

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DIGESTÃO ANAERÓBIA DE VINHAÇA EM REATORES
UASB TERMOFÍLICOS, EM SÉRIE, COM ADIÇÃO DE Fe, Ni
e Co**

**Daniele Medeiros de Araujo
Tecnóloga em Biocombustíveis**

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**DIGESTÃO ANAERÓBIA DE VINHAÇA EM REATORES
UASB TERMOFÍLICOS, EM SÉRIE, COM ADIÇÃO DE Fe, Ni
e Co**

Daniele Medeiros de Araujo

Orientador: Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira

Coorientadora: Profa. Dra. Rose Maria Duda

Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
– UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte
das exigências para a obtenção do Título de
Mestre em Microbiologia Agropecuária.

2017

A658d Araujo, Daniele Medeiros de
Digestão anaeróbia de vinhaça em reatores UASB termofílicos, em
série, com adição de Fe, Ni e Co / Daniele Medeiros de Araujo. --
Jaboticabal, 2017
vi, 51 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Roberto Alves de Oliveira
Coorientadora: Rose Maria Duda
Banca examinadora: Marcelo Bruno, Valderi Duarte Leite
Bibliografia

1. Biogás. 2. Reatores anaeróbios. 3. Metano. 4. Metanogênese. 5.
Micronutrientes I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 628.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

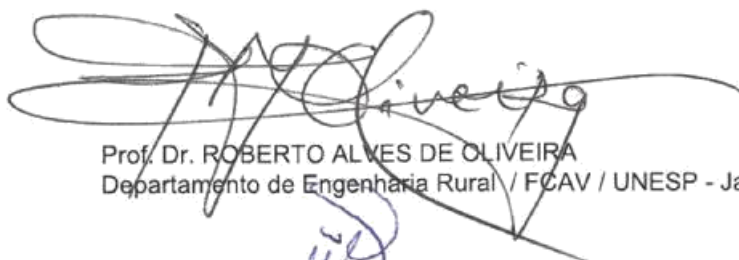
**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DIGESTÃO ANAERÓBIA DE VINHAÇA EM REATORES UASB
TERMOFÍLICOS, EM SÉRIE, COM ADIÇÃO DE Fe, Ni E Co**

AUTORA: DANIELE MEDEIROS DE ARAÚJO

ORIENTADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

COORDINADORA: ROSE MARIA DUDA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MICROBIOLOGIA
AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA
Departamento de Engenharia Rural / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. VALDER DUARTE LEITE
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental / Universidade Estadual da Paraíba / Campina Grande/PB



Prof. Dr. MARCELO BRUNO
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos / UNIFEB / Barretos/SP

Jaboticabal, 20 de julho de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DANIELE MEDEIROS DE ARAUJO – Filha de Joana Teresa Medeiros de Araujo e Aguinaldo Batista de Araujo, nascida em Ribeirão Preto, no estado de São Paulo, no dia 03 de julho de 1993. Graduada em Tecnologia em Biocombustíveis pela Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal (FATEC) – SP, em dezembro de 2014. Em março de 2015 iniciou o curso de pós graduação em Microbiologia Agropecuária, em nível de mestrado, na faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista – UNESP Câmpus de Jaboticabal – SP.

Confia teus negócios ao Senhor e teus planos terão bom êxito.

Provérbios, 16:3

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido a oportunidade de seguir por este caminho tão gratificante.

Ao orientador Profº Dr. Roberto Alves de Oliveira por ser um excelente pesquisador, por ter se dedicado com tanto êxito a esta pesquisa! A coorientadora Profª Drª. Rose Maria Duda pelo enorme desempenho nesta pesquisa, pelos conhecimentos fornecidos, e preciosas contribuições. Agradeço-os por neste tempo de convivência terem estimulado meu senso crítico e participado com tanta intensidade em meu crescimento profissional.

Aos docentes Dr. Marcelo Bruno e Dr. Valderi Duarte Leite pela nobre participação na banca de defesa. Ao docente Dr. Leonardo Madaleno e a Drª. Juliana Vantini pela participação da banca examinadora de qualificação. Agradeço-os pelas valiosas contribuições feitas ao trabalho.

Aos funcionários do Laboratório Central, Plínio e Eliana, a Profª Mara Cristina Pessoa da Cruz, ao Profº Walter Maldonado e aos professores e alunos do departamento de zootecnia da unidade animal de estudos digestivos e metabólicos, por terem cooperado nesta pesquisa, realizando análises fundamentais para o desenvolvimento do estudo.

Aos docentes do departamento de Engenharia Rural e aos funcionários: Ailton, Marcos e Davi.

Aos funcionários da pós-graduação e protocolo: Branca, Hugo, Diego, Márcia, Moises e Daiana por tantas compreensões e ajudas fornecidas.

Aos docentes do curso de pós graduação em Microbiologia Agropecuária da UNESP-FCAV, pelas disciplinas ministradas e pelo aprimoramento acadêmico.

Aos professores e amigos da Fatec que sempre se disponibilizaram em ajudar. Ao Profº Marcelo Armoa que me apresentou a pesquisa científica.

Aos amigos de laboratório: Valciney, Kleber, Aureo e Wilmar, sou muito grata por tudo que passamos juntos, em especial agradeço ao Luan por ter me acompanhado em todas as escolhas desde o início do mestrado. Com certeza o caminho teria sido mais árduo sem vocês, pois, nossa união fez com que os trabalhos de campo e laboratório fossem mais prazerosos. Também agradeço aos estagiários que

passaram pelo laboratório de saneamento ambiental, em especial ao Denis e ao Jorge.

Sou muito grata a todos amigos que fiz na cidade de Jaboticabal, por toda convivência, carinho e amizade fornecida. Agradeço a Milene e Elizabeth que dividiram apartamento e momentos de felicidade e tristeza comigo. A Larissa que sempre me apoiou, incentivou e acreditou no meu potencial. A Daiana por ter sido tão meiga e acolhedora. A Roberta por ter me acompanhado desde a graduação me oferecendo sua preciosa amizade.

A Fernanda Freitas Suzuki, por todas as conversas e conselhos, por ter me incentivado e ensinado com tanta sabedoria, minha gratidão por você será infindável!

Aos meus queridos e amados pais: Joana e Aguinaldo, que me apoiaram desde sempre, me incentivaram e acreditaram que eu seria capaz de conquistar todos os meus sonhos. Não tenho palavras para descrever toda gratidão que sinto por vocês, que são meu alicerce. A minha irmã Priscila pela confiança, incentivo e influência positiva que é para mim. Ao meu amigo e namorado Keoma que sempre me ofereceu seu ombro-amigo e as mais belas palavras e atitudes, por me mostrar o quanto é mais leve o fardo quando se carrega em dois. A toda minha família pelo apoio e incentivo, por me motivarem a ser pesquisadora, e me oferecerem a inspiração de ser cada dia melhor, minha gratidão será eterna por todos vocês.

A Usina Iracema, São Martinho e Pitangueiras pelo fornecimento do material para realização desta pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão de bolsa de mestrado para o desenvolvimento deste estudo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1 Vinhaça: geração, caracterização e disposição final.....	4
3.2 Reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) termofílicos.....	6
3.3 Fundamentos da digestão anaeróbia.....	8
3.4 Nutrição Microbiana.....	9
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1 Instalações experimentais.....	16
4.2 Caracterização do inóculo.....	17
4.3 Caracterização do substrato.....	17
4.4 Condições operacionais.....	18
4.5 Determinações físico-química.....	19
4.6 Cálculos.....	21
4.7 Análise Estatística.....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1 Demanda química de oxigênio (DQO) e eficiência de remoção de DQO nos reatores UASB termofílicos, em série.....	22
5.2 pH, Alcalinidade e Ácidos voláteis totais.....	24
5.3 Produção e composição de biogás.....	27
5.4 Teores de nitrogênio e fósforo no afluente e nos efluentes dos reatores UASB (R1 e R2).....	30
5.5 Teores de sulfato e sulfeto no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.....	32
5.7 Análise de componentes principais.....	38
5.8 Bioestabilização do lodo.....	42
6 CONCLUSÃO.....	45

7 REFERÊNCIAS.....46

8 Anexo A.....51

DIGESTÃO ANAERÓBIA DE VINHAÇA EM REATORES UASB TERMOFÍLICOS, EM SÉRIE, COM ADIÇÃO DE Fe, Ni e Co

RESUMO: Neste trabalho avaliou-se os efeitos da suplementação de ferro, níquel e cobalto na produção de metano da vinhaça proveniente da destilação do etanol de cana-de-açúcar, em reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB, R1 e R2) termofílicos, em série. Para determinar os efeitos da adição do Fe, Ni e Co, o experimento foi realizado em 3 diferentes fases. Na fase I foi realizada a partida dos reatores UASB, R1 e R2, com o aumento gradativo da carga orgânica volumétrica (COV) até valores de $9,4 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$. Nas fases II e III a COV variou entre $9,9$ a $14,9 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, e a fase III distinguiu-se da fase II pela suplementação com Fe, Ni e Co, na vinhaça afluyente. Para o R1, a suplementação com elementos traço induziu ao decréscimo de ácidos voláteis totais, de 1801 para 834 mg L^{-1} , aumento na produção volumétrica de metano (PVM) em 101% e aumento na eficiência remoção de DQO para 53%. O Fe foi considerado o principal elemento traço por seus efeitos de precipitação com sulfeto e participação nas fases acetogênicas e metanogênicas da digestão anaeróbia. As relações Fe/DQO, Ni/DQO e Co/DQO de $12,59$, $0,138$ e $0,191 \text{ mg (g DQO}_{\text{removida}})^{-1}$, respectivamente, foram consideradas ideais para o R1, pois, possibilitaram as mais altas PVM atingindo até $1,4 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$. No sistema (R1+R2), a adição de Fe, Ni e Co promoveu estabilidade operacional, e auxiliou na remoção de DQO, melhorando a eficiência total do sistema. Porém, não favoreceu a PVM, que manteve-se com média $0,571 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ e foi semelhante a fase II, sem adição de elementos traço, com valores médios de $0,555 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$. Portanto, verificou-se que com a suplementação de elementos traço, apenas o R1 seria suficiente, porém, para realizar o tratamento da vinhaça sem a suplementação de elementos traço, o R2 é essencial para a obtenção de metano, mas, sem garantia de estabilidade operacional para o sistema de digestão anaeróbio.

Palavras-chave: Biogás; reatores anaeróbios; metano; metanogênese; micronutrientes.

ANAEROBIC DIGESTION OF VINASSE IN THERMOPHILIC REACTORS, IN SERIES, WITH Fe, Ni AND Co SUPPLEMENTATION

ABSTRACT: In this study was evaluated the effects of supplementation with iron, nickel and cobalt on vinasse in reactors upflow anaerobic sludge blanket (UASB, R1 and R2) thermophilic, in series. To determine the effects of the addition of trace elements, the experiment was conducted in 3 phases. During the first phase was characterized by the gradual increase of the organic loading rate (OLR) up to $9.4 \text{ g COD}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, and start-up of system. In the phase II and III the OLR varied between 9.9 to $14.9 \text{ g COD}_{\text{total}} (\text{L d})^{-1}$, the phase III distinguished of phase II only in trace element supplementation. For R1, trace element supplementation induced a decreased in total volatile acids, from 1801 to 834 mg L^{-1} , increase in methane production rate (MPR) by 101% and increased in chemical oxygen demand (COD) removal efficiency to 53% . The Fe was considered the most relevant in the system due to its ability to precipitate with sulfide and participation in acetogenic and methanogenic phases of anaerobic digestion. The ratios Fe/COD, Ni/COD and Co/COD 12.59 , 0.138 , $0.191 \text{ mg g}^{-1} \text{ COD}_{\text{removed}}$, respectively, they were considered ideal for R1, as they enabled as higher MPR reaching up to $1.4 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$. For the system (R1+R2), the supplementation of Fe, Ni and Co promoted operational stability, and assisted in the removal of COD increasing the total efficiency of the system. However it did not favor the MPR, which remained on average of $0.571 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$, and was similar to phase II, without addition of trace elements, with mean of $0.555 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$. Therefore, it was verified that with the addition of trace elements, only R1 would be sufficient for the treatment of vinasse, but , if the treatment in chosen without the addition of trace elements, R2 would be essential for obtaining methane, but, without assurance of operational stability for the anaerobic digestion system.

Keyword: Biogas; anaerobic reactors; methane; methanogeneses; micronutrients.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol e a geração de vinhaça. (Adaptado de NANDY; SHASTRY; KAUL, (2002))	4
Figura 2. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (com redução de sulfato). (Adaptado de CHERNICHARO, 2007).	8
Figura 3. Representação esquemática dos reatores UASB, em série, termofílicos. R1: reator 1; R2 reator 2; P1, P2, P3 e P4: pontos de coleta de lodo.	16
Figura 4. Valores de demanda química de oxigênio (DQO_{total}) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.	23
Figura 5. Eficiência de remoção de demanda química de oxigênio (DQO_{total}), nos reatores UASB termofílicos, em série, no tratamento da vinhaça.....	23
Figura 6. (A) pH, (B) alcalinidade parcial (AP) e (C) alcalinidade total (AT), no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.	26
Figura 7. Ácidos Voláteis Totais (AVT) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.....	27
Figura 8. Carga orgânica volumétrica (COV) versus produção volumétrica de metano (PVM) obtidos nos reatores UASB termofílicos, em série.	29
Figura 9. Produção específica de metano (PEM) nos reatores UASB termofílicos, em série.	30
Figura 10. Concentrações de sulfato no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.....	32
Figura 11. Concentrações de sulfeto no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.....	33
Figura 12. Concentração de Fe, Ni e Co no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, durante a fase III.	36
Figura 13. Análise de componentes principais dos reatores UASB R1 e R2.	39
Figura 14. Produção volumétrica de metano (PVM) versus produção específica de metano (PEM), nos reatores UASB termofílicos, em série.....	41

- Figura 15. Concentração de sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e da relação SV/ST no lodo dos reatores UASB termofílicos, em série, nos pontos de coleta (P1 a P4), nas fases I a III.42
- Figura 16. Concentrações de Fe, Ni e Co detectadas no início e final do experimento no lodo dos reatores UASB termofílicos, em série, nos pontos de coleta (P1 a P4).43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características de vinhaça provenientes de caldo e melaço da cana-de-açúcar (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).	5
Tabela 2. Composição química dos micro-organismos metanogênicos (SPEECE, 2008).....	10
Tabela 3. Funções de alguns metais traço essenciais em enzimas envolvidas em reações anaeróbias.	11
Tabela 4. Concentração de nutrientes utilizados na suplementação de diversas águas residuárias e resíduos para otimizar a produção de biogás encontradas na literatura.	15
Tabela 5. Características da vinhaça de cana-de-açúcar concentrada utilizada como afluente dos reatores UASB.	18
Tabela 6. Condições operacionais aplicadas nos reatores UASB, R1 e R2, utilizadas para a produção de biogás da vinhaça de cana-de-açúcar.	19
Tabela 7. Determinações físico-químicas realizadas no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.	20
Tabela 8. Valores médios da carga orgânica volumétrica (COV), demanda química de oxigênio total (DQO _{total}) e eficiência de remoção de DQO _{total} nos reatores UASB termofílicos, em série.	22
Tabela 9. Valores de pH, alcalinidade total (AT), alcalinidade intermediária (AI) e alcalinidade parcial (AP), ácidos voláteis totais (AVT), nitrogênio amoniacal (N-am.) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, e relações AI/AP e AVT/AT nos efluentes dos reatores UASB, R1 e R2.	25
Tabela 10. Teor de metano, produção volumétrica de metano (PVM), produção específica de metano (PEM), valores da demanda química de oxigênio removida convertida em metano e estimativa da produção de energia elétrica a partir do metano produzido nos reatores UASB termofílicos, em série.	28
Tabela 11. Nitrogênio total kjeldahl (NTK) e fósforo total (P-total) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB R1 e R2 termofílicos, em série, eficiência de remoção de NTK e P-total para o sistema (R1+R2), e relação DQO:N:P.....	31
Tabela 12. Valores médios das concentrações de Fe, Ni, Co, Mn, Zn, Cu, Ca, Mg e Na, no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, e eficiência de remoção no sistema R1+R2.	35

Tabela 13. Valores de fenóis (mg L^{-1}) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, e eficiências de remoção para o sistema R1+R2.....	38
Tabela 14. Concentrações de Ni, Cu e Zn (mg kg^{-1} , base seca,) determinados durante a fase III no lodo dos reatores UASB termofílicos, em série, nos pontos de coleta (P1 a P4).	44

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, na safra de 2016/2017 foram produzidos aproximadamente 27 bilhões de litros de etanol de cana-de-açúcar (UNICA, 2017), o que corresponde a 30% da produção mundial de etanol (RFA, 2017). Durante a produção de etanol é gerada a vinhaça como subproduto, na proporção de 12 litros para cada litro de etanol (PACHECO, 2010). A vinhaça, no Brasil é aplicada no solo para o cultivo da cana-de-açúcar, em virtude dos compostos que podem substituir parcialmente os fertilizantes minerais, como o potássio (CETESB, 2006). No entanto o excesso de vinhaça no solo pode provocar infiltração e contaminação em águas subterrâneas (LYRA; ROLIM; SILVA, 2003), e contribuir para alguns problemas ambientais, como a emissão de gases de efeito estufa durante o transporte e armazenamento temporário, além de provocar odor desagradável (OLIVEIRA et al., 2013; CHRISTOFOLETTI et al., 2013).

A vinhaça, em virtude da elevada demanda química de oxigênio (DQO), de no mínimo 30 g L⁻¹, nitrogênio total de 0,6 a 1,2 g L⁻¹ e fósforo total de 0,1 a 0,3 g L⁻¹ (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000), pode ser utilizada para a produção de metano por meio da digestão anaeróbia, agregando benefícios econômicos e ambientais a indústria sucroenergética. A utilização de reatores UASB para a produção de metano a partir da vinhaça pode ser uma alternativa interessante (ESPAÑA-GAMBOA et al., 2012; FERRAZ JÚNIOR et al., 2016; VAN HAANDEL et al., 2014). Utilizando reatores UASB termofílicos na digestão anaeróbia da vinhaça, Harada et al. (1996) observaram elevado rendimento de metano, de até 0,29 L CH₄ (g DQO_{removida})⁻¹. Visando melhorar a qualidade do efluente, Speece (2008), indica o uso de reatores anaeróbios termofílicos em dois estágios, pois proporcionam melhores condições operacionais para a fase metanogênica, possibilitando também o maior rendimento na produção de biogás.

Para otimizar a produção de metano em reatores anaeróbios vários estudos foram desenvolvidos para avaliar a influência dos metais traço na fermentação metanogênica, utilizando a vinhaça proveniente de diversas matérias primas. Na vinhaça os elementos traço como Fe, Ni e Co são encontrados em concentrações mínimas ou em níveis não detectáveis (ESPINOSA et al. 1995). Portanto,

Gustavsson; Svensson; Karlsson, (2011) verificaram que a adição de $0,5 \text{ g (L d)}^{-1}$ de Fe, $0,5 \text{ mg (L d)}^{-1}$ de Co e $0,2 \text{ mg (L d)}^{-1}$ de Ni, na vinhaça proveniente do etanol de trigo foram suficientes para manter a estabilidade na produção de metano, em experimentos realizados em frascos, aplicando-se COV de $4 \text{ g SV (L d)}^{-1}$. Espinosa et al. (1995) verificaram que a suplementação de $100 \text{ mg (L d)}^{-1}$ de Fe, 15 mg (L d)^{-1} de Ni, 10 mg (L d)^{-1} de Co e $0,2 \text{ mg (L d)}^{-1}$ de Mo, na vinhaça proveniente do etanol de melaço influenciou na diminuição de AVT e no aumento da eficiência de remoção de DQO, de 44 para 58%, com a aplicação de COV de $17,4 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ em reatores UASB. Portanto, a suplementação desses elementos traço, quando necessária, são recomendadas para a realização da digestão anaeróbia em condições ótimas, visando a obtenção máxima de energia deste importante subproduto agroindustrial (CHOONG et al., 2016).

