coletada nos canais de saída da Usina (Figura 3.1), foi utilizada na alimentação do reator. Devido à necessidade de uso de grandes volumes dessa para a realização dos ensaios e a dificuldade em sua obtenção no período de entre safra, seu armazenamento foi feito em freezer (- 5°C).

A vinhaça foi dividida em 3 lotes de acordo com sua coleta, ou seja, junho e novembro de 2006 e junho de 2007.



Figura 3.1 – Local onde foi coletada a vinhaça utilizada nos experimentos. Fonte: Ribas (2006)

A vinhaça “in natura” foi diluída com água de abastecimento, para sua utilização como afluente do reator, até atingir o valor da DQO desejada e suplementada da seguinte maneira:

- Fases I e II (2.273 e 4.891 mg/L, respectivamente): inicialmente, tentou-se tratar a vinhaça sem a adição de nutrientes apenas tamponando o sistema com hidróxido de amônio (NH_4OH) até pH 7 e bicarbonato de sódio (NaHCO_3), sendo, este, na proporção de 1g de NaHCO_3 para 1 g/L de DQO.
- Nas Fases III, IV, V e VI, devido ao uso de lotes diferentes de vinhaça, com características variáveis, e aumento nos ácidos voláteis totais (AVT) foi adicionado fosfato de sódio monobásico anidro (NaH_2PO_4), uréia e NaHCO_3 à alimentação, na proporção DQO:N:P de 100:5:1. A quantidade de NaHCO_3 , assim como nas Fases I e II, foi adicionada na proporção de 1g de NaHCO_3 para 1 g/L de DQO, mas houve variações de 50 a 30 % desse valor dependendo dos valores de ácidos voláteis totais e alcalinidade a bicarbonato obtidos.

A água residuária utilizada na alimentação do reator foi preparada e armazenada em barrilete de 20 L, preparada diariamente a partir da Fase III e a cada dois dias nas Fases I e II. Dois balões de látex, preenchidos com nitrogênio

(100 %), foram acoplados ao recipiente de alimentação para garantir anaerobiose no reator.

3.3. SUPORTE DE IMOBILIZAÇÃO DA BIOMASSA ANAERÓBIA

No reator de leito fluidizado, como suporte de imobilização da biomassa, foram utilizadas partículas de poliestireno (Figura 3.2) cujas características dimensão (Φ), densidade (ρ) e velocidade de mínima fluidização (V_{mf}) estão apresentadas na Tabela 3.1.



Figura 3.2 – Partículas de poliestireno.

Tabela 3.1 – Características do meio suporte utilizado como dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidização.

Partícula	Φ (mm)*	ρ (g/cm ³)	V_{mf} (cm/s)
poliestireno	2,2 x 2,2	1,05	0,74

Fonte: Martinelli (2003)

* partículas de formato cilíndrico, comprimento versus diâmetro.

As partículas de poliestireno foram tratadas segundo o método utilizado por Tavares (1992). Primeiramente foram mergulhas em solução sulfocrômica por 40 minutos, em seguida lavadas com água, secas e mergulhadas em ácido nítrico concentrado por 50 minutos. Posteriormente, foram lavadas novamente e secas em estufa a 40°C. No entanto, este procedimento foi aplicado quatro vezes para as partículas de poliestireno, de forma idêntica ao procedimento usado por Sancinetti (2004), que observou em microscopia ótica e de varredura o aumento gradativo da presença de rugosidade nestas partículas. Por fim, foram adicionadas ao reator para que ocorresse a imobilização da biomassa anaeróbia ocupando, aproximadamente, 70 % do volume total como inóculo imobilizado.

3.4. REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIZADO

O reator utilizado no experimento foi construído em acrílico transparente de 5 mm de espessura e apresenta as seguintes dimensões: 190 cm de altura e 5,3 cm de diâmetro interno. O volume total do reator era de 4,2 L. Os amostradores intermediários ao longo do comprimento do reator foram colocados a 20 cm, 40 cm, 70 cm, 110 cm e 160 cm da base do reator. A temperatura foi mantida em $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por meio de encamisamento do reator em banho ultratermostatizado Marconi modelo 184.

A Figura 3.3 mostra o esquema da instalação piloto do reator anaeróbio de leito fluidizado que foi utilizada para o estudo da degradação anaeróbia da vinhaça, apresentando todos os componentes utilizados durante a operação do sistema em circuito aberto (após período de adaptação).

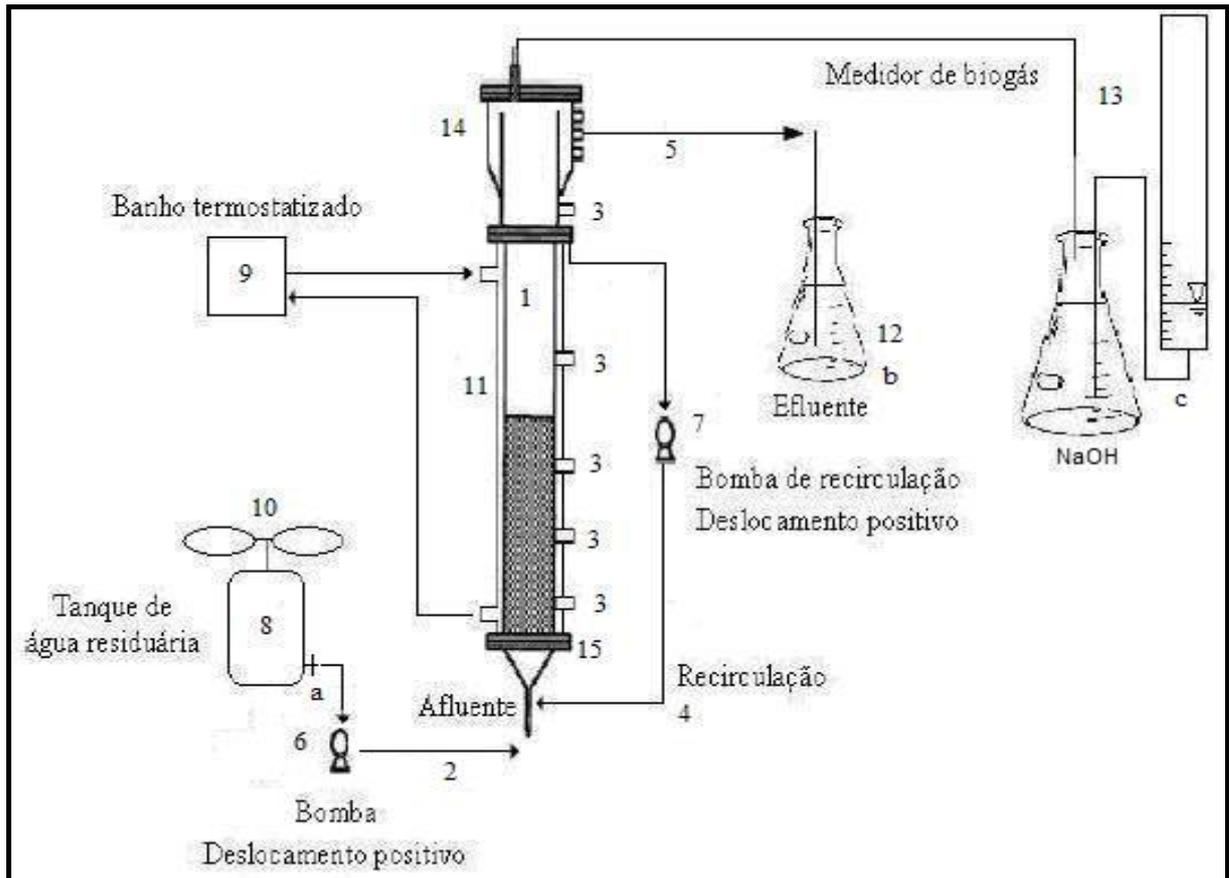


Figura 3.3 – Esquema da instalação piloto: (1) RALF, (2) entrada do afluente, (3) amostradores, (4) recirculação, (5) saída do efluente, (6) bomba de alimentação, (7) bomba de recirculação, (8) reservatório de alimentação, (9) banho termostatizado, (10) balões de ar com nitrogênio, (11) encamisamento para o banho, (12) reservatório do efluente, (13) medidor de biogás, (14) câmara de captação de gás, (15) distribuidor da alimentação e pontos de coleta: (a) afluente, (b) efluente e (c) mangueira para coleta de metano.

A bomba de alimentação (6) utilizada foi a DOSITEC, modelo DLX MA/A, cuja vazão e pressão máxima foram de 1 L/h e 15 bar, respectivamente, e bomba de recirculação (7) utilizada foi a ECOSAN-Bomba dosadora, cuja vazão varia de 10 a 200 L/h e pressão de 6 bar. O biogás produzido e armazenado no *headspace* do reator foi medido por deslocamento de líquido (solução de NaOH para reter o CO₂) em dispositivo externo e coletado em recipiente graduado (13).

As Figuras 3.4, 3.5 e 3.6 apresentam o RALF utilizado durante a parte experimental, o detalhamento do topo do reator e o dispositivo usado para medir produção de biogás.



Figura 3.4 – Reator anaeróbio de leito fluidizado.



Figura 3.5 – Topo do reator (biogás armazenado no *headspace* e mangueira de saída do efluente).



Figura 3.6 – Dispositivo utilizado para medir a produção de biogás.

3.5. ADAPTAÇÃO DO INÓCULO À VINHAÇA E PARTIDA DO REATOR

Inicialmente, ajustou-se a vazão de recirculação necessária para que o reator atingisse as condições de fluidização. Esta foi calculada com um acréscimo de 30 % no valor da velocidade de mínima fluidização (Tabela 3.1) obtida por Martinelli (2003) para partículas de poliestireno encontrando, portanto, um valor de 0,962 cm/s. Em seguida, com as bombas desligadas, o reator foi preenchido com partículas de poliestireno até uma altura de 81 cm, correspondendo a uma massa de 1.000 g de partículas, ou seja, quantidade esta para que o meio suporte, ao fluidizar, atingisse altura superior a metade da altura útil do reator.

A Tabela 3.2 mostra os parâmetros utilizados no reator anaeróbio de leito fluidizado durante o período de adaptação.

Tabela 3.2 – Parâmetros utilizados no RALF durante o período de adaptação.

Partícula	Q _r (L/h)	M (g)	H ₀ (cm)	H _f (cm)	C _f (mg/L)
Poliestireno	76	1.000	81	135	5.000

onde: Q_r: vazão de recirculação;

M: massa de partícula usada no reator;

H₀: altura correspondente a massa de partículas em leito fixo;

H_f: altura correspondente a massa de partículas em leito fluidizado;

C_f: concentração de vinhaça durante adaptação.

Ajustadas as condições fluidodinâmicas do reator e, após acoplar o barrilete contendo 15 L de inóculo tamponado com bicarbonato de sódio (10 % correspondendo ao lodo de aves e o restante vinhaça diluída a valor de DQO de 5.000 mg/L), acionou-se a bomba dosadora deixando o sistema permanecer em recirculação, com uma vazão de recirculação de 76 L/h (considerada boa para a fluidização do leito), por 14 dias para adaptação da biomassa ao substrato. A altura de fluidização atingida foi de 135 cm. Foi adicionado nitrogênio no *headspace* do barrilete e mantido em recirculação no reator através de uma bomba de

deslocamento positivo e a temperatura de 30°C controlada através de banho termostático.

Assim como Damiano (2005), adotou-se o sistema de recirculação entre o barrilete e o reator com o objetivo de adaptar o lodo no próprio reator, objetivando realizar uma partida mais rápida.

Durante esse período, analisou-se o consumo de substrato pelos microrganismos através da análise de DQO visando obter a concentração de vinhaça e à medida que a vinhaça era degradada, adicionava-se solução para atingir concentração correspondente a 5.000 mg/L no barrilete de alimentação.

Após a adaptação, retirou-se o barrilete contendo o inóculo e acoplou-se a mangueira de alimentação ao barrilete de alimentação, passando o sistema a operar em circuito contínuo com TDH e vazão de alimentação constantes de 24 horas (utilizado por Damiano (2005)) e 176 mL/h, respectivamente, iniciando a primeira fase de operação do RALF. Esta apresentou concentração média de vinhaça menor que a utilizada durante a adaptação, isto é, 2.273 mg/L visando uma primeira fase de operação do reator bem estável.

A operação do reator ocorreu durante 255 dias e foi dividida em seis fases. As mudanças de fases ocorreram em função das concentrações de vinhaça aplicada e, principalmente, após atingir estabilidade nos resultados de eficiências de redução de DQO (Tabela 3.3).

Tabela 3.3 – Características das fases de operação do RALF.

Fases	Concentração média de vinhaça (mg/L)	Duração (dias)
I	2.273 ± 163	73
II	4.891 ± 499	62
III	8.192 ± 772	25
IV	10.353 ± 704	25
V	15.244 ± 1308	16
VI	20.073 ± 1532	54

3.6. ANÁLISES REALIZADAS

As análises físico-químicas foram efetuadas periodicamente (Tabela 3.4). Para a análise da demanda química de oxigênio, as amostras foram filtradas em membrana 0,45 μm . As análises de pH, DQO, sólidos totais (ST), sólidos voláteis totais (SVT), sólidos fixos totais (SFT), sólidos suspensos voláteis (SSV), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e fosfato foram realizadas de acordo com o APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995).

As análises de ácidos voláteis totais foram realizadas de acordo com metodologia proposta por Dillalo e Albertson (1961) e a determinação de alcalinidade a bicarbonato feita conforme metodologia modificada por Ripley et al. (1986).

O teor de nitrogênio total Kjeldahl foi determinado por digestão sulfúrica de acordo com Glória & Orlando Filho (1976). As análises de cálcio total (Ca_{Total}), magnésio total (Mg_{Total}) e potássio total foram realizadas em extrato nitro-perclórico por absorção atômica (GONÇALVES, 2000).

Tabela 3.4 – Freqüência da realização das análises para o afluente e o efluente em todas as fases de operação.

Análises	Freqüência
pH	Diária
DQO	3x semana
AVT	3x semana
AB	3x semana
Vazão	Diária
ST, SVT e SFT	2x semana
SST, SSV e SSF	1x semana
Fosfato	1x semana
Ca_{Total} , Mg_{Total} , N_{Total} Kjeldahl e K_{Total}	1x semana

3.6.1. Determinação de ácidos orgânicos voláteis por cromatografia

As determinações dos ácidos orgânicos voláteis (AOV) foram feitas por cromatografia gasosa de acordo com a metodologia proposta por Moraes et al. (2000). Foi utilizado cromatógrafo modelo GC-17A da marca Shimadzu com detector de ionização de chama (FID) e coluna NST 150 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio (H₂) com fluxo de 2,0 mL/min com temperatura de injeção de 250°C. A temperatura do forno foi ajustada para 100°C por 3 min. Observou-se uma rampa de elevação de temperatura de 5°C/min até 180°C que foi mantida por 5 min. Em seguida foi aplicado um “post-run” de 200°C durante 3 minutos. O fluxo de nitrogênio (gás auxiliar, “make up”) foi de 35 mL/min e fluxo de hidrogênio de 30 mL/min. O volume de injeção foi de 1,0 µL.

Para evitar a danificação das colunas cromatográficas, foi realizada extração dos ácidos das amostras com éter etílico, previamente purificado por destilação. Na extração, a 4,0 mL de amostra foram adicionados 1,0 g de NaCl, 100 µL de solução de H₂SO₄ (2M), 100 µL de solução de ácido crotônico 700 mg/L e 0,6 mL de éter etílico. A mistura dessas soluções foi agitada no vórtex por 1 min, centrifugada a 3.000 rpm por 1 min e finalmente injetados no cromatógrafo 1,0 µL da fase orgânica.

3.6.2. Caracterização microbiológica do biofilme anaeróbio

A morfologia dos microrganismos e a análise estrutural do biofilme foram avaliadas através de microscopia eletrônica de varredura cuja metodologia de preparação do material suporte foi adaptada da proposta de Araújo (1995).

O microscópio eletrônico utilizado foi o ZEISS DSM 960 do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo.

3.6.3. Exames microbiológicos

Foram realizados exames microscópicos das amostras do reator para as fases de operação, através de luz comum, contraste de fase e fluorescência em microscópio Olympus BX60-FLA. As imagens foram captadas através da câmera Optronics e software Image Pro-Plus versão 3.0.1, sendo possível observar microrganismos presentes nas amostras.

3.6.4. Determinação da concentração de metano

A concentração de metano existente no biogás foi determinada por cromatografia gasosa utilizando cromatógrafo modelo GC-17A da marca Shimadzu com detector de ionização de chama (FID) e coluna GC (30 m x 0,32 mm x 0,25 μ m). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio com fluxo de 2,0 mL/min com temperatura de injeção de 90°C. A temperatura do forno foi ajustada para 250°C e a do detector para 370°C.

Por outro lado, a produção teórica de metano foi determinada de acordo com Souza (1986) para temperatura de 25°C e pressão de 1 atm.

3.6.5. Avaliação da atividade metanogênica específica

Esta análise teve por finalidade avaliar o potencial da biomassa, aderida às partículas de poliestireno, que foi utilizada durante toda a operação do reator e retirada após o término da Fase VI, quanto à conversão de substrato (fonte de carbono na forma de acetato de sódio 20mM e concentrações de vinhaça de 5.000 mg/L, 10.000 mg/L, 20.000 mg/L e “in natura”) em CH₄. Os ensaios constituíram na determinação, por cromatografia gasosa, da concentração de CH₄ presente no biogás produzido no *headspace* (volume de 166,67 mL) dos reatores de 500 mL.

Cada frasco foi composto por 2/3 de fase líquida sendo que 1/3 desta fase foi ocupado pelo meio suporte.

Para o frasco contendo acetato de sódio 20 mM, foi utilizado meio de cultura composto por meio basal Zinder, tendo acetato como fonte de carbono (ZINDER et al., 1984) e suplementado com metais traços, vitaminas (TOUZEL & ALBAGNAC, 1983; DUBOURGUIER, 1987) e bicarbonato de sódio para correção do pH. O protocolo de preparo das soluções está detalhadamente descrito em Vich (2006) e Steil (2001). Por outro lado, os frascos contendo vinhaça, com diferentes valores de DQO, foram preparados igualmente ao preparo da alimentação do reator incluindo a suplementação com uréia e NaHCO₃ nas devidas proporções. Em seguida, fluxionou-se N₂ nos frascos durante 5 minutos e, em seguida, foram tampados e incubados em shaker a 30 °C e 150 rpm.

Os valores das áreas de CH₄, obtidas através da cromatografia gasosa, foram convertidos, por meio da equação de reta padrão, a μmols de CH₄, nas CNTP. Os valores de CH₄ obtidos para 0,5 mL (volume retirado para a amostragem) foram convertidos para o *headspace* de cada frasco, a partir da Equação 1:

$$n^{\circ} \text{ de mols de CH}_4 \text{ no headspace } (\mu\text{mol}) = \frac{[\text{CH}_4] \text{ na amostra } (\mu\text{mol}) \times \text{Volume do headspace (mL)}}{\text{Volume injetado da amostra (mL)}} \quad (1)$$

Ao verificar estabilização na produção do biogás, encerrou-se o teste de atividade metanogênica e calculou-se os sólidos voláteis totais para cada frasco.

A metodologia utilizada para o cálculo da atividade metanogênica está descrita em Vich (2006), em que foram usados os dados de concentração de CH₄ e SVT da biomassa.

Usando o *software* ORIGIN[®] 6.0, traçou-se uma curva com os valores do CH₄ no “*headspace*” (μmol) em função do tempo. Estes valores foram ajustados sigmoidalmente. O ponto de maior velocidade de produção de metano foi determinado. Dividindo-se esta velocidade máxima de formação de CH₄ pela concentração de biomassa (sólidos voláteis totais) de cada reator obteve-se a AME.

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos na caracterização da vinhaça de cana-de-açúcar, na etapa de adaptação do inóculo ao substrato, no monitoramento do desempenho do reator anaeróbio de leito fluidizado submetido ao aumento progressivo da taxa de carregamento orgânico, na caracterização de algumas amostras de afluente e efluente quanto à presença de cálcio, magnésio, nitrogênio, potássio e fósforo e, finalmente, após a operação do RALF, os testes de atividade metanogênica específica.

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPONENTES DOS LOTES DE VINHAÇA UTILIZADOS

Durante a pesquisa, três diferentes lotes de vinhaça foram utilizados, ou seja, o primeiro coletado em junho 2006, o segundo em novembro de 2006 e o terceiro em junho de 2007, acarretando em instabilidades no sistema devido à diversidade nas características da vinhaça, pois sua composição varia de acordo com o solo, método de colheita, fatores sazonais, processo de produção utilizado na fabricação do etanol, variedades de cana-de-açúcar processadas em uma mesma dorna de fermentação, entre outros.

A Tabela 4.1 apresenta os parâmetros físico-químicos analisados para caracterizar os lotes de vinhaça coletados.

Tabela 4.1 – Valores médios dos principais parâmetros caracterizados dos três lotes de vinhaça utilizados no tratamento anaeróbio.

	Junho/2006	Novembro/2006	Junho/2007
pH	4,4	4,3	4,6
* AT (mgCaCO ₃ /L)	295	-	775
AVT (mgHAc/L)	4.436	5.882	4.697
DQO (g/L)	36	39	49
ST (g/L)	32	27	31
SVT (g/L)	22	19	22
SFT (g/L)	10	8	9
N _{Total} Kjeldahl (mg/L)	1.603	570	762
P _{Total} (mg/L)	111	35	64
Ca _{Total} (mg/L)	741	1.502	1.304
Mg _{Total} (mg/L)	354	428	543
K _{Total} (mg/L)	3.147	2.334	2.827
** SO ₄ ⁻² (mg/L)	2.300	2.700	2.900

* AT: Alcalinidade Total

** SO₄⁻²: íons sulfato

Ao comparar os lotes coletados, nota-se que a variação das características do substrato utilizado na pesquisa foi significativa, principalmente para o lote 2 no que se refere a alcalinidade total, P_{Total}, N_{Total} Kjeldahl e Ca_{Total}.

Sabe-se que a vinhaça proveniente do processamento da cana-de-açúcar é um resíduo orgânico em que, aproximadamente, 70 % dos sólidos totais são substâncias voláteis. Isto pode ser comprovado através dos valores obtidos de sólidos para cada lote coletado.

Ribas (2006) realizou a caracterização de três lotes de vinhaça coletados em diferentes épocas, na mesma usina que o trabalho atual, e observou variações significativas quando comparados entre si, principalmente alcalinidade total, acidez volátil total, nitrogênio, potássio e cor. Quando comparados com as características dos lotes de vinhaça utilizados na pesquisa atual, alguns parâmetros apresentaram valores semelhantes, por exemplo, o pH, os ácidos voláteis totais, fosfato e a alcalinidade a bicarbonato, apesar do lote 2 (Tabela 4.1) não apresentar alcalinidade

total. Por outro lado, há discordância nos valores de DQO e sulfato. As concentrações de DQO, obtidas pela autora, apresentaram valores maiores, isto é, variou de 42 a 59 g/L. O contrário foi notado para valores de sulfato, onde obteve-se valores entre 1.645 e 1.920 mg/L quando comparados a faixa de 2.300 a 2.900 mg/L para a pesquisa atual. Ao comparar um mesmo lote de vinhaça da autora com a pesquisa atual, observa-se concordância em alguns parâmetros e discrepância em outros. Isto ocorreu com o nitrogênio e o potássio, de lotes diferentes, os quais possuíam valores elevados, mas outros parâmetros semelhantes.

Semelhanças com a pesquisa atual também foram encontradas nas caracterizações feitas por Rosseto et al. (1978), Rodella et al. (1980), Bolsanello & Vieira (1980), Vasconcelos & Oliveira (1981), Medeiros (1981) *apud* Bichara (1988) para vinhaças de mosto misto, apesar de serem vinhaças provenientes de diferentes anos, caracterizadas por diferentes autores, de safras diferentes e geradas de aparelhos destilatórios diferentes. Observou-se que dentre os macronutrientes, o potássio apareceu em maior quantidade, com teores razoáveis de cálcio e sulfato e pobre em nitrogênio, fósforo e magnésio.

Observa-se, portanto, a variabilidade da composição da vinhaça de acordo com o lote coletado e, portanto, dificuldade em manter um padrão de suplementação para seu tratamento.

Inicialmente, optou-se pelo tratamento da vinhaça sem a adição de suplementos, apenas correção com alcalinizantes, mas após o término do lote 1 e início do lote 2, com algumas características diferentes ao anterior, houve a necessidade de adição de nutrientes.

Apesar de alguns autores apresentarem relações DQO:N:P como sendo boas para desenvolvimento de microrganismos anaeróbios, muitas vezes estas não se enquadram aos valores das relações obtidas na pesquisa. Isto ocorreu com Ribas (2006) que encontrou relações DQO:N:P de 945:11:1, 1341:136:1 e 567:10:1 cujos valores ultrapassaram o citado por Speece (1996), isto é, 500:5:1, conduzindo a autora a dispensar a adição de carbono e nitrogênio aos lotes de vinhaça.

Ao contrário da autora que não utilizou nutrientes, na pesquisa atual, apesar das relações DQO:N:P encontradas também apresentarem valores superiores ao de Speece (1996), ou seja, 324:14:1, 1114:16:1 e 766:12:1 correspondendo aos lotes 1, 2 e 3 de vinhaça, respectivamente, uréia e NaH_2PO_4 foram utilizados como suplementos, a partir da Fase III, para que houvesse rápida recuperação do sistema

devido ao acúmulo de ácidos voláteis totais no início desta fase, optando, assim, por usar a relação DQO:N:P 100:5:1 utilizada por Shivayogimath et al. (1999).

4.2. ADAPTAÇÃO DA BIOMASSA AO SUBSTRATO

Após inoculação do reator, com lodo biológico granulado (triturado em liquidificador para quebra dos grânulos) cujas características principais encontram-se na Tabela 4.2, seguiu-se a fase de adaptação da biomassa anaeróbia à vinhaça, com concentração de 5.000 mg/L, onde o reator operou em modo batelada durante 14 dias. Essa estratégia de adaptação foi utilizada por Damiano (2005) no tratamento anaeróbio da vinhaça de cana, em RALF, cujo tempo de adaptação foi de 13 dias.

Tabela 4.2 – Valor médio e respectivo desvio padrão de algumas características principais do inóculo utilizado.

	Concentração média e desvio padrão (g/L lodo)
Sólidos Totais	45,84 ± 0,24
Sólidos Voláteis Totais	37,29 ± 0,66
Sólidos Fixos Totais	8,55 ± 0,90

Operando reatores UASB, Souza et. al. (1992) e Viana (2006) levaram 50 e 55 dias para adaptação da biomassa ao substrato, respectivamente. Na pesquisa dos primeiros autores, foi utilizada uma mistura de lodo de esgoto de digestão mesofílica e estrume de vaca como inóculo. Assim, mesmo aplicando uma taxa de carregamento orgânico muito baixa (0,2 a 1,0 kg/m³.d), no começo do experimento, foram necessários 50 dias para o reator alcançar uma condição operacional regular, isto é, promover a adaptação da cultura termofílica presente no inóculo às novas condições. No segundo trabalho, o autor utilizou para a inoculação lodo biológico mesofílico proveniente de reator UASB tratando água residuária de abatedouro de

aves. Após falha na primeira tentativa de partida do sistema (adaptação do lodo) devido à flotação do lodo, optou-se por utilizar taxas de carregamento orgânico menores (média de 0,73 kg/m³.d) e TDH médio de 2,14 dias levando 55 dias para adaptar às novas condições de operação.

Sabe-se que esse é um processo lento e que o contato inóculo/substrato deve ocorrer, inicialmente, a baixas concentrações de substrato com aumento gradativo devido à presença de substâncias tóxicas/recalcitrantes. Outra característica importante da fase de adaptação é possibilitar a aderência da comunidade microbiana ao meio suporte.

Nesta fase, foram feitas análises diárias de pH e DQO para verificar o consumo de vinhaça pela biomassa.

A Tabela 4.3 apresenta o consumo do substrato pelos microrganismos e a variação do pH durante os 14 dias de adaptação.

Para a adaptação dos microrganismos ao substrato, foi utilizada solução de vinhaça diluída até a concentração de 5.000 mg/L e NaHCO₃. A mesma foi necessária no oitavo dia de operação para a realimentação do sistema, isto é, quando a concentração de vinhaça apresentou-se constante, ou seja, não degradava mais.

Tabela 4.3 – Resultados obtidos durante a fase de adaptação no RALF em circuito fechado.

Tempo (dias)	Concentração vinhaça (mg/L)	pH
0	5.056	8,0
1	3.658	6,7
2	3.437	6,7
3	3.401	7,5
5	2.959	7,6
6	2.665	7,6
7	2.444	7,7
8	2.371	7,7
8*	4.835	8,0
9	3.879	7,7
11	3.143	8,0
12	3.106	7,8
13	3.253	8,1
14	3.143	8,1

* Realimentação barrilete.

A Figura 4.1 apresenta a degradação da vinhaça durante a etapa de adaptação do inóculo à água residuária.

