

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Curso de Pós-Graduação em Biocombustíveis

Daniela Cristina Souza Oliveira

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA BIODIGESTÃO DE
VINHAÇA DA FABRICAÇÃO DE CACHAÇA ARTESANAL**

Diamantina

2019

Daniela Cristina Souza Oliveira

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA BIODIGESTÃO DE
VINHAÇA DA FABRICAÇÃO DE CACHAÇA ARTESANAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. David Lee Nelson.

Coorientador: Prof. Dr. Marcus Henrique Canuto.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Arlete Barbosa dos Reis.

Diamantina

2019

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

O48o

Oliveira, Daniela Cristina Souza

Otimização da produção de biogás a partir da biodigestão de vinhaça da fabricação de cachaça artesanal / Daniela Cristina Souza Oliveira, 2019.

104 p. : il.

Orientador: David Lee Nelson

Coorientador: Marcus Henrique Canuto

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

1. Vinhaça. 2. Biodigestão anaeróbica. 3. Metano. 4. Bioenergia.
I. Nelson, David Lee. II. Canuto, Marcus Henrique. III. Título. IV.
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 660

DANIELA CRISTINA SOUZA OLIVEIRA

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA BIODIGESTÃO DE
VINHAÇA DA FABRICAÇÃO DE CACHAÇA ARTESANAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, nível de MESTRADO como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRA EM BIOCOMBUSTÍVEIS.

Orientador: Prof. Dr. David Lee Nelson
Coorientador: Prof. Dr. Marcus Henrique Canuto

Data de aprovação: 27/06/2019.



Prof. Dr. DAVID NELSON LEE - UFVJM



Prof. Dr. MARCUS HENRIQUE CANUTO - UFVJM



Prof.^a Dr.^a ARLETE DOS REIS BARBOSA - UFVJM



Prof.^a Dr.^a VÍVIAN MACHADO BENASSI - UFVJM



Prof.^a Dr.^a JULIANA ROCHA DE MEIRA PIRES - IFNMG

DIAMANTINA

*Aos meus pais, Silvio e Maria do Socorro,
pelo exemplo de vida e incentivo nos momentos difíceis,
por tantas vezes que deixaram de realizar os vossos sonhos para realizar os meus,
pelo apoio e confiança depositada em mim.
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, princípio de tudo, por ter me iluminado e guiado nos momentos difíceis e pelo dom da vida.

Aos meus pais, Silvio e Maria do Socorro, por mostrarem sempre o caminho da verdade, e pelo amor incondicional a mim dedicado com tamanho carinho. Ao meu irmão Cristiano, pelo apoio e estímulo. Aos demais familiares, vô Ozorio, vó Mariinha, Tios, Tias e primos pelo estímulo e companheirismo.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri -UFVJM, à Coordenação e equipe de professores do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis – Campus Diamantina, pela oportunidade, convívio e ensinamentos que me ajudaram a ser uma profissional melhor.

Ao professor Dr. *Marcus Henrique Canuto (Marquinhos)*, que dispensa comentários, uma pessoa maravilhosa com quem tive o imenso prazer de trabalhar durante 8 anos da minha estadia na UFVJM, um dos maiores exemplos de profissionalismo, além de uma capacidade incrível de passar adiante o conhecimento, o meu eterno agradecimento pela excelente orientação, amizade, incentivo, paciência, por ter acreditado em mim e no meu trabalho e, principalmente, pelo aprendizado que me proporcionou.

Ao Professor Dr. *David Lee Nelson*, pela orientação, paciência e disponibilidade.

À professora Dra. *Arlete dos Reis Barbosa*, pela orientação, confiança e pelas inúmeras ajudas nos momentos difíceis. Agradeço também pela acolhida no Laboratório de Processos Biológicos e Tecnologia Ambiental.

À professora Dra. *Nísia Andrade Vilella Dessimoni Pinto* pelos ensinamentos, disponibilidade e acolhimento no Laboratório de Biomassa e Tecnologia do Cerrado.

Aos professores e técnicos do laboratório de pesquisa da UFVJM, por toda a ajuda na realização deste trabalho. E aos amigos e alunos de Iniciação Científica: *José Adão, Gustavo, Ludimilla* pela amizade e contribuição nessa pesquisa.

Ao meu companheiro *Júnior*, pela amizade, paciência e todo amor dedicado.

Aos meus amigos *Luciana, Marclenio, Maria e Jack*, que ouviram muitas vezes minhas reclamações, obrigada pela amizade, paciência e as risadas proporcionadas nos momentos difíceis.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, a minha eterna gratidão.

Não pretendemos que as coisas mudem, se sempre fazemos o mesmo. A crise é a melhor benção que pode ocorrer com as pessoas e países, porque a crise traz progressos. A criatividade nasce da angústia, como o dia nasce da noite escura. É na crise que nascem as invenções, os descobrimentos e as grandes estratégias (EINSTEIN, Albert).