A importância do Fe, Ni e Co tem sido estudada por vários autores (TAKASHIMA; SHIMADA; SPEECE, 2011; SCHMIDT et al., 2014; GUSTAVSSON; SVENSSON; KARLSSON, 2011; ESPINOSA et al., 1995; QIANG et al., 2013). Os elementos traço podem melhorar a atividade dos micro-organismos metanogênicos, pois estes desenvolvem funções essenciais na síntese de coenzimas das vias metabólicas da digestão anaeróbia (OLESZKIEWICZ; SHARMA, 1990; CHOONG et al. 2016). O Ni, por exemplo, está relacionado as coenzimas F_{430} e F_{420} , o Co, a coenzima corrinoide e o Fe as coenzimas citocromos e ferredoxinas (CHOONG et al., 2016; OLESZKIEWICZ e SHARMA, 1990; ZANDVOORT et al., 2006). Essas coenzimas atuam na codesidrogenase, hidrogenase e metiltransferase, que agem principalmente em micro-organismos acetogênicos e metanogênicos (ZANDVOORT et al., 2006; TAKASHIMA; SHIMADA; SPEECE, 2011). Portanto, a suplementação de Fe, Ni e Co no afluente dos reatores anaeróbios podem proporcionar maior remoção de material orgânico e consumo de AVT, e melhores produções de biogás. O Fe também contém características que possibilitam a precipitação do sulfeto gerado na digestão anaeróbia (GUSTAVSSON et al., 2013).

Observando-se os relatos encontrados na literatura sobre a importância da suplementação de elementos traços na digestão anaeróbia, avaliou-se o efeito da suplementação do Fe, Ni e Co na vinhaça de cana-de-açúcar para a produção de biogás, em reatores UASB termofílicos, em série.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a digestão anaeróbia termofílica da vinhaça em reatores UASB, em série, com adição de Fe Ni e Co.

2.2 Objetivos específicos

- Aumentar gradualmente a COV até 9,4 g DQO (L d)⁻¹ (Fase I);
- Avaliar o desempenho do sistema com COV média de 12 g DQO (L d)⁻¹, sem suplementação com Fe, Ni e Co (Fase II);
- Avaliar o desempenho do sistema, em condições operacionais semelhantes a fase II, mas com suplementação de Fe, Ni e Co (Fase III);
- Avaliar a produção de metano e qualidade do efluente durante todo o experimento.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Vinhaça: geração, caracterização e disposição final

O etanol pode ser obtido por meio de matérias primas como cana-de-açúcar, milho, beterraba, entre outras. No Brasil, a principal matéria prima utilizada é a cana-de-açúcar, a qual passa por um processo de moagem, que dá origem ao bagaço como subproduto e ao caldo que pode ser destinado para produção de açúcar ou etanol dependendo de sua qualidade (Figura 1).

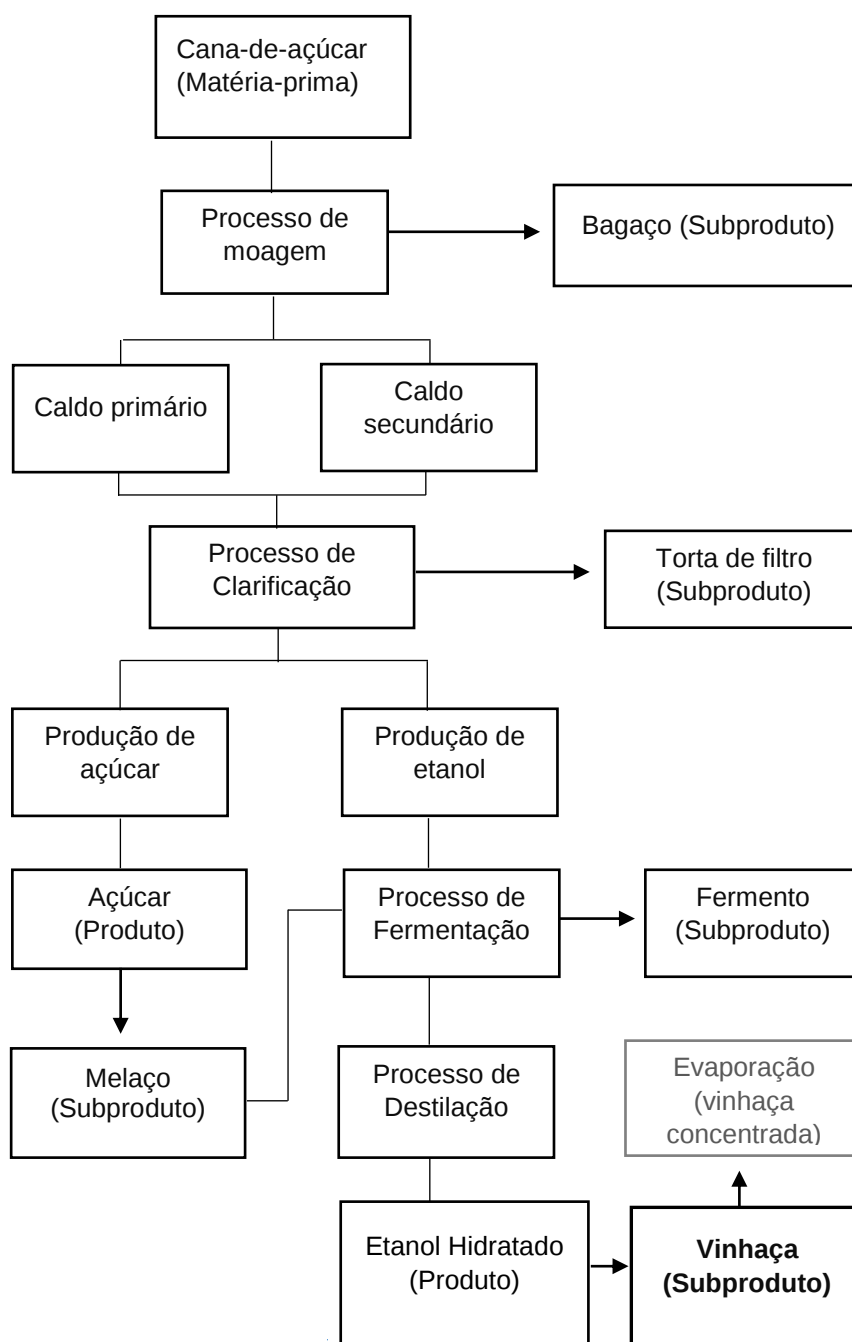


Figura 1. Fluxograma simplificado da produção de açúcar e etanol e a geração de vinhaça. (Adaptado de Nandy, Shastry e Kaul (2002))

Em seguida, o caldo, passa pelo processo de clarificação, onde gera-se como subproduto a torta de filtro. O caldo destinado para produção de açúcar é concentrado e posteriormente centrifugado gerando nesta etapa o melaço como subproduto que contém grande quantidade de glicose, e portanto, é utilizado como matéria prima para produção de etanol. O caldo clarificado ou o melaço é submetido ao processo de fermentação. Nesta etapa adicionam-se leveduras (*saccharomyces cerevisiae*), que transformam o caldo em um líquido denominado vinho. Esse produto contém entre 8 a 10% de teor alcoólico, que é elevado pela destilação e retificação, gerando assim como produto final o etanol hidratado e como subproduto a vinhaça. Em cada litro de etanol produzido, são gerados em média 12 litros de vinhaça (PACHECO, 2010).

O teor de matéria orgânica contido na vinhaça pode variar entre 30 a 89 g DQO L⁻¹ de acordo com a matéria-prima (Tabela 1), o pH é de aproximadamente 4,0 e a temperatura entre 80 e 90 °C (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

Tabela 1. Características de vinhaça provenientes de caldo e melaço da cana-de-açúcar (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

Matéria prima	pH	DQO	N	P	SO ₄ ⁻²
Caldo	4,0 ± 0,5	30,4 ± 8,2	0,63 ± 0,32	0,13 ± 0,11	1,36 ± 1,4
Melaço	4,5 ± 0,3	89,4 ± 30,6	1,23 ± 0,64	0,19 ± 0,3	3,48 ± 2,52

DQO: demanda química de oxigênio, N: nitrogênio total, P: fósforo, SO₄: sulfato. Unidades: g L⁻¹, exceto para o pH.

Além da DQO, N, P e SO₄ a vinhaça contém compostos fenólicos e melanoidina que é formada pela reação de Maillard entre açúcares e proteínas, sendo uma mistura heterogênea (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000; BRANDS; WEDZICHA; BOEKEL, 2002; MARTINS; BOEKEL, 2003).

No Brasil a principal utilização da vinhaça é para fertirrigação da cana-de-açúcar, visto que, a vinhaça possui vários nutrientes como o potássio, entre outros. Essa alternativa é simples para a disposição deste efluente no ambiente. Porém um dos principais problemas da vinhaça é a quantidade gerada na indústria. E para assegurar sua disposição final, foi homologada a Norma Técnica P4.231 CETESB, em janeiro de 2005, intitulada “Vinhaça: critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola de vinhaça de cana-de-açúcar, no Estado de São Paulo”. A qual, orienta o uso com cautela da vinhaça, pois o excesso pode causar prejuízos ao meio ambiente.

O lançamento exacerbado da vinhaça no solo pode gerar impactos ambientais como a contaminação do solos e das águas subterrâneas. Portanto surgiram legislações como a Portaria nº 323, de 29/11/1978, que proíbe o lançamento de vinhaça em corpos hídricos; a Resolução CONAMA nº 0002, de 05/06/1984, que determina a realização de estudos contendo normas para controle da poluição causada pelos efluentes; a resolução CONAMA nº 0001, de 23/01/1986, que exige as novas indústrias instaladas a realizarem a avaliação do impacto ambiental (AIA) e o relatório de impacto ambiental (RIMA).

Apesar da utilização da vinhaça ser feita principalmente na fertirrigação, existem outras alternativas para a disposição final da vinhaça, dentre elas a incineração do efluente concentrado, e o tratamento físico-químico (ZENG; LIU; QIN, 2009). Porém, tais métodos promovem a transferência de poluição do meio líquido para o meio sólido (SILVA, A. 2012). Outro método muito promissor é a concentração da vinhaça por evaporação, que visa utilizar o vapor gerado na indústria, e a vinhaça concentrada pode ser aplicada no plantio. A vinhaça concentrada também pode ser destinada ao processo de digestão anaeróbia, visto que para iniciar o processo é necessária a diluição da mesma, mas após um período de operação o efluente proveniente do reator anaeróbio poderá ser utilizado para diluição da vinhaça. E assim, constituir um sistema fechado e independente de água capaz de gerar vapor no processo de evaporação e biogás na digestão anaeróbia, e ambos produtos podem ser utilizados como fonte lucrativa para a indústria.

O tratamento biológico pode ser utilizado com intuito de promover a estabilização das altas concentrações de matéria orgânica. Sendo assim, a digestão anaeróbia tem sido considerada um método atrativo, pois, além de realizar o tratamento da vinhaça, resulta na produção de metano que pode ser utilizado como fonte de energia (VIANA, 2006). Pois o biogás produzido pode ser empregado em automóveis (SOUZA et al. 2012), gerar energia elétrica em motores de combustão interna, e na combustão em caldeiras industriais de vapor (MORAES et al. 2014).

3.2 Reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) termofílicos

Para o tratamento de subprodutos agroindustriais como a vinhaça, destaca-se a utilização de reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB),

em virtude da elevada eficiência. Os reatores UASB oferecem vantagens em relação a outros reatores da mesma geração por ter simplicidade construtiva e baixos custos operacionais, além de ser capaz de suportar altas taxas de carga orgânica e promover retenção de biomassa sem a utilização de meio suporte (CHERNICHARO, 2007).

A eficiência do sistema pode ser afetada por fenômenos de mistura e transporte, portanto, o comportamento hidrodinâmico pode auxiliar na detecção de curtos-circuitos, zonas mortas, desvios de fluxo e zonas estagnadas (PEÑA; MARA; AVELLA, 2006). O bom funcionamento do processo de digestão anaeróbia também depende de características do substrato, tempo de detenção hidráulica (TDH), carga orgânica volumétrica (COV), pH, temperatura e substâncias tóxicas (MENDES et al. 2015). Portanto é essencial que se estabeleça previamente fatores controláveis que possam afetar o desempenho do reator.

A digestão anaeróbia em reatores termofílicos tem propriedades semelhantes aos reatores mesofílicos, porém, a vinhaça originada de destilarias de etanol tem características favoráveis ao sistema termofílico, pois, ao sair das destilarias apresenta temperatura entre 80 a 90 °C (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

Yu et al. (2014) avaliaram reatores termofílicos e mesofílicos e verificaram melhor rendimento no processo termofílico, pois, houve produção de 750 L kg (SV)⁻¹ de biogás, enquanto reatores mesofílicos apresentaram 629 L kg (SV)⁻¹ de biogás, com COV de 3 kg SV m⁻³ d⁻¹. Souza; Fuzaro e Polegato, (1992) avaliaram o desempenho de reator UASB termofílico e observaram eficiência de remoção de DQO de 72%, com aplicação de COV de até 30 g DQO_{total} (L d)⁻¹.

Sendo assim, a temperatura termofílica pode ser considerada favorável para o processo de digestão anaeróbia da vinhaça. Ademais, a temperatura termofílica possibilita o maior controle de sulfeto no substrato, pois proporciona maior constante de ionização (SPEECE, 2008). Portanto, nos substratos que contenham elevadas concentrações de sulfato como a vinhaça, a digestão anaeróbia termofílica é recomendada. Com o intuito de intensificar e melhorar o processo de digestão anaeróbia, o uso de sistemas termofílicos juntamente com reatores em dois estágios podem melhorar a qualidade do efluente. Pois, proporcionam melhores condições operacionais para a fase metanogênica, possibilitando maior rendimento na

produção do biogás com melhor qualidade, ao tratar efluentes que contenham sulfato (SPEECE, 2008).

3.3 Fundamentos da digestão anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia consiste em três fases, nas quais existem várias rotas metabólicas. Inicialmente na fase hidrolítica e acidogênica as bactérias promovem a hidrólise do substrato complexo, e em seguida as bactérias acetogênicas oxidam compostos orgânicos intermediários como propionato e butirato em substratos como acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. As arqueias metanogênicas são responsáveis por concluir o processo de biodigestão, portanto utilizam os produtos gerados em fases anteriores para produzir o metano (Figura 2).

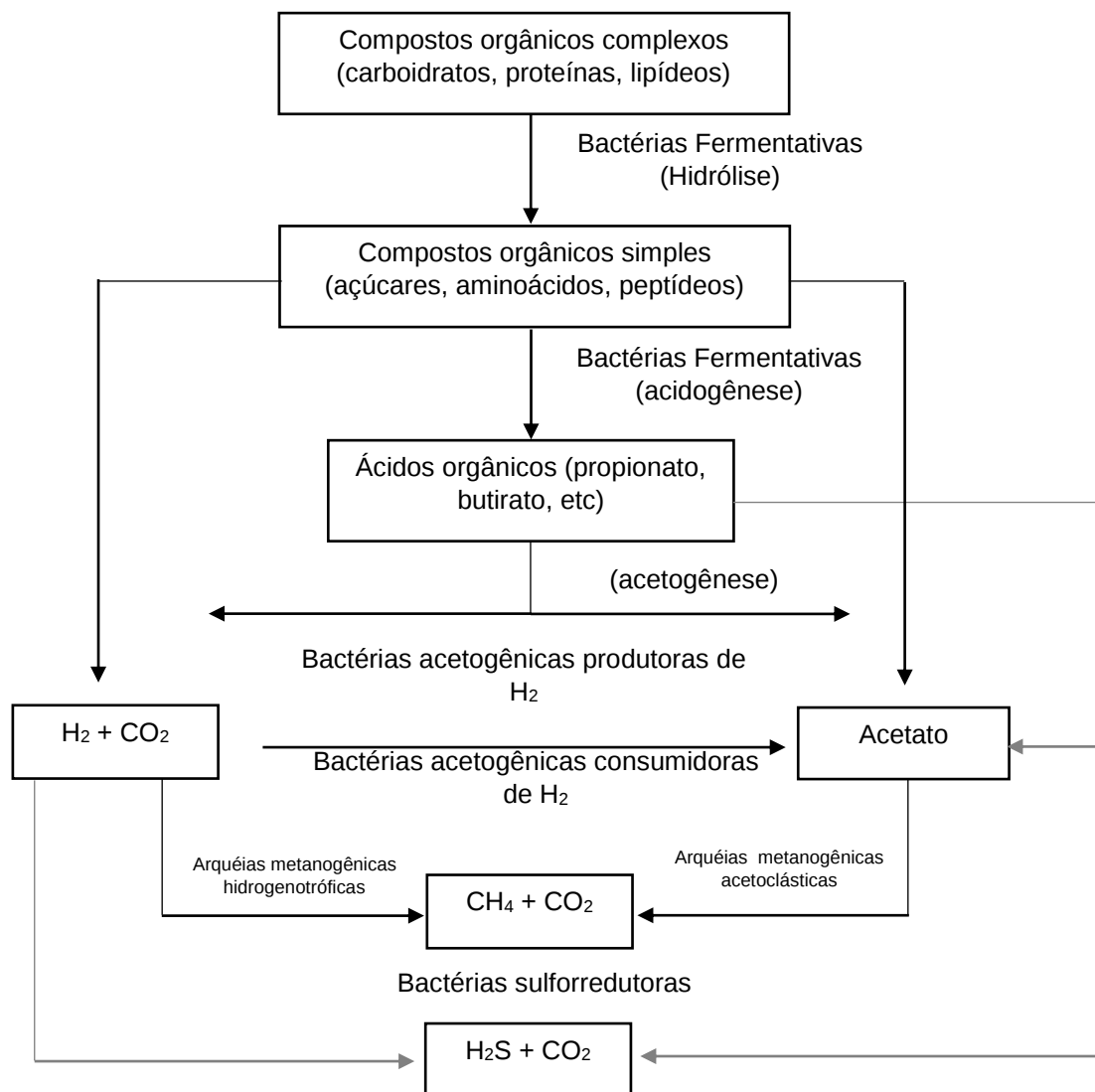


Figura 2. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (com redução de sulfato). (Adaptado de Chernicharo, 2007).

A presença de sulfato provoca a redução do mesmo a sulfeto, pelas bactérias sulforredutoras em um processo denominado redução de sulfato (SPEECE, 2008). Apesar dos desvios nas rotas metabólicas, o enxofre é necessário para a síntese de proteínas (CHERNICHARO, 2007). Mas, seus requisitos para as arqueias metanogênicas são de amplitude complexa, pois, a presença de sulfato pode limitar a metanogênese, visto que, as bactérias sulforredutoras competem por substrato como hidrogênio e acetato. Contudo as arqueias metanogênicas dependem da produção de sulfeto para seu crescimento. Portanto, é essencial que seja feito o controle adequado do mesmo para proporcionar um ambiente favorável ao crescimento das arqueias metanogênicas.

A redução de sulfato resulta na formação de H_2S , um composto inibidor para as arqueias metanogênicas (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008). A inibição mais acentuada ocorre quando a relação entre DQO/SO_4 é inferior a 7, com uma forte dependência do pH. Para a relação DQO/SO_4 maior que 10, parte do H_2S é removido na fase líquida, diminuindo seu efeito inibidor na digestão anaeróbia (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

3.4 Nutrição Microbiana

A digestão anaeróbia ocorre por meio da ação de micro-organismos e a atividade da biomassa microbiana é dependente de uma série de fatores, mas a falta de nutrientes pode ser um fator limitante para o processo de digestão anaeróbia (SPEECE, 2008).