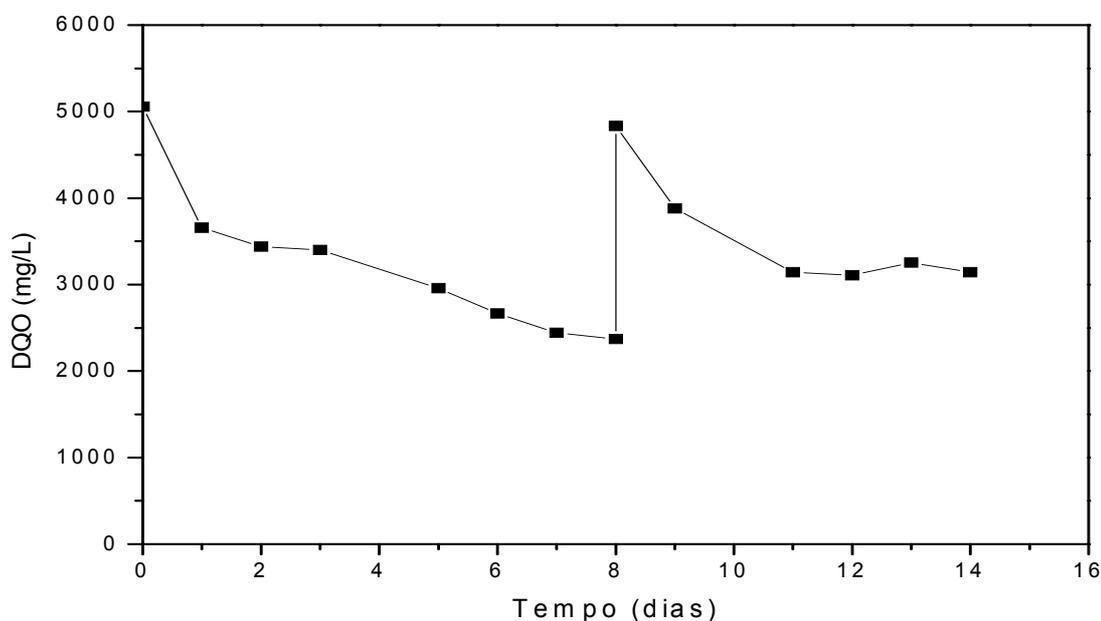


Figura 4.1 – Consumo de vinhaça pelos microrganismos durante o período de adaptação.

Observa-se, na Figura 4.1, que logo no primeiro dia de adaptação 28 % da matéria orgânica foi degradada, isto é, reduzindo de 5.056 mg/L a 3.659 mg/L. Do segundo ao sexto dia de adaptação, a degradação ocorreu gradualmente. No sétimo dia, 50 % da vinhaça adicionada inicialmente havia sido degradada. No oitavo dia, então, verificou-se pouca degradação comparada ao dia anterior e decidiu-se adicionar vinhaça com concentração próxima a inicial, isto é, 4.835 mg/L. A partir do décimo primeiro dia, o consumo passou a ser, praticamente constante de 1,17 %, aproximadamente. Verificou-se que a concentração encontrada no décimo quarto dia (3.143 mg/L) foi a mesma do décimo primeiro optando-se, assim, pela realização da análise morfológica através da microscopia ótica (item 4.2.1) onde comprovou-se a presença de arqueas metanogênicas no biofilme formado permitindo a abertura do sistema.

A Figura 4.2 permite melhor visualização do monitoramento do pH durante a adaptação. Nota-se que em 24 horas houve queda no valor do pH de 8 a 6,75 devido ao pouco tempo de adaptação do inóculo ao consumo de vinhaça. No segundo dia, ocorreu aumento do pH de 6,5 para 7,5 indicando geração de alcalinidade e este permaneceu praticamente constante em torno de 7,8 até o final desse período.

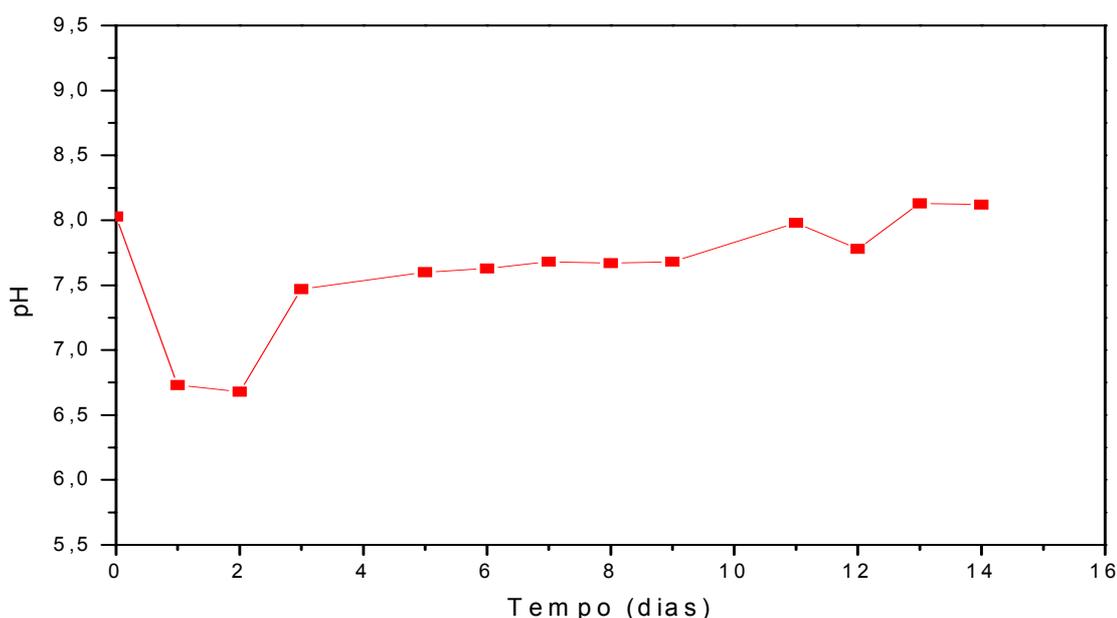


Figura 4.2 – Monitoramento do pH durante a adaptação.

4.2.1. Aspectos morfológicos presentes na biomassa adaptada à vinhaça

Ao final da adaptação e início da operação contínua do reator, foram coletadas partículas de poliestireno para análise das morfologias presentes no sistema.

A Figura 4.3 apresenta as morfologias observadas através de microscopia ótica (contraste de fase). Foram visualizadas morfologias semelhantes à *Methanosarcina sp*, diversidade de bacilos, cocos e morfologias semelhantes à *Methanosaeta sp*.

As morfologias foram semelhantes às observadas por Damiano (2005) e Ribas (2006) que trataram vinhaça de cana-de-açúcar e cujos reatores foram inoculados com lodo granular de reator UASB tratando água residuária de

abatedouro de aves (Dacar Industrial S/A, em Tietê/SP), ou seja, mesma fonte de lodo da pesquisa atual. As morfologias encontradas por ambas as autoras no lodo anaeróbio, foram vasta diversidade de microrganismos como bacilos de diversas formas (bastões, curvos e delgados, cocóides, etc), cocos agrupados, filamentos longos e delgados semelhantes a células de arqueias *Methanosaeta* e morfologias semelhantes a células de *Methanosarcina*, estando de acordo com as morfologias encontradas na pesquisa atual após período de adaptação (Figura 4.3).

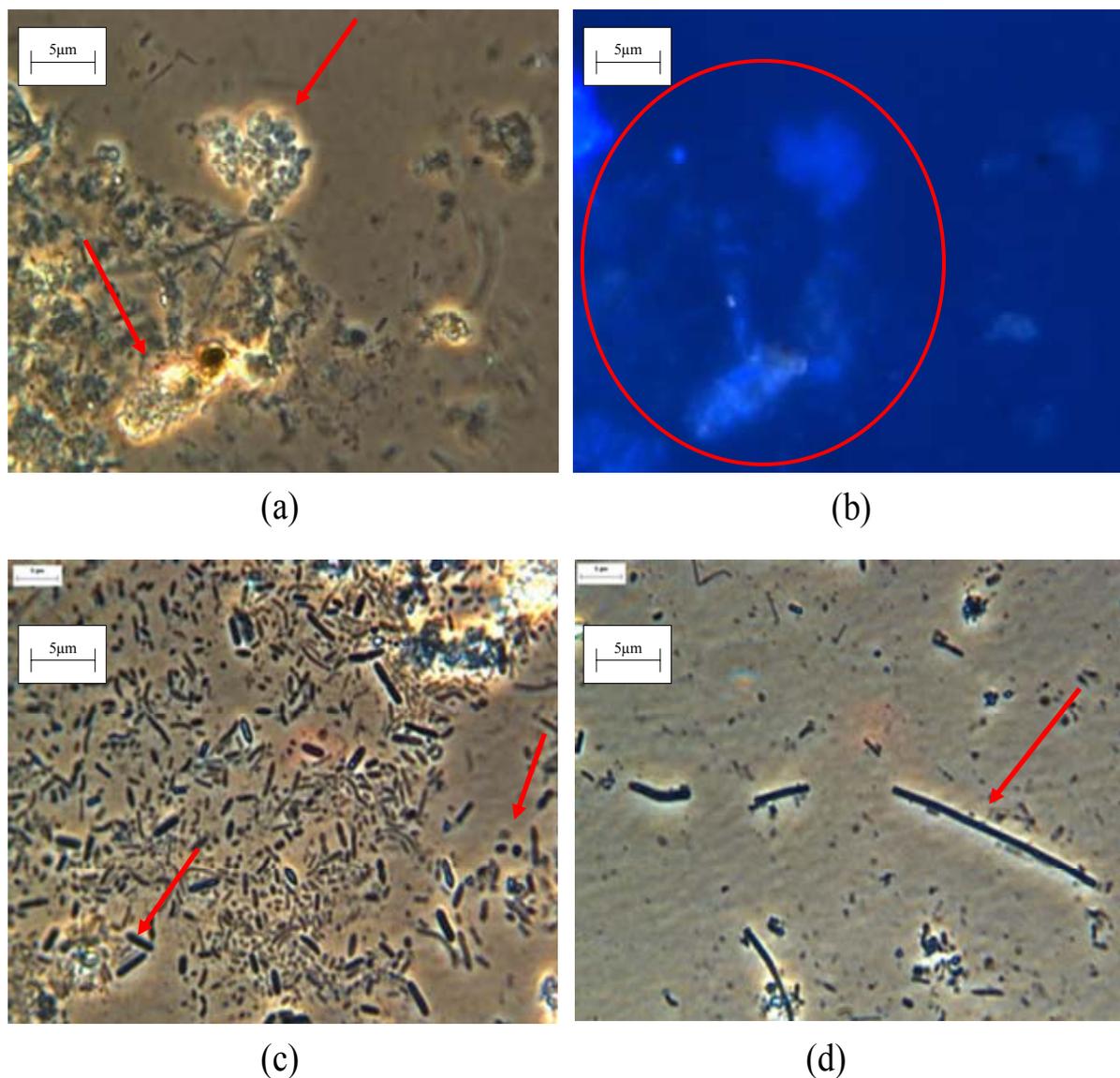


Figura 4.3 – Morfologias observadas no inóculo com aumento de 1500x: (a) morfologias semelhantes a *Methanosarcina sp* (b) fluorescência de a (c) diversidade de bacilos e alguns cocos (d) morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp*.

4.3. DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DA VINHAÇA EM REATOR DE LEITO FLUIDIZADO

4.3.1. Remoção da matéria orgânica presente na vinhaça

Após o fim da adaptação, a alimentação passou a ser contínua, monitorando-se o desempenho do RALF, no tratamento mesofílico da vinhaça de cana para aumentos gradativos da carga orgânica.

A Tabela 4.4 apresenta a DQO afluente e efluente para cada fase de operação do reator assim como sua respectiva duração e eficiência de redução.

Tabela 4.4 – Valores médios obtidos para DQO afluente e efluente e sua respectiva duração e eficiência de redução ao longo das fases de operação do RALF.

Fases	DQO afluente (mg/L)	DQO efluente (mg/L)	Eficiência de redução (%)	Duração (dias)
I	2.273 ± 163	1.060 ± 260	53 ± 12	73
II	4.891 ± 499	1.630 ± 397	67 ± 7	62
III	8.192 ± 772	3.315 ± 489	59 ± 6	25
IV	10.353 ± 704	3.566 ± 371	66 ± 3	25
V	15.244 ± 1.308	4.533 ± 424	70 ± 4	16
VI	20.073 ± 1.532	9.852 ± 1.617	51 ± 8	54

Cada fase de operação correspondeu a um valor médio de concentração de vinhaça como apresentado na Tabela 4.4. As mudanças de fases ocorreram sempre que se observava estabilidade do RALF devido ao valor da DQO efluente manter-se praticamente constante.

Para melhor visualização, os resultados obtidos para a variação da DQO afluente e efluente, assim como a eficiência de redução de DQO ao longo das fases de operação estão apresentados na Figura 4.4.

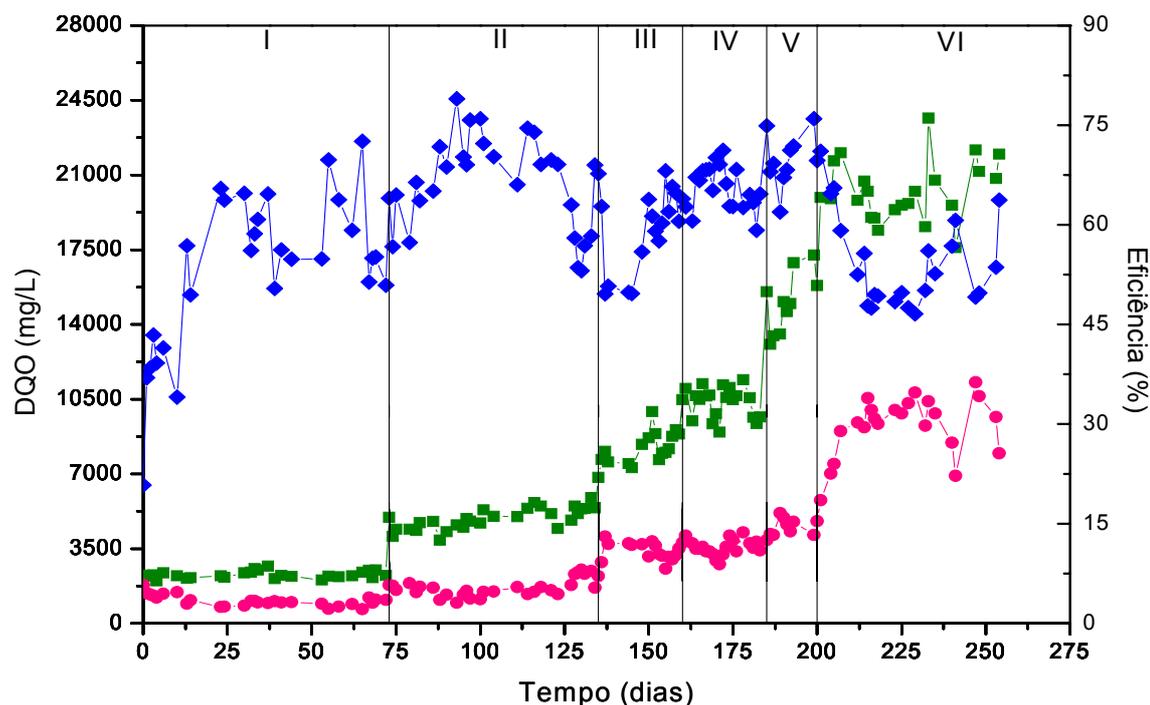


Figura 4.4 – Variação da DQO afluente (■), efluente (●) e eficiência de redução de DQO (◆) ao longo do tempo.

Observa-se, na Figura 4.4, que após adaptação o reator passou a ser operado em modo contínuo com concentração média de 2.273 mg/L. A Fase I apresentou aumentos gradativos de eficiência durante 73 dias. Nota-se que nos dez primeiros dias de operação, em circuito aberto, o sistema tendeu a aumento na eficiência, de 21 % a 43 %, quando ocorreu queda de energia e empacotamento do leito, mas recuperou-se, atingindo eficiências de aproximadamente 63 %. Nos 43° e 56° dias ocorreram furos na mangueira. Encerrou-se a alimentação e o reator foi deixado em recirculação por 24 horas para aumentar o tempo de retenção celular e recuperar sua eficiência. Fato este que ocorreu rapidamente permitindo esta fase ter eficiência média de redução de 53 %.

Damiano (2005), durante operação do RALF no tratamento da vinhaça de cana, alcançou o estado estacionário em sete dias de operação, através de um desempenho gradativo do reator com concentração de 1.009 mg/L, com média de eficiência de redução de DQO de 57 %. Tempo superior levou o estudo atual,

provavelmente devido à concentração inicial superior de vinhaça utilizada nesta fase.

Por outro lado, apesar do reator (UASB) utilizado por Souza et al. (1992) ser diferente do utilizado na pesquisa atual (RALF), ele demorou 50 dias para promover a adaptação do lodo e 90 dias para alcançar uma taxa de carregamento orgânico de 15 kgDQO/m³.d.

Na Fase II foi aumentada a concentração para 4.891 mg/L, verificando-se degradação da vinhaça de 64 % dentro de 24 h e aumentos progressivos na eficiência de 64 % a 72 %, aproximadamente. Isto pode estar relacionado a uma biomassa melhor adaptada. A eficiência média dessa fase foi de aproximadamente 67 %, similar à obtida por Damiano (2005) para uma concentração média de DQO de 4.329 mg/L.

No final da Fase II, com o fim do lote I de vinhaça, passou-se a usar o segundo lote (novembro 2006) cuja água residuária encontrava-se com ácidos voláteis totais muito elevados e ausência de alcalinidade a bicarbonato (Tabela 4.1). Este fato coincidiu com a mudança de fase (Fase III), isto é, aumento da concentração para uma média de 8.192 mg/L, acarretando instabilidade no reator, ou seja, queda na eficiência de redução de DQO de, aproximadamente, 69 a 50 % e aumento no acúmulo de ácidos voláteis totais. Para que ocorresse rápida recuperação do sistema, optou-se por utilizar vinhaça do terceiro lote (junho 2007) devido às melhores características apresentadas (Tabela 4.1) e iniciou-se a suplementação do afluente com uréia e NaH₂PO₄, tamponando o sistema somente com NaHCO₃ e não mais utilizando NH₄OH para esta função. Isto favoreceu a recuperação da eficiência do reator, média de 62 %, voltando à estabilidade do sistema. A eficiência média da Fase III foi, portanto, de 59 %.

As Fases seguintes, IV e V, com duração, respectivamente de 25 e 16 dias, alcançaram eficiências estáveis (média de 66 % e 70 %, respectivamente) mesmo com aumento da concentração de vinhaça (média de 10.353 e 15.244 mg/L, respectivamente), mostrando um inóculo melhor adaptado à suplementação e a altas concentrações e, também, vinhaça do terceiro lote com características mais adequadas que a do segundo lote.

Ao atingir concentrações de 10.732 mg/L e 15.874 mg/L, o RALF operado por Damiano (2005) alcançou eficiência média de redução de DQO de 51 % e 46 %, respectivamente. Nota-se que para essa faixa de concentração o presente trabalho

atingiu eficiências de redução maiores. Isto pode estar relacionado à estabilidade do sistema ao aumento de concentração de matéria carbonácea e, também, à sobrecarga no reator de Damiano, provavelmente, ocasionada pela dificuldade no controle da vazão devido à escala do reator (bancada) comparada à escala da pesquisa atual (piloto).

No início da Fase VI, devido a alta concentração de vinhaça aplicada, média de 20.073 mg/L, ocorreu queda na eficiência de redução de DQO de, aproximadamente, 76 % para 65 % durante os cinco primeiros dias. No 205º dia de operação, a eficiência aumentou para 66 % mostrando uma tendência do sistema à adaptação a nova concentração, mas devido a grande quantidade de lodo e areia depositados no topo do reator que causaram entupimento na mangueira de recirculação e na tela de proteção contra a passagem de partículas de poliestireno ao topo do reator, esta reduziu-se para, aproximadamente, 48 %.

Assim, a parte superior do reator foi aberta para limpeza e este ficou 20 horas em recirculação. Com a alimentação restabelecida, a eficiência manteve-se praticamente constante, em torno de 48 %, nos 35 dias seguintes tendendo a um aumento de, aproximadamente, 60 % nos últimos dias.

Fato importante que contribuiu para a recuperação da eficiência foi o monitoramento rigoroso da vazão durante todas as fases de operação do RALF.

Sabe-se que uma vazão acima do intervalo estabelecido pelo tempo de detenção hidráulico pode causar sobrecarga de matéria orgânica no reator prejudicando a eficiência do mesmo. Portanto, a faixa de vazão de alimentação durante a operação do sistema foi mantida em 175 ± 35 mL/h para um volume total de 4.192 cm³ e TDH de 24 h (Tabela 4.5).

Tabela 4.5 - Valores médios de vazão, TDH, TDHr, altura do leito e TCO média aplicada para cada fase de operação.

Fases	Vazão (mL/h)	H _f (cm)	TDH (h)*	TDHr (h)**	TCO média aplicada (kg/m ³ .d)
I	177 ± 10	132	23,73	16,43	3,33 ± 0,34
II	179 ± 16	143	23,64	17,74	6,68 ± 0,92
III	173 ± 8	150	24,21	19,09	10,33 ± 1,09
IV	182 ± 9	142	23,09	17,32	14,44 ± 1,51
V	167 ± 19	140	25,39	18,65	19,87 ± 2,62
VI	175 ± 8	146	24,03	18,43	26,19 ± 2,14

* TDH: tempo de detenção hidráulica, baseado na altura total do reator

** TDHr: tempo de detenção hidráulica reacional, baseado na altura do leito fluidizado (H_f)

A Figura 4.5 mostra a variação na vazão efluente, em torno da faixa permitida, provavelmente, devido à sensibilidade da bomba de alimentação às oscilações na rede elétrica, a válvulas não blindadas que permitiram a entrada de ar na bomba e, conseqüentemente, a formação de bolhas nas mangueiras de alimentação e, ao fato da vinhaça ser espumosa e favorecer a constante formação de bolhas. Isso pode ser melhor visualizado na Fase II da Figura 4.5. A partir da Fase III, foi instalado purgador de ar permitindo maior estabilidade na vazão.

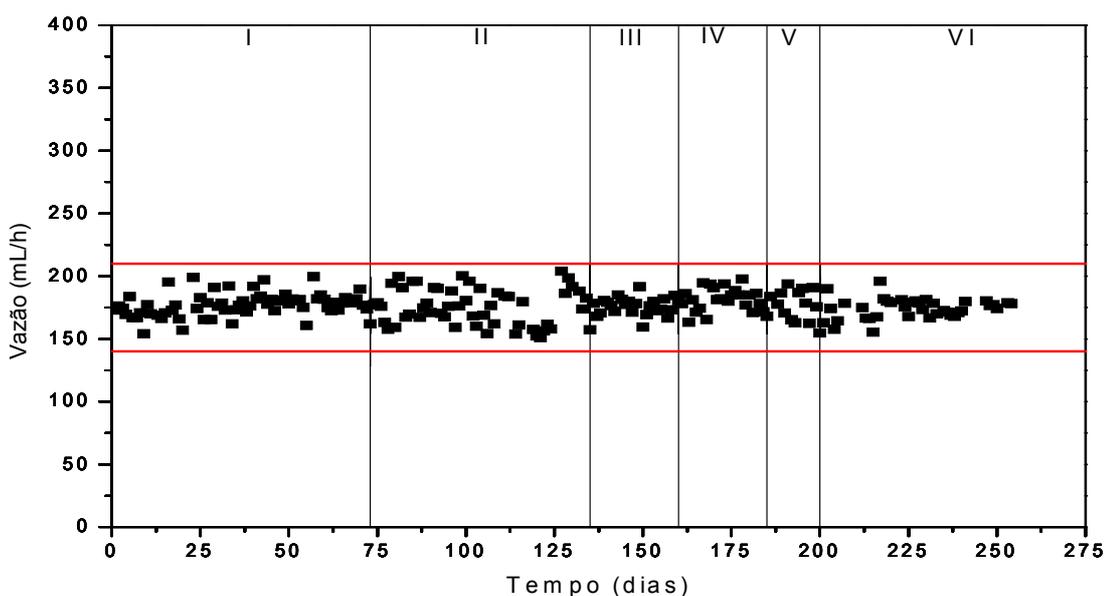


Figura 4.5 – Variação da vazão efluente ao longo do tempo.

A vazão, assim como a altura do leito na fluidização (Tabela 4.5), pois ela corresponde ao volume onde as reações ocorrem, são parâmetros importantes para o cálculo do TDHr. Este, por sua vez, tem influência na taxa de carregamento orgânico.

Assim, o desempenho do RALF para aumento gradativo da taxa de carregamento orgânico foi monitorado conforme as Figuras 4.6 e 4.7 que apresentam, respectivamente, a variação temporal da taxa de carregamento orgânico relacionada à DQO afluente e efluente e à eficiência de redução de DQO ao longo das fases de operação do reator anaeróbico de leito fluidizado.

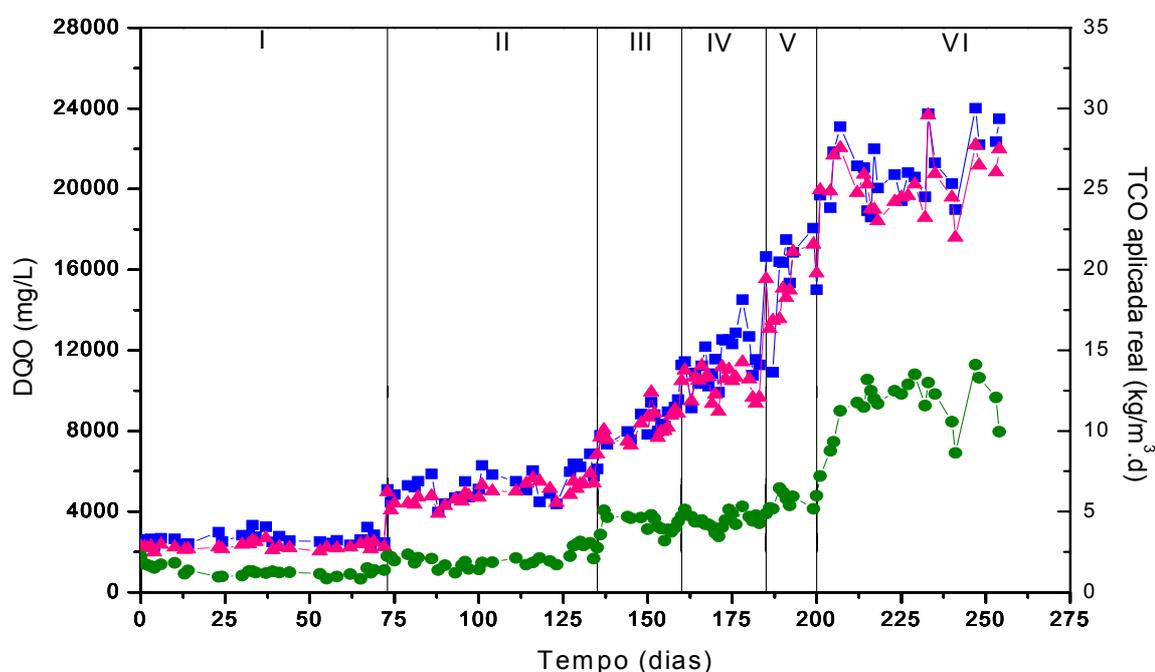


Figura 4.6 – Variação temporal da taxa de carregamento orgânico aplicada real (■) e DQO afluente (▲) e efluente (●).

Pode-se observar na Figura 4.6 que a taxa de carregamento orgânico variou proporcionalmente com a DQO afluente apresentando comportamento semelhante a ela mostrando que a operação do reator ocorreu dentro do esperado devido ao controle rigoroso da vazão uma vez que a TCO é função desta.

A DQO média afluente variou de 2.273 a 20.073 mg/L enquanto a TCO aplicada aumentou proporcionalmente àquela de 3,33 a 26,19 kg/m³.d com valores de TCO removidas variando de 1,78 a 13,93 kg/m³.d e eficiências de redução de DQO de 51 a 70 %, como pode ser visto na Figura 4.7 e melhor explicitado na Tabela 4.6.

Observa-se, na Figura 4.7 e Figura 4.8, que os valores de TCO removida aumentaram progressivamente com o aumento da TCO aplicada, isto é, de 1,78 a 13,93 kg/m³.d, exceto Fase VI que apresentou redução para 13,32 kg/m³.d devido à taxa de carregamento orgânico aplicada muito elevada para tratamento mesofílico. Este fato, apesar da estabilidade do pH e geração de alcalinidade a bicarbonato durante todas as fases de operação do reator, fez com que esta alcalinidade gerada nessa fase fosse insuficiente para o tamponamento do sistema, levando ao acúmulo de ácidos que refletiu, também, na queda de eficiência de redução de DQO.

Ao avaliarem o desempenho de dois reatores UASB em grande escala tratando vinhaça de vinho (raki), sendo que o reator TUASB (Tekirdag UASB) foi inoculado com lodo do reator IUASB (Istambul UASB), Akarsubasi et. al. (2006) observaram eficiência média de redução de DQO de 90 % para TCOs variando de 6 a 11 kg/m³.d no reator IUASB enquanto que o reator TUASB apresentou eficiências médias de redução de DQO de 60 a 80 % para TCOs variando entre 2,5 a 8,5 kg/m³.d. Embora ambos os reatores possuíssem lodos anaeróbios granulares com potencial de produção de metano similares, o reator TUASB foi carregado com menores TCOs resultando em menor desempenho comparado ao reator IUASB. Outro possível fato afetando seu desempenho pode ser atribuído ao predomínio de diferentes taxas metanogênicas identificadas.