RESUMO

A fabricação artesanal da cachaça é uma importante fonte de renda para pequenos e médios produtores agrícolas do estado de Minas Gerais. Na produção da bebida, um dos principais subprodutos gerados é a vinhaça, rica em matéria orgânica e com significativo teor de enxofre. Conseqüentemente, apresenta alto potencial poluidor. Para cada litro de cachaça produzido são gerados, em média, 10 a 14 litros de vinhaça. A biodigestão anaeróbia apresenta grande potencial de aplicação no tratamento da vinhaça, pois ocorre a redução de sua carga orgânica poluente concomitantemente à recuperação de bioenergia a partir do biogás. O presente estudo teve como objetivo avaliar as potencialidades da aplicação da biodigestão anaeróbia para o tratamento da vinhaça provinda da fabricação de cachaça artesanal, bem como o desenvolvimento de um biodigestor para implantação em propriedades rurais produtoras da bebida. Para testar o desempenho do processo, realizou-se oito ensaios de biodigestão da vinhaça em escala de bancada utilizando reatores de 250 mL, variando a quantidade de inóculo, temperatura e diluição da vinhaça. Em seguida, o processo foi otimizado em um biorreator de bancada anaeróbio com capacidade de 7,5 litros, e com um sistema de monitoramento e controle do pH, dióxido de carbono, temperatura e pressão. A vinhaça *in natura* foi caracterizada quanto a umidade, matéria seca, cinzas sólidos suspensos voláteis e totais, pH, DQO, proteínas, lipídeos e nitrogênio total. O efluente da biodigestão foi caracterizado quanto a DQO e pH. A composição do biogás gerado foi determinada através da quantificação de dióxido de carbônico, metano, amônia e ácido sulfídrico. O processo de biodigestão da vinhaça para a produção de biogás se mostrou eficiente no tratamento desse resíduo. O volume de biogás gerado e acumulado, nos ensaios de bancada, durante o período de 25 dias variaram entre 2,08 mL e 347,90 mL. Quanto à remoção de carga orgânica, os ensaios mostraram-se uma boa alternativa para o tratamento da vinhaça, visto que a eficiente redução de DQO na vinhaça biodigerida foi em torno de 74%, fato que evidencia a transformação de matéria orgânica em biogás. A principal contribuição desse experimento consistiu na disponibilização de novos métodos de obtenção de energia a partir de uma matriz já disponível aos pequenos e médios produtores de cachaça artesanal.

Palavras chave: Vinhaça 1. Biodigestão anaeróbica 2. Metano 3. Bioenergia 4

ABSTRACT

The artisanal production of cachaça is an important source of income for small and medium-sized agricultural producers in the state of Minas Gerais. In the production of the beverage, one of the main by-products generated is vinasse, rich in organic matter and with significant sulfur content. Consequently, it presents high polluting potential. For each liter of cachaça produced, an average of 10 to 14 liters of vinasse is generated. Anaerobic biodigestion presents great potential for application in the treatment of vinasse, because the reduction of its organic pollutant load occurs concomitantly with the recovery of bioenergy from the biogas. The present study aimed to evaluate the potential of the application of anaerobic biodigestion for the treatment of vinasse from the manufacture of artisanal cachaça, as well as the development of a biodigester for implantation in rural properties that produce the beverage. To test the performance of the process, eight batch-scale biodigestion tests were carried out using a 250 mL reactor, varying the amount of inoculum, temperature and dilution of the vinasse. The process was optimized in a 7.5-liter anaerobic bench bioreactor with a monitoring and control system for pH, carbon dioxide temperature and pressure. The crude vinasse was characterized with respect to the moisture, dry matter, suspended volatile substances, total suspended ash, pH, COD, proteins, lipids and total nitrogen contents. The biodigestion effluent was characterized as COD and pH. The composition of the biogas generated was determined by the quantification of carbon dioxide, methane, ammonia and hydrogen sulfide. The biodigestion process of the vinasse for biogas production was efficient in the treatment of this residue. The volume of biogas generated and accumulated in laboratory tests over a 25-day period ranging from 2.08 mL to 347.90 mL. Regarding the removal of the organic load, the tests proved to be a good alternative for the treatment of vinasse because the reduction of COD in biodigested vinasse was around 74%, a fact that demonstrates the transformation of organic matter into biogas. The main contribution of this experiment consisted in the availability of new methods of obtaining energy from a matrix already available to small and medium producers of artisanal cachaça.

Keywords: Vinasse 1. Biodigestion 2. Metano 3. Bioenergy 4.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma do processo	45
Figura 2 – Aparelho de destilação para produção de cachaça.....	46
Figura 3 - Fluxograma das análises realizadas	47
Figura 4 - Representação esquemática do sistema e fotografia do sistema de biodigestão.....	55
Figura 5 – Ensaio da Biodigestão da vinhaça	57
Figura 6 – Biorreator automatizado.....	58
Figura 7 - Biodigestor anaeróbio de vinhaça.....	60
Figura 8 – Kit de análise de Biogás.....	60
Figura 9 – Mini-orsat: suporte analisador de gás carbônico.....	61
Figura 10 – Fotocolorímetro para análise de Amônia e Gás Sulfídrico	62
Figura 11 – Gráfico de Superfície 3D	82
Figura 12 – Gráfico de Superfície 2D	82
Figura 13 – Gráfico dos valores preditos e observados.....	83
Figura 14 - Gráfico dos <i>scores</i> e <i>loadings</i> das duas primeiras componentes principais	86
Figura 15 - Gráfico dos <i>scores</i> e <i>loadings</i> das duas primeiras componentes principais	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Matriz de planejamento fatorial 2 ³	56
Tabela 2 - Parâmetros utilizados dos ensaios de biodigestão	59
Tabela 3 - Ficha técnica e limite de detecção do kit de análise do biogás.	61
Tabela 4 - Caracterização físico-química da vinhaça bruta.....	65
Tabela 5 – Resultados dos pré-testes de biodigestão.....	69
Tabela 6 - Volume Acumulado de Biogás Produzido.	72
Tabela 7 – Dados obtidos nos ensaios da biodigestão de vinhaça de cachaça.	75
Tabela 8 – Caracterização físico-química	83
Tabela 9 - Resultados da produção e composição do biogás	85
Tabela 10 – Coeficiente do modelo estático.....	105