As necessidades nutricionais das populações microbianas, envolvidas nos processos biológicos de tratamento de efluentes são estabelecidas a partir da composição química das células microbianas. Porém a composição exata é raramente conhecida, portanto, as considerações são baseadas de acordo com a composição empírica das células microbiana, como descrito na Tabela 2 (CHERNICHARO, 2007).

Os micro-organismos são constituídos predominantemente de água (aproximadamente 90%). Porém, a composição celular, geralmente, é apresentada como base seca, que é constituída principalmente por macromoléculas (95%) nas quais aproximadamente 50% a 55% são proteínas, 20% RNA, 9% lipídeos, 5% polissacarídeo, 3% DNA, moléculas como aminoácidos, carboidratos, nucleotídeos e

seus precursores fazem parte de aproximadamente 3 a 4% da massa seca celular, os íons inorgânicos fazem parte de apenas 1% (SANTANA JÚNIOR, 2010).

Os elementos traço são essenciais para processos bioquímicos e fisiológicos dos micro-organismos, os quais são exigidos em pequenas concentrações, porém, são fundamentais para um bom desempenho dos mesmos (FERMOSO et al. 2009).

Para que os processos biológicos sejam operados com sucesso, os nutrientes inorgânicos devem ser fornecidos em quantidades suficientes. Geralmente os efluentes industriais tem composição específica, e usualmente necessitam de suplementação nutricional para sua degradação ótima. Os nutrientes necessários para a estimulação dos micro-organismos metanogênicos são: nitrogênio, enxofre, fósforo, ferro, cobalto, níquel, molibdênio, riboflavina e vitamina B12 (CHERNICHARO, 2007). Porém a presença de nutrientes não indica biodisponibilidade dos mesmos, pois, estes podem estar complexados com outro metal impossibilitando que os micro-organismos os utilizem (SPEECE, 2008).

Tabela 2. Composição química dos micro-organismos metanogênicos (SPEECE, 2008).

Elemento	Mínimo (mg L ⁻¹)	Máximo (mg L ⁻¹)
C	370000	440000
H	55000	6500
N	95000	128000
Na	3000	40000
K	1300	50000
S	5600	12000
P	5000	28000
Ca	8	4500
Mg	900	5300
Fe	700	2800
Ni	65	180
Co	10	120
Mo	10	70
Zn	50	630
Cu	10	160
Mn	5	25
Se	14	320

Os micronutrientes considerados com maior relevância para a digestão anaeróbia são o Fe, Ni e Co (OLESZKIEWICZ e SHARMA, 1990), enquanto, outros elementos traço existem poucas informações disponíveis na literatura em relação a seus efeitos positivos na digestão anaeróbia (PATEL et al. 1993). Na Tabela 3 há descrição de algumas enzimas e coenzimas correlacionadas ao Fe, Ni e Co na digestão anaeróbia.

Tabela 3. Funções de alguns metais traço essenciais em enzimas envolvidas em reações anaeróbias.

Elementos	Fe	Ni	Co
Funções	Ferredoxina	Co-desidrogenase	Enzimas B12
	Citocromos	Urease	Co-desidrogenase
	Hidrogenase	Metil-Co M redutase (F ₄₃₀)	Metiltransferase
	Co-desidrogenase		

Na digestão anaeróbia várias enzimas tem papel fundamental, e ademais, cofatores enzimáticos desempenham papel relevante como transportadores de carbono ou como fornecedores de elétrons nas reações de oxirredução (SANTANA JÚNIOR, 2010).

Em 1970 o Instituto de pesquisa solar, pesquisava sobre condições para que os micro-organismos suportassem taxas de utilização de acetato maiores que 20 Kg m⁻³d⁻¹. E observaram que a suplementação com Fe e Ni aumentava a taxa de utilização de acetato (SPEECE, 2008).

Whitman e Wolfe (1980) descobriram que a coenzima F₄₃₀ continha quantidades substanciais de Ni. Diekert e Jaenchen (1980) também observaram que o Ni era componente essencial da coenzima F₄₃₀, a qual tem estrutura complexa, contendo um grupo tetrapírol, que contém Ni no seu interior, sendo essencial para o crescimento de micro-organismos acetoclásticos, tanto arqueias metanogênicas quanto bactérias sulforredutoras (OLESZKIEWICZ e SHARMA, 1990). Essa coenzima está envolvida na fase final da metanogênese (SANTANA JÚNIOR, 2010). Além da metil coenzima M redutase, que catalisa a redução de metil coenzima M para metano que é a última via metanogênica (ZHANG; ZHANG; LI, 2015). A

presença de Ni é vital para hidrogenase e monóxido de carbono desidrogenase (CODH) que desempenha funções em bactérias acetogênicas (HAUSINGER 1987).

Wu et al. (2015) estudaram diferentes concentrações de Ni para observar em qual condição os micro-organismos apresentavam melhor atividade metanogênica. Os autores testaram quantidades elevadas como 15, 20 e 25 mg L⁻¹ de Ni e essas concentrações causaram inibição aos micro-organismos fermentativos. No entanto os metanogênicos adaptaram-se a toxicidade gerada e sua estimulação foi provocada com baixas concentrações, de Ni, com valores de 5 e 10 mg L⁻¹.

A via metabólica para a produção de metano a partir de metil compostos e acetato se inicia com a transferência de grupos metila para uma proteína (corrinoide), que apresenta semelhança com a vitamina B₁₂. Essa proteína apresenta um anel semelhante ao da porfirina, com um átomo central de Co. O complexo formado (H₃C-proteína) cede o grupo metila a coenzima CoM, gerando um novo complexo (H₃C-CoM), a partir do qual o metano é formado. De modo simultâneo o grupo carbonila do acetato é oxidado a CO₂ (SANTANA JÚNIOR, 2010). O Co em solução pode estar associado com a vitamina B₁₂, ou seja, corrinoides. As enzimas B₁₂ são conhecidas por desempenhar um papel crucial na metanogênese, pois as arqueias metanogênicas são capazes de excretar compostos B₁₂ em solução. Portanto o Co dissolvido pode estar relacionado com B₁₂ extracelular. Há também possibilidade de que essa vitamina seja de origem intracelular sendo excretada como resultado da lise celular durante o tratamento anaeróbio (GUSTAVSSON et al. 2013).

Outro nutriente considerado importante para a metanogênese é o Fe, pois participa do metabolismo energético sendo utilizado para transportar arqueias metanogênicas para a conversão de CO₂ em CH₄ e atua comoceptor final de elétrons (VINTILOIU et al. 2013). O Fe é fornecido em concentrações relativamente maiores quando comparado ao Ni e Co, em virtude de suas propriedades de adsorção e precipitação (GUSTAVSSON et al. 2013). A suplementação com Fe torna-se útil para elevar a taxa de conversão de propionato, e bactérias homoacetogênicas (MENG et al. 2013). Entre os benefícios pela suplementação com Fe está o envolvimento no metabolismo energético para estimular a formação de citocromos e ferredoxinas (TAKASHIMA; SHIMADA; SPEECE, 2011). Esse

elemento, age também na precipitação de sulfeto que é frequentemente encontrado em sistemas de digestão anaeróbia, portanto atua como controlador de gás sulfídrico, sendo esse gás tóxico para as arqueias metanogênicas (GUSTAVSSON et al. 2013).

Khatri et al. (2015) avaliaram o incremento de Fe e NaOH no inóculo de esterco de galinha para observar o comportamento da digestão anaeróbia de milho e palha, foi possível identificar que as dosagens de 200 a 1000 mg L⁻¹ de Fe juntamente com NaOH (4%) provocou efeito sinérgico proporcionando um aumento de metano em 21,8% (368,8 mL CH₄ (SVT)⁻¹) e 56,2% (472,9 mL CH₄ (SVT)⁻¹). O efeito sinérgico foi atribuído a combinação da alcalinidade que proporcionou maior acessibilidade a fração biodegradável de palha, enquanto que o aumento de Fe proporcionou maior atividade microbiana.

Zhang; Zhang e Li (2015) relataram que 1000 mg L⁻¹ de Fe e 50 mg L⁻¹ Ni causaram inibição em arqueias metanogênicas enquanto que 100 mg L⁻¹ de Fe, 1 mg L⁻¹ de Co, 5 mg L⁻¹ de Ni e 5 mg L⁻¹ de Mo provocaram 35,5% de aumento na produção de metano, utilizando restos de alimento de restaurante com COV 2 g VS L⁻¹ dia. Os resultados indicaram que esses metais provocaram efeito sinérgico na digestão anaeróbia.

Gustavsson; Svensson e Karlsson (2011) estudaram a digestão anaeróbia de vinhaça avaliando concentrações distintas de Fe, Ni e Co e observaram que as concentrações ótimas foram de 0,5 g L⁻¹ de Fe, 0,5 mg L⁻¹ de Co e 0,2 mg L⁻¹ de Ni utilizando COV de 4 g SV (L d)⁻¹. Outro estudo realizado por Gustavsson et al. (2013) relataram que a suplementação de Co e Ni nas concentrações de 0,1 e 0,3 mg L⁻¹, respectivamente, apresentaram efeito estimulante no desempenho do sistema anaeróbio alimentado com vinhaça como substrato com COV 4 g (L d)⁻¹.

Os nutrientes Fe, Ni e Co são considerados os mais exigidos pelos micro-organismos em virtude da participação em sistemas metanogênicos. Contudo outros nutrientes são necessários, porém, há poucos relatos na literatura sobre a quantidade adequada para cada nutriente. Alguns estudos indicam possibilidades de concentrações que causam estimulação ou inibição a metanogênese.

Singh; Kuma e Ojha (1999) avaliaram que Ca e Mg tem capacidade de estimulação em micro-organismos metanogênicos. Enquanto o Fe, Zn, Mn e Cu são

necessários em menores concentrações para a síntese de vários micro-organismos anaeróbios, sendo estes utilizados como cofatores enzimáticos.

Romero-Guiza et al. (2015) verificaram que a adição de $3,3 \text{ g L}^{-1} \text{ MgCl}_2$ diminuiu o rendimento de metano de 148 para $61 \text{ mL CH}_4 (\text{g SV})^{-1}$ realizando tratamento de efluente suíno. Indicando que elevadas concentrações de Mg pode provocar inibição aos microrganismos.

Lopes et al. (2008) estudaram a concentração de elementos traço no lodo granular de reatores UASB, pois, a distribuição dos nutrientes no lodo granular em diferentes frações química são importantes para o sistema de digestão anaeróbia. Outros estudos realizados utilizando concentrações distintas de metais traço para avaliar a influência na digestão anaeróbia, estão descritos na Tabela 4.

Embora a digestão anaeróbia seja aplicada a efluentes como a vinhaça, a falta de elementos traço pode conduzir o sistema ao colapso (SPEECE, 2008). Pois as arqueias metanogênicas podem sofrer limitações em virtude da indisponibilidade de alguns elementos podendo causar assim desequilíbrio no processo. Contudo, pode-se observar que há necessidade de estudos mais aprofundados para estabelecer concentrações ótimas para os elementos traço na digestão anaeróbia visando melhorar a atividade microbiana. Os nutrientes requeridos podem apresentar efeito sinérgico quando utilizados em quantidades favoráveis aos micro-organismos. Portanto, deve-se levar em consideração as características do substrato, que irão influenciar na resposta dos micro-organismos quanto a adição de nutrientes.

Tabela 4. Concentração de nutrientes utilizados na suplementação de diversas águas residuárias e resíduos para otimizar a produção de biogás encontradas na literatura.

Substrato	COV	Ni	Co	Fe	Mo	Ca	Cu	Zn	Mg	Produção de biogás	Autor
Vinhaça	4 g SV L ⁻¹	0,2	0,5	500	-	-	-	-	-	400 mL CH ₄ (g SV-d) ⁻¹	Gustavson et al., (2011)
Vinhaça	4 g vinhaça (L d) ⁻¹	0,3	0,1	-	-	-	-	-	-	400 mL CH ₄ g SV L ⁻¹ d ⁻¹	Gustavsson et al., (2013)
Resíduo alimentar	2 g SV (L d) ⁻¹	5	1	100	5	-	-	-	-	504 mL CH ₄ g SV ⁻¹	Zhang et al., (2015)
Ração de cachorro	20 g SV (L d) ⁻¹	0,452	0,452	4,405	-	180,57	-	-	-	716 mL g SV ⁻¹	Kim et al., (2002)
Sacarose e sulfato	4 gDQO (L d) ⁻¹	0,0004 5 mg	0,0099 mg	0,011 mg	-	0,36 mg	0,00026 mg	0,00048 mg	0,66 mg	-	Lopes et al., (2008)
Vinhaça de melaço	21 g DQO (L d) ⁻¹	15	10	100	0,2	-	-	-	-	-	Espinosa et al., (1995)
Efluente de gado + Aguapé	9 g ST (L d) ⁻¹	4,11 mg	0,589 mg	3,91 mg			5,72 mg	5,88 mg	-	1,478 L (L de afluente) ⁻¹ d ⁻¹	Patel et al., (1993)

COV:carga orgânica volumétrica, ST: sólidos totais; SV: sólidos voláteis; DQO: demanda química de oxigênio. Unidades dos nutrientes mg L⁻¹

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Instalações experimentais

O trabalho foi realizado na área experimental do Laboratório de Saneamento Ambiental, Departamento de Engenharia Rural, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, cujas coordenadas geográficas são: latitude de 21° 15' 22" S; 48° 18' 58" W e altitude de 575 m.

O sistema de digestão anaeróbia empregado neste estudo foi constituído por dois reatores UASB, em série, com volumes de 13,7 e 10,6 L, conforme descrito por Santana Júnior (2013), (Figura 1).

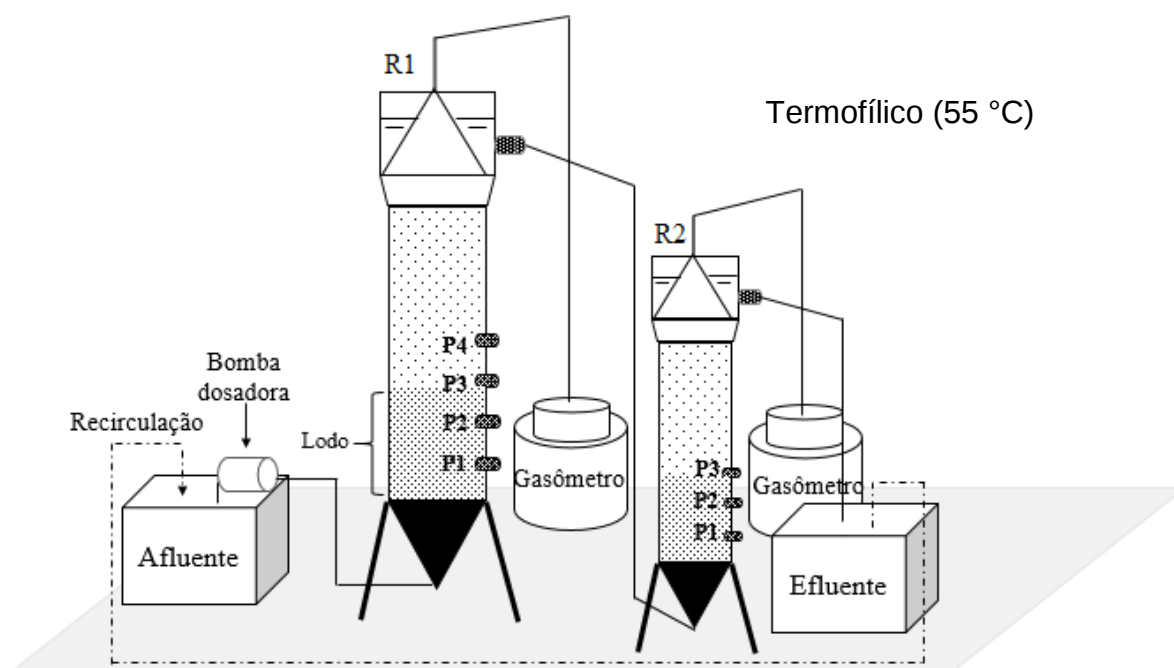


Figura 3. Representação esquemática dos reatores UASB, em série, termofílicos. R1: reator 1; R2 reator 2; P1, P2, P3 e P4: pontos de coleta de lodo.

Na parte superior de cada reator havia um separador trifásico, com o formato de cone. Esse sistema de separação conduz os efluentes líquidos e gasosos para suas respectivas áreas, permitindo a sedimentação da biomassa suspensa. Os reatores foram construídos com tubo rígido de polietileno de vinila (PVC). Para o monitoramento e armazenamento do biogás foram instalados gasômetros em cada reator. Também foram instalados, selos hidráulicos em cada reator, os quais

permitiam a formação de vácuo no separador trifásico para auxiliar a passagem do biogás aos gasômetros.

A alimentação dos reatores com o afluente foi realizada através de uma bomba dosadora acoplada ao R1, e o efluente gerado neste reator tornava-se substrato para o R2. Para manter a temperatura estabelecida a 55 °C, os reatores foram mantidos em cabines com sistema de aquecimento e temperatura controlada. Os pontos de coletas de lodo nos reatores foram distribuídos em relação a distância da base, da seguinte forma: no primeiro reator (R1) distribuiu-se quatros pontos (P1, P2, P3 e P4), em que foram posicionados a 9, 29, 44 e 64 cm. No segundo reator (R2), havia três pontos (P1, P2 e P3) distribuídos a 9, 29 e 44 cm.

4.2 Caracterização do inóculo

O inóculo utilizado foi obtido de um reator UASB termofílico em escala industrial, utilizado para tratamento de vinhaça, com valores de sólidos totais (ST) de 16,19 g L⁻¹ e sólidos voláteis (SV) 8,72 g L⁻¹. Foi utilizado 30% de inóculo em cada reator.

4.3 Caracterização do substrato

O substrato afluente utilizado para alimentação dos reatores foi vinhaça concentrada proveniente de indústria sucroenergética, da região de Ribeirão Preto – SP. A vinhaça possuía valores médios de DQO de aproximadamente 150 g L⁻¹, portanto foi necessário diluí-la para atingir as concentrações de COV aplicadas. Para obtenção de vinhaça diluída, inicialmente adicionou-se água em proporções de vinhaça e água que aumentaram gradativamente de 1:100 até 1:15 (v/v). Após 146 dias de operação substituiu-se a água pelo efluente do R2 e manteve-se uma proporção constante de vinhaça e efluente recirculado 1:15 (v/v), e assim o sistema transformou-se em circuito fechado. As demandas químicas de oxigênio total (DQO_{total}), nitrogênio total kjeldahl (NTK) e fósforo total (P-total) encontrados no afluente atenderam a quantidade mínima requerida para DQO:N:P de 1000:20:3, conforme recomendado por Speece, (2008), e portanto não foi necessário a suplementação com esses macronutrientes. As características da vinhaça que foi utilizada durante todo experimento estão descritas na Tabela 5. O tempo de

detenção hidráulico (TDH) utilizado foi de 24 h para o R1 e 18,5 h, para o R2. As COV aplicadas foram calculadas de acordo com a equação 1.

$$COV = \frac{Q \times S_0}{V} \quad (1)$$

Sendo:

COV: carga orgânica volumétrica (g DQO L⁻¹d⁻¹);

Q: Vazão (L d⁻¹);

S₀: Demanda química de oxigênio do afluente (g DQO_{total} L⁻¹);

V: volume total do reator (L).