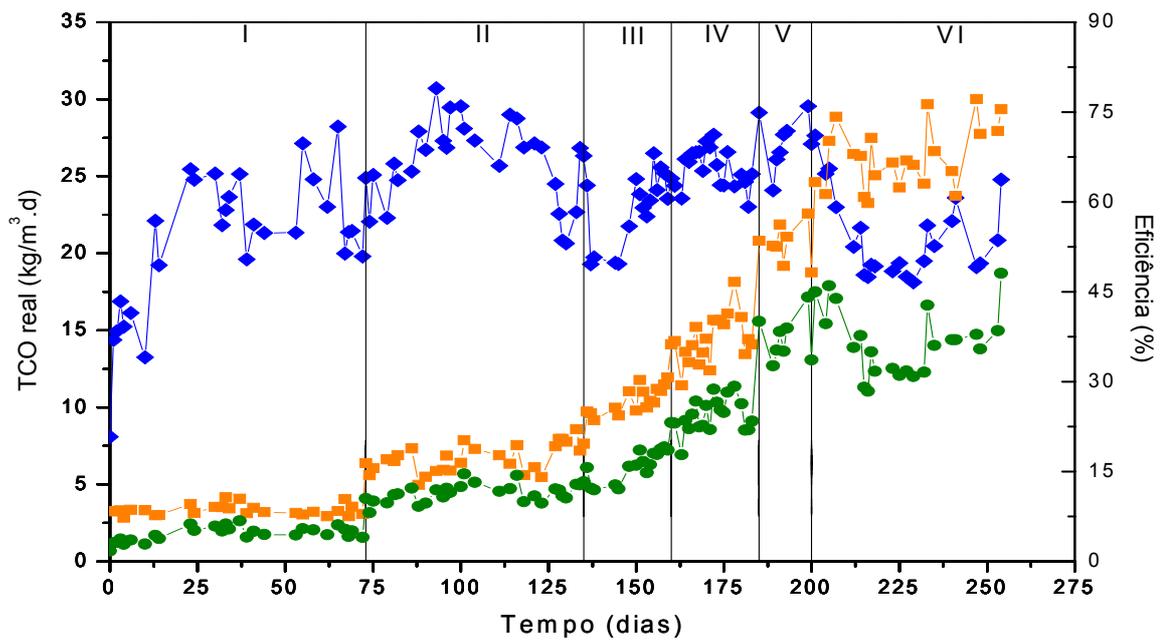


Figura 4.7 – Variação temporal da taxa de carregamento orgânico real aplicada (■) e removida (●) e eficiência de redução (◆).

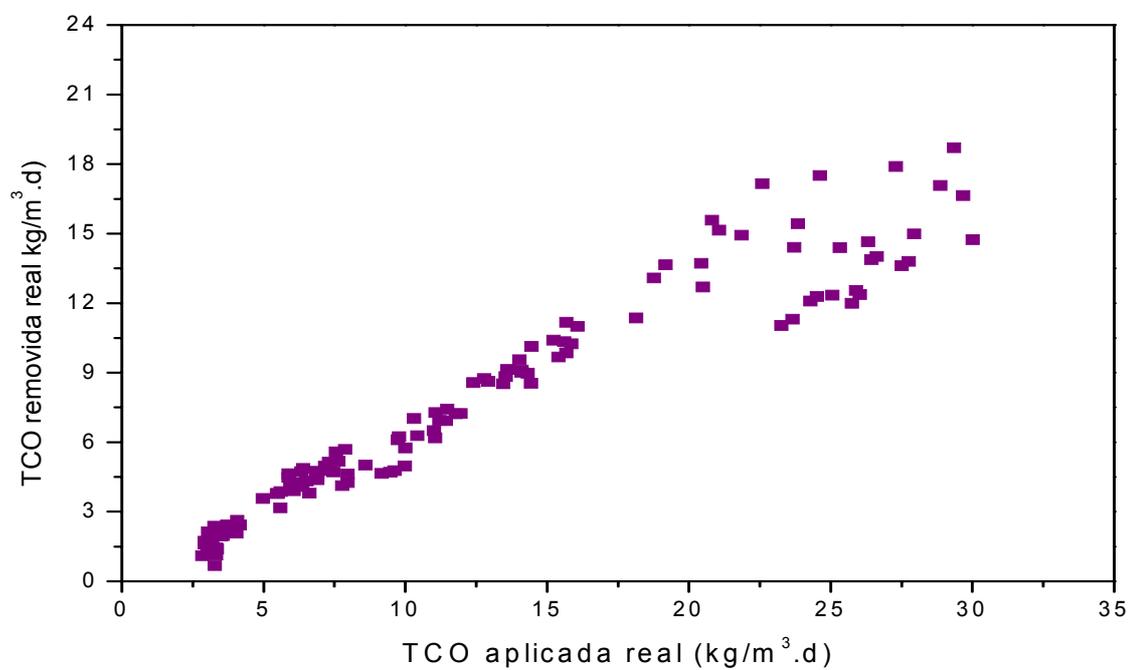


Figura 4.8 – Variação da TCO aplicada real em função da TCO removida real.

Pode-se observar na Tabela 4.6 que as TCOs médias removidas das Fases V e VI, 13,93 kg/m³.d e 13,32 kg/m³.d, respectivamente, foram praticamente iguais apesar da TCO média aplicada da Fase V (19,87 kg/m³.d) ser inferior à da Fase VI (26,19 kg/m³.d). Isto pode estar relacionado, provavelmente, a estabilidade do sistema que, apesar de apresentar uma queda na eficiência de redução de DQO (Fase VI) em relação à fase anterior (Fase V), manteve alguns parâmetros de monitoramento praticamente constantes, ou seja, pH, vazão e produção de biogás.

Nota-se, também, que a relação $AB_{\text{efluente}}/AB_{\text{afluente}}$, apresentada na Tabela 4.6, aumentou com o aumento da TCO aplicada ao longo das fases de operação, exceto as Fases III e VI. A geração de alcalinidade insuficiente e, conseqüentemente, o acúmulo de ácidos voláteis totais conduziu a redução na degradação da matéria orgânica dessas fases.

Tabela 4.6 – Concentração de vinhaça, TCO média aplicada e removida, eficiência de redução e relação $AB_{\text{efluente}}/AB_{\text{afluente}}$ ao longo do período de operação.

Fases	Concentração vinhaça (mg/L)	TCO média aplicada (kg/m ³ .d)	TCO média removida (kg/m ³ .d)	Eficiências de redução de DQO (%)	Relação $AB_{\text{efluente}}/AB_{\text{afluente}}$
I	2.273 ± 163	3,33 ± 0,34	1,78 ± 0,47	53 ± 12	1,43
II	4.891 ± 499	6,68 ± 0,92	4,43 ± 0,58	67 ± 7	1,48
III	8.192 ± 772	10,33 ± 1,09	6,14 ± 0,99	59 ± 6	1,42
IV	10.353 ± 704	14,44 ± 1,51	9,46 ± 1,07	66 ± 3	2,42
V	15.244 ± 1.308	19,87 ± 2,62	13,93 ± 2,18	70 ± 4	3,00
VI	20.073 ± 1.532	26,19 ± 2,14	13,32 ± 2,35	51 ± 8	2,87

A TCO máxima aplicada nesta pesquisa foi superior às obtidas por Telh (2001), Damiano (2005) e Viana (2006), porém inferior à Souza et al. (1992) e Ribas (2006) como pode ser visto na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 – Comparação entre diferentes pesquisas sobre tratamento anaeróbio da vinhaça de cana-de-açúcar (mosto misto).

Referências	Reator	T (°C)	TCO (kg/m ³ .d)	TDH (h)	DQO (mg/L)	Intervalo de eficiência de redução de DQO (%)
Souza et al. (1992)	UASB	55	2,5 - 30	48	5.000 – 60.000	62 - 72
Telh (2001)	RAHLF	55	9,1	26,4	10.000	31 - 69
Damiano (2005)	RALF	30	1,1 - 18	24	1.009 – 15.874	51 – 70
Viana (2006)	UASB	55	0,3 – 6,5	24	1.500 – 6.000	54 - 83
Ribas (2006)*	ASBBR	35	2,85 - 36	-	2.790 – 35.940	75 - 85
Atual	RALF	30	3,33 – 26,19	24	2.273 – 20.073	51 - 70

* Dados relacionados apenas ao tratamento anaeróbio mesofílico.

Nota-se na Tabela 4.7 que algumas pesquisas foram realizadas sobre tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar em diferentes configurações de reatores, tempo de detenção hidráulica, faixa de temperatura, taxa de carregamento orgânico aplicada, DQO e modo de adaptação do inóculo com vinhaças coletadas em diferentes épocas do ano conduzindo a maior variabilidade da sua composição química, entre outros.

Souza et al. (1992) e Viana (2006) trabalharam com reatores UASB e TDHs de 48 e 24 horas, respectivamente, para o tratamento termofílico da vinhaça. Apesar de algumas condições operacionais semelhantes como configuração do reator e temperatura e terem alcançado eficiências de redução semelhantes, os primeiros atingiram taxas de carregamento orgânico superiores ao segundo, isto é, de 2,5 a 30 kg/m³.d e 0,3 a 6,5 kg/m³.d. Isto pode estar relacionado à granulação adequada do lodo, conseguida pelo primeiro autor, que permitiu melhor degradação do substrato, mas também, a variabilidade da composição da vinhaça, uma vez que foram obtidas em diferentes épocas e usinas e, provavelmente, de métodos de produção distintos. Comparativamente ao trabalho atual, que utilizou o RALF no tratamento mesofílico da vinhaça, nota-se que a TCO aplicada e a faixa de eficiência de redução foram

próximas as de Souza et. al. (1992) comprovando o potencial do reator de leito fluidizado utilizado nesta pesquisa uma vez que o tratamento termofílico permite obter eficiências de redução e rendimento em metano similares ao tratamento mesofílico, porém, com o dobro da carga orgânica de entrada, fato este não ocorrido com Souza et. al. (1992) e Viana (2006).

Telh (2001) também estudou a degradação termofílica da vinhaça com TDH de 26,4 horas. Apesar do intervalo de eficiência de redução alcançado pela autora (31 a 69 %) ser semelhante ao da pesquisa atual (50 a 70 %), a TCO aplicada foi inferior, isto é 9,1 kg/m³.d com DQO de 10.000 mg/L. Isto se deve, provavelmente, ao tipo de reator utilizado pela autora, ou seja, RAHLF, desfavorecido pela posição horizontal.

Por outro lado, o RALF utilizado no trabalho atual se assemelhou ao de Damiano (2005). Apesar de ser escala de bancada e ter alcançado taxas de carregamento orgânico inferiores ao presente trabalho, as eficiências de redução foram próximas para algumas concentrações semelhantes de vinhaça aplicadas como, por exemplo, para concentrações de 4.329 mg/L, a autora obteve 65 % enquanto que a pesquisa atual, para concentração média de 4.891 mg/L alcançou 67 % de redução. Para concentrações mais elevadas, a autora obteve eficiências de redução menores, ou seja, para concentrações médias de aproximadamente 16.000 mg/L, a autora obteve 51 % contra 70 % da presente pesquisa.

Por sua vez, Ribas (2006) atingiu eficiências de redução de DQO superiores (75 % a 85 %) durante todas as fases de operação do ASBBR, no tratamento mesofílico da vinhaça de cana, com TCO variando de 2,85 a 36 kg/m³.d. Isto provavelmente ocorreu devido ao enriquecimento do reator com biomassa metanogênica alimentada com substrato composto por etanol (aproximadamente, 2,5 gDQO/L) e sais minerais. Apesar da faixa de eficiência de redução alcançada ser maior, houve fases que esta foi semelhante, para concentrações de vinhaça próximas, como, por exemplo, a Fase V do trabalho atual (15.244 mg/L) apresentou média de redução de DQO de 70 %, próxima à Fase IV da autora (10.560 mg/L) cuja média de redução foi de 78 %.

Além do tratamento anaeróbio da vinhaça de cana (mosto misto), várias outras pesquisas realizadas com efluentes de destilaria de diversas origens podem ser comparadas ao trabalho atual, principalmente no que se refere à faixa de TCO aplicada e desempenho do reator (Tabela 4.8).

Tabela 4.8 – Comparação entre diferentes pesquisas sobre tratamento anaeróbio da vinhaça de diversas origens.

Referências	Reator	T (°C)	Origem vinhaça	TCO (kg/m ³ .d)	TDH (h)	DQO (mg/L)	Intervalo de eficiência de redução de DQO (%)
Balaguer et. al. (1992)	RALF	35	Vinícola	9 – 36	12 - 48	18.000	70,5 – 88,6
Buffière et. al. (2000)	RALF inverso*	35	Vinícola	2 – 15	-	-	65 – 85
Ragen et. al. (2001)	UASB	-	Sintética (melaço)	2 – 11,9	2 – 10,1	1.000	60 – 79
Fernández et. al. (2007)	RALF	30	Cana	2 – 20	11	917 – 9.167	65 – 90
Sowmeyan et. al. (2007)	RALF inverso	-	Sintética (glicose como substrato)	6,11 – 35,09	4,56 – 48	1.161 – 70.180	35 – 84
Atual	RALF	30	Cana (mosto misto)	3,33 – 26,19	24	2.273 – 20.073	51 – 70

*RALF inverso: este é submetido a escoamento descendente e são usadas partículas com densidades inferiores a da água, que fluidizam na parte superior do reator.

Na pesquisa atual, ao aumentar a TCO de 19,87 para 26,19 kgDQO/m³.d houve redução na eficiência de DQO de 70 para 51 %. O contrário foi encontrado por Balaguer et. al. (1992) que, para essa mesma faixa de TCO, ao trabalharem com diferentes TDHs, obtiveram desempenhos mais elevados e cuja melhor eficiência de redução de DQO foi obtida quando reduziram o TDH de 24 horas para 17,76 horas com respectivo aumento de TCO de 18 kgDQO/m³.d (redução de DQO de 78,16 %) para 24,32 kgDQO/m³.d (redução de DQO de 88,56 %). Os valores mais elevados de redução de DQO comparados ao trabalho atual estão provavelmente relacionados às características da vinhaça, ao suplemento do substrato com metanol durante a partida e, também, ao meio suporte utilizado uma vez que, ao reduzir o TDH para 12 horas, houve queda na eficiência de DQO para 70,55 % e o modelo de reator utilizado é o mesmo. Estes fatores mostraram-se importantes na pesquisa de Sowmeyan et al. (2007), principalmente em relação ao tipo de reator (RALF inverso), meio suporte (perlita), adição de nutrientes e a vinhaça, por ser sintética, de

degradação mais fácil. Durante os primeiros 33 dias de operação, não houve adição de nutrientes na água residuária, conduzindo ao aumento gradual de eficiência de redução de DQO com média de 65 %, mantendo a TCO de 6,11 kgDQO/m³.d. Com a adição de elementos traços e fonte de nitrogênio, a TCO aumentou de 6,11 kgDQO/m³.d a 35,09 kgDQO/m³.d com eficiência média de redução de DQO, praticamente constante, de 84 % sem alterações significativas nos parâmetros de controle.

Ragen et. al (2001) também variaram o TDH ao investigar o tratamento de vinhaça sintética de uma fábrica de açúcar usando reator UASB escala piloto. Após o sucesso da partida do reator, os resultados mostraram que com TDH de/ou acima de 4 horas e com TCO média menor que 6,7 kgDQO/m³.d, a eficiência de redução de DQO do sistema foi superior a 76 %. Observou-se queda na eficiência para TDH de 2 horas e média de TCO acima de 11,5 kgDQO/m³.d, concluindo-se que o TDH ótimo foi entre 4 e 6 horas.

Após adição de elementos traços e fonte de nitrogênio no RALF inverso usando ExtendsphereTM (material mineral granular composto principalmente por sílica) como suporte da biomassa, foi possível aumentar a TCO de 2 a 15 kgDQO/m³.d com aumento na eficiência de redução de DQO de 65 a 93 %, mantendo-se em 75 – 85 % após 90 dias de operação e TCO de 15 kgDQO/m³.d (BUFFIÈRE et al., 2000). Pode-se notar na Figura 4.7 que, a partir do início da suplementação com nutrientes (metade Fase III), a eficiência de redução de DQO do sistema atual tornou-se, também, praticamente estável (Fases IV e V).

Fernández et al. (2007) operaram dois RALFs idênticos, com faixas granulométricas do meio suporte (zeólitas) diferentes, e obtiveram, para ambos, eficiências de redução de DQO que aumentaram de 65 % para tão altas quanto 90% com o aumento progressivo da TCO de 2 até 20 kgDQO/m³.d. Para faixa similar de TCO aplicada, isto é, de 3,33 a 19,87 kgDQO/m³.d, a pesquisa atual alcançou eficiência de redução de DQO máxima de 70 %, provavelmente devido ao lote de vinhaça com baixa alcalinidade e adaptação dos microrganismos a suplementação a partir do final da Fase II e, provavelmente, o alto valor de eficiência alcançado pelos autores se deve ao uso de menores valores de TDH e DQO para tratarem altas TCOs. Estes resultados evidenciaram o potencial do RALF além da importância do material suporte, como o poliestireno e zeólitas, utilizados na pesquisa atual e pelos

autores, respectivamente, que permitem suportar altas taxas de carregamento orgânico.

4.3.2. Demais parâmetros monitorados

Vários fatores ambientais afetam a atividade das populações microbianas da água residuária e a taxa de reações bioquímicas. De particular importância são temperatura, nutrientes, compostos tóxicos inibidores e pH. Devido a natureza ácida da vinhaça, pH é um dos mais relevantes fatores que afetam a atividade microbológica no processo biológico (BELTRAN et al., 1999). Portanto, um afluente neutro ou alcalino, e/ou um controle de pH neutro deve favorecer a atividade da biomassa anaeróbia e, neste sentido, o processo de degradação.

Para isso alcalinizantes são adicionados à água residuária para manutenção do pH neutro como, por exemplo, NaOH (PÉREZ-GARCIA et al., 2005 a e b, SOWMEYAN et al., 2007 e BUFFIÉRE et al., 2000) e NaHCO_3 (SHIVAYOGIMATH et al., 1999).

Devido a isso, o pH do sistema, afluente e efluente, foi monitorado diariamente e estão apresentados na Figura 4.9.

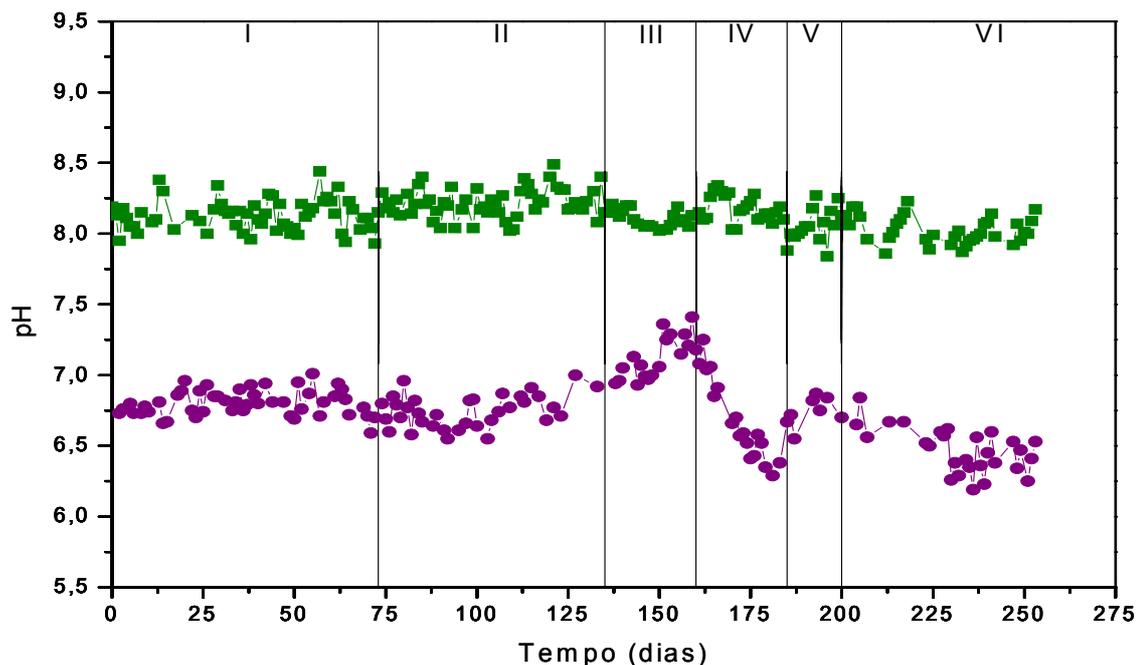


Figura 4.9 – Variação do pH afluente (●) e efluente (■) com o tempo.

Nota-se que tanto o pH afluente quanto o efluente mantiveram-se, praticamente, estáveis, dentro da faixa de operação de sistemas anaeróbios citada por Speece (1996), isto é, entre 6,5 e 8,3. Verificou-se que o pH do efluente, variando entre 7,8 e 8,6, apresentou-se superior ao afluente, variando entre 6,2 e 7,4, para todas as fases de operação, mesmo com aumento de carga em cada fase.

Por outro lado, oscilações foram observadas no pH afluente do reator a partir da Fase III, provavelmente, devido às mudanças na quantidade de alcalinizante adicionada, às vezes insuficiente, ocorridas devido a variabilidade da composição da vinhaça. Nota-se que, mesmo com a correção do pH afluente para próximo de 7,0, este reduziu-se rapidamente, mantendo-se ligeiramente ácido. Apesar disso, houve geração de alcalinidade no sistema comprovado pela faixa de pH efluente.

Os valores de pH encontrados nesta pesquisa (6,2 a 8,6) foram semelhantes aos obtidos no tratamento mesofílico por Damiano (2005), 7,2 a 8,5 e Ribas (2006), 6,7 a 8,5, e no tratamento termofílico por Telh (2001), 7,7 a 8,4, Viana (2006), 5,4 a 8,6, indicando que em todas as pesquisas citadas esse parâmetro esteve dentro da faixa considerada adequada para os processos de digestão anaeróbia.

Shivayogimath et al. (1999) também obtiveram pH (7,1 a 8,0) dentro da faixa ótima para microrganismos metanogênicos atribuído a adição adequada de NaHCO_3 na alimentação e capacidade de tamponamento do sistema. Porém, quando houve um aumento na TCO aplicada ($40 \text{ kgDQO/m}^3\cdot\text{d}$), queda no pH para 6,2 foi observada devido ao acúmulo de AVT.

Ao estudarem os efeitos do pH afluente nos reatores de filme fixo para o tratamento anaeróbio termofílico da vinhaça de destilaria de vinho, Pérez-Garcia et. al. (2005b) observaram que o pH do afluente influencia no desempenho do processo de biodegradação, ou seja, eficiências maiores foram obtidas com afluente alcalino. A operação com afluente ácido permitiu operar o reator com TCO de aproximadamente $5,6 \text{ kgDQO/m}^3\cdot\text{d}$ (TDH de 1,5 dias), mantendo eficiência de remoção de DQO de 77,2 % enquanto que na operação com afluente alcalino eficiências de redução de DQO de 76,8 % foram alcançadas trabalhando com TCO de aproximadamente $10,5 \text{ kgDQO/m}^3\cdot\text{d}$, sendo que o melhor desempenho do reator foi de 87,5 % para TCO de $3,2 \text{ kgDQO/m}^3\cdot\text{d}$ e TDH de 4 dias operando com afluente alcalino.

O pH efluente manteve-se praticamente constante durante todas as fases de operação, aproximadamente 8,2, não indicando interferência do aumento da

concentração de vinhaça nas mudanças de fases. O mesmo não ocorreu com os valores de alcalinidade a bicarbonato, como pode ser visto na Figura 4.10.

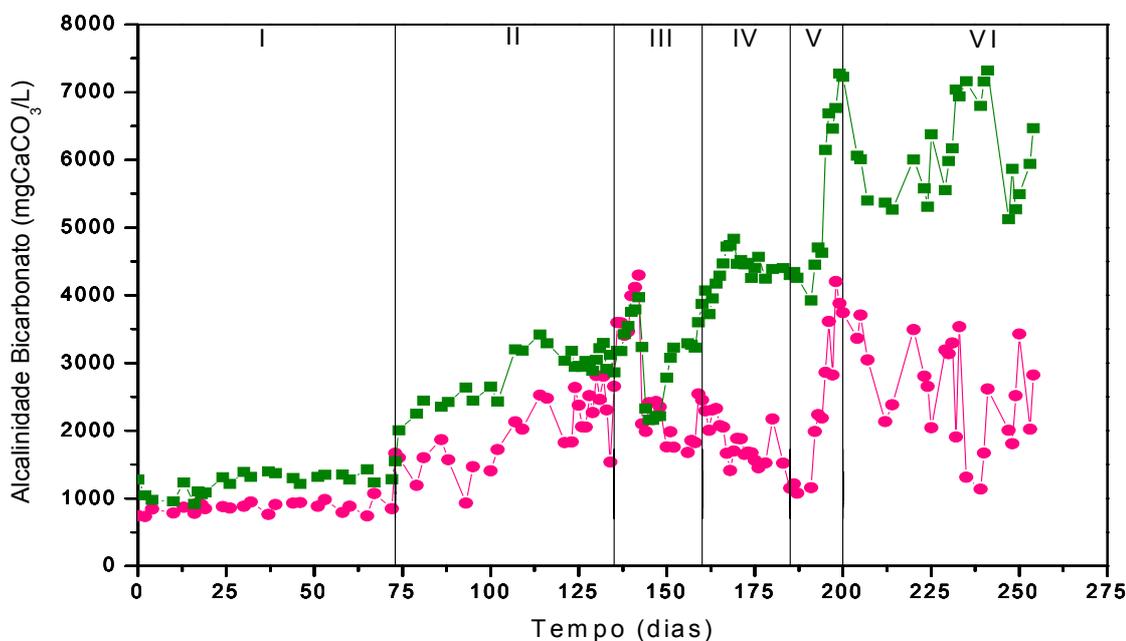


Figura 4.10 – Variação da alcalinidade a bicarbonato afluente (●) e efluente (■) com o tempo.

A alcalinidade a bicarbonato do efluente apresentou-se superior à do afluente e proporcional ao aumento da carga orgânica aplicada em praticamente todas as fases, exceto Fases III e VI. Nestas, como citado anteriormente, ocorreu troca de lote de vinhaça com ausência de alcalinidade e taxa de carregamento orgânico aplicada muito elevada para tratamento mesofílico, respectivamente, fazendo com que a alcalinidade gerada não fosse suficiente para evitar o acúmulo de ácidos voláteis totais nessas fases.

As concentrações das alcalinidades afluente e efluente variaram entre 401,3 mgCaCO₃/L e 4.294,8 mgCaCO₃/L, 917,8 mgCaCO₃/L e 7.274,7 mgCaCO₃/L, respectivamente, indicando geração de alcalinidade a bicarbonato ao longo de todas as fases de operação do reator, mesmo com acúmulo de ácidos voláteis totais nas Fases III e VI.

Segundo Van Haandel (1994), a produção de alcalinidade pode ou não ser suficiente para manter o pH desejado para a digestão do lodo dependendo da razão $N_{\text{total Kjeldahl}}/\text{DQO}$ do lodo e a eficiência da bactéria metanogênica na remoção do AVT. Na sua pesquisa, o autor verificou que apenas é possível manter o pH próximo de 7 quando a eficiência da fermentação metanogênica (E_m) for alta. A alcalinidade não aumenta para valores de E_m abaixo de 0,71 para lodo secundário e 0,87 para lodo primário. O reator, provavelmente, entrará em colapso se a alcalinidade não aumentar porque a alcalinidade afluente será menor do que o valor necessário para um pH adequado.

Para faixa de TCO semelhante, de 2 a 20 kg/m³.d, Fernández et al. (2007), no tratamento da vinhaça, obtiveram valores de alcalinidade total variando de 3.400 a 3.850 mgCaCO₃/L. Apesar dos valores de alcalinidade serem menores que o da pesquisa atual, foram suficientes para prevenir queda no pH abaixo de 7,0 e, também, aumento nas concentrações de AVT acima da máxima permitida para TCO mais elevada.

Por outro lado, valores próximos à pesquisa atual foram obtidos no tratamento de vinhaça de melaço de cana, para faixa de TCO aplicada de 2,78 a 22,02 kgDQO/m³.d, com respectivas reduções de TDH de 25 a 3 dias, ou seja, aumentou de 4.270 a 7.070 mgCaCO₃/L (SETH et al., 1995). Goyal et al. (1996) ao reduzirem o TDH de 25 a 4 dias com aumentos de TCO aplicada de 2,75 a 21,29 kgDQO/m³.d, respectivamente, obtiveram reduções nos valores de AB, isto é, de 7.450 a 6.090 mgCaCO₃/L. Ambas as pesquisas tiveram aumentos na concentração de AVT, mas o desempenho do reator continuou estável.