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva Padrão para determinação de Açúcares Redutores.....	50
Gráfico 2 – Curva de calibração DQO	52
Gráfico 3 - Volume diário de Produção de Biogás em 12 dias	70
Gráfico 4 - Monitoramento da formação de biogás.....	72
Gráfico 5 – Comparação da DQO da vinhaça bruta e vinhaça tratada.....	79
Gráfico 6 – Produção de Biogás	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABRABE	Associação Brasileira de Bebidas
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
°GL	Grau Gay Lussac (fração em volume ou percentual em volume (%V/V))
pH	Potencial hidrogeniônico
ppmV	Partes por milhão em volume
APHA	<i>American Public Health Association</i> (Associação Americana de Saúde Pública)
ART	Açúcares redutores totais
CSTR	<i>Continuously stirred-tank reactor</i> (reator anaeróbio continuamente agitado)
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO, DQOt	Demanda Química de Oxigênio total
DQOs	Demanda Química de oxigênio solúvel
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor</i> (reator anaeróbio de fluxo ascendente)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	OBJETIVOS.....	25
2.1	Objetivos específicos	25
3	JUSTIFICATIVA.....	27
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	29
4.1	Definição de Cachaça.....	29
4.2	Importância da Produção de Cachaça Artesanal.....	30
4.3	Vinhaça: composição, produção e uso no Brasil.....	31
4.4	Biodigestão Anaeróbica	33
4.4.1	Etapas do processo de digestão anaeróbica.....	33
4.4.2	Fatores que interferem na biodigestão anaeróbica	36
4.5	Uso da biodigestão anaeróbica para tratamento da vinhaça.....	39
4.6	Digestores.....	40
4.7	Uso de biodigestores em propriedades rurais.....	41
4.8	Biogás.....	42
4.9	Análises físico-químicas	43
4.10	Análise Quimiométrica – Análise dos Componentes Principais.....	43
5	METODOLOGIA.....	45
5.1	Características gerais.....	45
5.2	Local do experimento.....	46
5.3	Substrato.....	46
5.4	Caracterização da vinhaça bruta e do subproduto da biodigestão.....	46
5.4.1	pH.....	47
5.4.2	Densidade.....	48
5.4.3	Sólidos Solúveis Totais – SST	48
5.4.4	Umidade e Matéria Seca	48
5.4.5	Sólidos Fixos Totais (Cinzas) - SFT	49
5.4.6	Sólidos Voláteis Totais - SVT	49
5.4.7	Açúcares Redutores -AR.....	49
5.4.8	Acidez Total Titulável - ATT	50
5.4.9	Lipídeos.....	51
5.4.10	Nitrogênio total e Proteínas.....	51
5.4.11	Demanda Química de Oxigênio – DQO	52

5.5	Crescimento microbiano na vinhaça bruta.....	53
5.6	Inóculo	54
5.7	Pré-testes da biodigestão de vinhaça.....	54
5.8	Delineamento experimental	55
5.9	Ensaio da Biodigestão em escala laboratorial	56
5.10	Ensaio da biodigestão em um biorreator automatizado.....	57
5.11	Desenvolvimento e construção de um biodigestor industrial	59
5.12	Análises da composição do Biogás.....	60
5.12.1	Determinação de Gás Carbônico e Gás Metano	61
5.12.2	Determinação de Amônia	61
5.12.3	Determinação de Ácido Sulfídrico.....	62
5.13	Análise estatística.....	62
5.13.1	Análise de componentes principais.....	63
5.13.2	Otimização	63
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
6.1	Caracterização da vinhaça.....	65
6.1.1	Umidade e matéria seca	66
6.1.2	Cinzas e Matéria Orgânica.....	66
6.1.3	pH.....	67
6.1.4	Densidade Relativa	67
6.1.5	Sólidos totais, Fixos e Voláteis.....	67
6.1.6	Açúcares Redutores Totais e Sólidos Solúveis Totais	68
6.1.7	Proteínas e Lipídios.....	68
6.1.8	DQO.....	69
6.2	Pré-testes da biodigestão de vinhaça.....	69
6.3	I Estágio: Ensaio da Biodigestão em escala laboratorial.....	71
6.4	Otimização da produção de biogás	81
6.5	II Estágio: Ensaio da Biodigestão no biorreator anaeróbico	83
6.6	Análises Quimiométricas	86
6.7	III Estágio: Construção do biodigestor	88
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
8	PERSPECTIVAS FUTURAS	91
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
	ANEXO I.....	105

1 INTRODUÇÃO

A Cachaça exerce importante papel econômico, social e cultural no Brasil. É de fundamental importância que seus produtores possam agregar valor e qualidade à esta bebida sem necessitarem abrir mão da competitividade e sustentabilidade (NOGUEIRA LIZ et al., 2016).

O Brasil possui menos de 2.000 produtores devidamente registrados, com 4.000 marcas. Estima-se que esses produtores possuam uma capacidade instalada de produção de aproximadamente 1,4 bilhão de litros anuais da bebida. Porém, anualmente são produzidas menos de 800 milhões de litros, distribuídos entre 12 mil unidades produtivas presentes em todo o país. Dentre os estados fabricantes, destacam-se: São Paulo, Pernambuco, Ceará, Minas Gerais e Paraíba (IBRAC, 2019).

A fabricação artesanal da cachaça é uma importante fonte de renda para pequenos e médios produtores agrícolas do estado de Minas Gerais, e este estado é o principal produtor da bebida no cenário nacional, sendo responsável por 50% da fabricação total dessa variante da bebida. Além disso, estima-se que existam 9.000 unidades produtivas no estado, fabricando 200 milhões de litros por ano (SEBRAE, 2013). Segundo Campelo (2002), 85% dessas unidades operam nas margens da ilegalidade, ou seja, não possuem registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Do total de estabelecimentos em Minas Gerais, 53% encontram-se localizados nas mesorregiões do Norte de Minas, Vale do Jequitinhonha e Mucuri. Isto demonstra uma forte influência da produção nestas regiões, visto as graves restrições socioeconômicas que atravessam. Contudo, pode-se verificar que o setor de cachaças em geral, têm sido responsável por geração de renda, emprego, exportações e divisas para o país (BORGES; TAKEMOTO, 2019).