Tabela 5. Características da vinhaça de cana-de-açúcar concentrada utilizada como afluente dos reatores UASB.

Parâmetros	Valores
pH	4,5
DQO	150000
Nitrogênio	300
Fósforo	520
Ferro	85
Níquel	<0,1
Cobalto	<0,1

Unidades: mg L⁻¹, exceto pH. DQO: Demanda Química de Oxigênio.

4.4 Condições operacionais

Os reatores foram monitorados por 300 dias, os quais foram separados em 3 fases (Tabela 6). A fase I (1 aos 137 dias) foi caracterizada pela partida dos reatores e aumento gradativo da COV até 9,4 g DQO_{total} L⁻¹. Foi adicionado NH₄HCO₃ no afluente para manter o pH na faixa ótima para a fermentação metanogênica (PAULO et al., 2003). Na fase II (138 aos 173 dias) o sistema foi operado com COV aplicada entre 9,9 a 13,6 g DQO_{total} (L d)⁻¹, a partir do dia 146 iniciou-se a recirculação com efluente do R2. Na fase III as características operacionais foram semelhantes às da fase II, porém, houve adição dos elementos traço. Durante o período de 174 a 185 dias de operação foi adicionado 1 mg L⁻¹ de Fe, de acordo com recomendações de (SPEECE, 2008). Após 185 dias de operação foi adicionado 75 mg L⁻¹, conforme recomendado por Espinosa (1995); Takashima; Shimada e Speece (2011). Durante

o período de 174 aos 300 dias de operação foi adicionado 0,3 mg L⁻¹ de Ni e 0,8 mg L⁻¹ de Co conforme sugerido por Gustavsson; Svensson e Karlsson (2011). Utilizou-se cloreto de ferro (III), cloreto de níquel (II) e cloreto de cobalto (II) para suplementação dos elementos traço.

Tabela 6. Condições operacionais aplicada nos reatores UASB, R1 e R2, utilizadas para a produção de biogás da vinhaça de cana-de-açúcar.

Fases	Período (dias)	COV (g DQO (L d) ⁻¹)		Alcalinizante	Nutrientes (mg L ⁻¹)		
		R1	R2		Fe	Ni	Co
I	0 – 137	1,5–9,4	1,4 – 8,8	NH ₄ HCO ₃	-	-	-
II	138 – 145	9,9–13,6	8,6 – 12	NH ₄ HCO ₃	-	-	-
	146 – 173			Efluente R2	-	-	-
III	174 – 185	11,1–14,9	5,4 – 9,9	Efluente R2	1	0,3	0,8
	186 – 300				75	0,3	0,8

COV: carga orgânica volumétrica, unidade g DQO total (L d)⁻¹.

4.5 Determinações físico-químicas

Para avaliar a qualidade do afluente, efluente e do biogás, realizou-se monitoramento dos reatores UASB, em série, por meio de análises físico-químicas, descritas na Tabela 7.

O volume de biogás foi determinado diariamente por meio do deslocamento vertical dos gasômetros e a temperatura do biogás, multiplicou-se o valor aferido pela área da seção transversal interna dos gasômetros. O volume de gás foi corrigido para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP), de 1 atm e 0 °C. Utilizou-se a expressão resultante da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac:

$$\frac{V_0 \cdot P_0}{T_0} = \frac{V_1 \cdot P_1}{T_1} \quad (2)$$

Sendo:

V₀ = Volume corrigido do biogás;

P₀ = Pressão corrigida do biogás (10332,72 mm coluna de água);

T_0 = Temperatura corrigida do biogás, em K;

V_1 = Volume do biogás nas condições de leitura

P_1 = Pressão do biogás no gasômetro, em mm de coluna de água (pressão atmosférica do local + pressão interna do gasômetro).

T_1 = Temperatura do biogás no instante da leitura, em K

Sendo a pressão média de Jaboticabal de 9632,43 mm em coluna de água, a expressão para correção do volume de biogás para 0 °C e 1 atm. foi:

$$R1, R2 \rightarrow V_0 = \frac{V_1}{T_1} \times 255,51 \quad (3)$$

Tabela 7. Determinações físico-químicas realizadas no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.

Análises	Frequência	Técnica
Temperatura	Diária	APHA, AWWA, WPCF (2005)
pH	Diária	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: 4500 H ⁺ B)
Alcalinidade total, parcial e intermediária	2 vezes por semana	RIPLEY et al. (1986)
Ácidos voláteis totais	2 vezes por semana	DILALLO e ALBERTSON (1961)
Demanda química de oxigênio (DQO total)	2 vezes por semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: 5220 – B).
Fósforo total (P-total)	Semanalmente	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: 4500-P-C)
Fenóis totais (FT)	Semanalmente	BOX, J. D. (1983)
Nitrogênio total kjeldahl	Semanalmente	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método: 4500-N-C)
Nitrogênio amoniacal	2 vezes por semana	APHA; AWWA; WPCF (2005) (Método Semi-Micro Kjeldahl)
K, Na, Mg, Ca, Cu, Mn, Fe, Zn, Ni e Co	Semanalmente	APHA, AWWA, WPCF (2005)
Sulfeto e Sulfato	Semanalmente	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: 4500 – S ²⁻ – F)
Produção de biogás	Diariamente	SANTANA e OLIVEIRA (1997) (Método: Gasômetros)
Composição do biogás	Quinzenal	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: cromatografia gasosa)
Análise Iodo		
Sólidos totais (ST) e voláteis (SV)	Mensalmente	APHA, AWWA, WPCF (2005)

A composição do biogás foi avaliada para determinação dos teores de CH₄ e CO₂ por meio de cromatografia gasosa, para tanto utilizou-se cromatógrafo FINIGAN GC – 9001, com detector de condutividade térmica, integrador e processador DATA JET SP 4600, gás de arraste hidrogênio e colunas 1 e 2. Sendo a coluna 1 com peneira molecular 13x, e coluna 2 porapak Q, ambas com comprimento de 3 m e diâmetro interno 1/8”.

4.6 Cálculos

Para estabelecer as relações Fe/DQO_{removida}, Ni/DQO_{removida} e Co/DQO_{removida} (mg (g DQO_{removida})⁻¹), nos reatores R1, R2 e no sistema R1+R2, dividiu-se as concentrações de Fe, Ni e Co adicionado pela DQO_{total} removida de cada reator, assim como descrito por Takashima; Shimada e Speece (2011).

O balanço de massa foi realizado para obter a DQO_{total} removida convertida em CH₄, e dividiu-se produção diária de metano (g DQO d⁻¹) pela remoção de DQO_{total} (g d⁻¹).

A energia elétrica teórica foi calculada de acordo com a metodologia descrita por Kythreotou; Tassou e Florides (2012). Para os cálculos foram considerados: eficiência de energia gerada 35%; poder calorífico do metano de 55,6 MJ kg⁻¹; massa específica de metano de 0,6556 MJ m³.

4.7 Análise Estatística

Foi realizado delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (Fase I, II e III), com repetição no tempo. Foi aplicado teste F para análise de variância e as diferenças entre os tratamentos foram avaliadas através do teste de Tukey com nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software Assistat.

A análise de componentes principais (ACP) foi feita por meio do software Statistic versão 7. A ACP foi utilizada para estabelecer a relação entre as diferentes condições experimentais, para identificar as variáveis que representam a maior variância no conjunto de dados sob as diferentes condições de operação. A adequação desta análise é verificada pela quantidade de informação total das variáveis originais retida pelos componentes principais (CP1 e CP2).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Demanda química de oxigênio (DQO) e eficiência de remoção de DQO nos reatores UASB termofílicos, em série.

Os valores médios de DQO_{total} no afluente foram 4050, 11613 e 12847 mg L⁻¹ para as fases I, II e III, respectivamente (Tabela 8). Esses valores de DQO_{total} no afluente proporcionaram COV no R1, inferiores na fase I, e sem diferença significativa entre as fases II e III (Tabela 8), o que permitiu compará-las entre si.

Tabela 8. Valores médios da carga orgânica volumétrica (COV), demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e eficiência de remoção de DQO_{total} nos reatores UASB termofílicos, em série.

Parâmetros		I	II	III	c.v.	Teste F
COV (g DQO_{total} (L d) ⁻¹)	R1	4 b	12 a	13 a	18	298 **
	R2	4 c	10 a	8 b	22	104 **
DQO_{total} (mg L ⁻¹)	Afluente	4050 b	11613 a	12847 a	18	298 **
	R1	3210 c	7831 a	6027 b	22	104 **
	R2	2025 c	3995 b	4695 a	23	108 **
Eficiência de remoção de DQO_{total} (%)	R1	19 c	32 b	53 a	29	105 **
	R2	32 b	49 a	22 c	48	14 **
	R1 + R2	43 b	66 a	63 a	28	19 **

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), ns – não significativo ($p > 0,05$); p – probabilidade.

Durante a fase I, na qual ocorreu a partida dos reatores, os valores de COV aplicadas no R1 foram crescentes, variando de 1,5 a 9,4 g DQO_{total} (L d)⁻¹, foi adicionado NH_4HCO_3 como fonte de alcalinizante (Figura 4). Na fase II, a COV no R1 manteve-se entre 9,9 a 13,6 g DQO_{total} (L d)⁻¹ e na fase III variou de 11,1 a 14,9 g DQO_{total} (L d)⁻¹, sendo que nessas fases, não houve diferença significativa. As COV aplicadas no R2 diferiram significativamente entre as fases I, II e III, e foram de 4, 10 e 8 g DQO_{total} (L d)⁻¹, respectivamente (Tabela 8).

As eficiências médias de remoção de DQO_{total} no R1 foram 19, 32 e 53%, nas fases I, II e III, respectivamente, e diferiram significativamente entre as fases. Santana Júnior (2013), utilizando vinhaça como substrato em reatores UASB termofílicos em série com COV entre 0,15 a 3,5 g DQO_{total} (L d)⁻¹, alcançou eficiência de remoção de DQO de 55% para o sistema. Neste estudo as maiores remoções

médias de remoção de DQO_{total} foram de 53% durante a fase III, com a adição de Fe, Ni e Co, porém, utilizando apenas o R1.

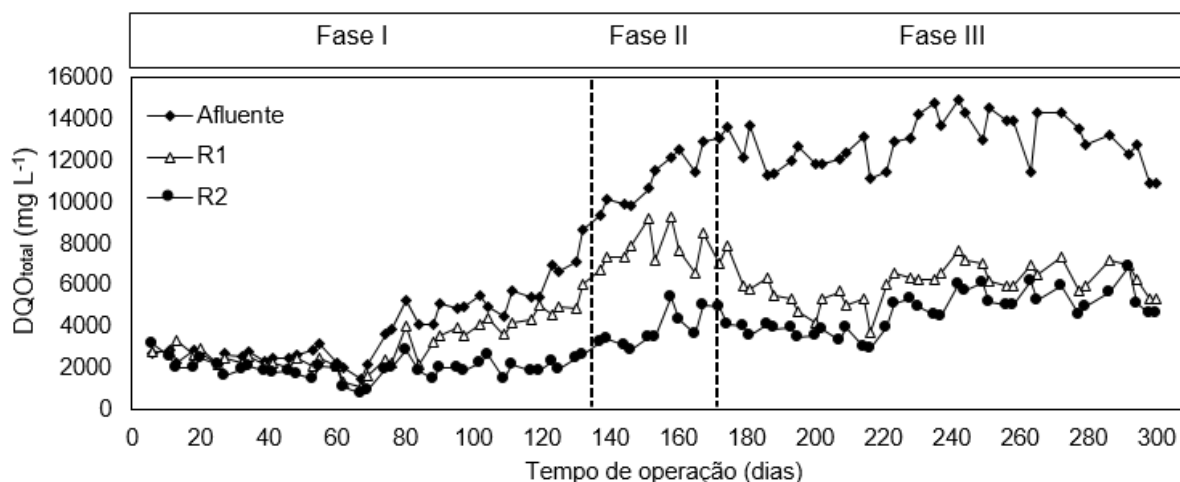


Figura 4. Valores de demanda química de oxigênio (DQO_{total}) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.

Para o sistema (R1+R2), nas fases II e III as remoções médias de DQO_{total} foram similares, com valores de 66 e 63%, respectivamente (Figura 5). Pois, na fase II havia maior eficiência de remoção no R2, enquanto na fase III com adição de Fe, Ni e Co, o R1 passou a exibir melhor eficiência de remoção de DQO_{total} , o que provocou similaridade na eficiência do sistema (R1+R2).

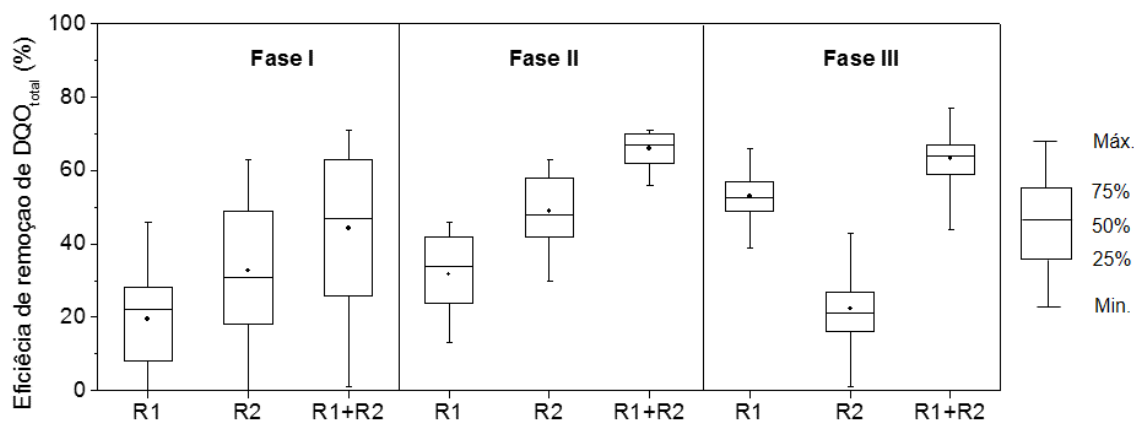


Figura 5. Eficiência de remoção de demanda química de oxigênio (DQO_{total}), nos reatores UASB termofílicos, em série, no tratamento da vinhaça.

Em estudo realizado por Barros; Duda e Oliveira (2016) tratando vinhaça de cana-de-açúcar em reator UASB por um período de 230 dias, sem a adição de nutrientes, e com recirculação de efluente, foi observado o decréscimo na eficiência de remoção de DQO_{total} , e isso foi atribuído ao acúmulo de compostos de difícil

biodegradabilidade. No entanto, neste estudo, com um período de operação dos reatores de 300 dias, observou-se que apesar da recirculação do efluente do R2, não houve limitações para a remoção de DQO_{total} no R1, o que pode ser atribuído a suplementação da vinhaça afluyente, com Fe, Ni e Co.

5.2 pH, Alcalinidade e Ácidos voláteis totais

O pH do afluyente foi mantido entre 6,5 a 8,0 nas três fases e esses valores são considerados ideais para os micro-organismos metanogênicos, conforme recomendado por Paulo et al. (2003). Os valores de pH no afluyente e efluente dos reatores UASB, R1 e R2, foram significativamente inferiores na fase I e para as fases II e III, não houve diferença significativa (Tabela 9).

Foram observados valores crescentes e estatisticamente diferentes para a alcalinidade total (AT) do afluyente e efluentes dos reatores R1 e R2, da fase I para a III (Tabela 6). A AP média no afluyente aumentou de 465 mg L^{-1} na fase I para 1350 e 2105 mg L^{-1} nas fase II e III, respectivamente, e foram observadas diferenças estatísticas entre as fases. Os maiores valores de AP foram observados na fase III, e podem estar relacionadas com o maior tempo de recirculação do efluente. Os valores de AI e AP permitiram estabelecer a relação AI/AP, que é indicativo de estabilidade no sistema. Na fase III, a relação AI/AP foi de 0,2 e 0,1 para R1 e R2, respectivamente, e são inferiores a 0,3; recomendado por Ripley (1986), para que ocorra a estabilidade na digestão anaeróbia.

Os AVT aumentaram no afluyente com o acréscimo da COV, com valores médios de 1006 mg L^{-1} na fase I, 2599 mg L^{-1} na fase II e 2707 mg L^{-1} na fase III, sendo que não houve diferença estatística entre as fases II e III (Tabela 9). Enquanto no efluente do R1 as concentrações médias de AVT decresceram da Fase II para a Fase III, de 1801 para 834 mg L^{-1} , indicando que a adição de Fe, Ni e Co contribuiu para maior atividade metabólica dos micro-organismos que foram capazes de consumir mais AVT, semelhante ao observado por Gustavsson et al. (2013). Santana Júnior (2013), utilizando vinhaça como substrato, sem suplementação com elementos traço e COV de $12,5 \text{ g } DQO_{total} (\text{L d})^{-1}$, obteve concentrações máximas de AVT de 6371 e 4922 mg L^{-1} o que resultou em falência no sistema. Espinosa et al., (1995), também relataram colapso do sistema por acúmulo de AVT, apesar da suplementação com Mo, Co, Ni e Fe. Neste trabalho possivelmente a

suplementação com elementos traço preveniu a falência do sistema. No R2, foram observadas concentrações similares de AVT durante todas as fases com 497; 521 e 500 mg L⁻¹, nas fases I, II e III, respectivamente, indicando que a adição de Fe, Ni e Co no afluente, não interferiu na remoção de AVT no R2.

Tabela 9. Valores de pH, alcalinidade total (AT), alcalinidade intermediária (AI) e alcalinidade parcial (AP), ácidos voláteis totais (AVT), nitrogênio amoniacal (N-am.) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, e relações AI/AP e AVT/AT nos efluentes dos reatores UASB, R1 e R2.

Parâmetros		I	II	III	c.v.	F
pH	Afluente	7,0 b	7,3 a	7,5 a	5	19 **
	R1	8,0 b	8,5 a	8,6 a	3	58 **
	R2	8,3 b	8,8 a	8,8 a	3	37 **
AT	Afluente	1083 c	2976 b	3734 a	31	113 **
	R1	1505 c	4201 b	5113 a	25	172 **
	R2	1597 c	3940 b	4770 a	24	153 **
AI	Afluente	618 b	1624 a	1628 a	25	128 **
	R1	732 b	1235 a	667 b	24	40 **
	R2	386 a	453 ab	462 a	27	4 *
AP	Afluente	465 c	1351 b	2105 a	51	60 **
	R1	773 c	2966 b	4446 a	30	200 **
	R2	1211 c	3487 b	4307 a	27	162 **
AVT	Afluente	1006 b	2599 a	2707 a	21	174 **
	R1	1023 b	1801 a	834 c	25	58 **
	R2	497 a	521 a	500 a	23	0,2 ns
N-am	Afluente	176 a	238 a	190 a	38	3 ns
	R1	201 b	290 a	197 b	33	7 **
	R2	186 b	287 a	229 ab	32	8 **
AI/AP	R1	1,0 c	0,5 b	0,2 c	28	248 **
	R2	0,4 a	0,1 b	0,1 b	49	51 **
AVT/AT	R1	0,7 a	0,5 b	0,2 c	26	188 **
	R2	0,3 a	0,1 b	0,1 b	42	61 **

c.v: coeficiente de variação (%). Unidades: mg L⁻¹, exceto o pH. Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05), ns – não significativo (p>0,05); p – probabilidade.