Viana (2006), por sua vez, obteve produção média de alcalinidade a bicarbonato no efluente variando de 0,96 mgCaCO₃/L a 1.006,12 mgCaCO₃/L. Para uma concentração de 1.770 mgDQO/L, o reator alcançou 413 mg/L de alcalinidade a bicarbonato. Ao aumentar para 5.500 mg/L a concentração afluente, houve choque de carga no sistema agravado pelo aumento de ácidos voláteis, ocorrendo leve melhora na alcalinidade ao se reduzir para 4000 mg/L a concentração de vinhaça.

Segundo Ripley et al. (1986), a razão alcalinidade intermediária (devido aos sais de ácidos voláteis) e alcalinidade parcial (devido ao bicarbonato) pode estar diretamente relacionada ao acúmulo de ácidos e, conseqüentemente, à instabilidade do reator. Se esta razão é mantida abaixo de 0,4, o processo está, provavelmente, estável (Figura 4.11).

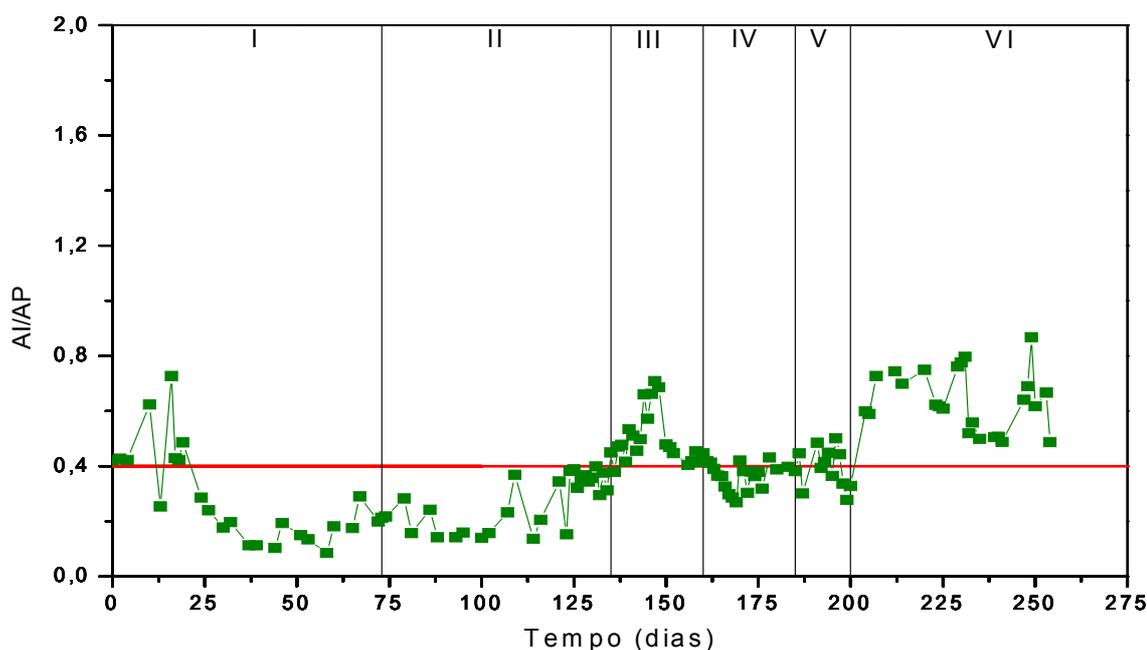


Figura 4.11 – Monitoramento da razão de Al/AP durante todo experimento.

A Figura 4.11 apresenta os valores obtidos para razão Al/AP relacionados às instabilidades ocorridas ao longo da operação do reator. Essas ocorreram no início da operação do RALF (Al/AP média de 0,5 até o 16º dia de operação do reator) devido abertura do sistema e descarte de lodo juntamente com o efluente e nas Fases III (Al/AP variando de 0,38 a 0,71) e VI (Al/AP variando de 0,49 a 0,87) devido insuficiência de alcalinidade e, conseqüentemente, acúmulo de ácidos, como dito anteriormente. Assim, estas fases foram menos estáveis quando comparadas às demais.

Balaguer et al. (1992) e Ribas (2006) também utilizaram este critério para verificar distúrbios no sistema, como o desbalanceamento entre a produção e consumo de ácidos, e obtiveram razões menores que 0,3 indicando sistemas estáveis.

Os valores obtidos de ácidos voláteis totais durante as fases de operação do reator encontram-se na Figura 4.12.

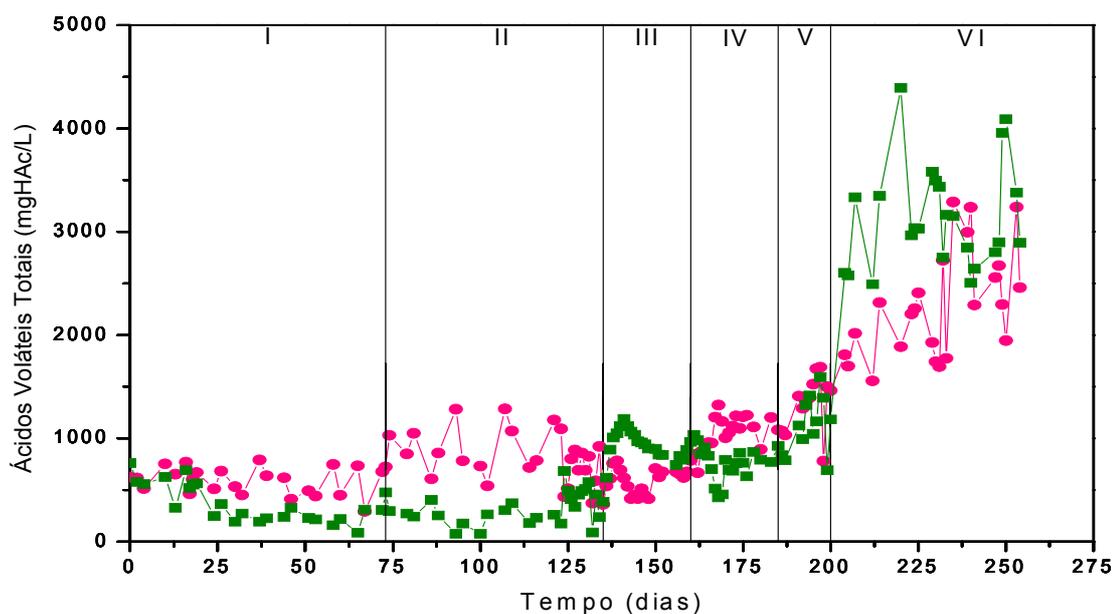


Figura 4.12 – Variação dos ácidos voláteis totais afluente (●) e efluente (■) com o tempo.

Os dados obtidos mostram que no dia em que o circuito foi aberto, houve acúmulo de ácidos voláteis totais no efluente (760 mgHAc/L), tornando-se menor no 10º dia de operação (626 mgHAc/L) e, assim, permanecendo-se durante as Fases I e II. Isso provavelmente está associado à vinhaça que, por ser resíduo industrial recalcitrante, está sujeito a variabilidade de composição e, portanto, período de adaptação da biomassa e partida do reator mais longos.

No final da Fase II e início da Fase III, verificou-se aumento no acúmulo de ácidos no efluente de, aproximadamente, 700 mgHAc/L para 1.185 mgHAc/L, provavelmente devido à mudança no lote da vinhaça utilizada (lote 2), como citado anteriormente, recuperando-se na fase seguinte (média de 764 mgHAc/L) e mantendo-se inferior aos AVTs no afluente até o final da Fase V (média de 1.192 mgHAc/L).

Observou-se que o RALF, apesar de não ter consumido todo o AVT presente no afluente das Fases IV e V, atingiu um possível equilíbrio entre a produção (acidogênese) e consumo (metanogênese) de AVT, pois mesmo com aumento da TCO aplicada de 14,44 para 19,87 kg/m³.d, respectivamente Fases IV e

V, o acúmulo de AVT foi baixo quando comparado aos AVT presentes no afluente, isto é, variou de 429 mgHAc/L a 1.597 mgHAc/L.

Porém, na Fase VI, devido adição insuficiente de alcalinizante, acarretando em tamponamento insuficiente do sistema, e biomassa não adaptada a elevada taxa de carregamento orgânico aplicada (média de 26,19 kg/m³.d), fizeram com que houvesse, novamente, desequilíbrio no sistema e acúmulo de AVTs no efluente (média de 3.146 mgHAc/L). Após 33 dias nesta fase, em contato com a mesma concentração de vinhaça e aumento na adição de NaHCO₃, ocorreu redução nos valores de concentração de ácidos efluentes tendendo a estabilidade do sistema.

Assim, as concentrações dos ácidos voláteis totais no efluente variaram entre 365 mgHAc/L e 3.146 mgHAc/L, semelhante a faixa de concentração encontrada por Sowmeyan et al. (2007) utilizando um RALF inverso no tratamento da vinhaça, isto é, de 500 mgHAc/L até 3.500 mgHAc/L após adição de nutrientes.

Ao aumentar a TCO aplicada de 2,78 a 22,02 kgDQO/m³.d, com redução no TDH de 25 a 3 dias, respectivamente, Seth et al. (1995) obtiveram acúmulo de AVTs no efluente variando entre 1.710 e 2.770 mgHAc/L. Ao aumentar a TCO para 33,97 kgDQO/m³.d, o acúmulo de AVT passou a ser de 5.410 mgHAc/L acarretando em queda na eficiência de DQO para 61 %. Valor elevado para ácidos voláteis totais (5.498 mgHAc/L) também foi encontrado no primeiro estágio do tratamento anaeróbio de vinhaça em um reator anaeróbio de dois estágios (filtro anaeróbio e UASB) conduzindo a baixa eficiência de redução de DQO, 19 %, para uma DQO afluente de 16.812 mg/L (BLONSKAJA et al., 2003).

No estudo realizado por Damiano (2005), as concentrações de ácidos voláteis totais no efluente variaram entre 223 mgHAc/L e 5.733 mgHAc/L, indicando acúmulo de ácidos maior que o presente trabalho.

Viana (2006) constatou produção de ácidos voláteis totais que atingiram concentrações da ordem de 1.200 mgHAc/L, para concentração de 6.000 mg/L de vinhaça, sendo esta concentração máxima alcançada por ele. Para essa faixa de concentração, o valor médio de ácidos no efluente, no estudo atual, foi de, aproximadamente, 500 mgHAc/L, indicando uma operação mais estável.

Os ácidos orgânicos voláteis formam os principais produtos da fermentação dos compostos de carbono na vinhaça. Sendo assim, as porcentagens dos principais AOVs acumulados no afluente e efluente, durante o processo de

degradação anaeróbia da vinhaça, estão apresentados nas Figuras 4.13 e 4.14, respectivamente.

Observa-se, na Figura 4.13, que, por ser a vinhaça um resíduo com elevada acidez, todas as fases apresentaram ácidos no afluente. Na Fase I, observa-se predomínio do ácido propiônico (49 %), seguido pelo ácido acético (32,69 %) e, por fim, ácido butírico (17,91 %). A Fase II apresentou grande diversidade de ácidos, isto é, valérico em maior quantidade (45,18 %), isovalérico (24,82 %), propiônico (13,01%), acético (10,56 %) e butírico (6,43 %). Por outro lado, a Fase III teve 100 % de acúmulo de ácido butírico.

A Fase IV foi a segunda a apresentar maior diversidade de ácidos, ou seja, isovalérico (27,23 %), propiônico (25,32 %), acético (22,85 %), valérico (18,05 %) e butírico (6,55 %). Na Fase V predominou o ácido acético (78,89 %) seguido pelo butírico (21,11 %). Por fim, na Fase VI, foram encontrados ácidos valérico (31,79 %), acético (31,07 %), butírico (29,66 %) e isovalérico (7,48 %).

Essa diversidade de ácidos encontrados no afluente comprova a natureza ácida e a variabilidade na composição da vinhaça a ser tratada, que apesar de serem do mesmo lote como nas Fases V e VI, a primeira apresentou menor variedade de ácidos orgânicos voláteis.

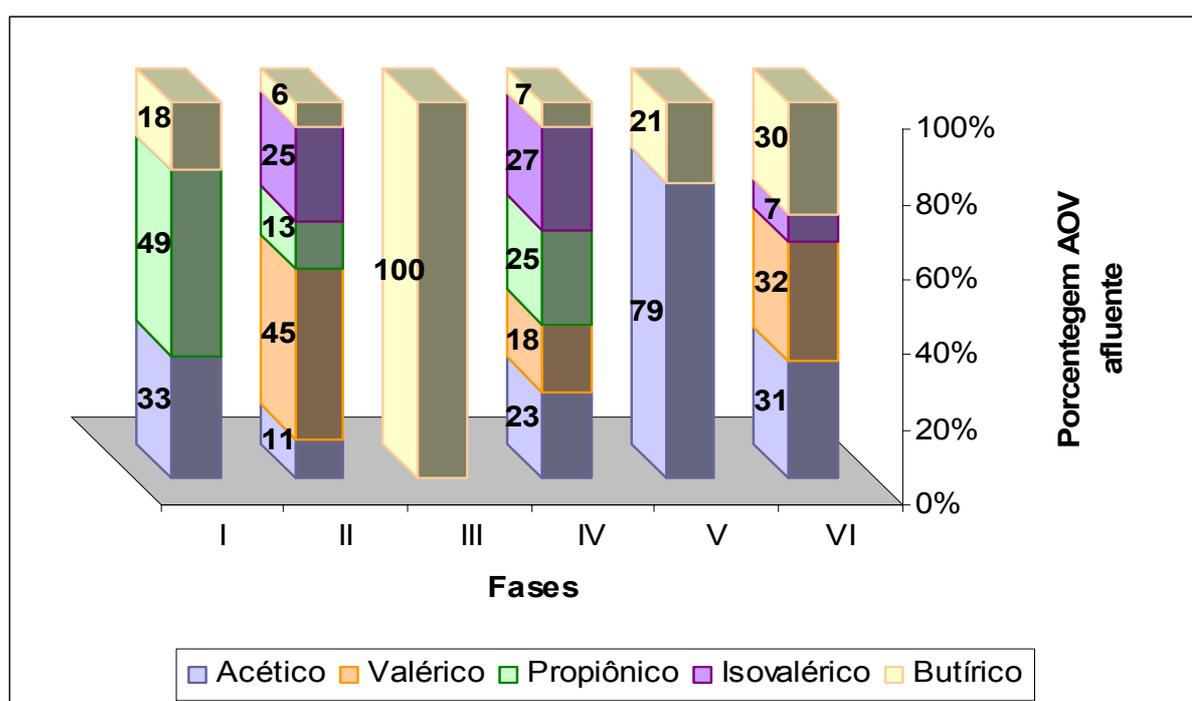


Figura 4.13 – Porcentagem dos AOVs no afluente em função das fases de operação do reator.

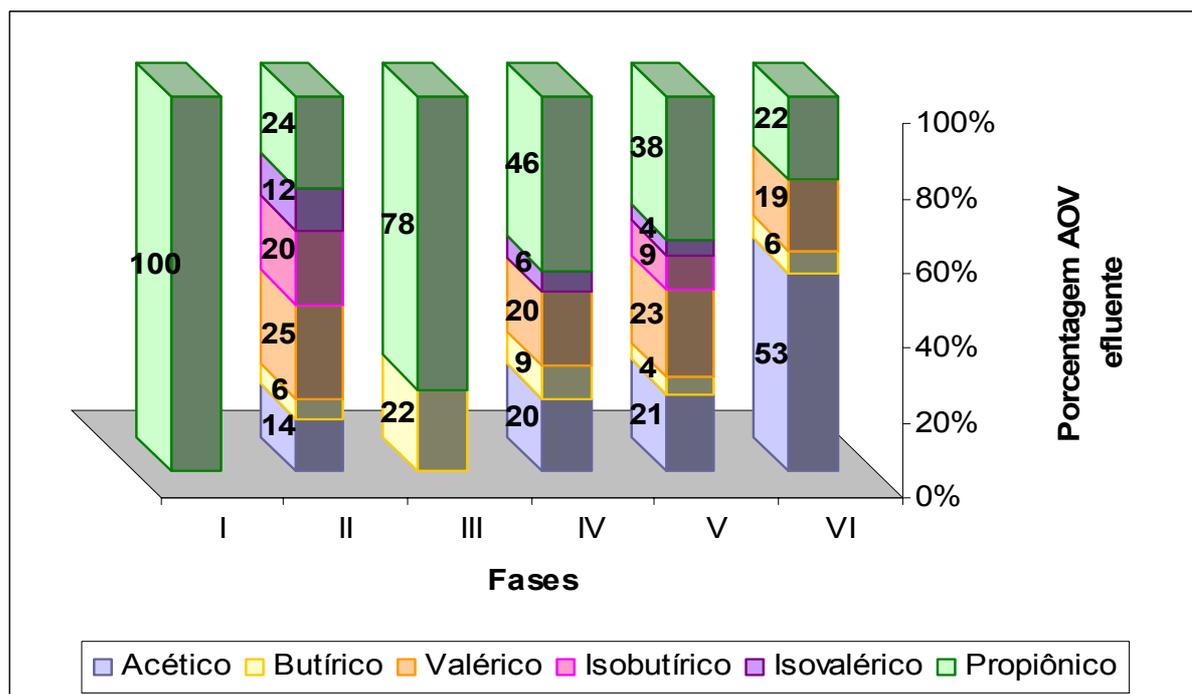


Figura 4.14 – Porcentagem de AOVs no efluente em função das fases de operação do reator.

Observa-se, na Figura 4.14, que ao longo do período de operação do reator foi constatado acúmulo de ácidos orgânicos no efluente sendo que ácido propiônico esteve presente em todas as fases, com predomínio na Fase I, ou seja, 100 % de presença.

O mesmo estava em maior quantidade nas pesquisas de Souza et al. (1992) e Damiano (2005) enquanto que na de Viana (2006) e Ribas (2006) houve oscilação entre ácido acético e ácido propiônico de acordo com a fase.

A Fase II apresentou grande diversidade de ácidos orgânicos no efluente, assim como no afluente (Figura 4.13), isto é, valérico (25,04 %), propiônico (24,13%), isobutírico (19,62 %), acético (14,02 %), isovalérico (11,63 %) e butírico (5,55%).

Na Fase III, encontram-se ácidos propiônico (78,21 %) e butírico (21,79 %).

A Fase IV, em relação à fase anterior, voltou a apresentar um maior número de ácidos como propiônico (46,26 %), valérico (19,62 %), acético (19,51 %), butírico (8,67 %) e isovalérico (5,94 %).

Na Fase V foram encontrados acúmulo de ácidos propiônico (38,14 %), valérico (23,45 %), acético (20,63 %), isobutírico (9,26 %), butírico (4,50 %) e

isovalérico (4,02 %) e, finalmente, na Fase VI teve acúmulo de ácidos acético (52,95%) valérico (19,00 %), propiônico (22,16 %), e butírico (5,89 %).

Pode-se inferir da Tabela 4.9 que, apesar da predominância (100 %) do ácido butírico na Fase III do afluente e do ácido propiônico na Fase I do efluente, estes apresentaram maiores acúmulos na Fase VI do afluente (378,45 mg/L) e Fase V do efluente (921,94 mg/L), respectivamente. Há grande dificuldade em afirmar quais ácidos presentes no efluente tiveram origem no afluente e quais foram produzidos, mas pode-se notar que os microrganismos presentes no sistema apresentaram capacidade de metabolizar os ácidos voláteis presentes na vinhaça com o aumento crescente da TCO aplicada. Outro fato importante observado foi a diferença na concentração de ácidos voláteis totais acumulados em cada fase quando comparados aos ácidos orgânicos voláteis obtidos por cromatografia gasosa. Nota-se que os valores de AVT obtidos pelo método titulométrico apresentaram valores mais elevados, fato esse, provavelmente relacionado à imprecisão do método.

O acúmulo de acetato observado, durante as condições de choque de carga e/ou estresse, ocorre provavelmente devido às limitações cinéticas dos microrganismos metanogênicos. O acúmulo de acetato e hidrogênio na fase líquida pode, por sua vez, desencadear limitações termodinâmicas e conseqüentemente acúmulo de propionato e butirato (AQUINO et al., 2005).

Os ácidos butírico e propiônico são geralmente produzidos por clostridio e propionibactéria, respectivamente, a partir de substratos simples tais como açúcares, ácido láctico, glicerol, etc., de acordo com as fases da fermentação, enquanto que o etanol, principal componente da vinhaça, conduz a formação de ácidos butírico, valérico, capróico e heptanóico (BORIES et al., 2007).

O tempo ótimo para formação do ácido acético é de um a dois dias para carregamentos médios. Longos TDHs resultam em quantidades em excesso de ácido acético e formação dos ácidos butírico e propiônico, que são metabolizados em velocidades muito menores (BLONSKAJA et al., 2003). O decaimento mais rápido da população metanogênica, por crescer mais lentamente que as populações hidrolíticas e fermentativas, resulta em desbalanceamento inicial entre a produção e o consumo de ácidos podendo explicar o acúmulo de ácido propiônico, que ocorre porque os microrganismos hidrogenotróficos não conseguem consumir todo hidrogênio produzido (RIBAS, 2006).

Tabela 4.9 – Valores médios dos ácidos orgânicos voláteis no afluente efluente durante operação do RALF.

Fases	TCO média aplicada (kg/m ³ .d)	TCO média removida (kg/m ³ .d)	AOV afluente (mg/L)					AOV efluente (mg/L)					
			Acético	Butírico	Valérico	Propiônico	Isovalérico	Acético	Butírico	Valérico	Propiônico	Isobutírico	Isovalérico
I	3,33 ± 0,34	1,78 ± 0,47	208,20	114,12	-	315,00	-	-	-	-	228,96	-	-
II	6,68 ± 0,92	4,43 ± 0,58	204,13	124,41	873,77	251,66	479,97	157,51	62,39	281,33	271,08	220,36	130,60
III	10,33 ± 1,09	6,14 ± 0,99	-	58,53	-	-	-	-	61,51	-	220,74	-	-
IV	14,44 ± 1,51	9,46 ± 1,07	254,30	72,92	200,90	281,87	303,06	166,41	73,96	167,33	394,51	-	50,65
V	19,87 ± 2,62	13,93 ± 2,18	309,16	82,75	-	-	-	498,67	108,66	566,80	921,94	223,87	97,26
VI	26,19 ± 2,14	13,32 ± 2,35	396,36	378,45	405,56	-	95,40	664,80	73,94	238,54	278,29	-	-

O perfil temporal de ácidos orgânicos realizado por Ribas (2006) para uma TCO de 6,4 kg/m³.d revelou que a finalização na produção de ácidos ocorria após 20 horas do início da batelada. Ácido propiônico se acumulou no reator alcançando 329 mg/L com lento consumo. Na pesquisa atual, para essa mesma faixa de TCO (Fases II e III), detectou-se acúmulo de 491,82 mg/L como apresenta a Tabela 4.9.

Segundo pesquisa realizada por Fernández et al. (2007), ligeiros aumentos nas concentrações de ácidos propiônico (28 a 98 mg/L) e acético (60 a 131 mg/L) foram observados (ácido butírico não foi detectado), no efluente, quando a TCO aumentou de 5 para 20 kgDQO/m³.d em ambos os RALFs operados. Além disso, as concentrações máximas de AOV atingidas na maior TCO estudada foram sempre menores do que a concentração máxima tolerada (500 mg/L, como ácido acético) para os microrganismos metanogênicos, que é claramente indicativo de populações balanceadas de microrganismos acidogênicos e metanogênicos (FANNIN, 1987). Fato este observado na pesquisa atual (Tabela 4.9) que apresentou aumentos progressivos, menores que 500 mg/L, para as concentrações de ácido acético efluente com aumento da TCO de 3,33 a 19,87 kgDQO/m³.d. Por outro lado, na Fase VI detectou-se concentração de ácido acético de 664,80 mg/L, refletindo a instabilidade ocorrida nesta fase por motivos citados anteriormente. Além disso, de acordo com Hill e Bolte (1987), concentração de ácido acético acima de 800 mg/L aponta para a possibilidade de falência do sistema. Hill e Holmeberg (1988) também consideram que outros AOV, tais como o ácido butírico, são indicadores precisos de condições de estresse.

Goyal et al. (1996), por sua vez, observaram que a fração de ácido propiônico no efluente do reator metanogênico aumentou significativamente com o aumento na TCO. Durante toda a operação, ácidos acético, propiônico e butírico variaram entre 483 a 1.390 mg/L, 403 a 2.134 mg/L e 55 a 112 mg/L, respectivamente. Para a TCO de 21,29 kgDQO/m³.d, embora a concentração de ácido propiônico no efluente do reator tenha aumentado para 2.134 mg/L e 1.390 mg/L para o ácido acético, ainda assim o desempenho do sistema mostrou-se satisfatório (67,11 %), não apresentando inibição devido aos níveis elevados destes ácidos.

Estudos de desnitrificação, através de experimentos em bateladas (bioreatores) e em lagoas de evaporação, também foram realizados por Borjes et al. (2007) a fim de prevenir a produção de ácidos orgânicos voláteis da vinhaça de

vinho (DQO de 22.300 mg/L). Na ausência de nitrato, ácido butírico (2.304 mg/L), acético (1.633 mg/L), propiônico (1.558 mg/L), caprótico (499 mg/L) e valérico (298 mg/L) foram acumulados através da fermentação dos compostos de carbono na vinhaça (açúcares, etanol, glicerol e ácidos orgânicos). Para razões NO_3/DQO 0,4 e 0,8 não houve acúmulo de ácidos valérico e caprótico, enquanto que para a razão NO_3/DQO 1,2 houve somente um pequeno acúmulo de ácido butírico (59 mg/L). No fim do período de máximo descarte na lagoa, não foram observados acúmulos de nenhum tipo de AOV na lagoa suprida com nitrato, enquanto que, na lagoa com ausência de nitrato, houve acúmulo dos ácidos acético (822 mg/L), propiônico (211 mg/L), butírico (354 mg/L), valérico (178 mg/L), caprótico (83 mg/L) e heptanóico (69 mg/L) com concentrações menores que as dos testes em batelada devido, provavelmente, as diluições com as chuvas de outono e eventual degradação pela microflora da lagoa.

Outros parâmetros monitorados durante operação do reator foram os sólidos totais, fixos totais, voláteis totais e suspensos voláteis.

A Figura 4.15 apresenta o perfil de sólidos totais ao longo dos dias de operação.

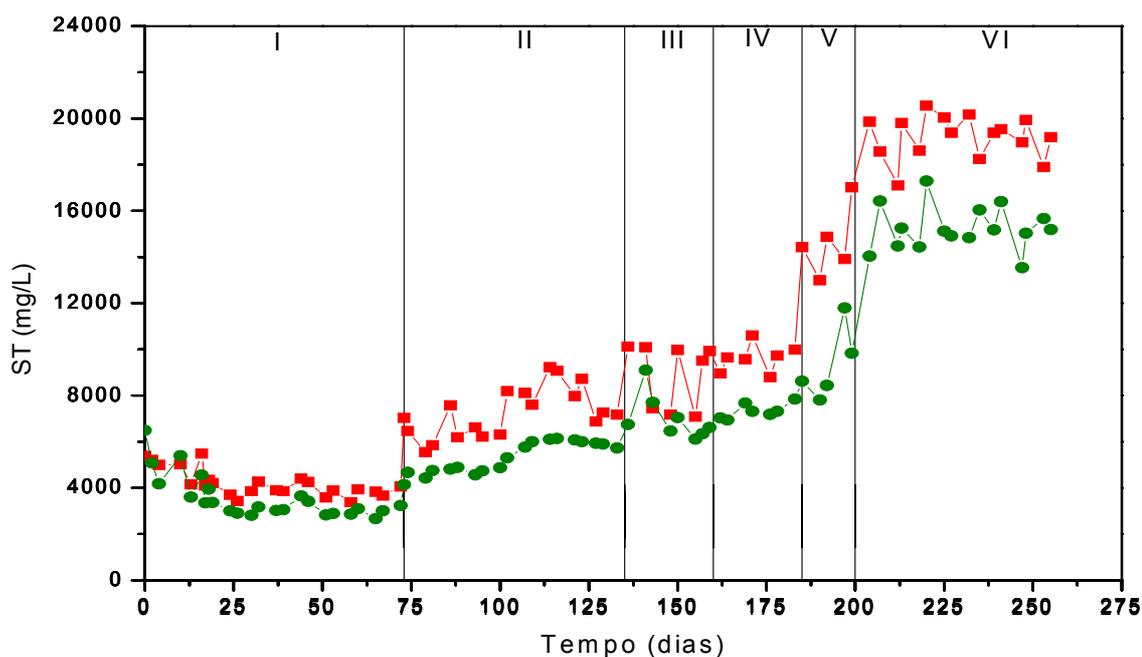


Figura 4.15 – Monitoramento de sólidos totais afluente (■) e efluente (●) ao longo dos dias de operação do RALF.

Nos primeiros dias de operação do RALF, os sólidos totais no efluente apresentaram superior (6.486 mg/L) ao afluente (5.386 mg/L) provavelmente devido à partida do reator onde o efluente apresentou com grande quantidade de lodo devido o período de adaptação que ocorreu no próprio reator. A partir do 19º dia de operação, os sólidos totais afluente (4.208 mg/L) passaram a ser superiores ao efluente (3.372 mg/L) permanecendo superiores durante toda a operação do reator.

A Figura 4.16 apresenta o monitoramento dos sólidos fixos totais durante a operação do reator.