Entretanto, as atividades agroindustriais geram grande quantidade de resíduos. Promover a gestão adequada dos resíduos e efluentes produzidos é um dos principais desafios enfrentados pela sociedade moderna. Dentre os diversos tipos de resíduos e efluentes industriais, aqueles com altos teores orgânicos têm se destacado como uma significativa fonte de contaminação ambiental, pois, quando não são tratados de forma adequada, poluem solo e corpos hídricos, proliferam vetores e doenças e emitem gases causadores do efeito estufa (INOVAGRID, 2017).

As etapas da produção de cachaça envolvem corte de cana-de-açúcar, moagem, diluição do caldo, fermentação e destilação. Do processo de destilação resultará o produto final – cachaça – e ficará retido na panela do alambique um resíduo líquido – que é o vinhaça, também chamado de vinhoto (CAMPOS, 2009). Entretanto, cada litro produzido da bebida, gera em torno de 10 a 14 litros de vinhaça. A vinhaça hoje é um dos principais resíduos em capacidade de poluição nas indústrias sucroalcooleiras, pois seu volume se mostra o principal empecilho para tratamento (LAMONICA, 2006).

Em termos gerais, a vinhaça apresenta elevado conteúdo orgânico, bem como concentrações significativas de potássio e sulfato, características ácidas e corrosivas, as quais resultam de processos relacionados ao preparo da matéria-prima para a fermentação. O aproveitamento da vinhaça para a produção de biogás aparece como uma alternativa viável do ponto de vista econômico e ambiental devido a três fatores: tratamento do resíduo, produção de biogás para a geração de eletricidade e ainda sobra o fertilizante tratado, contendo menor carga de contaminantes, usado em aplicação nas lavouras (PINTO, 1999).

A tecnologia de digestão anaeróbia é um processo com ampla aplicabilidade para a conversão de resíduos e efluentes orgânicos em biogás, associando o tratamento adequado a uma fonte perpétua de energia renovável. O processo de biodigestão se desenvolve sobre resíduos rurais (esterco), agroindustriais (vinhaça, efluentes das indústrias de laticínios e dos matadouros), domésticos ou comunitários (lama de esgotos) e, também, sobre plantas (aguapé) (MALAJOVICH, 2012; TUNES, 2017).

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

2 OBJETIVOS

O presente estudo tem como principal objetivo otimizar e avaliar a produção anaeróbica de biogás originado da biodigestão de vinhaça oriunda da fabricação de cachaça artesanal.

2.1 Objetivos específicos

- Analisar a carga orgânica da vinhaça *in natura* e dos produtos de biodigestão anaeróbia da vinhaça;
- Realizar o processo de Biodigestão anaeróbica da vinhaça em um biorreator de bancada, com sistema de monitoramento e controle de nível, velocidade de rotação, pressão, temperatura, oxigênio e pH;
- Controlar e monitorar a digestão anaeróbia através dos principais parâmetros operacionais: pH, temperatura, Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis Totais (SVT) e Demanda Química de Oxigênio (DQO);
- Medir o volume e a composição do biogás gerado;
- Avaliar a eficiência do Reator Anaeróbio Continuamente Agitado (CSTR) em batelada para a produção de biogás a partir da vinhaça de cana-de-açúcar;
- Determinar a eficiência do processo por meio do rendimento de biogás e remoção da carga orgânica através da demanda química de oxigênio e do conteúdo de sólidos voláteis totais;
- Construir um sistema de biodigestão de baixo custo em escala compatível para utilização de pequenos produtores de cachaça artesanal.

3 JUSTIFICATIVA

O conceito de desenvolvimento sustentável ocorre nos âmbitos social, econômico e ambiental e considera o avanço tecnológico e o crescimento populacional em conjunto com as atividades humanas. Contudo, para se obter esse desenvolvimento, é necessário pensar nas diferentes matrizes energéticas disponíveis. A adoção de fontes de energia alternativas e o uso de combustíveis fósseis de modo mais eficiente são algumas das formas de se reduzir a emissão de CO₂. Nesse sentido, buscam-se novas alternativas para mitigar tais emissões e dar maior sustentabilidade à matriz energética (SIKARWAR et al., 2017).

Com a crescente preocupação com o meio ambiente, acentuou-se a procura de ações com o intuito de diminuir ou anular os efeitos negativos advindos das atividades produtivas. Na produção de cachaça, não é diferente, pois apresenta uma ameaça ao meio ambiente através do principal resíduo gerado na sua produção: a vinhaça. A cachaça de alambique ou artesanal é uma atividade importante para geração de renda dos pequenos e micro produtores rurais como a agricultura familiar mineira. Portanto, faz-se necessário a busca de melhoria na produção da bebida, bem como no tratamento adequado dos resíduos.

Devido às suas características e por apresentar um custo relativamente baixo, a vinhaça vem sendo amplamente utilizada na fertirrigação de áreas cultivadas com cana (SZYMANSKI; BALBINOT; SCHIRMER, 2010). De fato, concentrações apreciáveis de cálcio, magnésio e, sobretudo potássio, são usualmente observadas na vinhaça, característica usada como justificativa para sua aplicação agrícola (FUESS, 2017). Entretanto, Silva, Griebeler e Borges (2007) afirmam que a aplicação de vinhaça tem sido contestada pelos seus efeitos no solo e nas águas subterrâneas, podendo tornar a água do lençol freático impotável, o que sugere o controle da quantidade aplicada de acordo com a área de cultivo, ou o tratamento antes de utilizada para a fertirrigação.