A relação AVT/AT no efluente do R1 diminuiu de 0,7 para 0,2 das fases I para a III, indicando que a adição do Fe, Ni e Co contribuiu para os menores valores de AVT/AT. No efluente do R2, a relação AVT/AT nas fases II e III foram similares e

menores que as observadas na fase I. Barros; Duda e Oliveira (2016) obtiveram valores de AVT/AT de 0,1 a 0,5 no efluente de reatores UASB operados na faixa de temperatura mesofílica, na digestão anaeróbia de vinhaça, com COV de 7,5 g DQO (L d)⁻¹. Os valores de AVT/AT entre 0,3 e 0,4 indicam instabilidade no sistema, enquanto valores entre 0,1 e 0,2 são apropriados para manter equilíbrio entre a comunidade microbiana (ZHAO e VIRARAGHAVAN 2004). Portanto, a adição de Fe, Ni e Co contribuiu positivamente para a estabilidade dos reatores UASB, R1 e R2, mantendo os valores da relação AVT/AT dentro da faixa adequada para a produção de metano.

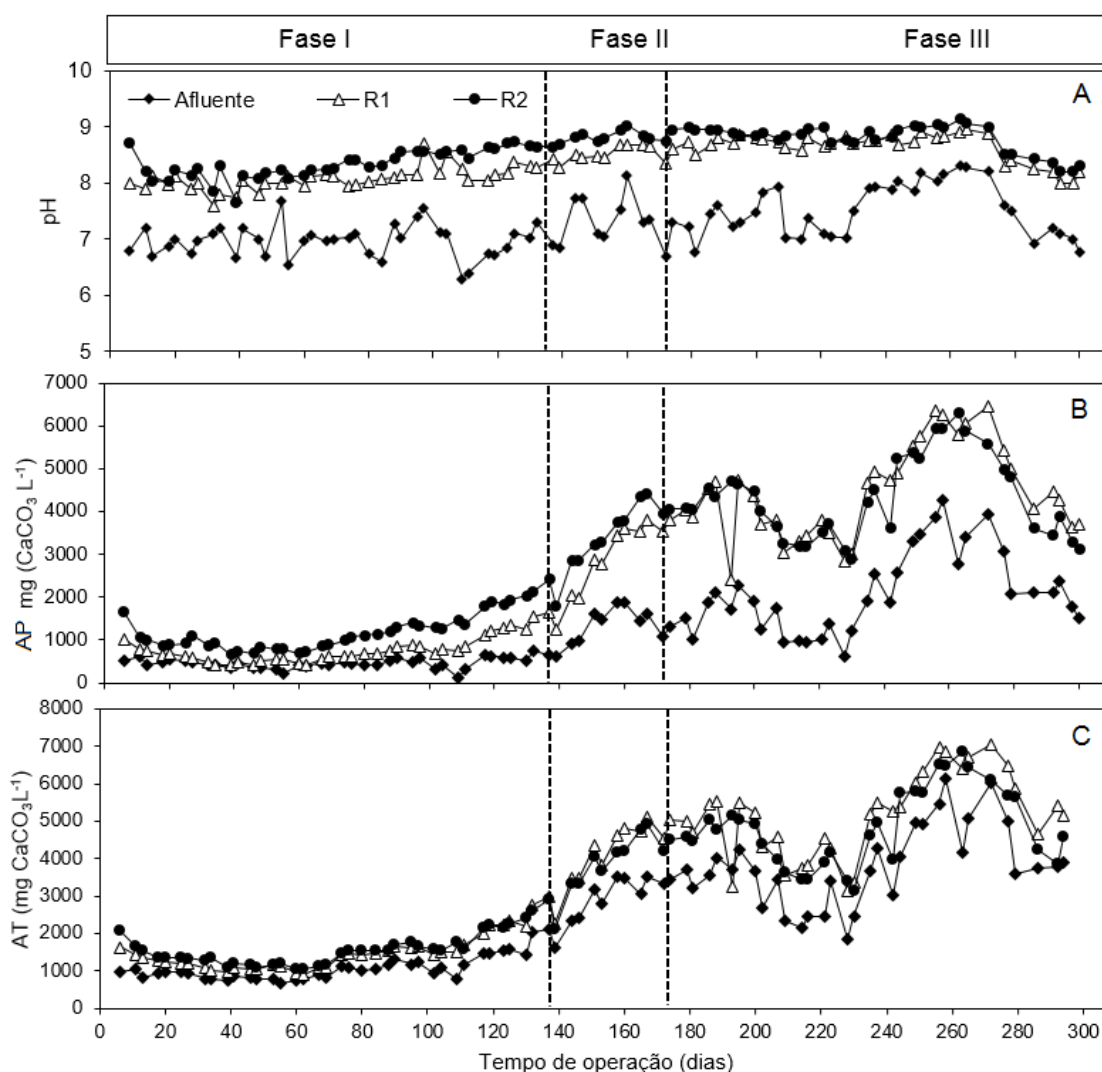


Figura 6. (A) pH, (B) alcalinidade parcial (AP) e (C) alcalinidade total (AT), no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.

Verificou-se também que, os valores médios de N-am não ultrapassaram 290 mg L⁻¹, e portanto, não causaram toxicidade ao sistema (Tabela 9). Considerando que para haver distúrbios no processo seria necessário concentrações superiores a 1700 mg L⁻¹ (KOSTER; LETTINGA, 1984).

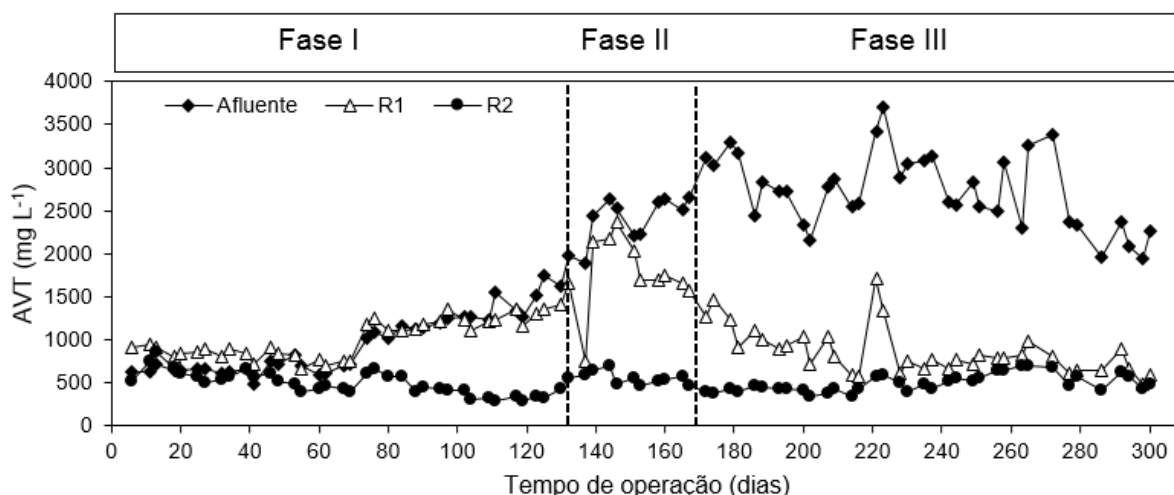


Figura 7. Ácidos Voláteis Totais (AVT) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.

5.3 Produção e composição de biogás

Para o R1, as percentagens médias de metano foram de 47, 40 e 57%, nas fases I, II e III, respectivamente, e apresentaram diferença significativa entre as fases. As maiores percentagens de metano no biogás, na fase III podem ser atribuídas a adição de Fe, Ni e Co. Para o R2 as percentagens de metano na fase I e II foram semelhantes com 76%, porém, na fase III houve diminuição para 73%. Os valores observados de DQO_{removida} convertida em metano nas fases I, II e III para o R1 foram 44, 44 e 37% e para o R2 foram 43, 44 e 31% respectivamente. As menores percentagens de DQO_{removida} convertida em metano na fase III podem ser decorrentes da maior conversão de DQO_{removida} em biomassa, e esses valores foram similares aos encontrados por Ferraz Júnior (2016) que obtiveram 31,5% de DQO_{removida} convertida em metano.

Os valores médios de PVM para o R1 aumentaram significativamente de 0,424 para 0,851 L CH₄ (L d)⁻¹ da fase II para a fase III ($p < 0,01$), após a adição de Fe, Ni e Co, e demonstrou o efeito positivo da suplementação com elementos traço, (Tabela 10). As variáveis COV e PVM correlacionaram-se, ou seja, o aumento ou

decréscimo da COV proporcionou aumentos e decréscimos na PVM, respectivamente, (Figura 8).

Tabela 10. Teor de metano, produção volumétrica de metano (PVM), produção específica de metano (PEM), valores da demanda química de oxigênio removida convertida em metano e estimativa da produção de energia elétrica a partir do metano produzido nos reatores UASB termofílicos, em série.

Parâmetros		I	II	III	c.v.	Teste F
Metano (%)	R1	47 b	40 c	57 a	11	183 **
	R2	76 a	76 a	73 b	5	16 **
PVM (L CH ₄ (L d) ⁻¹)	R1	0,193 c	0,424 b	0,851 a	33	294 **
	R2	0,261 b	0,761 a	0,173 c	55	188 **
	R1 + R2	0,197 b	0,571 a	0,555 a	33	202 **
PEM (L CH ₄ (g DQO _{removida}) ⁻¹)	R1	0,137 a	0,132 a	0,123 a	36	2,15 ns
	R2	0,127 b	0,157 a	0,091 c	47	25 **
	R1 + R2	0,116 a	0,136 a	0,118 a	35	3,15 *
DQO _{total} removida convertida em metano (%)	R1	44	44	37	-	-
	R2	43	44	31	-	-
Energia Elétrica (kwh (L reator d) ⁻¹)	R1	0,7	1,5	3,0	-	-
	R2	1,2	2,7	0,6	-	-
	R1 + R2	0,9	2,0	2,0	-	-

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), ns – não significativo ($p > 0,05$); p – probabilidade.

Observou-se que durante a fase III houve variações na COV (c.v de 9%) em virtude da recirculação, o que possivelmente resultou em variações na PVM. Verificou-se que após a adição de elementos traço no afluente (fase III) a média de PVM no R1 aumentou 101%, comparando-se com a fase II, que não havia suplementação, o que evidenciou a eficácia de Fe, Ni e Co na digestão anaeróbia da vinhaça. Espinosa et al. (1995) avaliaram a digestão anaeróbia de vinhaça proveniente do melaço e observaram aumento na PVM de 38% após adição de Fe, Ni Co e Mo. Zhang; Zhang e Li (2015) verificaram que a adição de metais traço em resíduos de comida provocaram o aumento na PVM em 35,5% em relação ao reator sem suplementação. Portanto o aumento de PVM encontrado neste estudo foi superior aos relatados na literatura.

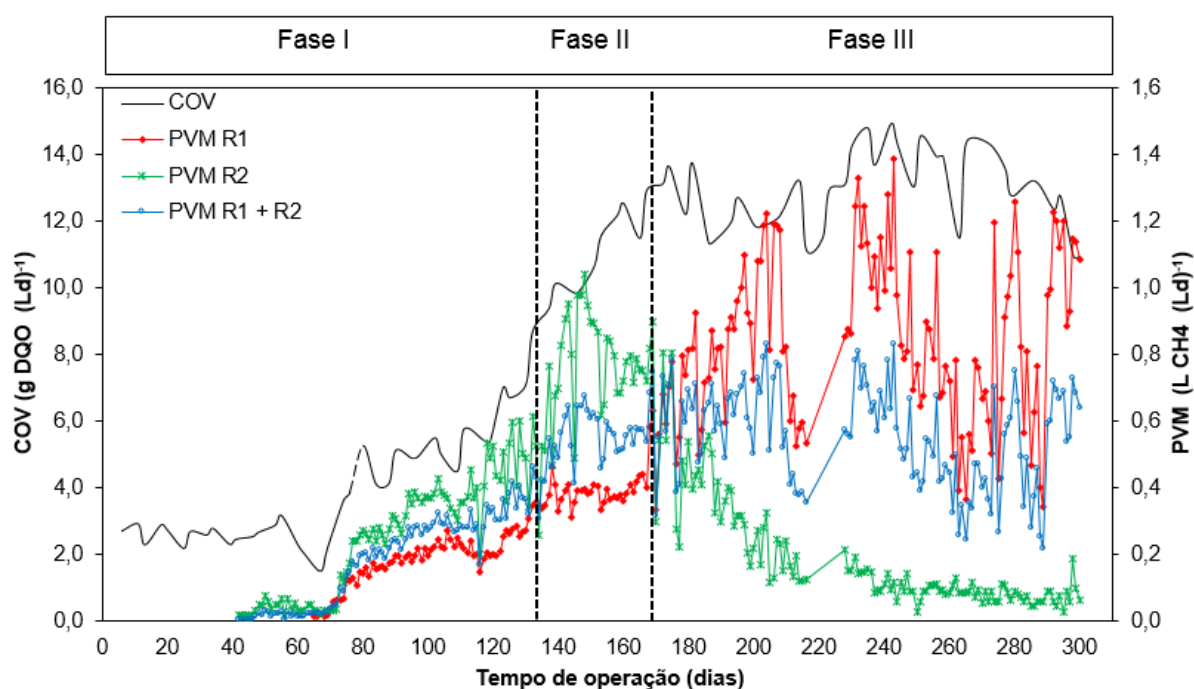


Figura 8. Carga orgânica volumétrica (COV) versus produção volumétrica de metano (PVM) obtidos nos reatores UASB termofílicos, em série.

Para o R2, os valores médios de PVM foram de 0,261 e 0,762 L CH₄ (L d)⁻¹, nas fases I e II respectivamente, porém, na fase III, após adição dos elementos traço a PVM diminuiu para 0,173 L CH₄ (L d)⁻¹, (Tabela 10). Supõe-se que o declínio de PVM ocorreu em virtude da menor concentração de matéria orgânica e AVT enviados para o R2, pois os mesmos estavam sendo consumidos no R1.

Para o sistema (R1+R2), não houve diferença significativa na PVM nas fases II e III, que foi de 0,571 e 0,555 L CH₄ (L d)⁻¹, respectivamente, ou seja, com COV semelhantes a PVM manteve-se, independentemente da adição de elementos traço. Portanto, para a PVM no sistema (R1+R2), a adição de Fe, Ni e Co não seria necessária. Mas caso opte-se em trabalhar somente com o R1, a adição de Fe, Ni e Co é essencial para a obtenção da PVM.

A adição de Fe, Ni e Co favoreceu a produção volumétrica de metano e consequentemente a estimativa de produção de energia elétrica (kWh (L reator d)⁻¹), (Tabela 10). A produção volumétrica de metano no R1, na fase II, poderia gerar aproximadamente 1,5 kw h (L reator d)⁻¹. Após a adição de elementos traço, durante a fase III, a estimativa média de produção de energia elétrica aumentou para 3,0

kwh (L reator d)⁻¹, enquanto para o sistema (R1+R2), a produção de energia elétrica teórica a partir da produção volumétrica de metano foram similares com 2,0 kwh (L reator d)⁻¹, nas fases II e III (Tabela 10).

Para a PEM no R1, não houve diferença significativa entre as fases I, II e III ($p>0,05$), enquanto no R2 houve diferença significativa entre todas as fases ($p<0,01$) (Tabela 10). Oliveira e Foresti (2004) atribuíram a baixa PEM a problemas relacionados com perdas de gás no separador de fases e perdas de CH₄ no efluente. Portanto as baixas PEM encontradas neste estudo podem estar vinculadas também a perdas de gás no efluente. No entanto, na fase III verificou-se valores máximos de PEM de 0,228 e 0,339 L CH₄ (g DQOremovida)⁻¹ para os reatores R1 e R2, respectivamente (Figura 9). Esses valores representam 65 e 97 % do rendimento máximo teórico, que é de 0,350 L CH₄ (gDQOremovida)⁻¹.

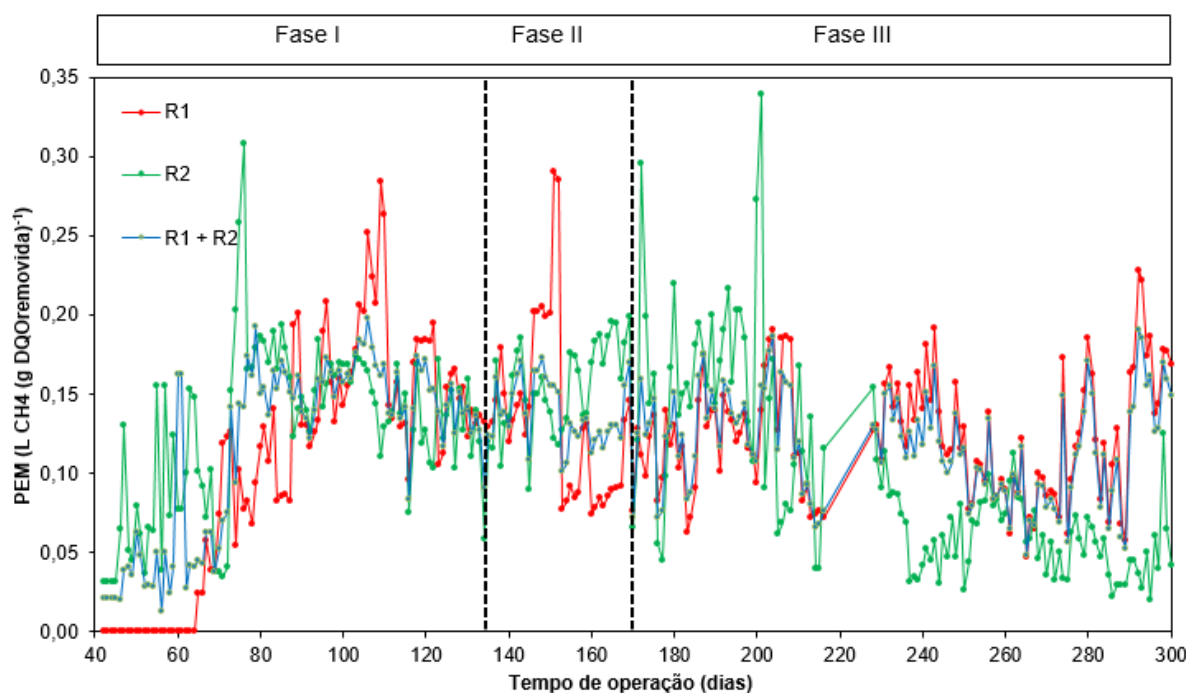


Figura 9. Produção específica de metano (PEM) nos reatores UASB termofílicos, em série.

5.4 Teores de nitrogênio e fósforo no afluente e nos efluentes dos reatores UASB (R1 e R2)

As relações entre DQO:N:P para o afluente foram 1000:58:4, 1000:36:3 e 1000:35:3 nas fases I, II e III, respectivamente (Tabela 11). Portanto, permaneceram acima dos limites considerados ideais para a digestão anaeróbia (1000:20:3)

(SPEECE, 2008), e conseqüentemente não foi necessário a suplementação destes elementos no sistema.

Os requisitos de nitrogênio na digestão anaeróbia baseiam-se na composição química empírica da célula microbiana, sendo que este elemento é utilizado para síntese de proteínas (CHERNICHARO, 2007). O fósforo é indispensável para a formação de adenosina trifosfato (ATP), portanto é essencial para o crescimento dos micro-organismos. A falta desses elementos na digestão anaeróbia pode implicar na ineficiência do sistema, sendo necessária a suplementação, como realizado por Barros; Duda e Oliveira (2016) e Janke et al. (2015).

As concentrações de NTK e P-total nos efluentes foram menores em relação aos observadas no afluente em todas as fases. Portanto, houve remoção, as quais atingiram valores médios de 16 e 63% na fase III, para NTK e P-total, respectivamente (Tabela 11). Barros; Duda e Oliveira (2016) relataram eficiência de remoção de 40 e 60% para NTK e P-total. Portanto neste trabalho as remoções de nitrogênio foram inferiores, porém houve similaridade nas remoções de fósforo.