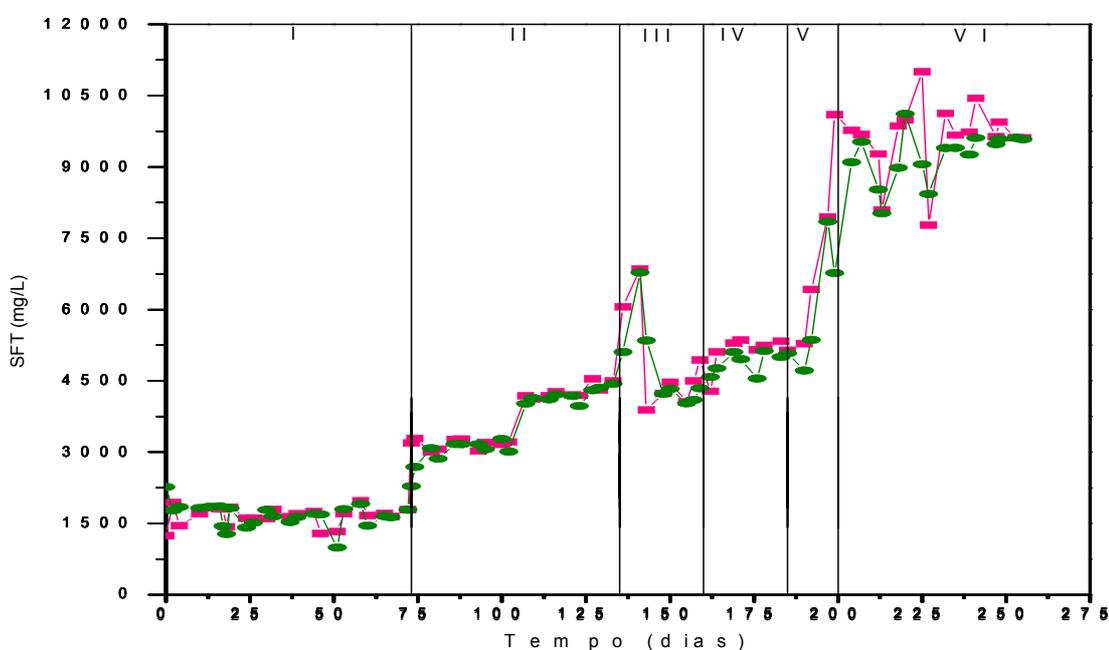


Figura 4.16 – Monitoramento da concentração de sólidos fixos afluente (■) e efluente (●) ao longo do período de operação do reator.

Observa-se, na Figura 4.16, que a vinhaça possui grande quantidade de material inerte aumentando, de 1.410 mg/L a 10.116 mg/L para o efluente, com o aumento da concentração de vinhaça, 2.273 mg/L a 20.073 mg/L, e permanecendo praticamente constante em cada fase de operação. Estes sais, mesmo após queima em 500°C, não sublimam, apresentando altos valores de sólidos fixos totais. Nota-se que praticamente a quantidade de sólidos fixos totais que foi alimentada ao sistema

encontra-se no efluente, ou seja, concentrações efluentes sobrepostas as do afluente, não se degradando.

A grande quantidade de areia que depositou no topo do reator mostrou que a vinhaça possui grande quantidade de sólidos fixos totais necessitando de um pré-tratamento para posterior tratamento no reator.

Balaguer et al. (1997) em seu trabalho sobre a comparação de diferentes materiais suportes em reatores anaeróbios de leito fluidizado para o tratamento da vinhaça observaram concentrações significativas de sólidos totais no efluente, consistindo principalmente de material inerte presente no afluente o qual foi lavado.

Outros parâmetros importantes analisados são os sólidos voláteis totais (Figura 4.17).

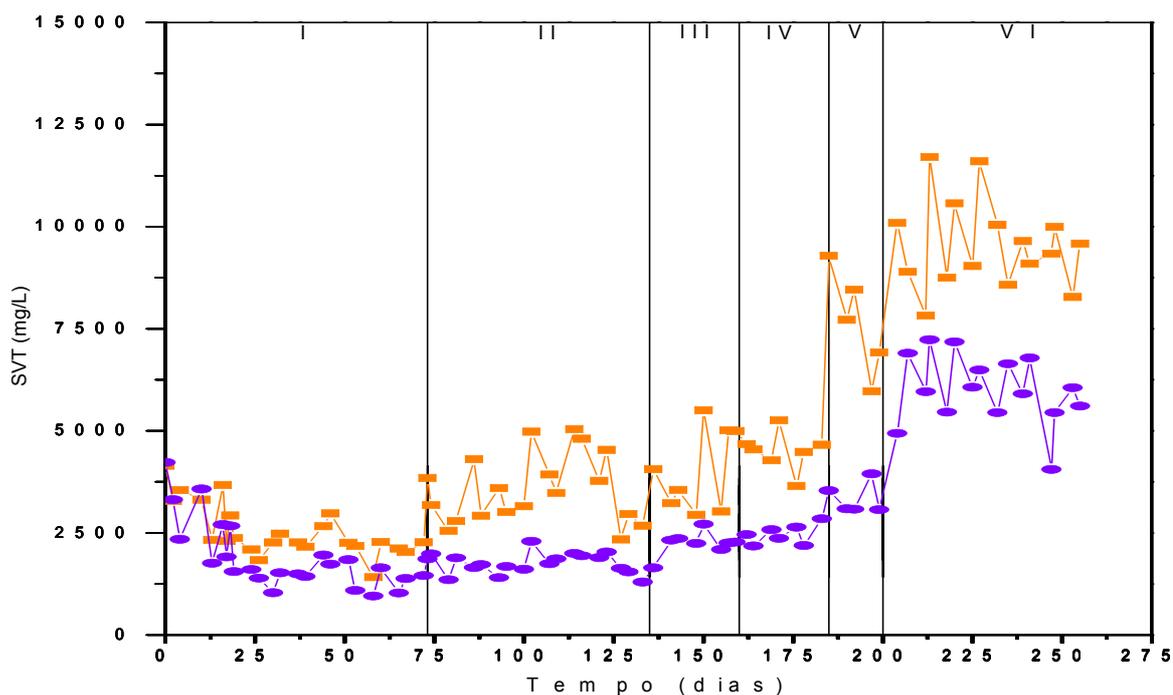


Figura 4.17 – Monitoramento da concentração de sólidos voláteis no afluente (■) e efluente (●) ao longo das fases de operação do reator.

Embora alguns pesquisadores meçam os sólidos voláteis totais como um índice de biomassa aderida, o índice também considera matéria orgânica inerte,

como metabólitos sólidos, e biomassa inativa por isso não está diretamente relacionada à atividade de degradação (PEREZ et al., 2001).

Devido a isso, verifica-se na Figura 4.17 que a concentração de sólidos voláteis totais no afluente foi superior ao efluente aumentando com o aumento da TCO aplicada, isto é, de 2.598 para 7.871 mg/L.

Diez Blanco et al. (1995), ao estudarem os efeitos do crescimento do biofilme, velocidades do gás e líquido na expansão de um RALF contendo sepiolita como suporte, descobriram que o desenvolvimento do biofilme tem o efeito mais importante no comportamento hidrodinâmico. Assim, realizaram um perfil de SVT do fundo ao topo do reator e concluíram que, no topo, o crescimento é mais rápido e a concentração de SVT (3.000 a 14.000 mg/L, aproximadamente) aumentou com a TCO (2 a 35 kgDQO/m³.d). Nos níveis mais baixos, o crescimento microbiano é mais lento, alcançando apenas metade a um terço do que na superfície e permaneceu praticamente constante quando a TCO foi aumentada.

Damiano (2005) mediu os sólidos voláteis totais aderidos ao meio suporte, ao final de cada fase, e obteve valores crescentes indicando biomassa ativa no sistema. Fato este ocorrido no presente trabalho (Figura 4.17), apesar da biomassa ativa na Fase III não ter aumentado com o aumento da concentração devido acúmulo de ácidos voláteis nesta fase.

Com o fim da operação do reator, avaliou-se, também, a quantidade de biomassa imobilizada no seu interior. Quantidade representativa do suporte (aproximadamente 10 g) foi extraída do reator e o conteúdo de sólido volátil total foi determinado, indicando uma concentração total de biomassa de 4,85 gSVT/g_{suporte}.

Os sólidos suspensos totais, fixos e voláteis foram monitorados ao longo das fases de operação do reator conforme dados da Tabela 4.10.

Tabela 4.10 – Monitoramento dos sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no efluente ao longo das fases de operação do reator.

Fases	TCO média aplicada (kgDQO/m ³ .d)	Eficiência de redução de DQO (%)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	SSF (mg/L)
I	3,33 ± 0,34	53 ± 12	336 ± 142	240 ± 82	150 ± 215
II	6,68 ± 0,92	67 ± 7	592 ± 128	442 ± 68	174 ± 40
III	10,33 ± 1,09	59 ± 6	459 ± 250	410 ± 253	92 ± 54
IV	14,44 ± 1,51	66 ± 3	1.172 ± 519	878 ± 426	294 ± 150
V	19,87 ± 2,62	70 ± 4	1.625 ± 389	850 ± 410	775 ± 21
VI	26,19 ± 2,14	51 ± 8	2.669 ± 217	1.759 ± 179	910 ± 96

Nota-se na Tabela 4.10 que os SST, SSF e SSV permaneceram praticamente constantes até a Fase III, aumentando suas concentrações a partir da Fase IV, e que a maior contribuição dos SST foi dos SSV. Observa-se também um provável arraste de SSF na Fase V devido à grande quantidade em relação à fase anterior.

Concentrações de sólidos suspensos totais praticamente constantes também foram obtidas por Garcia-Calderon et al. (1998), mas durante toda a operação do reator de leito fluidizado de fluxo descendente os SST no efluente (aproximadamente 1.600 mg/L) foram cerca de 50 % maior que no afluente (680 mg/L, aproximadamente). Esta diferença pode ser devido ao fato que os sólidos suspensos precipitam dentro do reator, pois durante a operação observou-se que alguns sólidos acumularam no fundo do sistema. Apesar disso é possível que alguns desses sólidos sejam degradados dentro do reator.

Sabe-se que os sólidos suspensos voláteis são também responsáveis pela carga orgânica e, portanto, pelo potencial poluidor do efluente (Figura 4.18).

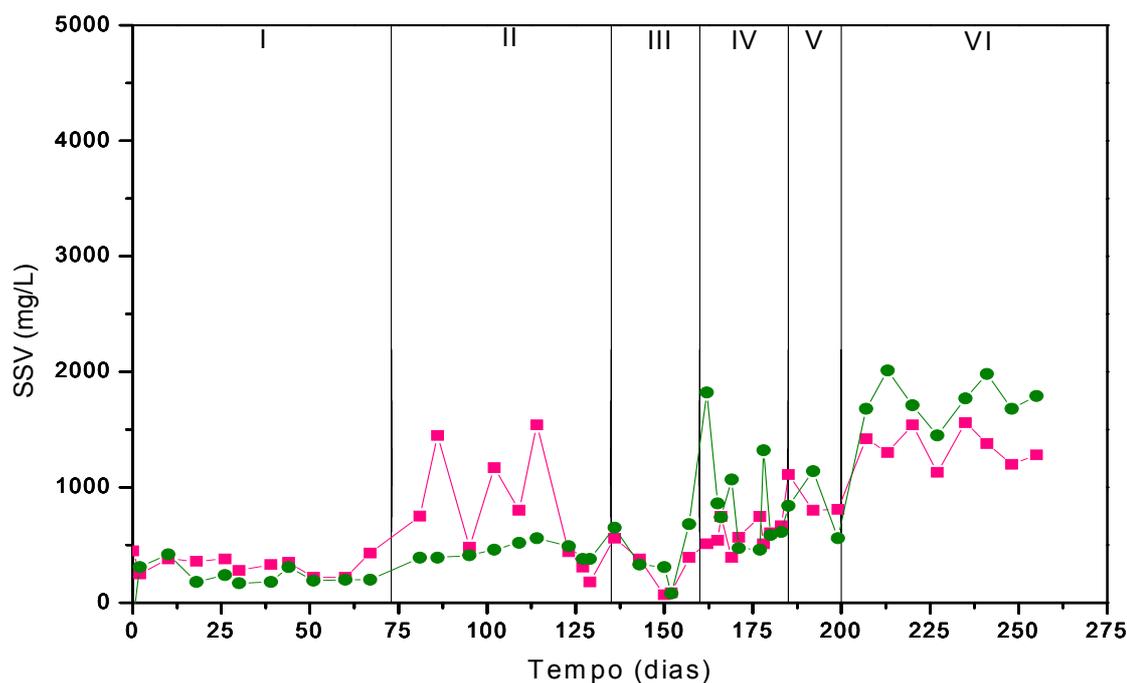


Figura 4.18 – Monitoramento da concentração de sólidos suspensos voláteis afluente (■) e efluente (●) ao longo do período de operação do reator.

Observa-se que as concentrações de SSV no efluente mantiveram-se praticamente constantes e inferiores a afluente até a Fase III, com concentração média até esta fase de 351 mg/L. A partir da Fase IV, aumentos nas TCO de 14,44 a 26,19 kgDQO/m³.d, elevaram-se as concentrações de SSV no efluente de 878 a 1.759 mg/L (Tabela 4.10).

Pérez-García et al. (2005) ao compararem o desempenho de um reator anaeróbio de filme fixo e fluxo ascendente (suporte plástico enrugado) com um RALF (suporte Siran), ambos tratando vinhaça de vinho, obtiveram ligeiros aumentos para as concentrações de SSV com o aumento de TCO em ambos reatores. O RALF apresentou uma média de SSV de 210 a 610 mg/L para TCO de 11,16 a 32,31 kgDQO/m³.d, enquanto que no outro reator as concentrações de SSV foram maiores, variaram entre 1.090 a 1.520 mg/L para TCO entre 6,29 a 19,04 kgDQO/m³.d. A pesquisa atual, que também apresentou aumento na concentração média de SSV no efluente com a TCO aplicada em cada fase (Figura 4.19), apesar de trabalhar com RALF, a faixa de concentração de SSV obtida, a partir da Fase IV,

foi semelhante à encontrada pelo reator de filme fixo, provavelmente, devido ao tipo de suporte utilizado e as diferentes características das vinhaças utilizadas.

Observa-se na Figura 4.19 que a partir da Fase IV houve aumento dos SSV no efluente com o aumento da TCO aplicada real. Provavelmente, o aumento da TCO afetou a etapa da hidrólise e, também, pode ter ocorrido desprendimento do biofilme.

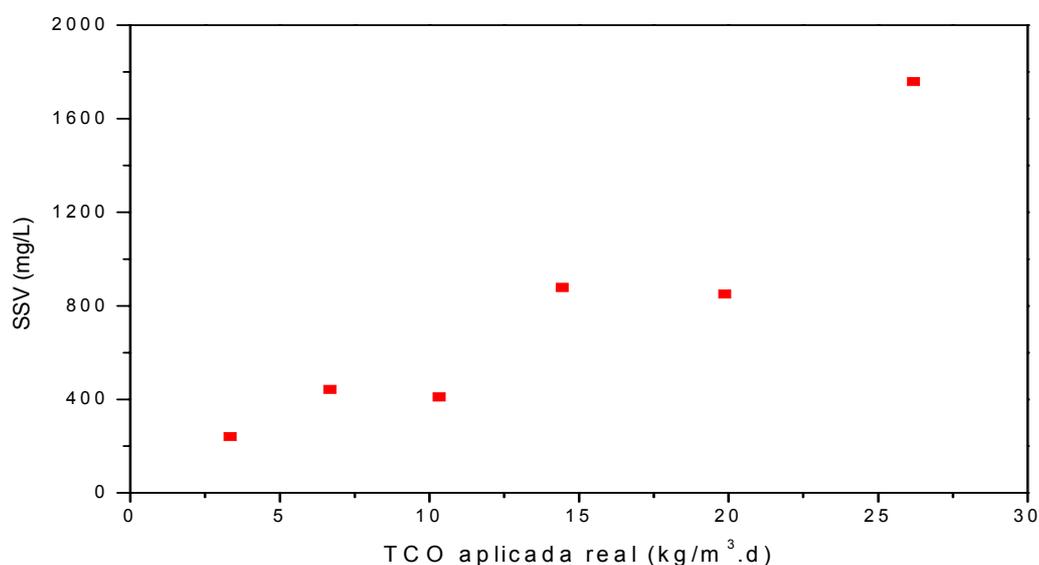


Figura 4.19 – Efeito da TCO aplicada real sobre SSV no efluente.

4.3.3. Análises microbiológicas da biomassa imobilizada ao longo das fases de operação

Durante o período de operação do RALF, análises microbiológicas dos meios suportes foram realizadas para que fosse possível o monitoramento da formação do biofilme com o aumento da concentração de vinhaça afluente em cada fase e, portanto, avaliar a variedade de microrganismos contidos na biomassa que foram imobilizados no suporte.

As Figuras 4.20 e 4.21 apresentam as morfologias encontradas em amostras de poliestireno, em algumas fases de operação do reator, através de microscopia eletrônica de varredura e contraste de fase, respectivamente.

Exames microscópios da biomassa aderida ao meio suporte revelaram presença de bacilos retos, bacilos curvos, cocos, leveduras, filamentos e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.* Observou-se que morfologias semelhantes à *Methanosarcina sp.*, encontradas durante período de adaptação, não foram observadas ao longo da operação do reator, tendo ocorrido, provavelmente, seleção dos microrganismos. Por outro lado, após início da suplementação com uréia e NaH_2PO_4 (fim da Fase II e início da Fase III) para favorecer o bom funcionamento do sistema e assegurar condições nutricionais adequadas, houve um aumento na quantidade de morfologias semelhantes à *Methanosaeta sp.* (Figura 4.20 c) que indicaram que, apesar das instabilidades ocorridas durante a operação do reator, havia atuação das arqueias metanogênicas. Na Fase VI, observou-se presença de cocos, bacilos retos e bacilos curvos (Figura 4.21 d) semelhantes a bactérias redutoras de sulfato (BRS) as quais podem estar relacionadas às instabilidades ocorridas no início desta fase.

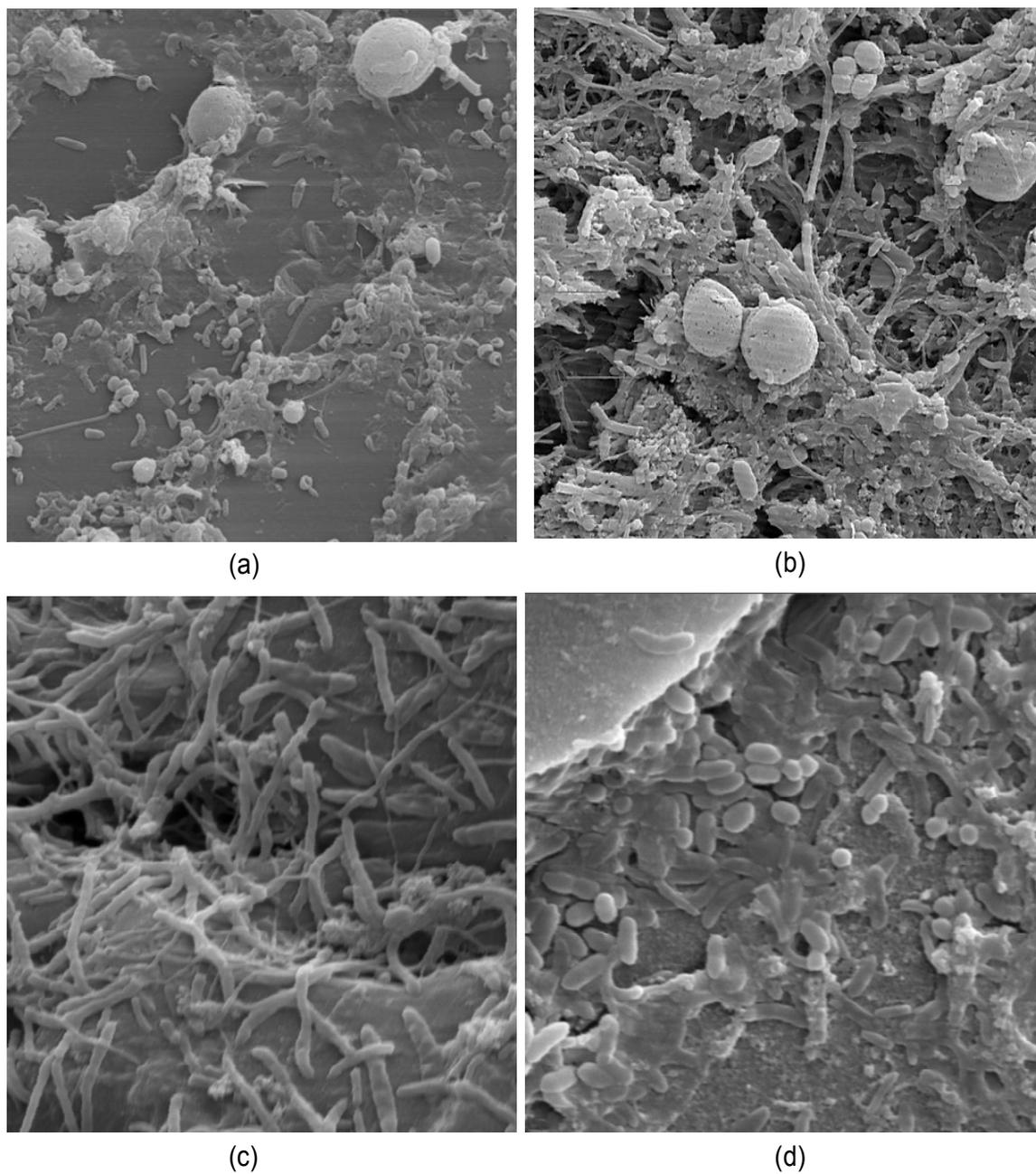


Figura 4.20 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura: (a) bacilos curvos – Fase II, (b) bacilos, cocos e morfologias semelhantes à *Methanosaeta* – Fase II, (c) morfologias semelhantes à *Methanosaeta* – Fase III e (d) bacilos retos, curvos e cocos – Fase V.

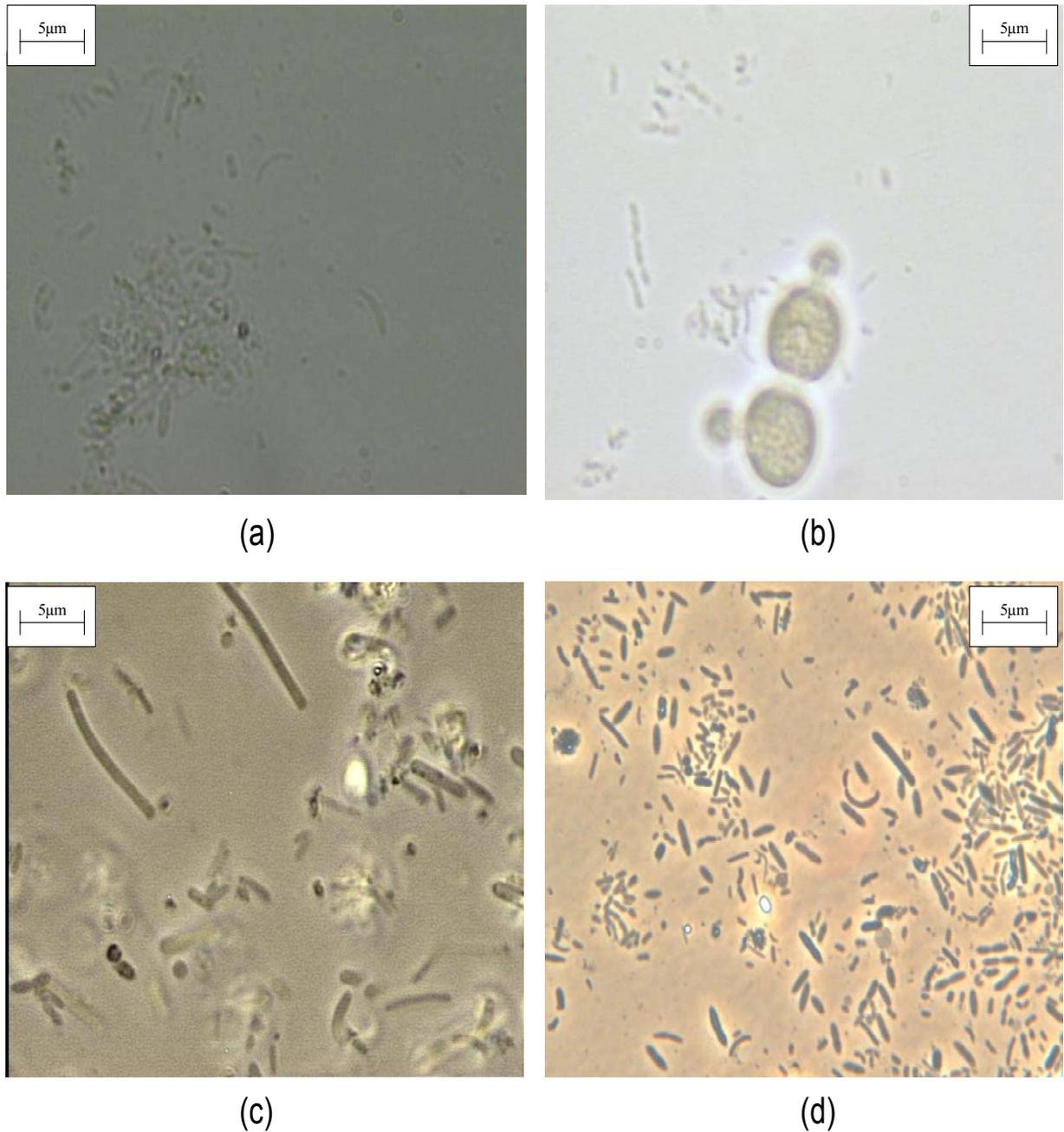


Figura 4.21 – Microscopias de contraste de fase durante alguns períodos de operação do RALF: (a) bacilos curvos – Fase I, (b) leveduras e bacilos – Fase I, (c) filamentos e cocos – Fase III e (d) presença de bacilos curvos, bacilos retos e cocos – Fase VI.

Harada et al. (1996) ao estudarem o tratamento termofílico da vinhaça de cana observaram através de microscopia eletrônica de varredura que *Methanosarcina* estavam presentes em abundância, enquanto que *Methanosaeta*

(*Methanotherix*) existiam numa extensão muito pequena. Embora os autores tenham induzido o predomínio de *Methanosaeta*, a bactéria não se tornou uma metanogênica predominante nos grânulos termofílicos. Provavelmente, *Methanosaeta* termofílica seja mais sensível aos compostos tóxicos/refratários na vinhaça do que é *Methanosarcina* termofílica.

Outra pesquisa realizada em condição termofílica tratando anaerobiamente vinhaça de destilaria de vinho notificou a presença de formas filamentosas morfológicamente semelhantes à *Methanosaeta* e *Methanosarcina sp.*, bacilos e cocos em biofilme formado sobre Siran, utilizado como material suporte (PÉREZ et al., 2006).

Ao final da operação do ASBBR por Ribas (2006), os biofilmes formados sobre espumas de poliuretano tratando vinhaça de cana sob condições termofílicas e mesofílicas foram analisados. Observou-se colonização metanogênica predominante de formas semelhantes a arqueia do gênero *Methanosarcina* sob condição termofílica e *Methanosaeta* sob condição mesofílica. Estas predominantes na pesquisa atual durante a operação do reator após ter ocorrido seleção das *Methanosarcinas* no final do estágio de adaptação. O mesmo foi obtido por Damiano (2005), ou seja, observou presença de bacilos retos, ovalados, cocos e morfologias semelhantes à *Methanosaeta sp.*

Ao final da operação do reator, partículas de poliestireno foram retiradas de três amostradores, nomeados x, y e z e situados a 22 cm, 71,5 cm e 112 cm da base do reator, respectivamente, para que fosse possível obter o perfil da biomassa aderida ao suporte ao longo da altura do leito (Figura 4.22).

As partículas coletadas na base do leito (x) apresentaram poucos bacilos e grande quantidade de filamentos. Na região intermediária do leito (y) foram encontrados bacilos espiralados e grande quantidade de uma “massa compacta de microrganismos” enquanto que no topo do leito (z) houve predomínio de bacilos retos, alguns cocos e bacilos curvos. Apesar da grande quantidade de nutrientes que chega na base do leito, os microrganismos apresentaram-se melhor desenvolvidos no topo do leito, provavelmente, devido a turbulência ocorrida na parte inferior, ocasionando desprendimento da biomassa.