Neste sentido, a tecnologia de digestão anaeróbia, é um processo com extensa aplicabilidade para a conversão de resíduos e efluentes orgânicos em biogás, associando o tratamento adequado a uma fonte inesgotável de energia renovável. O processo de biodigestão anaeróbia da vinhaça consiste na biodegradação de sua carga orgânica. Este processo gera biogás e biofertilizante com reduzida carga orgânica sem, no entanto, alterar suas propriedades fertilizantes (LAMONICA, 2006). Além dos benefícios decorrentes do tratamento adequado dos resíduos de biogás, o efluente digerido, incluindo a matéria orgânica tratada, pode ser

aplicado como fertilizante, reduzindo o uso de fertilizantes artificiais e, conseqüentemente, diminuindo os custos (BRAMLEY et al., 2011).

Contudo, apesar de ser considerada uma estratégia promissora, o processo de digestão anaeróbia deve ser cuidadosamente avaliado antes de ser implementado em larga escala, especialmente em relação às características dos substratos, como matéria orgânica e valor nutricional, macro nutrientes, elementos traços e produção específica de biogás. Esses parâmetros influenciam diretamente alguns outros parâmetros importantes do processo tais como o pH, a acumulação de inibidores potenciais, macro nutrientes, deficiências de elementos traços e também as taxas de degradação (JANKE, L. et al., 2016).

Este estudo contribui com pesquisas e avanços tecnológicos em desenvolvimento sustentável, pois o biogás é uma fonte renovável de energia, podendo ser uma alternativa viável na obtenção de calor e eletricidade que descentraliza a fonte hídrica como matriz energética. Além disso, o tratamento da vinhaça a partir da biodigestão produz fertilizantes com características mais adequadas ao solo, uma vez que a utilização desse subproduto como é feita atualmente, tem contaminado o solo e o lençol freático. Outro ganho que justifica o estudo da geração de energia a partir do biogás é o valor de mercado dessa fonte energética, que pode ser comercializada.

Por outro lado, esse trabalho também colabora na disponibilização de novos métodos de obtenção de energia a partir de uma matriz já disponível aos pequenos e médios produtores de cachaça artesanal, bem como no saneamento, no atendimento de uma demanda energética e na utilização do material biodigerido como fertilizante. A geração de energia elétrica a partir da queima do biogás produzido no processo de biodigestão anaeróbica da vinhaça torna-se uma alternativa vantajosa para utilização de formas renováveis de energia pelos produtores rurais. Os pequenos produtores de cachaça podem suprir suas próprias demandas de energia elétrica, ou realizar a queima do metano para aquecer o mosto e destilar a cachaça, ou vender o excedente para concessionárias de energia. Ao melhorar as condições do produtor de cachaça artesanal, estará indiretamente fixando o homem no campo, o pequeno produtor rural com incentivo ao seu agronegócio, bem como, desta forma, também estará evitando o êxodo rural. Isto demonstra o cunho social deste trabalho de pesquisa que não só promoverá o desenvolvimento científico como também poderá implementar melhores condições para os pequenos agricultores familiares.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste item serão discutidas as bases em que estão fundamentadas o processo de digestão anaeróbia da vinhaça provinda da fabricação de cachaça artesanal, as colocações mais importantes sobre a maneira de abordar o problema da destinação da vinhaça, e o uso do biogás, apresentando as experiências mais significativas no uso de biodigestão no tratamento deste resíduo.

4.1 Definição de Cachaça

Cachaça é a bebida destilada que tem a seguinte definição legal:

“Cachaça é a denominação típica e exclusiva da Aguardente de Cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 % V/V a 48% V/V a 20° C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹, expressos em sacarose” (BRASIL. MINISTERIO DA AGRICULTURA, 2005).

“Aguardente de Cana é a bebida com graduação alcoólica de 38% vol. (trinta e oito por cento em volume) a 54% vol. (cinquenta e quatro por cento em volume) a 20 °C (vinte graus Celsius), obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹ (seis grammas por litro), expressos em sacarose” (BRASIL. MINISTERIO DA AGRICULTURA, 2005).

Além disso, há distinção entre a bebida industrializada e a artesanal. A cachaça artesanal é produzida em alambiques de cobre, e em bateladas, ou seja, enche-se o equipamento com o mosto, destila-se e depois o esvazia completamente. Produzem-se, em batelada, pequenos volumes de cada vez. Já a aguardente de cana industrial é produzida em colunas de aço inoxidável e o fluxo é constante: entra por um lado o mosto fermentado e do outro lado sai cachaça já destilada (processo contínuo), acelerando a produção da bebida. No processo contínuo é produzida uma grande quantidade da bebida (FEIJÓ; MACIEL, 2002; FEITOSA, 2005; TAVARES, 2010).

Em Minas Gerais, a cachaça artesanal é definida conforme a Lei Estadual Nº 13.949, de 11 de julho de 2001, regulamentada pelo Decreto 42.644, de 5 de junho de 2002, como Cachaça de Minas, da seguinte forma:

Cachaça de Alambique é a bebida com graduação alcoólica de 38% a 54% V/V, à temperatura de 20 °C, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, em alambique de cobre, sem adição de açúcar, corante ou outro ingrediente qualquer. A Cachaça de Minas corresponde à fração denominada “coração”, que vem a ser a parte destilada, de mais ou menos 80% do volume total que fica entre as frações “cabeça” e “cauda” ou “água fraca”.

4.2 Importância da Produção de Cachaça Artesanal

A cachaça, uma típica bebida brasileira, surgiu nos engenhos do Brasil Colônia em meados do século XVI. Esse destilado tem apresentado crescimento no consumo tanto no mercado internacional como no nacional. Segundo a ABRABE (2015), a bebida ocupa a terceira posição no ranking mundial (mercado de destilados) e é o segundo maior mercado de bebidas alcoólicas no Brasil, atrás apenas da cerveja.