Tabela 11. Nitrogênio total kjeldhal (NTK) e fósforo total (P-total) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, eficiência de remoção de NTK e P-total para o sistema (R1+R2), e relação DQO:N:P.

Parâmetros		I	II	III	cv	Teste F
NTK (mg L ⁻¹)	Afluente	262 b	423 a	427 a	24	18 **
	R1	255 b	391 a	358 a	25	10 **
	R2	241 b	365 a	359 a	26	11 **
Remoção	R1+R2	8 a	13 a	16 a	81	3 ns
P-total (mg L ⁻¹)	Afluente	17 b	33 a	38 a	33	22 **
	R1	19 b	27 ab	28 a	37	5 *
	R2	11 a	10 a	13 a	54	0,7 ns
Remoção	R1+R2	35 b	69 a	63 a	45	8 **
DQO:N:P	Afluente	1000:58:4	1000:36:3	1000:35:3	-	-
	R1	1000:79:6	1000:50:3	1000:59:5	-	-
	R2	1000:119:5	1000:91:3	1000:76:3	-	-

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05), ns – não significativo (p>0,05); p – probabilidade.

5.5 Teores de sulfato e sulfeto no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série

A vinhaça contém sulfato em sua composição, pois, no processo de produção de etanol utiliza-se H_2SO_4 para manter uma faixa de pH ótimo (de aproximadamente 4,5) para as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* produzir etanol. Consequentemente, os resíduos de H_2SO_4 são enviados para a vinhaça, o que fazem o pH da mesma manter-se em uma faixa de 4,5 (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000). As concentrações de sulfato no afluente, neste experimento, foram de aproximadamente 1000 mg L^{-1} , chegando a atingir 1600 mg L^{-1} aos 237 dias de operação (Figura 10). Nos efluentes dos reatores R1 e R2, as concentrações de sulfato foram inferiores comparado ao afluente, e as maiores remoções ocorreram no R1 que durante a fase III, após adição de Fe, Ni e Co removeu até 94,3%. A interação metais-sulfeto, pode ter causado efeitos positivos no sistema, similarmente ao observado por Gustavsson; Svensson; Karlsson (2011), que após adição de Fe juntamente com outros elementos traço evitaram o colapso de um sistema que continha sulfeto no substrato, e atribuíram esses fatos a essa interação.

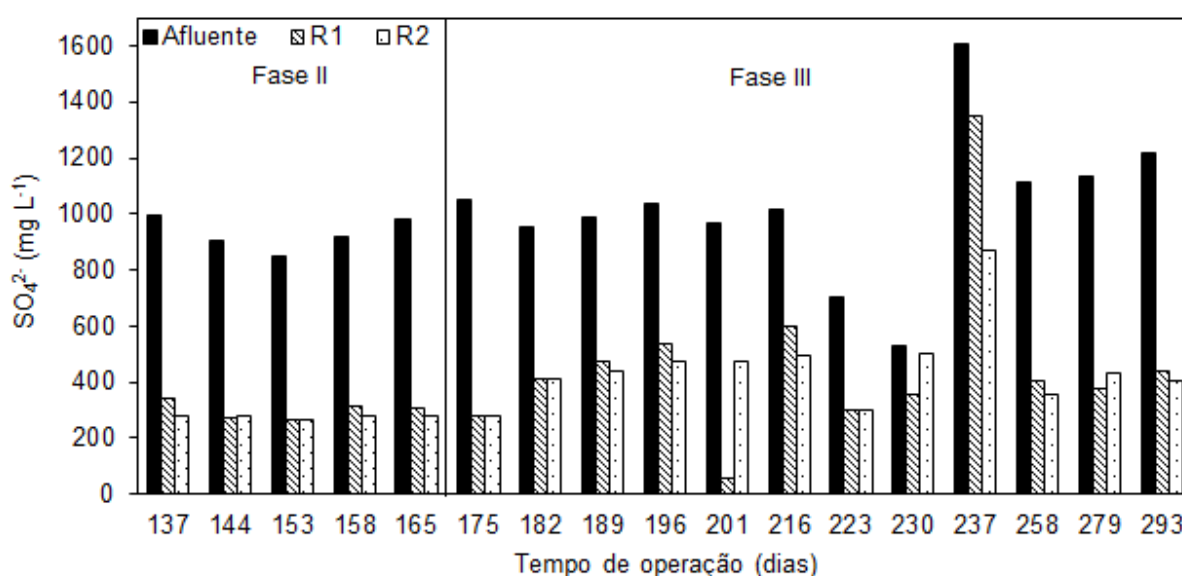


Figura 10. Concentrações de sulfato no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.

Os valores médios da relação DQO/SO_4 foram de 12,2 e 13,6 nas fases II e III, respectivamente. Portanto, pressupõe-se que apesar das elevadas concentrações de sulfato, esse não provocou toxicidade para a digestão anaeróbia. Visto que para a relação DQO/SO_4 maior que 10, parte do H_2S é removido da fase

líquida, diminuindo seu efeito inibidor na digestão anaeróbia (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

O sulfeto, produto da redução de sulfato pelas bactérias sulforredutoras, pode causar inibição na digestão anaeróbia em concentrações entre 100 a 800 mg L⁻¹ (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008). Portanto, é importante manter condições operacionais que favoreçam concentrações de sulfeto para as arqueias metanogênicas.

Neste estudo as concentrações de sulfeto no afluente permaneceram abaixo de 300 mg L⁻¹, exceto nos dias 200 e 207 que aumentaram para aproximadamente 600 mg L⁻¹. As concentrações de sulfeto nos efluentes R1 e R2 diminuíram significativamente e mantiveram-se abaixo da 100 mg L⁻¹ a partir dos 245 dias de operação. Na fase III, após adição de Fe, Ni e Co as concentrações de sulfeto no R2 atingiram 11,5 mg L⁻¹, o que representa 90,3% de remoção. Isso demonstra que as concentrações de Fe adicionadas foram efetivas e suficientes para precipitar com parte do sulfeto e mantê-lo abaixo das concentrações inibitórias.

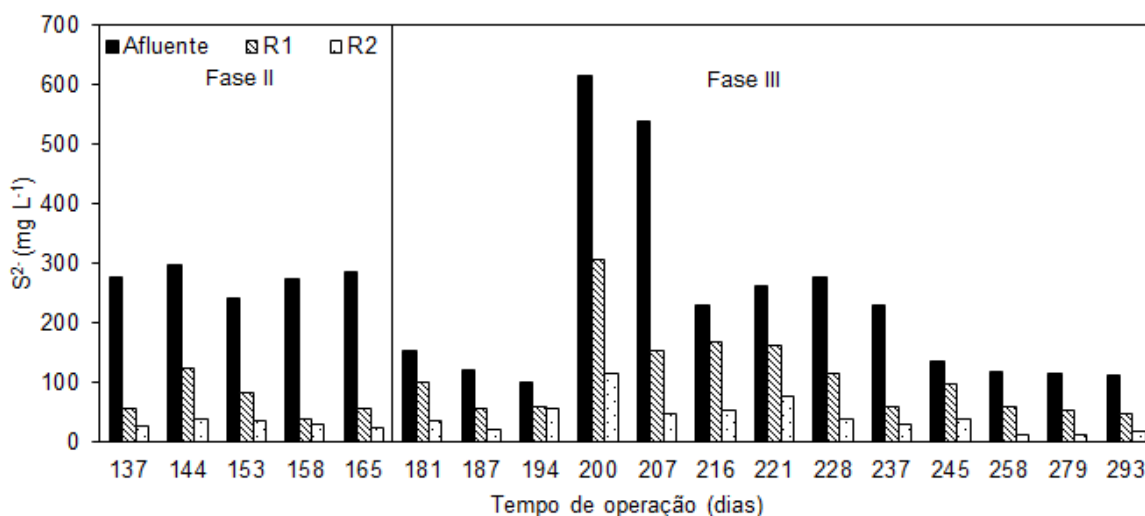


Figura 11. Concentrações de sulfeto no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série.

5.6 Teores de micronutrientes, macronutrientes e fenóis no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série

A adição de Fe, Ni e Co foi baseada em relações teóricas e experimentos realizados por Espinosa et al. (1995); Speece (2008); Gustavsson; Svensson e Karlsson (2011); Takashima; Shimada e Speece (2011). Para as COV de 12 g DQO_{total} (L d)⁻¹, na Fase II, a vinhaça afluente (vinhaça bruta + recirculado) continha

em média 8,25 mg L⁻¹ de Fe, e as concentrações de Ni e Co inferiores a 0,1 mg L⁻¹ (Tabela 12). Portanto foi realizada a suplementação de Fe, Ni e Co, na fase III.

O Fe é exigido pelos micro-organismos, pois, participa das reações acetogênicas e metanogênicas, além de apresentar capacidade em precipitar-se com sulfeto (MENG et al. 2013); (TAKASHIMA; SHIMADA e SPEECE 2011). Santanta Júnior (2013), apesar de não ter realizado suplementação com Fe, observou que durante a digestão anaeróbia havia remoção desse elemento com percentuais de 35 e 58%, e atribuiu a remoção a necessidade de Fe na digestão anaeróbia. No presente estudo, foi observado que durante todas as fases houve remoção de Fe, com percentual médio de 58, 66 e 68%, nas fases I, II e III, respectivamente. Na fase III, com a suplementação, também houve remoção de Fe, porém, após 237 dias de operação observou-se um declínio na eficiência de remoção. Possivelmente esse declínio decorreu da saturação do Fe pelos micro-organismos. (Figura 12). Zhang; Zhang e Li (2015) verificaram que a concentração de 100 mg L⁻¹ de Fe proporcionou maior PVM, atingindo 414 mL CH₄ (g SV)⁻¹. Os resultados obtidos neste estudo foram similares, pois com concentração de 88,75 mg L⁻¹ (aos 237 dias) foi obtido as melhores PVM no R1, sendo essa concentração considerada ideal neste experimento.

O elemento Ni, apresentou indícios de acúmulo nos primeiros dias da fase III, pois aos 179 dias de operação do sistema a concentração no afluente era de 0,55 mg L⁻¹, sendo que inicialmente a concentração adicionada foi de 0,3 mg L⁻¹ (Figura 12). Esse aumento na concentração de Ni no afluente ocorreu possivelmente em virtude da recirculação do efluente do R2, pois, além da quantidade adicionada diariamente havia um excedente proveniente do efluente do R2 que retornava ao sistema. Após 237 dias de operação dos reatores, ocorreu um aumento exacerbado da concentração de Ni no efluente, sugerindo que o mesmo estava complexado nas células microbianas, e passou a se desprender, como também observado por Zandvoort et al. (2006). Portanto, supõe-se que a concentração de Ni adicionada foi maior que a necessária, visto que, os micro-organismos não estavam utilizando com a mesma intensidade que estava sendo adicionado. A média de remoção de Ni foi de 33%, sendo a remoção mais acentuada no R1, o que pode estar relacionado com a maior PVM neste reator.

Tabela 12. Valores médios das concentrações de Fe, Ni, Co, Mn, Zn, Cu, Ca, Mg e Na, no afluente e nos efluentes dos reatores UASB, em série, e eficiência de remoção no sistema R1+R2.

Parâmetros		I	II	III	c.v.	F
COV	Afluente	4	12	13	18	298**
Fe	Afluente	3,64 b	8,25 b	93,75 a	54	66**
	R1	2,91 b	5,85 b	55,49 a	80	28**
	R2	1,54 b	2,83 b	29,63 a	114	14**
Remoção %	R1+R2	58	66	68	-	-
Ni	Afluente	<0,1	-	0,69	-	-
	R1	<0,1	-	0,52	-	-
	R2	<0,1	-	0,41	-	-
Co	Afluente	<0,1	-	0,97	-	-
	R1	<0,1	-	0,66	-	-
	R2	<0,1	-	0,44	-	-
Mn	Afluente	0,71 b	1,78 b	10,14 a	113	13 **
	R1	0,71 b	1,26 b	7,27 a	115	11 **
	R2	0,63 b	0,51 b	4,22 a	119	9 **
Remoção (%)	R1+R2	11	71	58	-	-
Zn	Afluente	0,52 a	0,35 a	0,56 a	80	1 ns
	R1	0,42 a	0,36 a	0,33 a	73	1 ns
	R2	0,33 a	0,18 a	0,33 a	57	2 ns
Remoção (%)	R1+R2	0	0	6	-	-
Cu	Afluente	0,08 b	0,17 ab	0,21 a	56	12 **
	R1	0,15 a	0,14 a	0,12 a	89	0,3 ns
	R2	0,07 a	0,04 a	0,08 a	77	1 ns
Ca	Afluente	1,78 b	4,86 a	6,06 a	42	28 **
	R1	1,71 b	4,98 a	5,77 a	37	35 **
	R2	1,59 b	2,91 a	3,55 a	37	18 **
Remoção (%)	R1+R2	11	40	41	-	-
Mg	Afluente	1,41 c	5,56 b	8,78 a	34	75 **
	R1	1,43 c	6,40 b	9,96 a	31	96 **
	R2	1,51 c	5,79 b	9,19 a	31	91 **
K	Afluente	11,82 b	73,1 a	98,88 a	37	73 **
	R1	13,12 c	86,5 b	117,56 a	34	90 **
	R2	13,13 b	77,55 a	108,78 a	40	62 **
Na	Afluente	57,13 a	55,25 a	66,39 a	31	1 ns
	R1	58,00 b	63,75 ab	75,76 a	29	4 *
	R2	61,76 a	61,25 a	74,31 a	26	3 ns

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), ns – não significativo ($p > 0,05$); p – probabilidade.

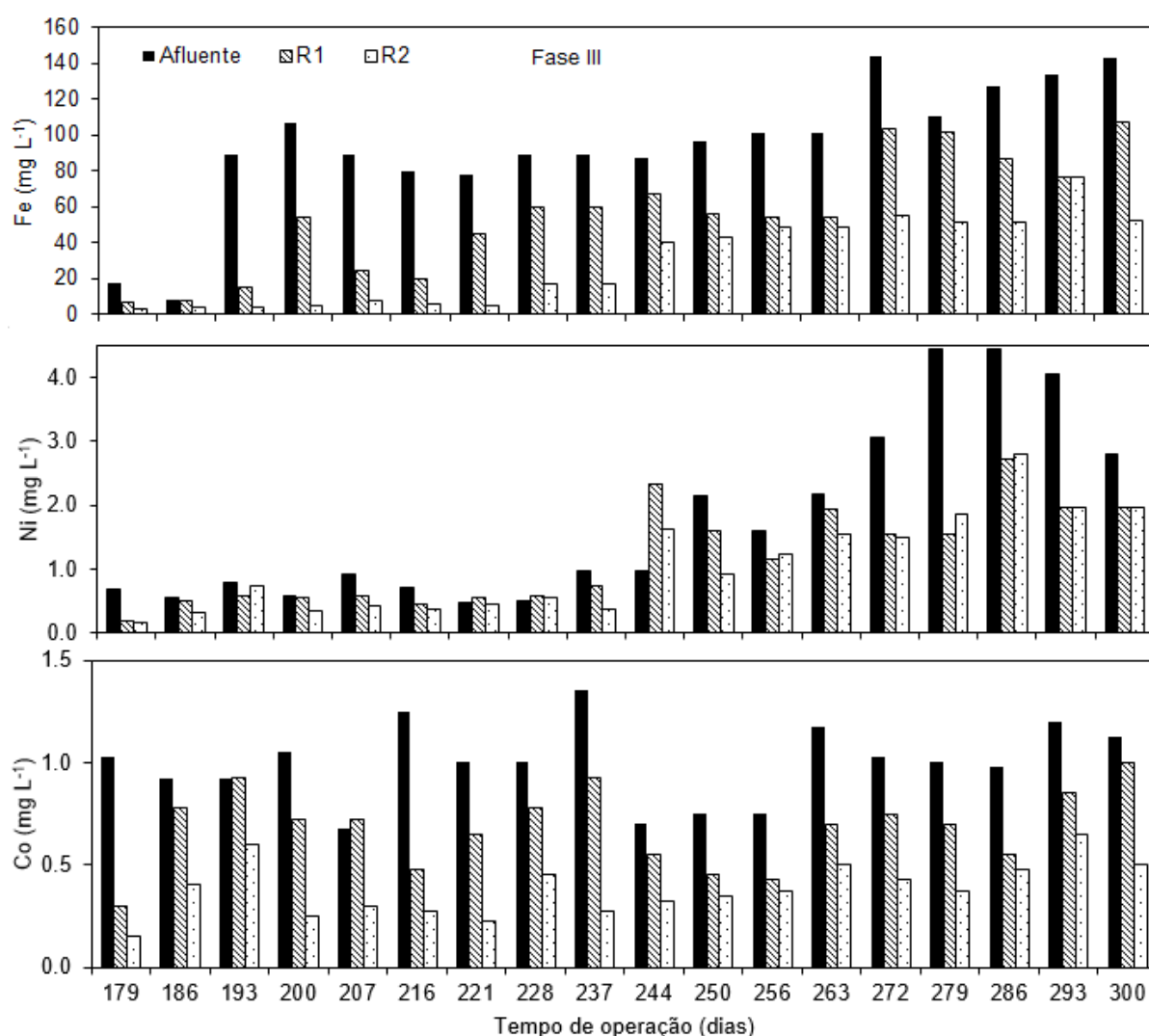


Figura 12. Concentração de Fe, Ni e Co no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, durante a fase III.

As concentrações de Co no afluente também aumentaram, porém, o consumo ocorria na mesma proporção, e a concentração no afluente não excedeu a 1,35 mg L⁻¹. Zandvoort et al. (2006) verificaram que a população metanogênica aumentou após adição de Co. Portanto, supõe-se que as concentrações de Co adicionadas no afluente utilizado neste experimento foram importantes para proporcionar melhores condições para os micro-organismos metanogênicos, e a remoção de Co atingiu média de 60%, no sistema.

As remoções de Fe foram mais acentuadas em relação as remoções de Ni e Co, pois considera-se que os micro-organismos exigem maiores concentrações desse nutriente, possivelmente por ser um elemento utilizado por bactérias

utilizadoras de propionato, bactérias homoacetogênicas e arqueias metanogênicas, além da capacidade em precipitar-se com sulfeto (MENG et al. 2013; TAKASHIMA; SHIMADA e SPEECE, 2011).

Observou-se que as melhores PVM ocorreram próximo aos 237 dias de operação, portanto, esse dia foi utilizado como referência para estimar os requerimentos necessários de Fe/DQO, Ni/DQO e Co/DQO, no R1, R2 e sistema (R1+R2).

As quantidades mínimas necessárias de Fe, Ni e Co para o R1 foram 12,49, 0,138 e 0,191 mg (g DQO_{removida})⁻¹, respectivamente. Takashima; Shimada e Speece (2011) utilizaram substrato sintético com glicose e obtiveram necessidades de suplementação de 0,45, 0,049 e 0,054 mg (g DQO_{removida})⁻¹ para Fe, Ni e Co, respectivamente, em reatores termofílicos. Pode-se verificar que as relações para esses elementos foram superiores em aproximadamente 28, 3 e 4 vezes, comparados com os valores recomendados por Takashima; Shimada e Speece (2011). As relações para Fe/DQO, Ni/DQO e Co/DQO no R2 foram de 41,86, 0,460 e 0,637 mg (g DQO_{removida})⁻¹ e para o sistema (R1+R2) de 9,68, 0,106 e 0,147 mg (g DQO_{removida})⁻¹, respectivamente (Tabela A1). O requerimento mínimo para Fe, Ni e Co determinado para o R1 proporcionou as melhores PVM, enquanto para o R2 e R1+R2 foi importante na prevenção de um colapso no sistema.