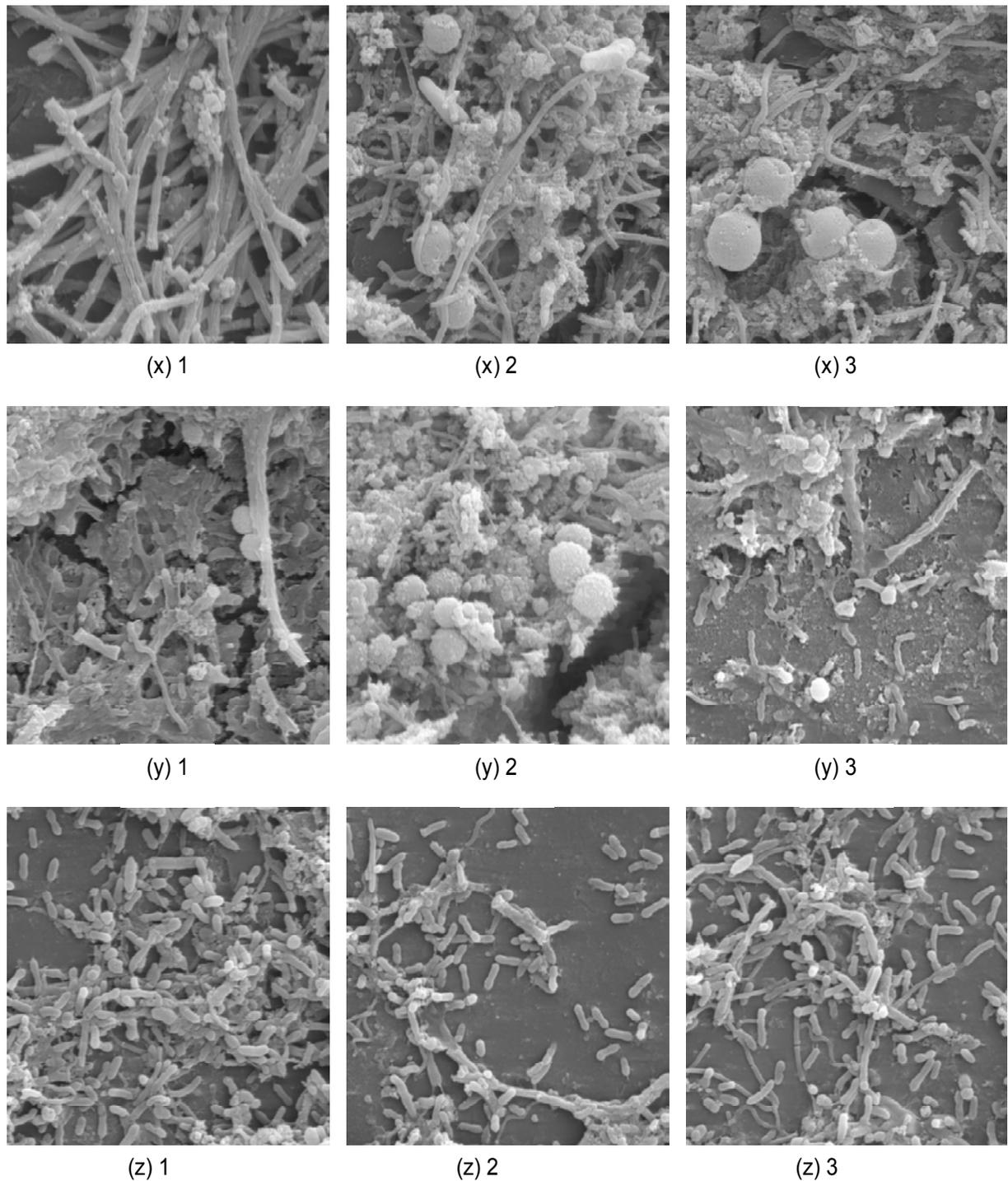


Figura 4.22 – Perfil de biomassa ao longo do leito do RALF (Fase VI).

Fernández et al. (2007) ao avaliarem os biofilmes formados sobre o material suporte (zeólitas), durante o tratamento mesofílico da vinhaça em RALFs, observaram que a superfície do suporte possuía uma massa compacta de microrganismos, principalmente na forma de bacilos e filamentos, que estavam

contidas em uma matriz que as mantinham juntas. Algumas estruturas cristalinas amorfas que podem ser formadas pela precipitação de sais de compostos inorgânicos, tais como carbonatos e minerais cristalinos (MgNH_4PO_4) também puderam ser vistas no biofilme. Em menor extensão, outros microrganismos foram observados como aqueles morfologicamente parecidos com cocos e sua peculiar colônia em forma de sarcinas, que pode presumivelmente ser *Methanosarcina*. A massa compacta obtida pelos autores também pode ser vista na pesquisa atual como a apresentada na Figura 4.22 (x) e (y).

4.3.4. Análise da produção e concentração de biogás

Durante toda a operação do reator, observou-se a ocorrência da expansão do leito não somente pelo acúmulo de biomassa que aumenta o volume da partícula e modifica sua densidade, mas também pela produção de gás. Bolhas de gás atravessando o meio suporte foram observadas contribuindo para mistura completa do meio. Alguns autores têm observado que na fluidização trifásica inversa, a expansão do leito aumenta quando a vazão de gás aumenta e que as partículas podem, até mesmo, serem fluidizadas somente pelo gás (LEGILE et al., 1988 *apud* GARCIA-CALDERON, et al., 1998).

As análises da produção de biogás foram feitas a partir do 61º dia de operação do reator, no final da Fase I, enquanto a quantificação do metano presente no biogás foi feita a partir do 62º dia.

Inicialmente, o rendimento teórico máximo de metano foi calculado ($0,382 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgDQOremovida}$), apresentado na Figura 4.23 pela linha vermelha, para que fosse possível a comparação com o rendimento ao longo das fases de operação do reator.

Observou-se que o rendimento de metano, na Fase I, média de $0,623 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgDQOremovida}$, foi superior ao rendimento teórico reduzindo-se e mantendo-se praticamente constante nas fases seguintes. Apesar das oscilações em torno do rendimento teórico máximo, o rendimento médio de metano em toda a operação do sistema foi de $0,386 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgDQOremovida}$, praticamente igual ao teórico, indicando bom desempenho do RALF para o processo anaeróbio.

Durante o estudo do desempenho de digestores anaeróbios de fluxo ascendente no tratamento da vinhaça, Souza (1986) observou que o rendimento de metano foi menor que o teórico em toda a pesquisa, ou seja, obteve rendimento médio de $0,314 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgDQOremovida}$ e teórico de $0,406 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgDQOremovida}$. Essa diferença foi relacionada às prováveis perdas de gás que foram observadas na superfície do digestor.

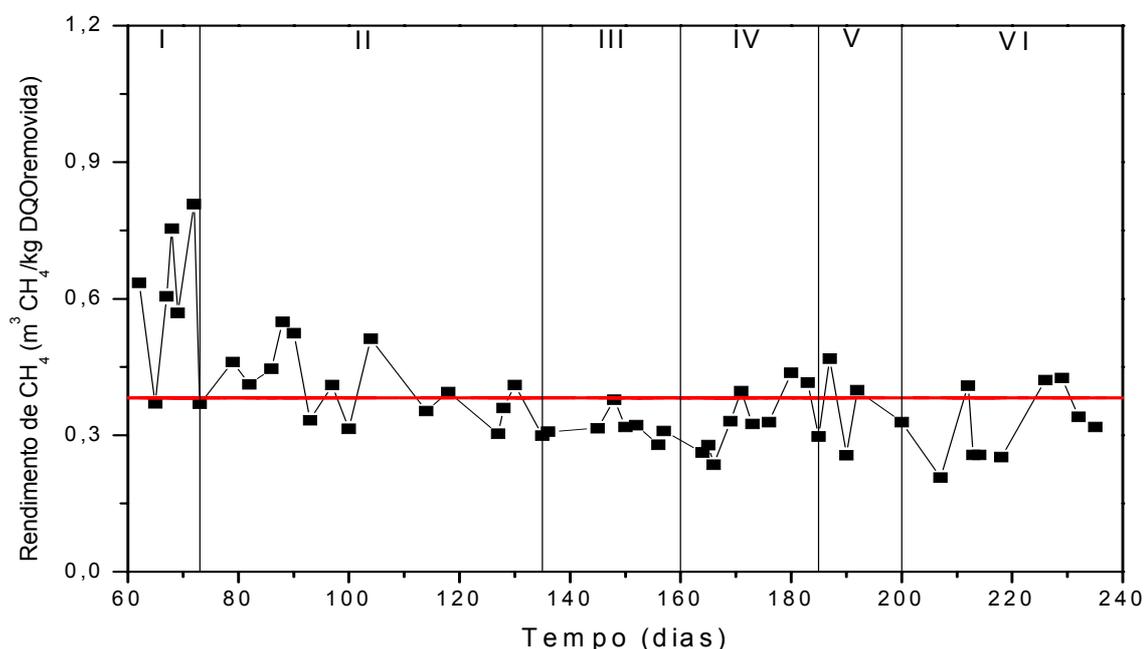


Figura 4.23 – Variação do rendimento de metano (■) e do rendimento máximo teórico (-) ao longo dos dias de operação do reator.

A Figura 4.24 apresenta a produção e a produtividade de biogás ao longo das fases de operação do reator.

O aumento gradativo na produção de biogás foi observado na Figura 4.24 ao longo das fases de operação do sistema e, também, como pode ser visto na Fase IV, sistema estável reflete diretamente na produção de biogás. Esta variou de 2,7 L/d a 17,8 L/d, com produtividade variando de 0,87 a $5,37 \text{ m}^3/\text{m}^3.\text{d}$, com algumas oscilações devido a quedas de energia e sifão formado no momento do deslocamento de líquido.

As oscilações ocorridas na Fase III devido ao acúmulo de AVT não foram sentidas na produção do biogás, apesar de não ter ocorrido aumento significativo em relação à Fase II enquanto que as ocorridas no início da Fase VI refletiram na sua redução vindo a recuperar-se somente no final desta fase (Figuras 4.24 e 4.25). Outro fato importante que provavelmente contribuiu para esta ligeira queda na produção de biogás da última fase tratando alta concentração de vinhaça foi a produção de sulfeto que, apesar de não ter sido calculada, o cheiro característico de enxofre produzido evidenciou a ocorrência da degradação do sulfato contido na vinhaça e, portanto, competição entre os microrganismos sulfetogênicos (BRS) e os metanogênicos. Redução no desempenho do reator anaeróbio híbrido na biodegradação da vinhaça nos TDHs mais elevados testados (7 e 8 dias) pode ser atribuído a redução do sulfato em sulfeto, que inibiu o metabolismo da bactéria metanogênica e reduziu a remoção de DQO de 70 para 60 % e a produtividade de metano de 2,9 para 1,5 m³/m³.d (KUMAR et al., 2007).

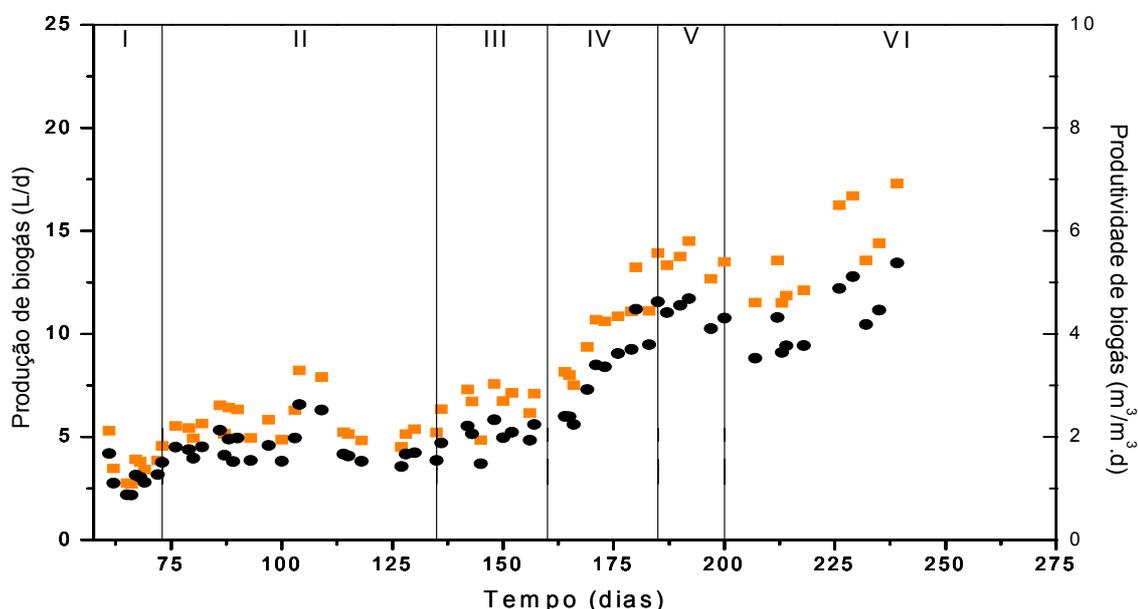


Figura 4.24 – Variação da produção (■) e da produtividade (●) de biogás no RALF com o tempo.

Pode-se observar na Figura 4.25 que o aumento na produção de biogás ao longo dos dias de operação acompanhou a linha de tendência de aumento da TCO

aplicada com as fases de operação do reator, refletindo as instabilidades ocorridas apenas na Fase VI. O mesmo pode ser observado para a produtividade de biogás (Figura 4.26), isto é, ligeira redução na produção do biogás durante o tempo de adaptação ao aumento de carga na última fase. Resultados semelhantes foram encontrados por Garcia-Calderon et al. (1998), isto é, todo aumento na TCO conduziu ao aumento na produção de biogás, exceto para 4 kgTCO/m³.d onde a produção de biogás diminuiu e aumentou novamente enquanto a TCO continuou aumentando.

Fernández et al. (2001) também notaram o aumento diretamente proporcional entre TCO e produção de biogás ao tratarem vinhaça de melaço de cana em RALFs com diferentes meios suportes (carvão ativado e zeólita natural) alcançando, em ambos reatores, produção de metano de aproximadamente 2 L/d para TCO de 10 kgDQO/m³.d. Para mesma carga aplicada, obteve-se na pesquisa atual uma produção média de biogás maior de 6,4 L/d (produtividade de biogás de 2,1 m³/m³.d) podendo estar relacionado ao tipo de suporte utilizado e características da vinhaça uma vez que o autor citado utilizou a de melaço de cana. Por outro lado, produtividade maior foi encontrada por Kumar et al. (2007) ao tratarem vinhaça em um reator híbrido, isto é, para uma TCO de 10 kgDQO/m³.d, 3,7 m³/m³.d de produtividade de biogás foi obtida.

Em pesquisa mais recente realizada por Fernández et al. (2007), utilizando zeólitas para tratamento da vinhaça em RALFs, notou-se que a atividade metanogênica dos microrganismos não foi prejudicada até mesmo para TCO tão alta quanto 20 kgDQO/m³.d devido as capacidades de tamponamento fornecidas pelos dois RALFs utilizados, ou seja, ambos reatores produziram, aproximadamente, 9 LCH₄/d para esta elevada TCO.

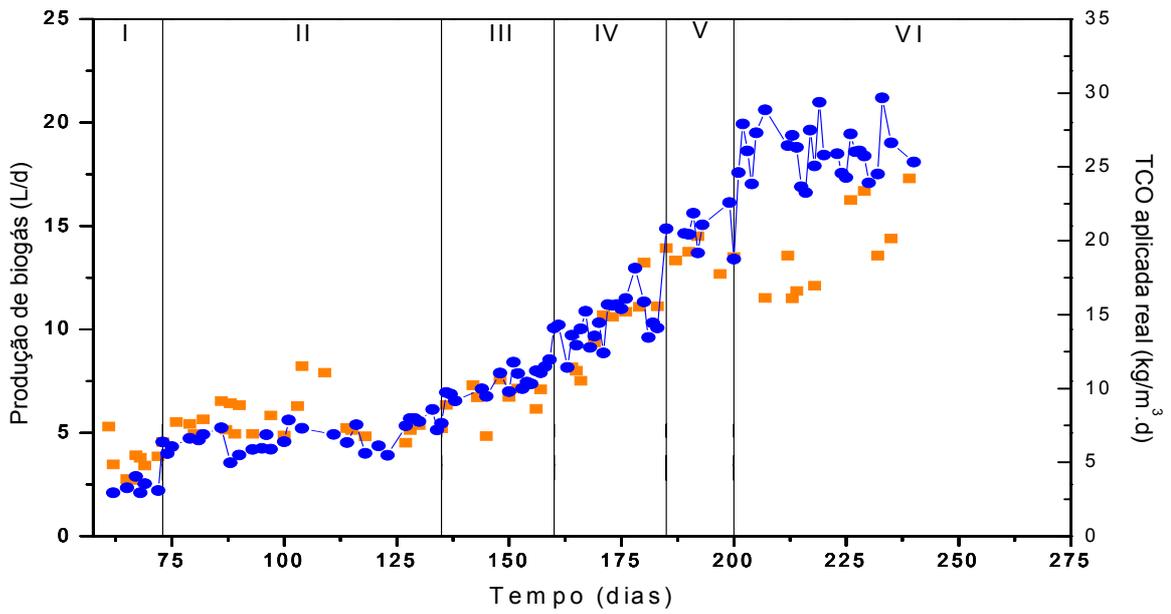


Figura 4.25 – Monitoramento da produção de biogás (■) ao longo das fases de operação e com a TCO aplicada real (●).

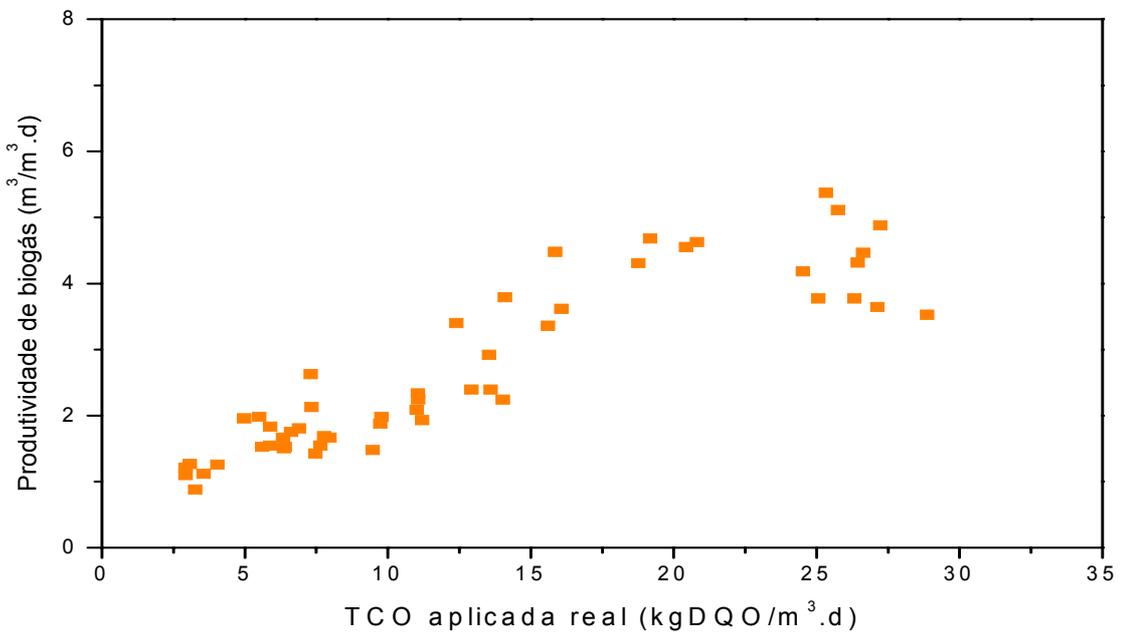


Figura 4.26 – Variação da produtividade de biogás com a TCO aplicada real.

Ao medir a concentração de metano do biogás gerado durante o tratamento da vinhaça no RALF, verificou-se variação de 0,53 mol/L a 11,57 mol/L,

respectivamente, no primeiro e último dia de medida, com o aumento de carga orgânica (Figura 4.27).

Observa-se que o aumento da TCO praticamente não alterou a concentração de CH_4 e a qualidade do biogás.

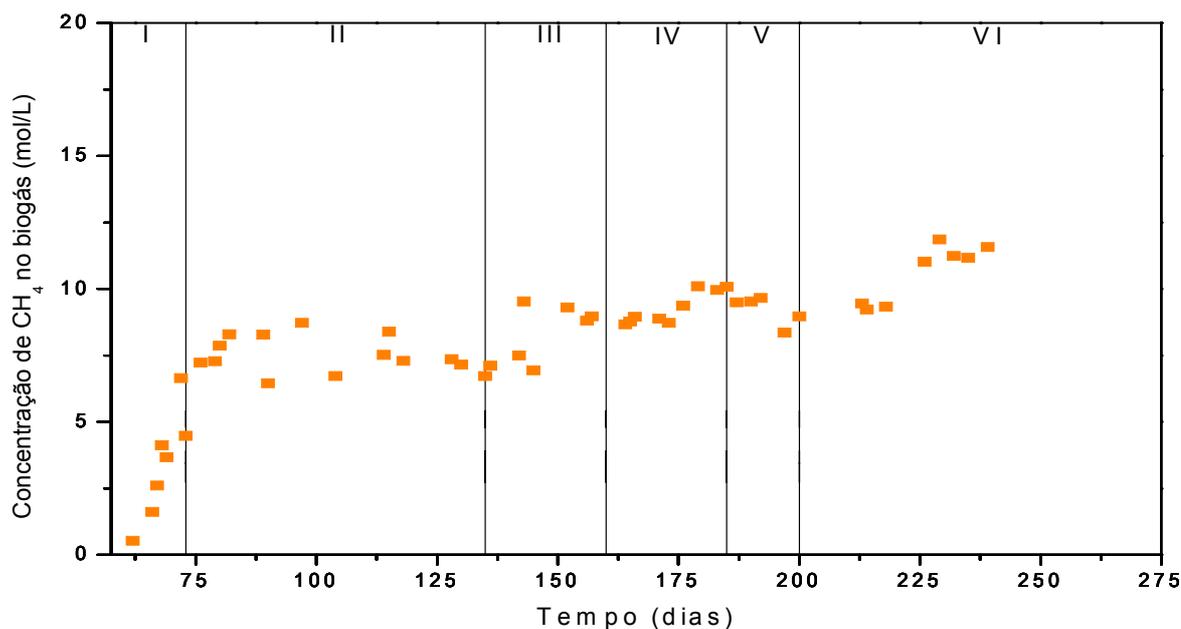


Figura 4.27 – Variação da concentração de CH_4 no biogás gerado ao longo das fases de operação do RALF.

Souza et al. (1992), durante a digestão anaeróbia termofílica da vinhaça em reator UASB escala piloto, alcançaram $10 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{m}^3\cdot\text{d}$ nos últimos 50 dias de operação do reator com taxa de carregamento orgânico aplicada de 25 a 30 $\text{kgDQO}/\text{m}^3\cdot\text{d}$.

Harada et al. (1996) estudando o tratamento anaeróbio termofílico da vinhaça de cana em reator UASB, obtiveram $3,6 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{m}^3\cdot\text{d}$ de produtividade de biogás para uma taxa de carregamento orgânico aplicada de 28 $\text{kgDQO}/\text{m}^3\cdot\text{d}$, valor este correspondente ao obtido na pesquisa atual para mesmo teor de carga orgânica aplicada.

Damiano (2005) verificou a formação de biogás pelo sistema de deslocamento de líquido em concentrações acima de 8.000 mg/L . As amostras

foram analisadas no cromatógrafo e observou-se presença de gás metano, mas não foi possível detectar sua concentração. Perdas podem ter ocorrido apesar de o reator ter sido operado de maneira a evitá-las devido à irregularidade no deslocamento de líquido causado pela dificuldade de vedação na parte superior do reator onde eram feitas a captação de gás e necessidade de limpeza da tela metálica para evitar obstrução.

Valores próximos de produção de biogás também foram obtidos por Viana (2006). Para TCO de 2,73 kgDQO/m³.d, alcançou pico de 3 L/d, valor semelhante alcançado neste trabalho, ou seja, TCO média de 3,3 kgDQO/m³.d atingiu pico de 5 L/d e média de produção de biogás de 3,75 L/d.

4.4. CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE E EFLUENTE ATRAVÉS DE ANÁLISES DE NUTRIENTES

A seguir, serão apresentadas algumas análises realizadas para que fosse possível a caracterização mais detalhada da quantidade aplicada e consumida de alguns nutrientes.

Sabe-se que microrganismo no processo de digestão anaeróbia requer nutrientes e elementos traços tais como nitrogênio, fósforo, sulfato, potássio, cálcio, magnésio, ferro, níquel, cobalto, zinco, manganês e cobre para o crescimento ótimo. Embora esses elementos sejam necessários em concentrações extremamente baixas, a falta desses nutrientes tem efeito adverso no crescimento e desempenho microbiano.

Como citado anteriormente, para que ocorresse redução dos ácidos voláteis, iniciou-se o uso do terceiro lote de vinhaça e suplementação com uréia e NaH₂PO₄. Fato importante que levou a essa adição de nutrientes foi devido aos lotes 2 e 3 serem pobres em fósforo e nitrogênio, como apresentado na Tabela 4.1.

Depois que a maioria do conteúdo orgânico da vinhaça foi removida pela digestão anaeróbia, apenas os compostos orgânicos e inorgânicos refratários permaneceram, incluindo os macronutrientes (N, P e K), os micronutrientes (Fe, Zn, Mn, Cu e Mg) e metais não essenciais.

A Tabela 4.11 apresenta os valores médios e seus respectivos desvios padrão para as análises de fosfato e nitrogênio total Kjeldahl de amostras de afluente e efluente ao longo da operação do RALF.

Tabela 4.11 – Valores médios e desvio padrão da análise de fosfato e N_{Total Kjeldahl} afluente e efluente ao longo de cada fase.

Fases	Fosfato (mg/L)		N _{Total Kjeldahl} (mg/L)	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
I	4,99 ± 0,85	1,91 ± 0,57	101,63 ± 11,99	98,06 ± 21,89
II	15,56 ± 3,71	6,08 ± 1,92	208,91 ± 42,90	174,38 ± 14,19
III	75,63 ± 3,92	42,20 ± 1,20	468,86 ± 10,89	367,71 ± 79,69
IV	86,75 ± 8,53	38,87 ± 6,44	554,26 ± 13,08	516,93 ± 18,64
V	142,28 ± 56,38	49,10 ± 19,29	860,16 ± 117,00	736,49 ± 98,26
VI	146,52 ± 27,87	73,66 ± 10,47	1.180,99 ± 137,92	1.101,28 ± 164,52

Para melhor visualização, esses dados encontram-se nas Figuras 4.28 e 4.29.

As linhas pontilhadas, presentes nas Figuras 4.28, 4.29, 4.30, 4.31 e 4.32, representam as quantidades de N_{Total Kjeldahl}, fosfato, Ca_{Total}, K_{Total} e Mg_{Total}, respectivamente, presentes na vinhaça “in natura” utilizada em cada fase.

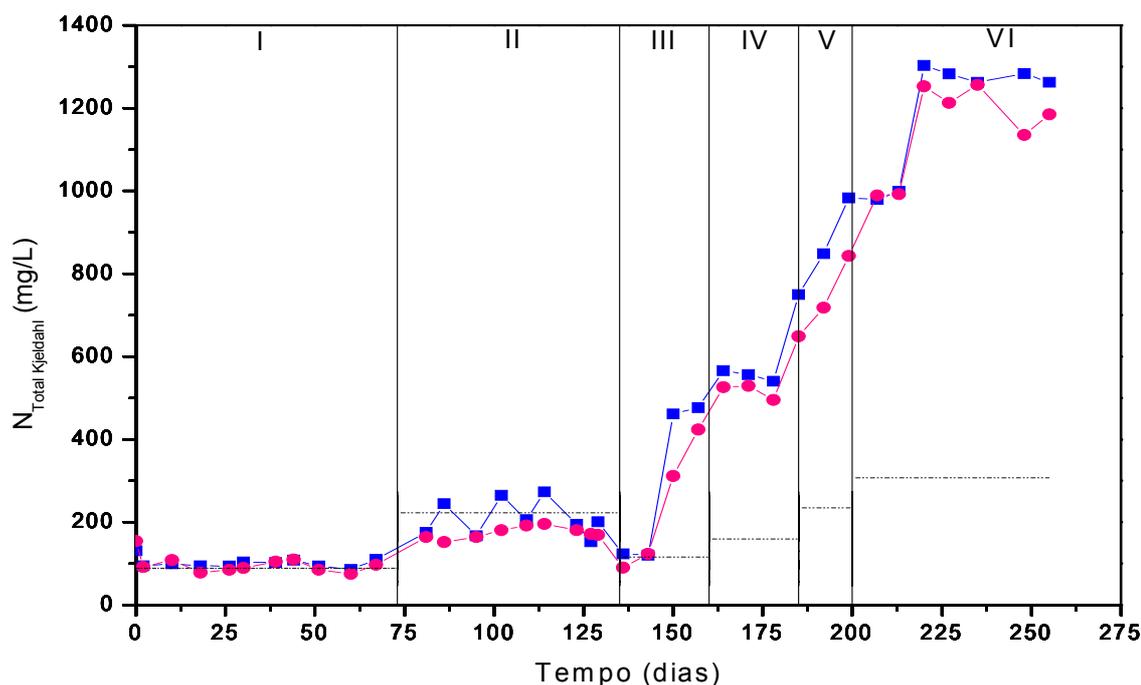


Figura 4.28 – Monitoramento do nitrogênio total Kjeldahl no afluente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.

Observa-se, na Figura 4.28, que durante as Fases I e II, a quantidade de nitrogênio alimentada correspondeu aquela presente na vinhaça “in natura”, aumentando com o aumento da concentração de substrato. Durante o período do 143º ao 150º dias de operação, observou-se aumento da quantidade de $N_{\text{Total Kjeldahl}}$ afluente de 120,40 mg/L para 461,16 mg/L. Fato este correspondente ao início da adição de uréia por ser a vinhaça do lote 2 pobre em nitrogênio. Nota-se também que houve consumo desse nutriente pela biomassa, aumentando com aumento da concentração de vinhaça.