A capacidade instalada de produção de cachaça no Brasil é de, aproximadamente, 1,4 bilhão de litros por ano; todavia apenas 1% da produção é exportada. São 40 mil produtores (quatro mil marcas), sendo que 98% correspondem a pequenas e microempresas, mas 70% da produção consiste de cachaça de coluna ou industrial e 30% de cachaça de alambique. O setor movimenta anualmente em sua cadeia produtiva 7 bilhões de reais, sendo responsável pela geração de 600 mil empregos diretos e indiretos (PAULO et al., 2016).

Mesmo sendo a padronização uma característica positiva da cachaça industrial em relação à artesanal, requisito básico para uma bebida de exportação, a cachaça artesanal conquista os consumidores do mercado internacional por seu aroma mais complexo e rebuscado, alcançando maior valor agregado. Segundo a Federação Nacional das Associações de Produtores de cachaça de Alambique FENACA, enquanto a cachaça industrial é vendida a US\$ 0,60/litro, a artesanal tem preço de US\$ 3,50/litro, significando uma agregação de valor próxima de 480% (TAVARES, 2010; VERDI, 2006).

Atualmente, no Brasil, o estado de São Paulo é o maior produtor de cachaça industrial, enquanto em Minas Gerais prevalece como o maior de cachaça artesanal, com mais de 8500 alambiques e 200 milhões de litros por ano. Existem diversos problemas relacionados à produção da cachaça, sendo a vinhaça o principal resíduo deste processo. É gerada uma quantidade de 2,6 milhões de litros de vinhaça por ano, sem contar os cerca de 300 bilhões de litros gerados pela fabricação de álcool no país. Com isso, a vinhaça tida como rejeito ou subproduto do processo de fabricação da cachaça tem gerado problemas quanto ao seu destino. Nesse contexto, a aplicação de novas tecnologias de gestão no processo de fabricação de

cachaça pode proporcionar um sistema produtivo bastante sustentável e com alto rendimento na geração de energia e administração dos resíduos (como o vinhaça) durante a produção (NIGRI et al., 2011).

Em relação às exportações, no ano de 2018, a Cachaça foi exportada para 77 países, com mais de 50 empresas exportadoras, gerando receita de US\$ 15,61 milhões (8,41 milhões de litros). Esses números representam um decréscimo de 1,24% em valor e de 3,80% em volume, em comparação a 2017. Em 2018, os principais países de destino em valor foram: Estados Unidos, Alemanha, Paraguai, Portugal e Itália (IBRAC, 2019).

O mercado mundial e também o brasileiro com melhor poder aquisitivo estão ávidos por produtos denominados “naturais”. O produto artesanal tem maior apelo comercial, permitindo ao micro, pequeno e médio produtor a chance de atingir um público consumidor de aguardente mais refinado e exigente, que se distingue da parcela de consumidores tradicionais de cachaças industrializadas, por consumirem o produto sem misturas, reverenciando a importância de seu gosto, sendo imprescindível para isso que ele apresente qualidade (AZEVEDO et al., 2003).

4.3 Vinhaça: composição, produção e uso no Brasil

A vinhaça pode ser definida como o resíduo final obtido durante a produção de etanol por fermentação de cana-de-açúcar (BARROS *et al.*, 2015). Este resíduo das indústrias sucroalcooleira é caracterizado por ser uma suspensão ácida, ter altos valores de DQO, odores desagradáveis e coloração marrom escuro (CHRISTOFOLETTI et al., 2013; ESPANA-GAMBOA *et al.*, 2011). Além disso, a vinhaça possui uma alta carga poluidora, baixo pH e é composta por 94-97% de água e nutrientes como potássio, nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio (PINTO, M. P. M. *et al.*, 2018).

A vinhaça, também denominada de vinhaça e restilo, compreende o principal resíduo do processo produtivo do etanol, gerado especificamente na etapa de destilação a uma taxa média de 13 L por litro de etanol produzido (NOGUEIRA *et al.*, 2008). Segundo dados de produção nacional de etanol (UNICA, 2013), pode calcular-se a produção de vinhaça no Brasil, que resulta ser de aproximadamente 250 milhões de m³ por ano nas últimas safras (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015). Entre 1,0 e 1,7 milhões de m³ de vinhaça são reciclados anualmente para campos de cana-de-açúcar por fertirrigação no Brasil (MORAES et al., 2017).

As características da vinhaça são amplamente dependentes da matéria-prima e das condições de fermentação e destilação aplicadas (ESPAÑA-GAMBOA *et al.*, 2012). De acordo

com Cortez *et al.* (1996), a composição química da vinhaça depende das características do solo, variedade de cana, período de safra e processo industrial usado na produção de etanol. Segundo Oliveira (2012), a composição química da vinhaça pode variar dentro de largos limites, sendo influenciada por diversos fatores, em que pode ser destacada a natureza e composição da matéria-prima.

No Brasil, a vinhaça de cana-de-açúcar é comumente devolvida aos canaviais via fertirrigação para reciclar a água e nutrientes, predominantemente o potássio, para a cultura (FUESS; GARCIA, 2014). Embora estudos tenham associado resultados benéficos à fertirrigação (JIANG *et al.*, 2012; SIVALOGANATHAN *et al.*, 2013), incluindo redução de gastos com fertilizantes inorgânicos, a disposição da vinhaça em terra pode gerar vários impactos negativos para o sistema solo-água-plantas ao longo prazo (DE OLIVEIRA *et al.*, 2013). O conceito de biorrefinaria indica que a aplicação direta da vinhaça na terra reflete a subutilização de uma matéria-prima altamente energética, porque as abordagens biotecnológicas são potencialmente adequadas para o processamento de tais efluentes, particularmente por meio de processos anaeróbios (FUESS *et al.*, 2018).