As concentrações de Mn aumentaram significativamente de 1,78 para 10,14 mg L⁻¹ das fases II para III, possivelmente, esse aumento na concentração do afluente ocorreu em virtude da remoção que diminuiu de 71% na fase II, para 58% na fase III.

As concentrações médias de Ca no afluente aumentaram com o aumento da COV da fase I para a Fase II. Nas fases II e III, com a recirculação não houve diferença significativa nas concentrações de Ca no afluente (Tabela 13). As eficiências médias de remoção de Ca, para o sistema (R1 + R2) também aumentaram nas fases II e III, e foram de 40 e 41%, respectivamente (Tabela 14).

As concentrações médias de Mg aumentaram significativamente, das fases I para a III. As concentrações médias de K no afluente, nas fases I, II e III foram de 11,8, 73,1 e 98,9 mg L⁻¹, respectivamente, e não diferiram significativamente nas fases II e III. O K é um elemento abundante na vinhaça e representa

aproximadamente 20% dos elementos presentes (MARQUES 2006). As concentrações de K no afluente foram próximas as concentrações no efluente do R2, portanto, não houve remoção, indicando que este nutriente pode ser aproveitado para a fertirrigação.

Para o Na, Zn e Cu, as concentrações médias do afluente foram similares e não houve diferença significativa entre as três fases. Para o Na e o Cu não houve remoção. Para o Zn não ocorreu remoção nas fases I e II, porém na fase III houve 6% de remoção para o sistema (R1+R2).

As concentrações médias de fenol no afluente foram de 136, 224 e 414 mg L⁻¹ durante as fases I, II e III, respectivamente (Tabela 13) e possivelmente não causaram toxicidade aos micro-organismos presentes nos reatores R1 e R2. Concentrações de fenol acima de 1000 mg L⁻¹ podem induzir a inibição do metabolismo celular durante a fermentação metanogênica (TAI et al., 2010). Porém, neste estudo, além das concentrações no afluente não excederem concentrações inibitórias, houve remoção no sistema atingindo valores de 40; 36 e 41%, nas fases I, II e III, respectivamente.

Tabela 13. Valores de fenóis (mg L⁻¹) no afluente e nos efluentes dos reatores UASB termofílicos, em série, e eficiências de remoção para o sistema R1+R2.

	I	II	III	cv	Teste F
Afluente	136 b	224 b	414 a	34	34 **
R1	88 c	185 b	300 a	39	28 **
R2	83 b	145 b	241 a	40	22 **
Remoção (%)	40 a	36 a	41 a	29	0,4 ns

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05), ns – não significativo (p>0,05); p – probabilidade.

5.7 Análise de componentes principais

A análise de componentes principais (ACP) foi utilizada para demonstrar o efeito das variáveis operacionais (pH, AT, AP, AVT e N-am) sobre as variáveis de biogás (PVM e PEM) nas fases I, II e III. A localização das amostras apresenta a variabilidade induzida por diferentes fatores. O comprimento do vetor para cada variável representa o nível de associação para cada um dos componentes principais (CP 1 e CP 2). A intensidade da relação entre as variáveis esta indicada pelos valores percentuais nas abscissas e ordenadas do plano (Figura 13).

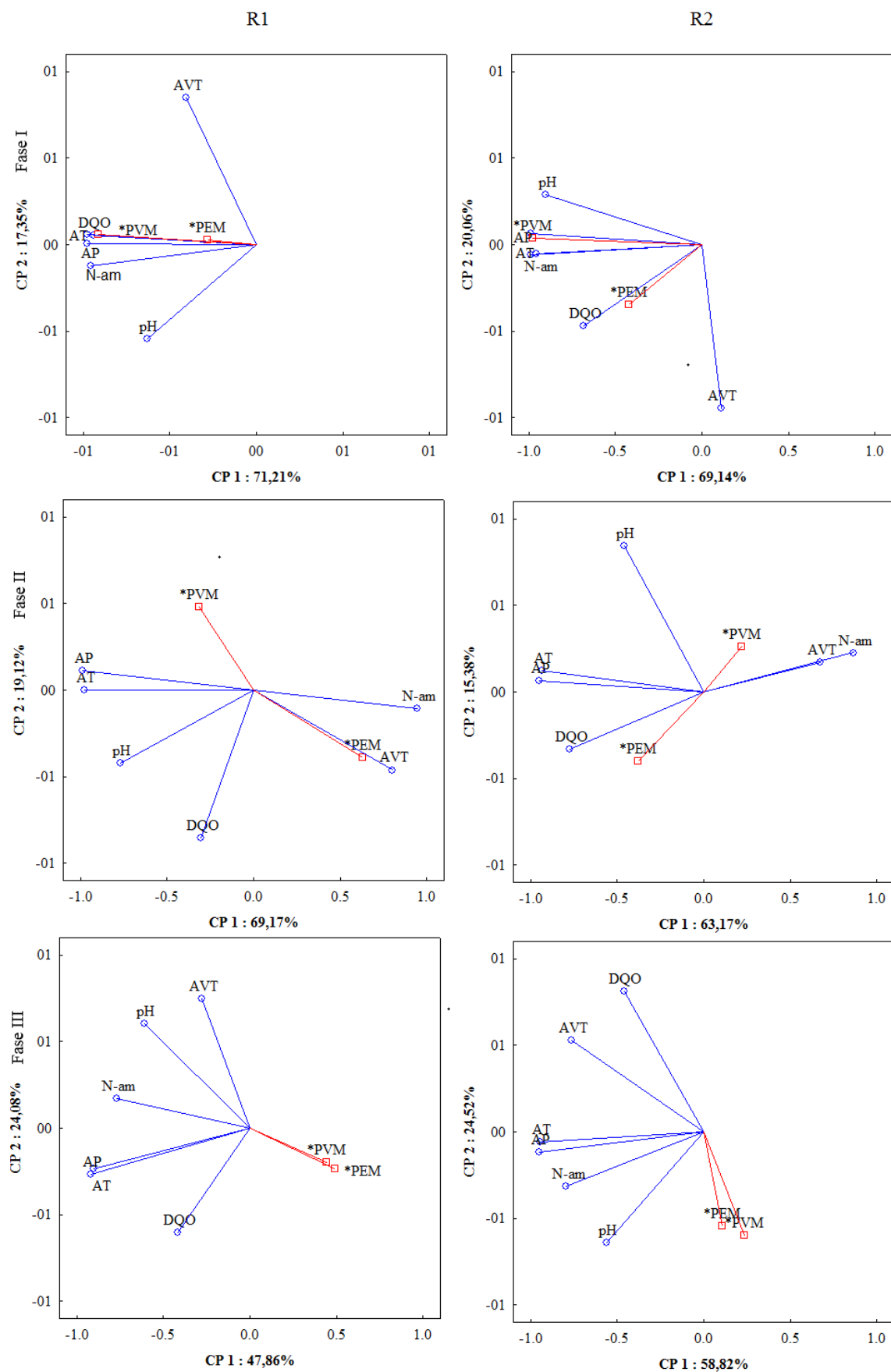


Figura 13. Análise de componentes principais dos reatores UASB R1 e R2.

Durante a fase I no R1 e R2, houve correlação positiva entre N-am, AP, AT, DQO, que proporcionou também o aumento da PVM e PEM. No R1 houve correlação fraca entre PVM e PEM que pode ser confirmado pelos baixos valores da PEM, de 0,138 L CH₄ g DQO_{removida}. No R2 houve pouca correlação entre PVM e PEM, ou seja, com aumento da PEM não havia aumento correspondente da PVM, o que pode ser evidenciado na Figura 14.

Na fase II para o R1 houve correlação negativa entre a PVM e AVT indicando que com a diminuição dos AVT ocorreu aumento na PVM. No R1 e R2 as variáveis PVM e PEM correlacionaram-se negativamente. Portanto, supõe-se que havia presença de micro-organismos produtores de metano, em virtude da PVM, porém as baixas PEM sugerem que os micro-organismos não consumiam o substrato completamente.

Durante a fase III, no R1, as variáveis DQO, AT e AP foram correlacionadas positivamente, assim como as variáveis N-am, pH e AVT, porém a variabilidade conjunta foi menor, CP1 de 47,86 e 58,82%, para o R1 e R2 respectivamente. Mas, tais variáveis foram correlacionadas negativamente com as variáveis PEM e PVM, indicando que os elevados rendimentos de metano estão associados a baixos valores de AVT, o que é o esperado. As variáveis PVM e PEM correlacionaram-se positivamente e podem ser evidenciadas nas Figuras 13 e 14.

A ACP proporcionou a visualização de características diferentes e importantes para todas as fases de operação. Portanto, observando-se as particularidades da Figura 13, supõe-se que na fase III a correlação positiva e forte entre PVM e PEM podem estar relacionadas ao aumento de bactérias utilizadoras de propionato e bactérias homoacetogênicas após a adição de Fe como relatado por Meng et al. (2013) e Takashima; Shimada e Speece (2011), proporcionando melhor aproveitamento do substrato pelos micro-organismos.

Zandvoort et al. (2006) verificaram que houve aumento da população metanogênica após adição de Co. Gustavsson et al. (2013) verificaram que houve aumento em Metanosarcinales após adição de Ni e Co e associaram esse aumento a estabilidade do reator. Schmidt et al. (2014) observaram que o Fe não afeta apenas as arqueias metanogênicas, mas estimula também o crescimento das bactérias que oxidam propionato. Semelhantemente ao observado por Meng et al.

(2013) que observaram diminuição no propionato após adição de Fe. Zhang; Zhang e Li (2015) verificaram que após adição de elementos traço houve aumento na concentração de coenzimas F_{420} e F_{430} , as quais tem correlação com atividade metanogênica. Portanto, pressupõe-se que a melhor performance observada na fase III pode ter ocorrido em virtude da adição dos elementos traço que estimularam o crescimento microbiano e proporcionaram maior estabilidade operacional no sistema, além de produzir maior quantidade de metano em relação as fases I e II, no R1.

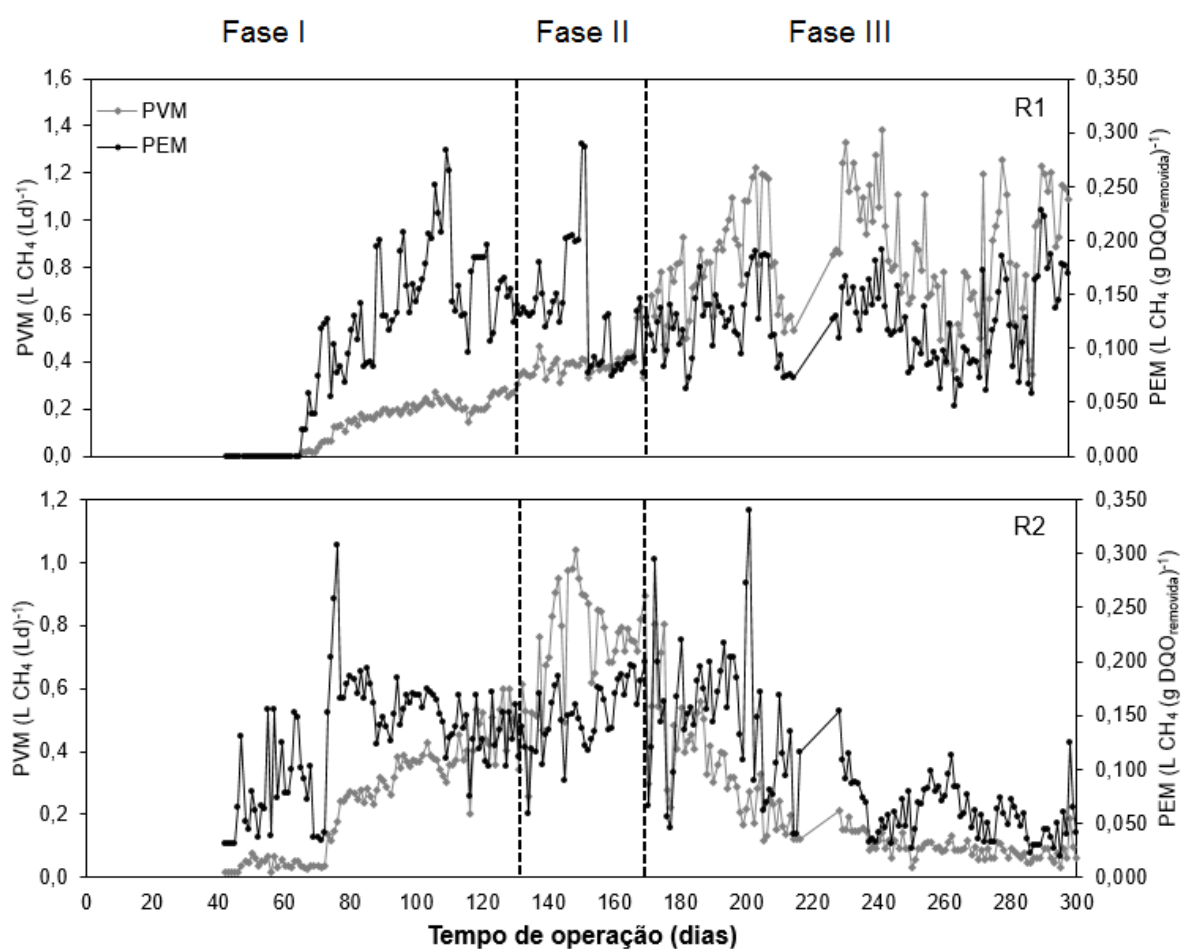


Figura 14. Produção volumétrica de metano (PVM) versus produção específica de metano (PEM), nos reatores UASB termofílicos, em série.

5.8 Bioestabilização do lodo

A avaliação da quantidade de biomassa foi realizada por meio do perfil dos sólidos, analisando-se os valores de ST e SV. Verificou-se que as concentrações de ST no lodo aumentaram no R1, no ponto P1 (base do reator) de 13 g L^{-1} para 74 g L^{-1} , da fase I para a III, respectivamente, após adição de Fe, Ni e Co. Comportamento semelhantemente foi observado no R2, pois, a concentração de ST aumentou de 12 para 98 g L^{-1} , da fase I para a fase III. Observou-se diminuição de SV apenas na fase II no R1 (Figura 15), e consequentemente o aumento da taxa de carregamento orgânico no lodo (TCL) de 0,612 para $2,637 \text{ g DQO (g STV d)}^{-1}$ da fase I para II, respectivamente. Porém, com o aumento de SV na fase III, a TCL foi de $0,906 \text{ g DQO (g STV d)}^{-1}$. Para o R2 os resultados foram similares, e a TCL atingiu valores de 0,895, 2,343 e $0,637 \text{ g DQO (g STV d)}^{-1}$ nas fases I, II e III, respectivamente.

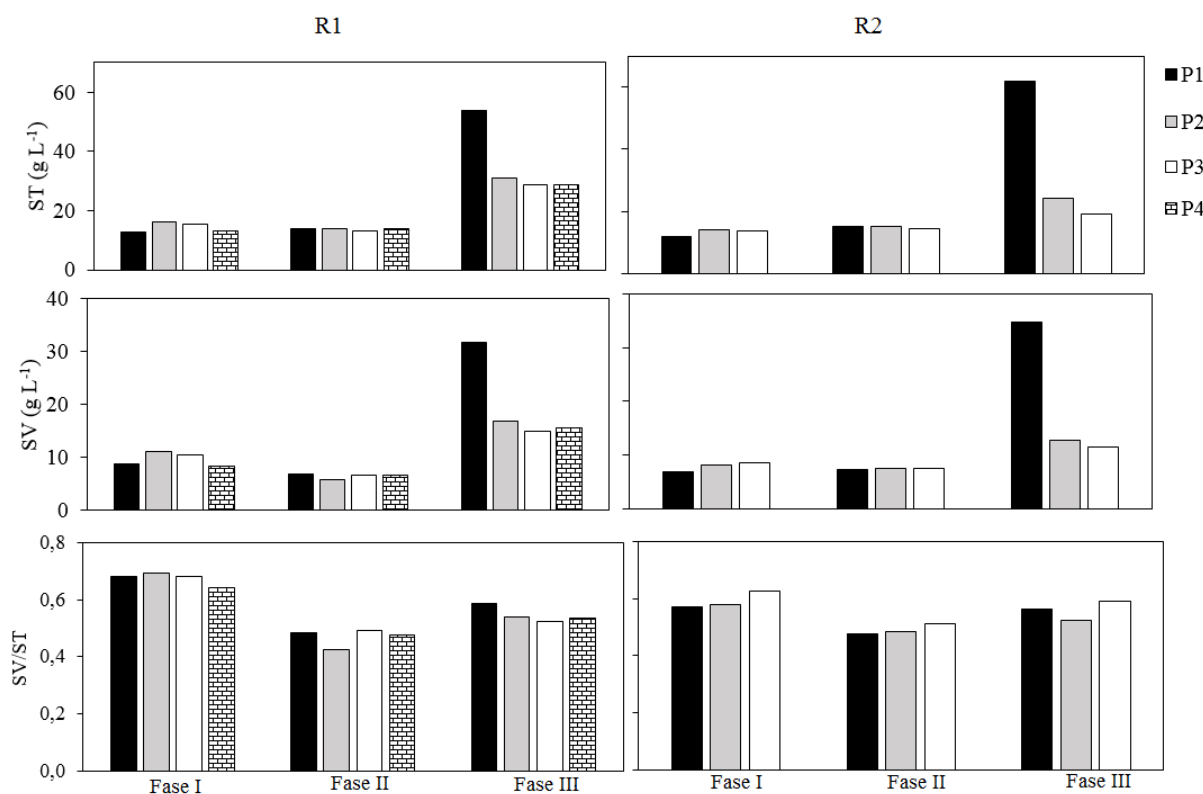


Figura 15. Concentração de sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e da relação SV/ST no lodo dos reatores UASB termofílicos, em série, nos pontos de coleta (P1 a P4), nas fases I a III.

Os elementos Fe, Ni e Co, podem ter provocado o aumento na concentração de ST, por acúmulo no lodo, pois, foram observados valores máximos de 1343, 15 e 27 mg L^{-1} para Fe, Ni e Co, respectivamente, no final do experimento (Figura 16).

Porém, durante a fase III, também houve aumento na concentração de SV, o que é indicativo de aumento na biomassa microbiana.