Fernández et al. (2001) observaram que o comportamento da concentração de nitrogênio total no RALF com zeólitas como material suporte foi semelhante ao do RALF com carvão ativado. No caso do reator com zeólitas, a quantidade de $N_{\text{TotalKjeldahl}}$ aumentou com a alimentação e a quantidade de $N_{\text{Total Kjeldahl}}$ no efluente reduziu, sendo que uma quantidade de $N_{\text{Total Kjeldahl}}$ não pode ser detectada. Isto deve ter ocorrido devido a dois fenômenos: primeiro, a biomassa estava incorporando nitrogênio para seu crescimento, e segundo, nitrogênio elementar pode estar se formando e saindo do reator com o biogás.

Fdz-Polanco et al. (2001) ao tratarem vinhaça de beterraba em um RALF com carvão ativado obtiveram bom desempenho em termos de redução de DQO, mas um comportamento anômalo foi observado em relação as altas concentrações incomuns de nitrogênio molecular no biogás. O balanço de massa do nitrogênio indicou a coexistência de um processo convencional de amonificação e um mecanismo anaeróbico diferente de remoção de nitrogênio, demonstrado pelo desaparecimento do nitrogênio orgânico da fase líquida e aparição de nitrogênio no biogás. Cerca de 50 % do nitrogênio que entrou no reator como nitrogênio total foi removido da fase líquida aparecendo como nitrogênio na fase gasosa.

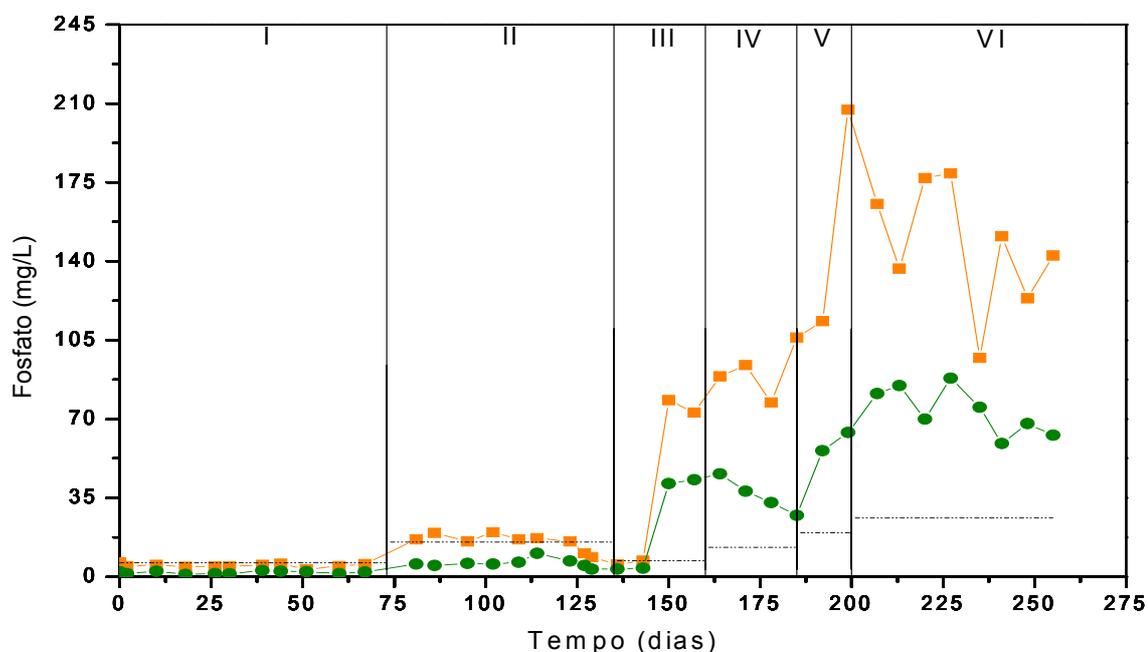


Figura 4.29 – Monitoramento do fosfato no afluente (■) e efluente (●) ao longo dos dias de operação.

Durante as Fases I e II, apesar da ausência de suplementação da vinhaça, a quantidade de fósforo presente apresentou-se suficiente com pequeno consumo na Fase II. A partir do uso do lote 3 (Fase III), pobre em fósforo (Tabela 4.1) comprovado pelos valores das linhas pontilhadas, teve início a adição de NaH₂PO₄ correspondendo ao pico no 150º dia de 78,40 mg/L (Figura 4.29). Desse dia em

diante o aumento na concentração de fosfato foi proporcional a massa de NaH_2PO_4 adicionada em cada fase.

Souza (1992) utilizou uréia e ácido fosfórico a fim de adicionar à vinhaça 7,4 gN/kgDQOaplicada e 1,7 gP/kgDQOaplicada, mas os conteúdos de nitrogênio, NH_4^+ e fósforo no efluente mostraram que houve excesso desses nutrientes no sistema. Provavelmente, o reator poderia operar sem adição de nitrogênio e com pouca adição de fósforo.

Prada et al. (1998) ao avaliarem as concentrações de sulfato nas vinhaças de cana de mosto misto da Usina Zanin (região de Araraquara/SP) e Usina Campestre (na cidade de Penápolis/SP), previamente tratadas, realizaram também análises de fosfato, as quais apresentaram valores de 120 e 68 mg/L, respectivamente. Estes valores enquadram-se na faixa de fósforo encontrado em vinhaças “in natura” de mosto misto uma vez que as características das vinhaças dependem de vários fatores como citados anteriormente.

Blonskaja et al. (2003) ao utilizarem o tratamento anaeróbio de dois estágios (filtro anaeróbio e UASB) para a vinhaça, observaram que no primeiro estágio os elementos biogénicos nitrogênio e fósforo foram acumulados; isto pode ser explicado pelo reciclo do excesso de lodo do tanque de sedimentação de volta ao filtro anaeróbio. Além disso, ortofosfatos de polifosfatos do excesso de lodo são liberados no interior da fase líquida do reator acidogênico. No segundo estágio o processo foi estável e nitrogênio e fósforo foram usados efetivamente para a síntese de nova biomassa.

Damiano (2005) não adicionou nutrientes durante a operação do reator e obteve valores próximos de $\text{N}_{\text{Total Kjel Dahl}}$ e K_{Total} , no afluente e efluente, para amostras coletadas durante as Fases VI (8.000 mg/L) e Fase VIII (15.000 mg/L). Para amostras da Fase VI, as quantidades de $\text{N}_{\text{Total Kjel Dahl}}$ e K_{Total} , presentes no afluente e efluente, foram, respectivamente de 318 e 227 mg/L; 829 e 887 mg/L. As da Fase VIII, afluente e efluente, para $\text{N}_{\text{Total Kjel Dahl}}$ e K_{Total} , foram, respectivamente, de 347 e 304 mg/L; 1.567 e 1.596 mg/L. Valores estes muito superiores ao obtido na pesquisa atual, para faixas de concentração semelhantes, mesmo com a adição de uréia, provando a deficiência em nitrogênio da vinhaça utilizada.

A Tabela 4.12 apresenta os valores médios encontrados em cada fase das análises de Ca_{Total} , K_{Total} e Mg_{Total} presentes no afluente e efluente.

Tabela 4.12 – Valores médios e desvio padrão das análises de Ca_{Total} , K_{Total} e Mg_{Total} presentes no afluente e efluente ao longo de cada fase.

Fases	Ca_{Total} (mg/L)		K_{Total} (mg/L)		Mg_{Total} (mg/L)	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
I	65,38 ± 9,08	61,52 ± 9,07	197,89 ± 20,36	199,51 ± 33,35	30,73 ± 1,56	30,95 ± 3,70
II	108,60 ± 5,72	90,33 ± 9,61	345,40 ± 50,48	342,12 ± 54,82	54,94 ± 1,81	52,77 ± 2,35
III	101,75 ± 1,77	95,25 ± 28,64	734,75 ± 1,00	715,44 ± 82,29	70,78 ± 15,06	65,84 ± 15,30
IV	163,50 ± 30,90	132,50 ± 27,03	905,42 ± 46,11	903,25 ± 64,02	91,50 ± 1,50	78,33 ± 2,75
V	166,50 ± 35,67	152,83 ± 27,12	1.118,38 ± 103,82	953,21 ± 115,81	135,33 ± 15,37	86,83 ± 33,04
VI	355,77 ± 39,73	314,27 ± 45,80	2.485,40 ± 134,72	2.539,90 ± 63,79	185,61 ± 5,98	157,59 ± 19,43

Pode-se observar na Tabela 4.12 e, para melhor visualização as Figuras 4.30, 4.31 e 4.32, que Ca_{Total} , K_{Total} e Mg_{Total} , por serem solúveis, estavam presentes no efluente com concentrações praticamente iguais a do afluente. Durante todo o período de operação do reator, não houve suplementação desses nutrientes estando estes presentes em quantidades suficientes para manutenção da biomassa.

A mudança de lotes de vinhaça (fim do lote 1 e início do 2), no fim da Fase II e início da Fase III, refletiu diretamente na concentração de cálcio (Figura 4.30), ou seja, aumentou de 5,76 para 670,88 mg/L reduzindo-se para 103,00 mg/L com o início do lote 3 e permanecendo-se constante em, aproximadamente, 149,19 mg/L nas Fases IV e V. Com o aumento da TCO aplicada na Fase VI, a concentração de Ca_{Total} também teve aumento, permanecendo constante por toda essa fase em, aproximadamente, 329,70 mg/L.

Observa-se que a concentração de cálcio presente na vinhaça (linhas pontilhadas) durante as Fases I e II (lote 1) foi praticamente a mesma alimentada, mas foi superior nas Fases IV, V e VI com o uso do lote 3. Essa diferença entre o cálcio presente na vinhaça “in natura” e amostras de afluente e efluente, a partir da

Fase IV onde já estava ocorrendo a suplementação com uréia e NaH_2PO_4 , está, provavelmente, relacionada ao NaH_2PO_4 que deve ter reagido com os íons Ca^{2+} e precipitado na forma de fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).

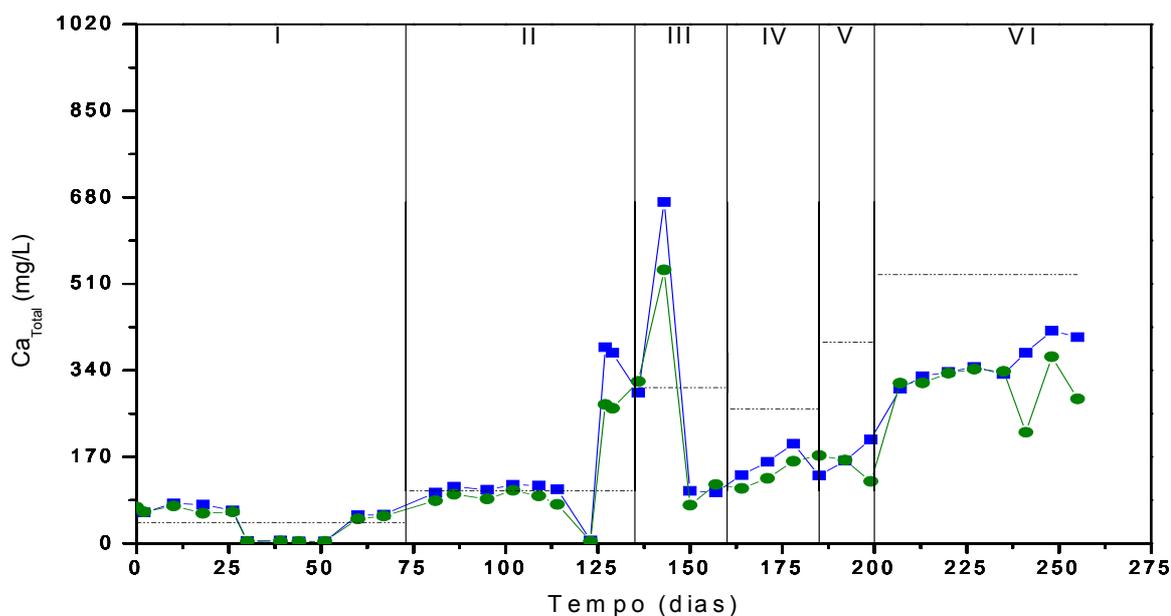


Figura 4.30 – Monitoramento de cálcio total no afluente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.

Sharma et al. (2001) avaliaram o efeito da suplementação de nutrientes no desenvolvimento e atividade do lodo anaeróbico para o tratamento de vinhaça de cana em frascos simulando o processo do reator UASB. A suplementação com os macronutrientes cálcio (0 a 200 mg/L) e fósforo (0 a 2.000 mg/L) resultou em uma redução na produção de gás (4,8 a 1,3 $\text{m}^3/\text{m}^3.\text{d}$) e eficiência de redução de DQO (85% a 43%). A suplementação somente com cálcio ou juntamente com fosfato provou ser mais prejudicial para a produção de biogás e eficiência de redução de DQO do que o fosfato sozinho. Alibhai e Forster (1986) e Oleszkiewicz e Romanek (1989) *apud* Sharma et al. (2001) defenderam o uso desses nutrientes para melhorar a granulação ao redor das espécies precipitantes de fosfato de cálcio e/ou carbonato de cálcio, mas isto não foi verificado por Sharma et al. (2001), ou seja, a adição de cálcio e fósforo resultou em redução da sedimentabilidade do lodo. Este efeito prejudicial pode ter sido devido ao baixo pH do afluente uma vez que o pH ótimo

para a formação do fosfato de cálcio e carbonato de cálcio é 8. Isto provavelmente explica a possível precipitação de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ na pesquisa atual.

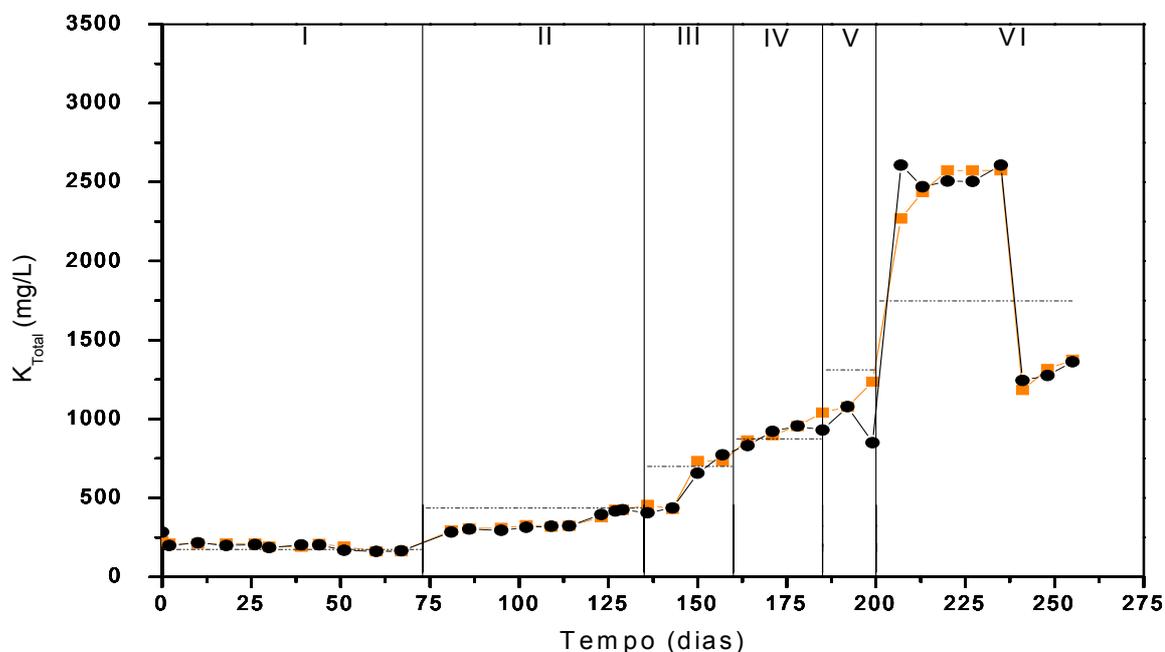


Figura 4.31 – Monitoramento de potássio total no af luente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.

Nota-se, na Figura 4.31, que K_{Total} , no af luente e efluente, foram praticamente os mesmos, aumentando com o aumento da concentração de vinhaça em cada fase, pelo fato do potássio ser muito solúvel. Observa-se que, apesar das mudanças nos lotes de vinhaça, as quantidades de K_{Total} não foram afetadas, exceto Fase VI onde, devido instabilidades causadas pela adaptação não imediata da biomassa à alta concentração de substrato e, também tamponamento insuficiente, ocorreu aumento de K_{Total} , mas reduziu-se (aproximadamente de 2.575 mg/L a 1.370 mg/L) assim que o sistema tendeu a estabilidade novamente. Variabilidade da composição da vinhaça também pode estar relacionada ao fato da concentração desse nutriente se apresentar superior a vinhaça “in natura” (linha pontilhada) na Fase VI.

Experimentos preliminares foram realizados por Decloux et al. (2002) com o interesse na eletrodialise para reduzir o nível de potássio em vinhaças. Ao utilizar

vinhaça diluída, uma redução regular de potássio de 10 a 2,5 g/L e depois 0,5 g/L foi observada enquanto que, apesar da redução dos íons Ca^{2+} e Na^+ terem sido muito baixas, de 0,3 a 0,25 g/L e 2 a 1,5 g/L, respectivamente, estavam dentro da faixa obtida na pesquisa atual.

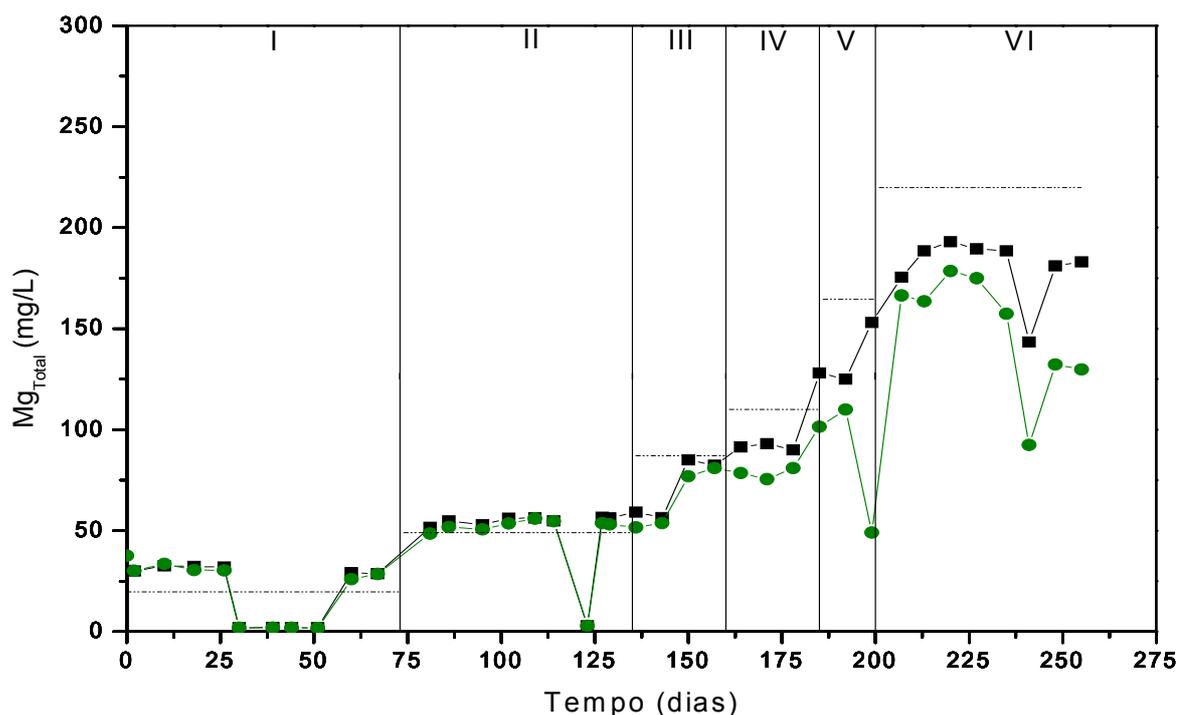


Figura 4.32 – Monitoramento de magnésio total no afluente (■) e efluente (●) durante operação do RALF.

Por outro lado, observa-se, na Figura 4.32, que, apesar das mudanças de lotes de vinhaça, não ocorreram alterações significativas de Mg_{Total} permitindo aumento proporcional ao aumento de TCO aplicada e, a partir da Fase IV, notou-se menor consumo de Mg_{Total} .

Durante o estudo da eliminação de cor da vinhaça de melaço por *Aspergillus niger*, Miranda et al. (1996) avaliaram, entre outras, a influência das concentrações de nutrientes. Na presença de MgSO_4 , KH_2PO_4 , NH_4NO_3 e uma fonte de carbono, os processos em batelada mostraram uma eliminação máxima de cor de 69 %, enquanto que o processo contínuo apresentou menor remoção de cor. Entretanto, sem a adição de magnésio, esta remoção foi de 40 %. Medidas mostraram que o

conteúdo de magnésio na vinhaça variou entre 30 a 50 mg/L, portanto, a quantidade total de magnésio necessária para obter altos coeficientes de remoção de cor da vinhaça foi de aproximadamente 100 mg/L (esta quantidade de Mg^{2+} veio da adição de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e conteúdo de Mg^{2+} na vinhaça), pois quantidade maior de Mg^{2+} não aumentou a remoção de cor.

4.5. ENSAIOS DE ATIVIDADE METANOGÊNICA ESPECÍFICA PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE VINHAÇA COMPARADOS AO ACETO DE SÓDIO

Com o término da operação contínua do reator, iniciaram-se os testes de atividade metanogênica específica a fim de avaliar o potencial da biomassa, aderida às partículas de poliestireno, que foi utilizada durante toda a operação do reator, na degradação da vinhaça em diferentes concentrações comparadas ao acetato de sódio (Tabela 4.13). Em relação aos testes com vinhaça, estes foram preparados com o substrato do terceiro lote, ou seja, junho 2007 (Tabela 4.1).

Tabela 4.13 – Concentrações de vinhaça e acetato de sódio utilizados para os testes de AME.

Amostra	DQO (mg/L)
Acetato de sódio	1.200*
Vinhaça	6.062
Vinhaça	10.864
Vinhaça	19.138
Vinhaça “in natura”	46.142

* Solução de acetato de sódio 20 mM (aproximadamente 1.200 mg/L).

O monitoramento contínuo da produção de metano nos frascos reacionais possibilitou a obtenção de dados que correlacionam tempo e produção cumulativa de CH_4 (Figura 4.33). Nota-se pela tendência das curvas que o acetato de sódio

apresentou a menor produção cumulativa de metano (45 mL, aproximadamente) em relação às diferentes concentrações de vinhaça, sendo que a de 5.000 mg/L apresentou a maior (67 mL, aproximadamente).

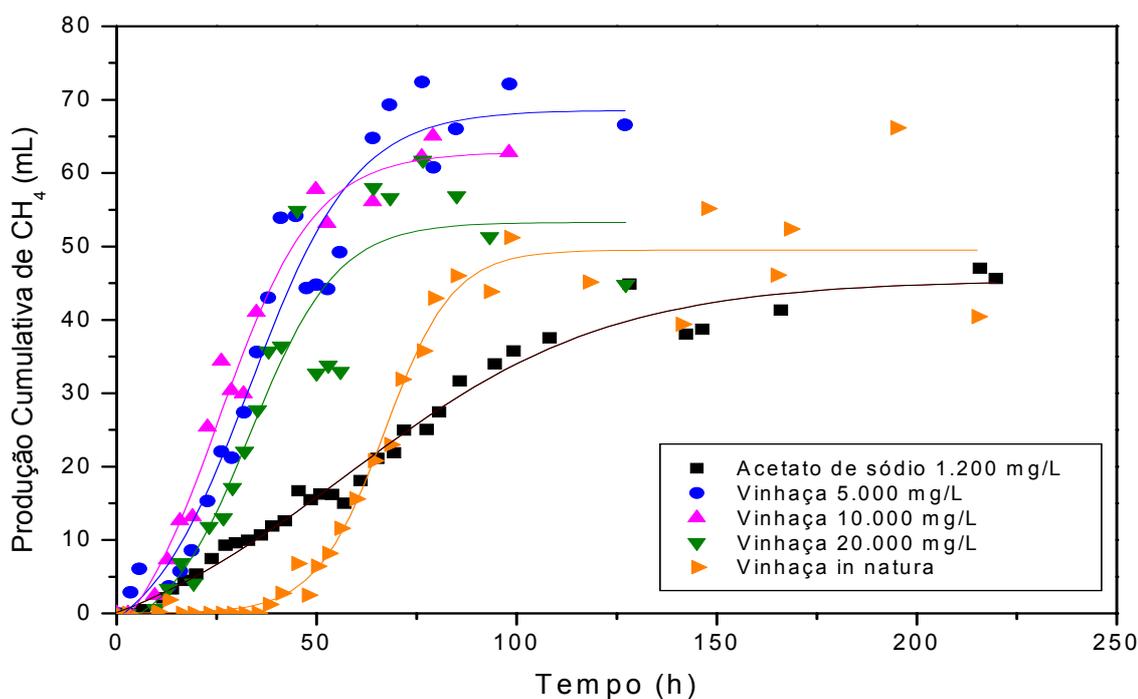


Figura 4.33 – Produção cumulativa de metano no *headspace* ao longo do tempo.

Por outro lado, ao determinar a AME, as quantidades de biomassa presentes nos frascos reacionais contribuíram para que a AME do acetato (0,82 gDQO-CH₄/gSVT.d) fosse superior às dos frascos contendo vinhaça de 20.000 mg/L (0,60 gDQO-CH₄/gSVT.d) e “in natura” (0,31 gDQO-CH₄/gSVT.d), mas menor que as dos frascos com vinhaça de 10.000 mg/L (0,94 gDQO-CH₄/gSVT.d) e 5.000 mg/L (1,21 gDQO-CH₄/gSVT.d) (Figura 4.34).

Apesar dos valores de AME obtidos estarem próximos ao encontrado por Shivayogimath et al. (1999), isto é, 0,85 kgCH₄-DQO/kgSSV.d, indicando alta atividade dos grânulos, esperava-se que a maior AME fosse a do acetato de sódio por ser considerado o principal precursor da metanogênese.

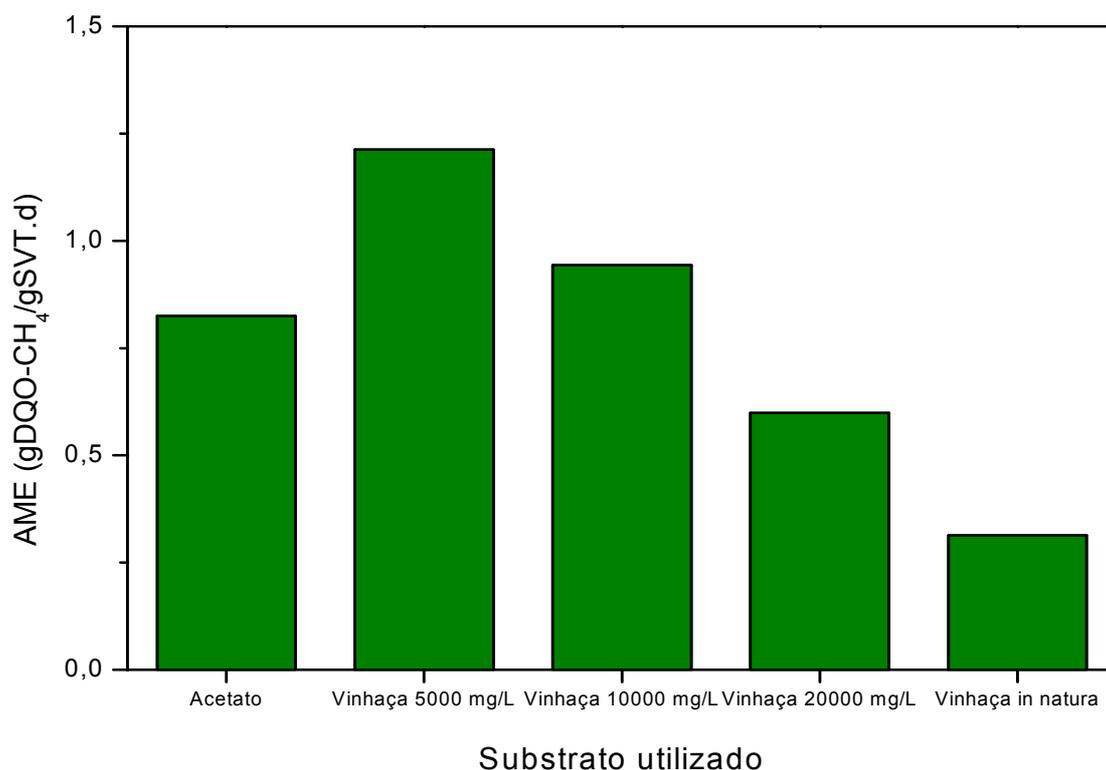


Figura 4.34 – Valores das AMEs obtidos para o acetato de sódio e diferentes concentrações de vinhaça.