A utilização da vinhaça *in natura* como fertilizante causa preocupação devido ao seu alto grau de impacto quando distribuída no meio ambiente, isso ocorre devido suas características de baixo pH e elevada demanda química de oxigênio. A DQO pode reduzir os níveis de oxigênio, afetando assim a sobrevivência dos organismos presentes no solo (DAMIANO, 2005). Barros *et al.* (2009) relatam que a carga de DQO da vinhaça é cerca de 27000 mg/L e essa descarga de vinhaça nos cursos d'água, tem ameaçado a fauna e flora devido a diminuição do oxigênio dissolvido na água.

A vinhaça oferece um grande potencial para a produção de biogás, embora este uso alternativo seja atualmente subexplorado. No Brasil, bem como no Japão, na Europa e nos Estados Unidos (EUA), a vinhaça foi tradicionalmente administrada como um aditivo para alimentação animal, ou aplicado a campos como um nitrogênio-fósforo-potássio (NPK) adubo para produção agrícola ou utilizado para melhorar a matéria orgânica do solo. As preocupações com os potenciais impactos ambientais nas águas superficiais e nas águas subterrâneas resultaram na proibição do uso de vinhaça como fertilizante nos EUA e no Uruguai. Em contraste, a aplicação da vinhaça ainda é recomendada e legal no Brasil, na União Europeia e no Canadá.

4.4 Biodigestão Anaeróbica

A biodigestão anaeróbia pode ser definida como um processo biológico natural no qual um consórcio de diferentes tipos de micro-organismos interagem promovendo a transformação de compostos orgânicos complexos em compostos simples, resultando principalmente, na produção de metano e dióxido de carbono. Como resultado desta fermentação ocorre a liberação de biogás e a produção de biofertilizante (MORAES et al., 2015).

Para Fuess (2017), a (bio)digestão anaeróbia compreende um processo biológico natural que ocorre na ausência de oxigênio livre, no qual a matéria orgânica é convertida em uma mistura gasosa a partir da atividade sintrófica de diversas populações de micro-organismos. Esta mistura gasosa, conhecida como biogás, é formada principalmente por metano e dióxido de carbono), além de menores frações de hidrogênio nitrogênio e sulfeto de hidrogênio, apresentando grande potencial energético devido à presença do CH₄ e de H₂. Isso acontece devido ao fato de que estes gases no presente no biogás possuem elevado calor de combustão.

Esta tecnologia permite o tratamento de resíduos com alta carga orgânica de forma a reduzir seu volume produzindo um biofertilizante rico em nutrientes, e ainda obter um aproveitamento energético através da recuperação dos gases gerados no processo (NEVES, 2016).

Segundo Morais *et al* (2015), a digestão anaeróbica oferece vantagens ambientais e energéticas. Do ponto de vista ambiental, ela reduz a conteúdo de matéria orgânica presente nos resíduos tornando-os menos poluentes quando descartados no meio ambiente. Em relação ao aspecto energético, o processo anaeróbio possibilita a geração de um biogás que pode ser utilizado como fonte alternativa de energia.

4.4.1 Etapas do processo de digestão anaeróbica

A conversão anaeróbia da matéria orgânica pode ser dividida em quatro etapas principais, de acordo com as transformações bioquímicas às quais os compostos orgânicos são submetidos: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, de modo que pelo menos cinco grupos de micro-organismos participam do processo (FUESS, 2017).

Nesse processo é um consórcio de micro-organismos (bactérias acidogênicas, bactérias acetogênicas e arqueas metanogênicas) que são responsáveis por cada fase do processo e que devem estar em perfeito equilíbrio dentro do sistema para a produção de biogás a partir de materiais orgânicos (KOTHARI *et al.*, 2014a). Os microrganismos fermentativos são os primeiros a atuar nesse complexo processo de degradação de substratos e são aqueles que obtêm o maior benefício energético (MORAES *et al.*, 2015).

4.4.1.1 Hidrólise

A primeira etapa na digestão anaeróbia é a hidrólise dos polímeros de cadeia longa, realizada pelas bactérias fermentativas hidrolíticas. Devido à incapacidade de bactérias em assimilar a matéria orgânica particulada, ocorre a hidrólise de materiais particulados complexos (polímeros) em materiais dissolvidos mais simples (moléculas menores). Os principais compostos a serem hidrolisados são a celulose, as proteínas e os lipídios. A hidrólise destes polímeros complexos, alguns dos quais são insolúveis, é catalisada por enzimas extracelulares que são excretadas pelas bactérias fermentativas, tais como proteases e lipases (CASTRO E SILVA, 2014).

Os pré tratamentos biológicos, químicos, mecânicos ou uma combinação destes podem ser utilizados para acelerar a etapa da hidrólise, pois eles podem causar a lise ou desintegração das células de lodo e permitir a liberação de matéria intracelular permitindo maior acessibilidade dos micro-organismos anaeróbios, reduzindo assim o tempo de retenção no digestor (FERRER *et al.*, 2008).

Múltiplos fatores influenciam na taxa de hidrólise do substrato, como temperatura operacional do reator, tempo de residência e composição do substrato, tamanho das partículas, pH do meio e, até mesmo, a concentração de ácidos orgânicos voláteis provenientes da hidrólise. As bactérias fermentativas hidrolíticas se constituem numa grande mistura de espécies, muitas são anaeróbias estritas, como as do gênero *Clostridium*, e algumas são facultativas, como as do gênero *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Escherichia* (CASTRO E SILVA, 2014).