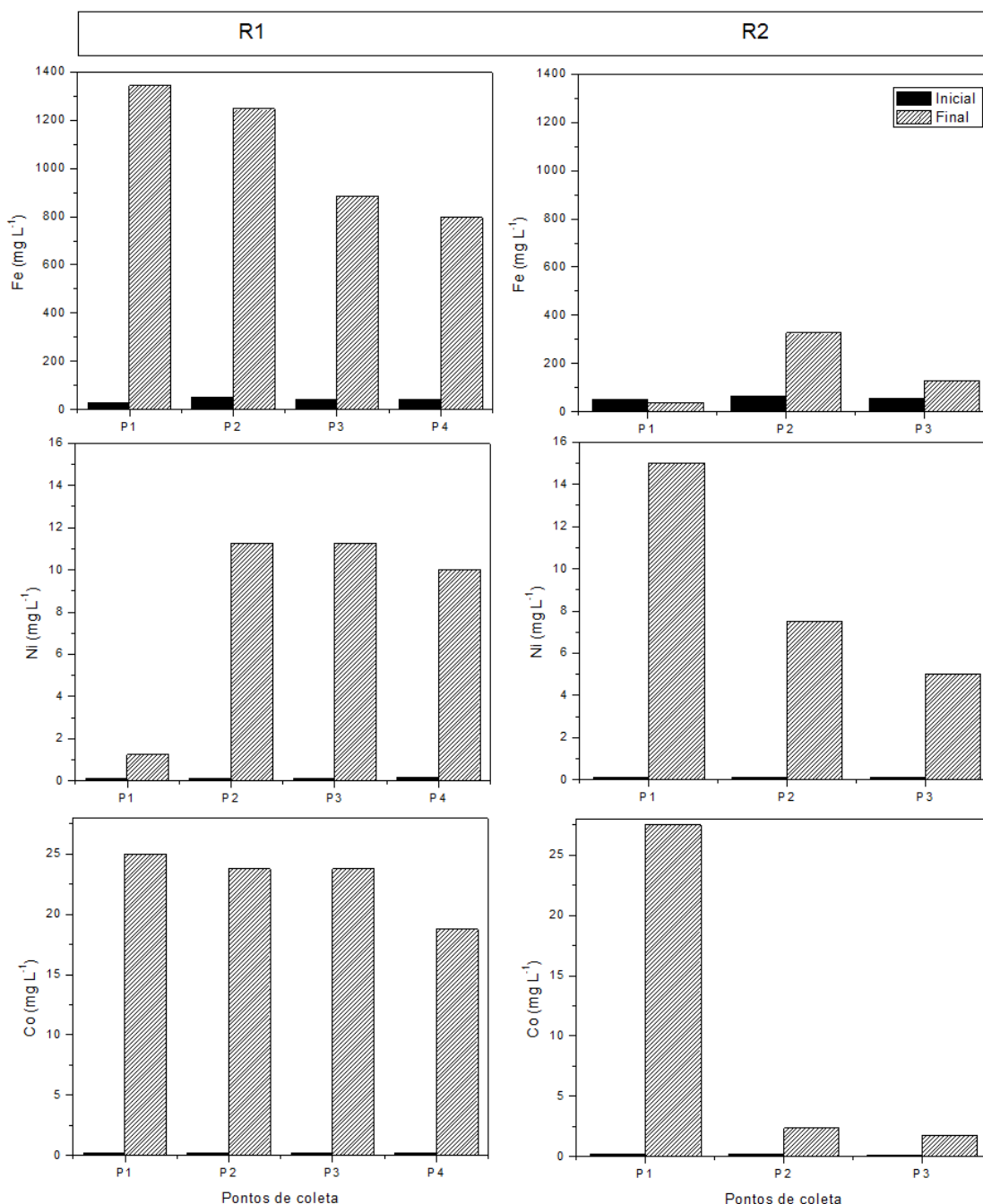


Figura 16. Concentrações de Fe, Ni e Co detectadas no início e final do experimento no lodo dos reatores UASB termofílicos, em série, nos pontos de coleta (P1 a P4).

A relação SV/ST decresceu da fase I para a fase III (Figura 15), o que indica aumento dos sólidos fixos no lodo, e que pode ter ocorrido principalmente em virtude da precipitação dos metais traço que foram adicionados. As relações SV/ST foram

menores que 0,7 em todas as fases, sendo que na fase III atingiu valores de até 0,5. Portanto, conclui-se que houve estabilidade do lodo em todos os pontos de coleta nos reatores UASB, R1 e R2. As relações $SV/ST < 0,7$ para lodo de esgoto ou produtos derivados são consideradas estáveis para uso agrícola, de acordo com a legislação brasileira (Resolução nº 375). Barros; Duda e Oliveira (2016) obtiveram valores crescentes para SV/ST , porém, não foi adicionado nutrientes ao substrato. Portanto, neste estudo, a adição de Fe, Ni e Co, pode ter proporcionado a diminuição de SV/ST , em todos os pontos de coleta do lodo dos reatores R1 e R2, indicando que o descarte poderia ser realizado atendendo as exigências estabelecidas pelas normas brasileiras, quanto a estabilidade.

A Resolução nº 375, também estabelece limites para concentração máxima permitida de algumas substâncias inorgânicas, dentre essas substâncias, o Ni, Cu e Zn, em que o máximo permitido é de 420, 1500 e 2800 mg kg^{-1} , base seca, respectivamente. Portanto, para determinar os níveis no lodo dos reatores, calculou-se as concentrações de cada elemento utilizando-se a média de cada ponto de coleta de lodo na fase III. Os valores de Ni não excederam 395 e 307 mg kg^{-1} , base seca, para o R1 e R2, respectivamente, comprovando que apesar do acúmulo desse elemento os níveis permaneceram abaixo do permitido. Os elementos Cu e Zn, atingiram concentrações máxima de 71 e 445 mg kg^{-1} , base seca, respectivamente (Tabela 14), os quais também permaneceram abaixo das concentrações consideradas limites para o lodo.

Tabela 14. Concentrações de Ni, Cu e Zn (mg kg^{-1} , base seca,) determinados durante a fase III no lodo dos reatores UASB termofílicos, em série, nos pontos de coleta (P1 a P4).

Parâmetros		P1	P2	P3	P4
Ni	R1	232	361	395	348
	R2	243	307	258	-
Cu	R1	51	71	68	50
	R2	44	34	19	-
Zn	R1	394	176	168	137
	R2	445	54	39	-

6. CONCLUSÃO

A suplementação com Fe, Ni e Co na digestão anaeróbia termofílica da vinhaça, em reatores UASB, em série, foi uma estratégia favorável para a manutenção da estabilidade dos reatores R1 e R2. Para o R1, a suplementação proporcionou melhor produção volumétrica de metano (PVM), aumento na remoção de DQO e menores concentrações de ácidos voláteis totais. Para o sistema (R1+R2) proporcionou estabilidade operacional, mas não influenciou na PVM. O Fe foi considerado o principal elemento traço por seus efeitos de precipitação com sulfeto e participação nas fases acetogênicas e metanogênicas da digestão anaeróbia. Portanto, conclui-se que com a adição do Fe, Ni e Co não seria necessário a utilização do R2, mas caso opte-se pelo tratamento da vinhaça sem a suplementação de elementos traço, o R2 seria essencial para a obtenção de metano, mas sem garantia de estabilidade para o processo.

7. REFERÊNCIAS

- APHA, AWWA, WPCF. (2005). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed. Washington, 1268 p.
- BARROS, V. G.; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. DE. Biomethane production from vinasse in upflow anaerobic sludge blanket reactors inoculated with granular sludge. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1–12, 2016.
- BRANDS, C. M. J.; WEDZICHA, B. L.; BOEKEL, M. A. J. S. VAN. The use of radiolabelled sugar to estimate the extinction coefficient of melanoidins formed in heated sugar-casein systems. **International Congress Series**, v. 1245, p. 249–253, 2002.
- BOX, J. D. Investigation of the folin-Ciocalteau phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. **Water research**, 1983.
- CHERNICHARO C. A. L **Reatores aneróbios: princípios do tratamento biológico em águas residuárias**. 2º Ed. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG., 2007. p. 380.
- CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4044–4064, 2008.
- CHOONG, Y. Y.; NORLI I.; ABDULLAH, A. Z.; YHAYA, M. F. Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion process: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 369–379, 2016.
- CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARTINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013.
- OLIVEIRA, B. G. CARVALHO, J. L. N.; CERRI, C. E. P.; CERRI, C. C.; FEIGL, B. J. Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. **Geoderma**, v. 200-201, p. 77–84, 2013.
- DIEKERT, G. R.; JAENCHEN, R. K. T. Nickel, a component of factor F430. **Archives of microbiology**, v. 124, p. 103–106, 1980.
- ESPAÑA-GAMBOA, E. I. MIJANGOS-CORTÉS, J. O.; HERNÁNDEZ-ZÁRATE, G. MALDONADO, J. A. D.; ALZATE-GAVIRIA, L. M. Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, n. 1, p. 82, 2012.
- ESPINOSA, A. ROSAS, L.; ILANGO VAN, K.; NOYOLA, A. Effect of trace metals on the anaerobic degradation of volatile fatty acids in molasses stillage. **Water Science and Technology**, v. 32, n. 12, p. 121–129, 1995.
- FERMOSO, G. F.; BARTACEKA, J.; JANSENC, S.; LENS, P. N. L. Metal supplementation to UASB Bioreactors; From Cell-Metall Interactions to Full-Scale Application. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 3652–3667, 2009.
- FERRAZ JÚNIOR, A. D. N.; KOYAMA, M. H.; ARAÚJO JÚNIOR, M. M.; ZAIAT, M. Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy**, v. 89, p. 245–252, 2016.

GUSTAVSSON, J. YEKTA, S. S.; SUNDBERG, C. KARLSSON, A.; EJLERTSSON, J.; SKYLLBERG U.; SVENSSON, B. H. Bioavailability of cobalt and nickel during anaerobic digestion of sulfur-rich stillage for biogas formation. **Applied Energy**, v. 112, p. 473–477, 2013.

GUSTAVSSON, J.; SVENSSON, B. H.; KARLSSON, A. The feasibility of trace element supplementation for stable operation of wheat stillage-fed biogas tank reactors. **Water Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 320–325, 2011.

HARADA, H. UEMURA, S.; CHEN, A. C.; JAYADEVAN, J. Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 55, n. 3, p. 215–221, 1996.

JANKE, L.; LEITE, A. F.; BATISTA, K.; SILVA, W.; NIKOLAUSZ, M.; NELLES, M.; STINNER, W. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresource Technology**, p. 1–11, 2015.

KHATRI, S.; W.U, S.; KIZITO, S.; ZHANG, W. LI, J.; DONG, R. Synergistic effect of alkaline pretreatment and Fe dosing on batch anaerobic digestion of maize straw. **Applied Energy**, v. 158, p. 55–64, 2015.

KOSTER, I. W.; LETTINGA, G. The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. **Agricultural Wastes**, v. 9, n. 3, p. 205–216, 1984.

L. E. RIPLEY, W. C. BOYLE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. 1986.

LOPES, S. I. C.; CAPELA, M. I.; VAN HULLEBUSCH, E. D.; VAN DER VEEN, A. LENS, P. N. L. Influence of low pH (6, 5 and 4) on nutrient dynamics and characteristics of acidifying sulfate reducing granular sludge. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 11, p. 1227–1238, 2008.

LYRA, M. R. C. C.; ROLIM, M. M.; SILVA, J. A. A DA. Topossequência de solos fertigados com vinhaça: contribuição para a qualidade das águas do lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 3, p. 525–532, 2003.

KYTHREOTOU, N.; TASSOU, S. A.; FLORIDES, G. An assesment of the biomass potential of Cyprus for energy production. **Energy**, v. 47, p 253-261, 2012.

MARTINS, S. I. F. S.; BOEKEL, M. A. J. S. VAN. Melanoidins extinction coefficient in the glucose / glycine Maillard reaction. v. 83, p. 135–142, 2003.

MENDES, C.; ESQUERRE, K.; MATOS QUEIROZ, L. Application of Anaerobic Digestion Model No. 1 for simulating anaerobic mesophilic sludge digestion. **Waste Management**, v. 35, n. 1, p. 89–95, 2015.

MENG, X. et al. Adding Fe0 powder to enhance the anaerobic conversion of propionate to acetate. **Biochemical Engineering Journal**, v. 73, p. 80–85, 2013.

MORAES, B. S.; JUNQUEIRA, T. L.; PAVANELLO, L.G.; CAVALETT, O.; MANTELLATO, P. E.; BONOMI, A.; ZAIAT, M. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy environmental, and economic perspectives: Profit or expense **Applied Energy**, v. 113, p. 825–835, 2014.

NANDY, T.; SHASTRY, S.; KAUL, S. N. Wastewater management in a cane molasses distillery involving bioresource recovery. **Journal of Environmental Management**, v. 65, n. 1, p. 25–38, 2002.

NORMA CETESB P4.231. **Vinhaça: Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola**. São Paulo. 2006.

OLESZKIEWICZ, J. A.; SHARMA, V. K. Stimulation and inhibition of anaerobic processes by heavy metals-A review. **Biological Wastes**, v. 31, n. 1, p. 45–67, 1990.

OLIVEIRA, R. A.; FORESTI, E. Balanço de massa de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola**, v. 24, n. 103, p. 807–820, 2004.

PACHECO, T. F. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com esocamento ascendente**. Uberlândia: Universidade federal de Uberlândia, 2010.

PATEL, V. B.; PATEL, A. R.; PATEL, M. C.; MADAMWAR, D. B. Effect of metals on anaerobic digestion of water hyacinth-cattle dung. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 43, n. 1, p. 45–50, 1993.

PAULO, P. L.; VILLA, G.; VAN LIER, J. B.; LETTINGA, G. The Anaerobic Conversion of Methanol under Thermophilic Conditions: pH and Bicarbonate Dependence. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 96, n. 3, p. 213–218, 2003.

PEÑA, M. R.; MARA, D. D.; AVELLA, G. P. Dispersion and treatment performance analysis of an UASB reactor under different hydraulic loading rates. **Water Research**, v. 40, n. 3, p. 445–452, 2006.

QIANG, H.; NIU, Q.; CHI, Y.; LI, Y. Trace metals requirements for continuous thermophilic methane fermentation of high-solid food waste. **Chemical Engineering Journal**, v. 222, p. 330–336, 2013.

Renewable Fuels Association. Disponível em: <<http://ethanolrfa.org/>>. Acesso em: 2 fev. 2017.

ROMERO-GÜIZA, M. S.; ASTALS, S. MATA-ALVAREZ, J.; CHIMENOS, J. M. Feasibility of coupling anaerobic digestion and struvite precipitation in the same reactor: Evaluation of different magnesium sources. **Chemical Engineering Journal**, v. 270, p. 542–548, 2015.

SANTANA JÚNIOR, A. E. **Produção de Metano a partir de vinhaça e melaço em reatores UASB termofílicos, em dois estágios**. 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2013.

SANTANA JÚNIOR, G. L. **Tratamento biológico de elfuentes: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro. 2010.

SCHMIDT, T.; NELLES, M.; SCHOLWIN, F.; PROTER, J. Trace element supplementation in the biogas production from wheat stillage - Optimization of metal dosing. **Bioresource Technology**, v. 168, p. 80–85, 2014.

SINGH, R. P.; KUMAR, S.; OJHA, C. S. P. Nutrient requirement for UASB process: A review. **Biochemical Engineering Journal**, v. 3, n. 1, p. 35–54, 1999.

SOUZA, S. N. M.; BORSOI, A.; SANTOS, R.F.; SECCO, D.; FRIGO, E. P.; SILVA, M. Production potencial of biogas in sugar and ethanol plants for use in urban buses in Brasil. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 10, p. 908–910, 2012.

SOUZA, M. E.; FUZARO, G.; POLEGATO, A. R. Thermophilic Anaerobic Digestion of Vinasse in Pilot Plant UASB Reactor. **Water Science and Technology**, v. 25, n. 7, p. 213–222, 1 abr. 1992.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology e odor/corrosion control for municipalities e industries**. 2008.

TAI, J.; ADAV, S. S.; SU, A.; LEE, D. Biological hydrogen production from phenol-containing wastewater using *Clostridium butyricum*. v. 35, p. 13345–13349, 2010.

TAKASHIMA, M.; SHIMADA, K.; SPEECE, R. E. Minimum requirements for trace metals (iron, nickel, cobalt, and zinc) in thermophilic and mesophilic methane fermentation from glucose. **Water environment research : a research publication of the Water Environment Federation**, v. 83, n. 4, p. 339–346, 2011.

UNICA, **União das Industrias de Cana de Açúcar**. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br/>>. Acesso em: 2 fev. 2017.

VAN HAANDEL, A.; VRIEZE, J. D.; VERSTRAETE, W.; SANTOS, V. S. Methanosaeta dominate acetoclastic methanogenesis during high-rate methane production in anaerobic reactors treating distillery wastewaters. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 89, n. 11, p. 1751–1759, 2014.

VIANA, A. B. **Anaeróbio, Tratamento Em, D E Vinhaça Uasb, Reator Carlos, São Amarantes, Rodrigo**. [s.l: s.n.].

VINTILOIU, A.; BOXRIKER, M.; LEMMER, A.; OECHSNER, H.; JUNGBLUTH, T.; MATHIES E.; RAMHOLD D. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on the bioavailability of trace elements during anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal**, v. 223, p. 436–441, 2013.

WHITMAN, W. B.; WOLF R. S.. Presence of nikcel in fator F430. **Biochemical Biophysical Research Communication**, v. 92, p. 1196–1201, 1980.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, n. 2, p. 63–102, 2000.

WU, W.; DUAN, T.; SONG, H.; LI, Y.; YU, A.; ZHANG, L.; LI, A. The effect of continuous Ni(II) exposure on the organic degradation and soluble microbial product (SMP) formation in two-phase anaerobic reactor. **Journal of environmental sciences (China)**, v. 33, n. li, p. 78–87, 2015.

YU, D.; KUROLA, J. M.; LAHDE, K.; KYMALAINEN, M.; SINKKONEN, A.; ROMANTSCHUK, M. Biogas production and methanogenic archaeal community in mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion processes. v. 143, p. 54–60, 2014.

ZANDVOORT, M. H.; HULLEBUSCH, E. D.; FERMOSO, F. G.; LENS, P. N. L. Trace metals in anaerobic granular sludge reactors: Bioavailability and dosing strategies. **Engineering in Life Sciences**, v. 6, n. 3, p. 293–301, 2006.

ZENG, Y.; LIU, Z.; QIN, Z. Decolorization of molasses fermentation wastewater by SnO₂-catalyzed ozonation. v. 162, p. 682–687, 2009.

ZHANG, W.; ZHANG, L.; LI, A. Enhanced anaerobic digestion of food waste by trace metal elements supplementation and reduced metals dosage by green chelating agent [S, S]-EDDS via improving metals bioavailability. **Water Research**, v. 84, p. 266–277, 2015.

ZHAO, H. W.; VIRARAGHAVAN, T. Analysis of the performance of an anaerobic digestion system at the Regina wastewater treatment plant. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 3, p. 301–307, 2004.

8. Anexo A

Tabela A1. Relação para Fe/DQO, Ni/DQO e Co/DQO nos reatores UASB termofílicos, R1, R2 e R1+R2

Dia	R1			R2			R1+R2		
	Fe/DQO	Ni/DQO	Co/DQO	Fe/DQO	Ni/DQO	Co/DQO	Fe/DQO	Ni/DQO	Co/DQO
179	2,73	0,108	0,165	8,95	0,355	0,539	2,09	0,083	0,126
186	1,62	0,110	0,186	3,65	0,249	0,419	1,12	0,076	0,129
193	13,49	0,122	0,141	63,39	0,571	0,661	11,12	0,100	0,116
200	13,80	0,075	0,136	171,37	0,927	1,694	12,77	0,069	0,126
207	13,98	0,146	0,106	37,45	0,390	0,285	10,18	0,106	0,077
216	10,87	0,095	0,170	96,39	0,843	1,506	9,77	0,085	0,153
221	14,17	0,087	0,183	38,56	0,236	0,498	10,36	0,064	0,134
228	13,21	0,074	0,149	82,94	0,467	0,935	11,39	0,064	0,128
237	12,59	0,138	0,191	41,86	0,460	0,637	9,68	0,106	0,147
244	12,41	0,138	0,099	57,95	0,646	0,464	10,22	0,114	0,082
250	11,54	0,258	0,090	94,36	2,108	0,735	10,28	0,230	0,080
256	12,70	0,201	0,094	113,76	1,798	0,843	11,43	0,181	0,085
263	13,50	0,290	0,157	129,81	2,788	1,506	12,23	0,263	0,142
272	20,74	0,444	0,148	102,68	2,196	0,732	17,26	0,369	0,123
279	16,20	0,655	0,147	88,00	3,560	0,800	13,68	0,553	0,124
286	21,36	0,745	0,163	82,26	2,871	0,629	16,95	0,592	0,130
293	24,81	0,751	0,223	74,31	2,250	0,667	18,60	0,563	0,167
300	25,72	0,505	0,203	206,52	4,048	1,630	22,87	0,449	0,181