Sendo assim, uma provável explicação seria o predomínio de microrganismos hidrogenotróficos em relação aos acetoclásticos, levando ao acúmulo de ácido acético, uma vez que os microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos produzem CH_4 e CO_2 a partir do H_2 e CO_2 e não do acetato como no caso dos microrganismos metanogênicos acetoclásticos, apesar desta ser a via preferencial da digestão anaeróbia. Isto pode ter ocorrido devido à utilização do meio suporte com biomassa adaptada a Fase VI de operação do reator, refletindo-a. Fato este que pode ser verificado através da Figura 4.14 que apresenta 53 % de acúmulo de ácido acético na Fase VI correspondendo a maior quantidade desse ácido acumulado no efluente, ou seja, 664,80 mg/L (Tabela 4.9) e, também, acarretou na redução da produção e produtividade de biogás nesta fase (Figura 4.24).

Valores muito baixos de AME, como 0,05 a 0,08 $\text{kgCH}_4\text{-DQO/kgSSV.d}$, foram obtidos por Souza et al. (1992) ao utilizarem apenas propionato como substrato, confirmando a baixa capacidade do lodo termofílico na degradação do

propionato. Por outro lado, a AME realizada no final da operação do reator, usando uma mistura de acetato, propionato e butirato, foi excessivamente alta (2,14 kgCH₄-DQO/kgSSV.d), com valor 3 vezes maior do que os valores relatados para o lodo granular mesofílico.

Harada et al. (1996), após operação do reator UASB, realizaram testes para avaliar a reação à temperatura da AME do lodo granular termofílico sobre o H₂/CO₂, acetato e vinhaça de cana utilizada na operação contínua do reator. As atividades acetoclásticas e hidrogenotróficas do lodo a 55°C foram 0,014 e 0,082 kgCH₄-DQO/kgVSS.d, respectivamente, aumentando para 0,33 e 1,07 kgCH₄-DQO/kgVSS.d após 230 dias em batelada. Assim, a AME do lodo retido aumentou 24 vezes para o acetato e 13 vezes para o H₂/CO₂. A temperatura ótima para a atividade metanogênica acetoclástica foi 60°C enquanto que para a atividade hidrogenotrófica foi ligeiramente maior, por exemplo, na variação de 60 a 65°C. Nos casos em que a vinhaça foi o substrato, a atividade metanogênica dos grânulos termofílicos foi mais alta a 55 °C.

Ribas (2006), durante a operação do reator anaeróbio operado em batelada seqüencial sob condição mesofílica, retirou amostras do meio suporte com biomassa para realizar testes de AME a partir do acetato de sódio, mas logo no primeiro ponto de amostragem do teste foi observada grande atividade metanogênica, o que dificultou a visualização do início da fase logarítmica, tornando-se impossível o cálculo da velocidade específica, provavelmente devido a pouca quantidade de fonte de carbono adicionada aos frascos do ensaio.

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSÕES

As conclusões obtidas durante a realização da pesquisa podem ser destacadas como segue:

- O RALF, operado sob condição mesofílica, contendo biomassa imobilizada em partículas de poliestireno mostrou-se eficiente no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar.
- O reator anaeróbio de leito fluidizado apresentou desempenho satisfatório no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar, apesar da variabilidade na sua composição, cujas eficiências médias de redução de DQO alcançadas foram de 53, 67, 59, 66, 70 e 51 % para as respectivas concentrações médias de vinhaça aplicadas, 2.273, 4.891, 8.192, 10.353, 15.244 e 20.073 mgDQO/L. Fato este também comprovado devido às altas taxas de carregamento orgânico aplicadas, ou seja, 3,33, 6,68, 10,33, 14,44, 19,87 e 26,19 kg/m³.d atingindo picos de 28 kg/m³.d.
- O pH efluente manteve-se praticamente estável, dentro da faixa de operação de sistemas anaeróbios, 7,2 a 8,6.
- Houve geração de alcalinidade a bicarbonato durante todas as fases de operação do reator variando de 918 a 7.457 mg/L. Apesar disso, a alcalinidade gerada foi insuficiente ocorrendo acúmulo de AOV, principalmente ácido propiônico e ácido acético durante as Fases III e VI, respectivamente, sendo que o acúmulo de AOV na Fase III ocorreu principalmente devido ao lote 2 de vinhaça não apresentar alcalinidade.
- A produtividade de biogás no reator aumentou com o aumento da carga orgânica aplicada de 0,87 a 5,37 m³/m³.d e o rendimento médio de metano em toda a operação do sistema foi de 0,386 m³CH₄/kgDQOremovida, praticamente igual

o teórico, indicando o bom potencial energético e desempenho do RALF para o processo anaeróbio.

- A atividade metanogênica específica revelou possível predomínio de microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos devido a baixa AME do acetato de sódio (0,82 gDQO-CH₄/gSVT.d) em relação as concentrações de vinhaça testadas de 5.000 e 10.000 mg/L que apresentaram, respectivamente, 1,21 gDQO-CH₄/gSVT.d e 0,94 gDQO-CH₄/gSVT.d.

- Análises de microscopia ótica permitiram constatar a presença de espécies semelhantes às arqueias metanogênicas do gênero *Methanosarcina* durante a adaptação do inóculo, ocorrendo seleção e predomínio no decorrer da operação do reator de bacilos, cocos e espécies semelhantes às arqueias do gênero *Methanosaeta*.

- Análises de Ca_{Total}, Mg_{Total}, K_{Total}, N_{Total} Kjeldahl e fosfato permitiram constatar deficiência de nitrogênio e fósforo nos lotes de vinhaça utilizados, ocorrendo suplementação adequada a partir do final da Fase III, assim como quantidades praticamente iguais de Ca_{Total}, K_{Total} e Mg_{Total}, no afluente e efluente, por serem muito solúveis e utilizados em pequenas concentrações pela biomassa anaeróbia.

SUGESTÕES

A fim de colaborar com a continuidade de futuros trabalhos em tratamento anaeróbio de vinhaça em reator de leito fluidizado, sugere-se:

- Realizar algumas modificações no sistema que melhore seu desempenho como, por exemplo, passagem do afluente através de um decantador anteriormente ao seu tratamento no reator evitando o excesso de depósito de material inerte no topo do reator e minimizando incrustações nas mangueiras de alimentação.
- De acordo com as características da vinhaça a ser tratada, adicionar nutrientes desde o estágio de adaptação da vinhaça ao inóculo, se necessário, para evitar acúmulo de AVT devido ao desbalanceamento nutricional.
- Estudar o sistema de duas fases (acidogênese e metanogênese) para o tratamento da vinhaça, pesquisando melhor TDH para fase ácida. Esta separação de fases poderia permitir que a etapa metanogênica ocorresse de forma mais estável.
- Estudo deve ser feito a fim de determinar o real efeito da produção de gás sobre a expansão do leito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKARSUBASI, A. T.; INCE, O.; KIRDAR, B.; OZ, N. A.; KIRDAR, B.; INCE, B. K. (2006). Evaluation of performance, acetoclastic methanogenic activity and archaeal composition of full-scale UASB reactors treating alcohol distillery wastewaters. *Process Biochemistry* 41, 28 – 35.

AKARSUBASI, A. T.; INCE, O.; KIRDAR, B.; OZ, N. A.; ORHON, D.; CURTIS, T. P.; HEAD, I. M.; INCE, B. K. (2005). Effect of wastewater composition on archeal population diversity. *Water Research* 39, 1576 – 1584.

ALMEIDA, J.R. (1952). O problema da vinhaça em São Paulo. Piracicaba, *Instituto Zimotécnico*, Boletim 3.

ALMEIDA, J.R. (1966). Composição, proporção e aplicação da vinhaça. In: Semana de Fermentação Alcoólica, 3. Piracicaba-SP. *Instituto Zimotécnico*, v.2, p. 289-302.

ALVES, M.M.; MOTA, M.; NOVAIS, J.M. (1994). Estudo comparativo de suportes para reactores anaeróbios de leito fluidizado. Actas da 4ª Conferência Nacional Sobre a Qualidade do Ambiente. Lisboa, Portugal. 47 – 56.

APHA - American Public Health: Standard Methods for the Examination for Water and Wastewater. 17th ed. New York. 1995.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. (2005). Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. Artigo técnico. *Eng. Sanit. Ambient.* Vol10 nº 2, 152 – 161.

ARAÚJO, J.C. (1995). Caracterização e evolução do biofilme em reator anaeróbio de leito fluidificado alimentado com esgoto sanitário sintético. São Carlos. Dissertação (Mestrado) - SHS-EESC-USP.

BALAGUER, M.D.; VICENT, M. T., PARIS, J.M. (1992). Anaerobic fluidized bed reactor with sepiolite as support for anaerobic treatment of vinasse. *Biotechnology Letters*, 14:5, p. 433 – 438.

BALAGUER, M.D.; VICENT, M. T, PARIS, J.M. (1997). A comparison of different support materials in anaerobic fluidized bed reactors for the treatment of vinasse. *Environmental Technology*, v.18, p.539-544.

BELTRAN, F.J., GARCIA-ARAYA, J.F., ALVAREZ, P.M. (1999). Wine distillery wastewater degradation 2. Improvement of aerobic biodegradation by means of an integrated chemical (ozone)-biological treatment. *J.Agric. Food Chem.* 47, 3919 – 3924.

BICHARA, J.M. (1988). Contribuição ao tratamento físico-químico da vinhaça: coagulação, floculação e sedimentação. Tese (Mestrado). UFSCAR, São Carlos.

BLONSKAJA, V.; MENERT, A.; VILU, R. (2003). Use of two-stage anaerobic treatment for distillery waste. *Environmental Research* 7, 671 – 678.

BOLSANELLO, J. & VIEIRA, J.R. (1980). Caracterização da composição química dos diferentes tipos de vinhaça da região de Campos – RJ. *Brasil Açucareiro* nº 5, p. 45(293)-59(307).

BONASTRE, N., PARIS, J. M. (1988). Colonisation and stimulation/inhibition properties of different supports used in anaerobic fixed-film reactors. *Environmental Technology Letters*, 9, 763 – 768.

BORIES, A.; GUILLOT, J.; SIRE, Y.; COUDERC, M.; LEMAIRE, S.; KREIM, V.; ROUX, J. (2007). Prevention of volatile fatty acids production and limitation of odours from winery wastewaters by denitrification. *Water Research* 41, 2987 – 2995.

BUFFIÈRE, P.; BERGEON, J.; MOLETTA, R. (2000). The inverse turbulent bed: a novel bioreactor for anaerobic treatment. *Wat. Res.* Vol34 nº 2, 673 – 677.

CAMPOS, J.R. (1994). Alternativas para tratamento de esgotos - pré-tratamento de águas para abastecimento. Americana: Consórcio intermunicipal das bacias dos rios Piracicaba e Capivari, São Paulo, 112p.

CETESB (2005). P4.231: Vinhaça – critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola. São Paulo, 12p.

CHERNICHARO, C.A.L. Reatores anaeróbios. (1997). DESA, UFMG, Belo Horizonte.

CONAB (2007). Acompanhamento da safra brasileira da cana-de-açúcar safra 2007/2008 terceiro levantamento novembro/2007. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em 08 fevereiro 2008.

CORTEZ, L.; FREIRE, W.J.; ROSILLO-CALLE, F. (1998). Biodigestion of vinasse in Brazil. INT. SUGAR JNL., vol 100, nº 1196.

CRUZ, R.L. (1991). Efeito da aplicação da vinhaça sobre o solo e água subterrânea. EESC-USP, São Carlos. Dissertação (Mestrado).

DAMIANO, E.S.G. (2005). Tratamento da vinhaça em reator anaeróbio de leito fluidificado. Dissertação (Mestrado). EESC-USP, São Carlos.

DECLoux, M.; BORIES, A.; LEWANDOWSKI, R.; FARGUES, C.; MERSAD, A.; LAMELOISE, M. L.; BONNET, F.; DHERBECOURT, B.; OSUNA, L. N. (2002). Interest of electrodialysis to reduce potassium level in vinasses. Preliminary experiments. Desalination v146, 393 – 398.

DIEZ BLANCO, V.; GARCÍA ENCINA, P. A.; FDZ-POLANCO, F. (1995). Effects of biofilm growth, gas and liquid velocities on the expansion of na anaerobic fluidized bed reactor (AFBR). Wat. Res. Vol 29, nº 7, pp 1649 – 1654.

DILLALO, R.; ALBERTSON, O.E. (1961). Volatile acids by direct trititation. *Jornal Water Pollution Control Federation*, v.33, p.356-365.

DUBOURGUIER, H. C. (1987). Curso ecologia da digestão anaeróbia. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo, CETESB, São Paulo.

FANNIN, K. F. (1987). Start-up, operation, stability and control. In: Chynoweth DP, Isaacson R, editors. Anaerobic digestion of biomass. London: Elsevier. P.171 – 96.

FDZ-POLANCO, F.; FDZ-POLANCO, M.; FERNANDEZ, N.; URUEÑA, M.A.; GARCIA, P.A.; VILLAVERDE, S. (2001). New process for simultaneous removal of nitrogen and sulphur under anaerobic conditions. *Water Research*, 35(4):1111-1114.

FERNÁNDEZ, N.; FDZ-POLANCO, F.; MONTALVO, S. J.; TOLEDANO, D. (2001). Use of activated carbon and natural zeolite as support materials, in na anaerobic fluidised bed reactor, for vinasse treatment. *Water Science and Technology* vol44 nº4, 1 – 6.

FERNÁNDEZ, N.; MONTALVO, S.; FERNÁNDEZ-POLANCO, F.; GUERRERO, L.; CORTÉS, I.; BORJA, R.; SÁNCHEZ, E.; TRAVIESO, L. (2007). Real evidence about zeolite as microorganisms immobilizer in anaerobic fluidized bed reactors. *Process Biochemistry*, doi: 10.1016/j.procbio.2006.12.004.

FOX, P.; Suidan, M. T.; Bandy, J. T. (1990). A comparison of media types in acetate fed expanded-bed anaerobic reactors. *Water Research*, 24:7, 827 – 835.

FREIRE, W. J.; CORTEZ, L. A. (2000). Vinhaça de cana-de-açúcar. *Série Engenharia Agrícola*, volume 1.

GARCIA-CALDERON, D.; BUFFIERE, P.; MOLETTA, R.; ELMALEH, S. (1998). Anaerobic digestion of wine distillery wastewater in down-flow fluidized bed. *Wat. Res.* Vol. 32 nº 12, 3593 – 3600.

GAVRILESCU, M. (2002). Engineering concerns and new developments in anaerobic waste-water treatment. *Clean Tech Environ Policy* 3. p. 346 – 362.

GLÓRIA, N. A & ORLANDO FILHO, J. (1976). Determinação de nitrogênio, fósforo e potássio em tecido vegetal e vinhaça por digestão sulfúrica. *Brasil Açucareiro*, 10:26 – 32.

GLÓRIA, N.A.; SANTA ANA, A.G.; BIAGI, E. (1973). Composição dos resíduos de usina de açúcar e destilarias. *Brasil Açucareiro* 81(6):78-87. Rio de Janeiro.

GODON, J.; ZUMSTEIN, E.; DABERT, P.; HABOUZIT, F.; MOLETTA, R. (1997). Molecular microbial diversity of an anaerobic digester as determined by small-subunit rDNA sequence analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 2802 – 2813.

GONÇALVES, C.A.S. (2000). Estudo do tratamento físico-químico da vinhaça utilizando a técnica do planejamento fatorial. *Dissertação (Mestrado)*. UFSCAR.

GOYAL, S. K.; SETH, R.; HANDA, B. K. (1996). Diphasic fixed-film biomethanation of distillery spentwash. *Bioresource Technology* 56, 239 – 244.

GRANATO, E. F.; SILVA, C. L. (2002). Geração de energia elétrica a partir do resíduo vinhaça. In: 4º Encontro de Energia no Meio Rural, Campinas - SP. AGRENER.

HAKULINEN, R.; SALKINOJA-SALONEN, M. (1981). An anaerobic fluidized bed reactor for the treatment of industrial wastewater containing chlorophenols. In: COOPER, P. F.; ATKINSON, B. (Eds.) Biological Fluidized Bed Treatment of Water and Wastewater, WRC & Ellis Horwood, 374 – 382.

HARADA, H.; UEMURA, S.; CHEN, A.; JAYADEVAN, J. (1996). Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor. *Bioresource Technology*, 55, 215 – 221.

HEIJNEN, J. J., MULDER, A., ENGER, W., HOEKS, F. (1986). Review on the application of anaerobic fluidized bed reactors in waste-water treatment. In Conference Papers of “Anaerobic treatment a grown-up technology”, AQUATEC`86, Industrial Presentations B. V. Schiedam, 159 – 174.

HICKEY, R.F.; OWENS, A.R.W. (1981). Methane generation from thigh-strength industrial wastes with anaerobic biological fluidized bed. *Biotechnology and Bioengineering*, v 23, p.399-413.

HILL, D. T.; BOLTE, J. P. (1987). Using volatile fatty acid relationship to predict anaerobic digestion failure. *Trans ASAE*, 30:469 – 501.

HILL, D. T.; HOLMEBERG, R. D. (1988) Long chain volatile fatty acid relationships in anaerobic digestion of swine waste. *Biol Wastes* 23:195-214.

JERIS, J. S. & OWENS, R. W. (1975). Pilot-scale high rate biological denitrification. *Journal W.P.C.F.*, 47:2043 – 2056.

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

JIMÉNEZ, A. M.; BORJA, R.; MARTÍN, A.; RAPOSO, F. (2006). Kinetic analysis of the anaerobic digestion of untreated vinasses and vinasses previously treated with *Penicillium decumbens*. *Journal of Environmental Management* 80, 303 – 310.

JÖRDENING, H. J. (1992). Anaerobic biofilms in fluidized bed reactors. In *Biofilms – Science and Technology*, L. F. Melo, T. R. Bott, M. Fletcher and B. Capdeville (Eds.) nato ASI Series, Kluwer Academic Pub., Dordrecht.

KORT, M. J. (1979). Colour in the sugar industry. In: de Birch, G. G.; Parker, K. J. (Eds). Science and Technology. Applied Science. London, pp 97 – 130.

KUMAR, G. S.; GUPTA, S. K.; SINGH, G. (2007). Biodegradation of distillery spent wash in anaerobic hybrid reactor. Water Research 41, 721 – 730.

LAMO, P. D. (1991). Sistema produtor de gás metano através de tratamento de efluentes industriais. METHAX/BIOPAQ – CODISTIL – Piracicaba.

LAPARA, T. M.; NAKATSU, C. H.; PANTEA, L.; ALLEMAN, J. E. (2000). Phylogenetic analysis of bacterial communities in mesophilic and thermophilic bioreactors treating pharmaceutical wastewater. Appl Environ Microbiol 66:3951 – 9.

LUKSEMBERG, J.M.; SÁ, A.; DURSO, M.N. (1980). Processo para a produção de álcool combustível, sem vinhoto. Relatório Descritivo da Patente de Invenção, Dyna Engenharia S.A.

MARTINELLI, F. R. (2003). Formação e desenvolvimento do biofilme em reator de leito fluidizado na degradação anaeróbia de fenol. Trabalho de Graduação. DEQ/UFSCAR.

MCHUGH, S.; CARTON, M.; MAHONY, T.; O'FLAHERTY, V. (2003). Methanogenic population structure in a variety of anaerobic bioreactors. FEMS Microbiology Letters 219, 297 – 304.

MELIDIS, P.; GEORGIU, D.; AIVASIDIS, A. (2003). Scale-up and design optimization of anaerobic immobilized cell reactors for wastewater treatment. Chemical Engineering and Processing 42, 897 – 908.

MENDONÇA, N. M. (2004). Tratamento de esgoto sanitário empregando reator de leito expandido em escala plena com zonas anaeróbia e aeróbia sobrepostas: concepção, construção e operação. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos.

METCALF & EDDY, INC. (1979). Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse. McGraw-Hill, Inc., 1334p.

MIRANDA, M. P.; BENITO, G. G.; CRISTOBAL, N. S.; NIETO, C. H. (1996). Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*. Elsevier Science. Bioresource Technology v57, 229 – 235.

MORAES, E. M.; ADORNO; M. A. T.; ZAIAT, M., FORESTI, E. (2000). Determinação de ácidos voláteis por cromatografia gasosa em efluentes de reatores anaeróbios tratando resíduos líquidos e sólidos. In: VI Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia, 2000, Recife – PE. Anais da VI Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia. Editora Universitária – UFPE. v.2. p.235-238.

MURRAY, W. D., van den Berg, L. (1981). Effect of support material on the development of microbial fixed films converting acetic acid to methane. *Journal of Applied Bacteriology*, 51, 257 – 265.

MUSSATI, M.; THOMPSON, C.; FUENTES, M.; AGUIRRE, P.; SCENNA, N. (2005). Characteristics of a methanogenic biofilm on sand particles in a fluidized bed reactor. *Larin American Applied Research* 35:265 – 272.

NANDY, T.; SHASTRY, S.; KAUL, S. N. (2002). Wastewater management in a cana molasses distillery involving bioresource recovery. *Journal of Environmental Management* 65, 25 – 38.

NICOLELLA, C.; van LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. (2000). Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of Biotechnology* 80, 1 – 33.

OMETTO, A. R. (2000). Discussão sobre os fatores ambientais impactados pelo setor sucroalcooleiro e a certificação socioambiental. São Carlos. 255p. Dissertação (mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

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

PARNAUDEAU, V.; CONDOM, N.; OLIVER, R.; CAZEVIEILLE, P.; RECOUS, S. (2007). Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. *Bioresource Technology*, doi:10.1016/j.biortech.2007.04.012.

PÉREZ-GARCÍA, M.; ROMERO-GARCÍA, L. I.; RODRÍGUEZ-CANO, R.; SALES-MÁRQUEZ, D. (2005a). Effect of pH influent conditions in fixed-film reactors for anaerobic thermophilic treatment of wine-distillery wastewater. *Water Science and Technology* vol 51 n° 1, 183 – 189.

PÉREZ-GARCÍA, M.; ROMERO-GARCÍA, L. I.; RODRÍGUEZ-CANO, R.; SALES-MÁRQUEZ, D. (2005b). High rate anaerobic thermophilic technologies for distillery wastewater treatment. *Water Science and Technology* vol 51 n° 1, 191 – 198.

PÉREZ, M.; ROMERO, L. I.; RODRÍGUEZ-CANO, R.; SALES, D. (2006). Anaerobic thermophilic colonization of porous support. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 20 (2) 203-208.

PÉREZ, M.; ROMERO, L.I.; SALES, D. (1998). Comparative performance of high rate anaerobic thermophilic technologies treating industrial wastewater. v.32, p.559-564.

PÉREZ, M.; ROMERO, L.I.; SALES, D. (2001). Organic matter degradation kinetics in an anaerobic thermophilic fluidized bed bioreactor. *Anaerobe* 7, 25-35. doi:10.1006/anae.2000.0362

PINTO, C.P. (1999). Tecnologia da digestão anaeróbia da vinhaça e desenvolvimento sustentável. Tese (Mestrado). UNICAMP.

POMPERMAYER, R. S; PAULA JÚNIOR, D. R. (2000). Estimativa do potencial brasileiro de biogás através da biodigestão da vinhaça e comparação com outros energéticos. *Anais da VI Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia*, vol. 2, p. 128 – 131.

PRADA, S. M.; GUEKEZIAN, M.; ENCARNACIÓN, M.; SUÁREZ-LHA, V. (1998). Metodologia analítica para a determinação de sulfato em vinhoto. *Química Nova*, 21 (3).

RAGEN, A. K.; HOI, L. W. S.; RAMJEAWON, T. (2001). Pilot plant investigation of the treatment of synthetic sugar factory wastewater using the upflow anaerobic sludge blanket (UASB) process. *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*. 149 – 156.

RAJESHWARI, K.V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A; KUSUM LATA; KISHORE, V.V.N. (2000). State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Pergamon*, v.4, p. 135- 156.

RANATUNGA, T. D.; JERVIS, J.; HELM, R. F.; MCMILLAN, J. D.; HATZIS, C. (1997). Toxicity of hardwood extractives toward *Saccharomyces cerevisiae* glucose fermentation. *Biotechnol Lett* 19(11):1125-7.

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

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

SABADIA, J.A.B. (1994). Impactos da estocagem de vinhaça e das águas de lavagem de cana-de-açúcar nos domínios do aquífero Bauru-Dobrada-São Paulo. Dissertação (Mestrado). Instituto de Geociências, USP.

SANCINETTI, G.P. (2004). Degradação de fenol em reator anaeróbio de leito fluidizado. Tese (Doutorado). DEQ/UFSCAR.

SANZ, J. L.; KÖCHLING, T. (2007). Molecular biology techniques used in wastewater treatment: an overview. *Process Biochemistry* 42, 119 – 133.

SETH, R.; GOYAL, S. K.; HANDA, B. K. (1995). Fixed film biomethanation of distillery spentwash using low cost porous media. *Resources, Conservation and Recycling* 14, 79 – 89.

SHARMA, J.; SINGH, R. (2001). Effect of nutrients supplementation on anaerobic sludge development and activity for treating distillery effluent. *Bioresource Technology* 79, 203 – 206.

SHIVAYOGIMATH, C. B.; RAMANUJAM, T. K. (1999). Treatment of distillery spentwash by hybrid UASB reactor. *Bioprocess Engineering* 21, 255 – 259.

SILVA, G.M.A. & ORLANDO FILHO, J. (1981). Caracterização da composição química dos diferentes tipos de vinhaça no Brasil., *Boletim Técnico Planalsucar*, v.8, p. 5-22.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N.P.; BORGES, L. C. (2007). Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. Vol. 11, nº 1, p. 108 – 114.

SILVEY, P.; PULLAMMANAPPALLIL, P. C.; BLACKALL, L.; NICHOLS, P. (2000). Microbial ecology of the leach bed anaerobic digestion of unsorted municipal solid waste. *Water Sci Technol* 41:9 – 16.

SOUZA, J. T. (1986). Desempenho de digestores anaeróbios de fluxo ascendente no tratamento do vinhoto. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba. Campina Grande/Paraíba.

SOUZA, M.E.; FUZARO, G.; POLEGATO, A.R. (1992). Thermophilic anaerobic digestion of vinasse in pilot plant UASB reactor. *Water Science Technology*.

SOWMEYAN, R.; SWAMINATHAN, G. (2007). Evaluation of inverse anaerobic fluidized bed reactor for treating high strength organic wastewater. *Bioresource Technology*, doi:10.1016/j.biortech.2007.08.021.

SPEECE, R. E. (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters*. 1^o Edition. Archae Press, Tennessee, USA, 394p.

SREEKRISHNAN, T.R., RAMACHANDRAN, K.B., GHOSH, P. (1991). Effect of operating variables on biofilm formation and performance of an anaerobic fluidized-bed bioreactor *Biotechnol. Bioeng.*, 37: 557-566.

STEIL, L. (2001). Avaliação do uso de inóculos na biodigestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frangos de corte e suínos. Araraquara. Dissertação (Mestrado), UNESP.

TAVARES, C. R. G. (1992). Tratamento aeróbio de efluentes em bioreatores de leito fluidizado trifásico. Tese (Doutorado). COPPE/UFRJ.

TELH, M. (2001). Avaliação do uso de reator anaeróbio horizontal de leito fixo no tratamento de vinhaça sob condições termofílicas. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

TOUZEL, J. P.; ALBAGNAC, G. (1983). Isolation and characterization of *Methanococcus mazei* strain MC3. *FEMS Microbiology Letters*, 16:241 – 245.

UENO, Y.; HARUTA, S.; ISHII, M.; IGARASHI, Y. (2001). Changes in product formation and bacterial community by dilution rate on carbohydrate fermentation by methanogenic microflora in continuous flow stirred tank reactor. *Appl Microbiol Biotechnol* 57:65 – 73.

VACCARI, G.; TAMBURINI, E.; SGUALDINO, G.; URBANIEC, K.; KLEMES, J. (2003). Overview of the environmental problems in beet sugar processing: possible solutions. *Journal of Cleaner Production*.

Van HAANDEL, A. C. (1994). Influence of the digested COD concentration on the alkalinity requirement in anaerobic digesters. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 30, nº 8. pp 23 – 34.

VAZOLLER, R.F. (1995). Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. Tese (Doutorado). SHS-EESC-USP.

VIANA, A. B. (2006). Tratamento anaeróbio de vinhaça em reator UASB operado em temperatura na faixa termofílica (55°C) e submetido ao aumento progressivo de carga orgânica. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

VICH, D. V. (2006). Avaliação da atividade metanogênica e comunidade microbiana envolvidas na degradação de metilamina. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de São Carlos. São Carlos. 80p.

VIJAYARAGHAVAN, K.; RAMANUJAM, T. K. (2000). Performance of anaerobic contact filter in series for treating distillery spentwash. *Bioprocess Engineering* 22, 109 – 114.

WANG, Y.T., SUIDAN, M.T.E RITTMAN, B.E. (1986). Anaerobic treatment of phenol by an expanded-bed reactor. *Journal WPCF*, vol.58, n.3, march, p.227-233.

WILKIE, A.C.; RIEDESEL, K.J.; OWENS, J.M. (2000). Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. *Biomass and Bioenergy*, 19:63-102.

ZINDER, S. H.; CARDWELL, S. C.; Anguish, T.; LEE, M.; KOCH, M. (1984). Methanogenesis in a thermophilic (58 °C) anaerobic digester. *Methanotrix* sp. as an important acetoclastic methanogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 47, 796 – 807.