4.4.1.2 Acidogênese

Nesta fase, a maioria das bactérias acidogênicas converte os produtos de hidrólise da matéria orgânica complexa em ácidos orgânicos voláteis (principalmente acético, propiônico e butírico), álcoois (principalmente etanol), corpos cetônicos (principalmente acetona), dióxido de carbono e hidrogênio. Tais reações biológicas são termodinamicamente favoráveis, e assim, os micro-organismos acidogênicos apresentam o menor tempo de geração mínimo e as maiores taxas de crescimento. Portanto, a acidogênese limitará o processo apenas se o substrato a ser degradado não for prontamente hidrolisado (MORAES et al., 2015).

Os principais gêneros de bactérias fermentativas acidogênicas são: *Clostridium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyrivacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Desulfobacter* e *Micrococcus* (CASTRO E SILVA, 2014).

4.4.1.3 Acetogênese

Na acetogênese, bactérias acetogênicas transformam ácidos orgânicos e álcoois em ácido acético, H₂ e CO₂ (FUESS, 2017). As bactérias acetogênicas responsáveis por essa fase são: *Syntrophobacter wolinii* e *Syntrophomonas wolfei*. Outras bactérias são: *Clostridium* spp., *Peptococcus anerobus*, *Lactobacillus* e *Actinomyces* (MOLINO et al., 2013; TUNES, 2017).

4.4.1.4 Metanogênese

Nesta etapa, o acetato, o hidrogênio e o dióxido de carbono são convertidos em gás metano e dióxido de carbono, através da ação de micro-organismos metanogênicos, que também são classificados como arqueas metanogênicas, responsáveis pela fase limitante do processo (TUNES, 2017).

As arqueas metanogênicas são anaeróbias estritas que incluem: *Methanobacterium*, *Methanobacillus*, *Methanococcus* e *Methanosarcina* (MOLINO et al., 2013). Os principais gêneros do grupo das metanogênicas acetoclásticas são: *Methanosarcinas* e as *Methanosaetas*. Os gêneros mais comuns de metanogênicas hidrogenotróficas em reatores anaeróbios são: *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanobrevibacter*, *Methanoculleus* e *Methanocorpusculum* (CASTRO E SILVA, 2014)

4.4.2 Fatores que interferem na biodigestão anaeróbica

O processo de digestão anaeróbica pode ser afetado por condições operacionais e ambientais, o que conseqüentemente influenciará na formação do metano. Logo, é necessário assegurar uma melhor condição ambiental aos microrganismos estabelecendo os melhores parâmetros operacionais para assegurar que o processo autorregulador ocorra de maneira estável (RAJESHWARI *et al.*, 2000).

Os fatores ambientais que influenciam a digestão anaeróbia envolvem, principalmente, temperatura, pH, alcalinidade, macro nutrientes adequados (N, P, SO_4^{2-}) e micronutrientes (traços de metais), tempo metabólico adequado e uma fonte de carbono (para síntese e energia) (MORAES *et al.*, 2015).

4.4.2.1 Temperatura

A temperatura causa efeitos significativos nas comunidades microbianas, interferindo na estabilidade do processo e na produção do biogás (KWIETNIEWSKA; TYS, 2014). De acordo Pinto (1999), as várias experiências já realizadas indicam uma correlação entre a produtividade do processo de digestão anaeróbia e a faixa de temperatura de operação. Os micro-organismos devem ser adaptados à faixa de temperatura de trabalho, o que permite classificá-los também com relação a este parâmetro.

Em relação à temperatura, a biodigestão anaeróbia é geralmente classificada em processos psicrófilos (10 a 20 °C), mesofílicos (20 a 45 °C) e termófilos (45 a 65 °C) (KWIETNIEWSKA; TYS, 2014). Abaixo de 10 °C o processo é, em geral, interrompido, sendo que a produção de gás aumenta com a elevação da temperatura (PINTO, C. P., 1999). Devido aos gastos com energia e estabilidade do processo a digestão anaeróbia mesofílica é mais utilizada. No entanto, a digestão anaeróbia termofílica é mais eficiente em termos da remoção da matéria orgânica e produção de metano (FERRER *et al.*, 2008).

4.4.2.2 pH

O pH mede a concentração de ácidos em sistemas aquosos, ou seja, a concentração de íons de hidrogênio (KOTHARI *et al.*, 2014b). Cada micro-organismo cresce a uma faixa de

pH característica e o máximo crescimento microbiano ocorre em um valor de pH ótimo. A faixa de pH ideal para a digestão anaeróbia é bem estreita, sendo esta de 6,8 a 7,2 (WARD *et al.*, 2008).

Quando se trata de valores de pH, as bactérias acetogênicas e metanogênicas são as mais exigentes e com maiores dificuldades de se adaptar às mudanças de alterações ambientais. Isso porque as bactérias acetogênicas produzem ácidos orgânicos voláteis que são convertidos em ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono, o que resulta em uma acidificação do meio que influencia negativamente a atividade dos micro-organismos metanogênicos (MONTAÑÉS; PÉREZ; SOLERA, 2014). A taxa de crescimento de bactérias metanogênicas é reduzida em ambientes com pH inferiores a 6,6, ao passo que um pH muito alcalino pode levar a desintegração dos grânulos microbianos e subsequente fracasso do processo, portanto o pH ideal para a fase metanogênica está em torno de 7,0 (WARD *et al.*, 2008).

4.4.2.3 Tempo de retenção hidráulica

O tempo de retenção hidráulica (TRH) pode ser definido como o tempo necessário para a completa degradação da matéria orgânica ou o tempo que a matéria orgânica permanece no digestor, sendo diretamente proporcional a sua taxa de degradação. Varia conforme a temperatura e a composição do resíduo. Kothari *et al.* (2014) relatam um TRH de 10 a 40 dias para biodigestão em condições mesofílicas e que resíduos compostos por celulose e hemicelulose exigem maior TRH.

É o tempo necessário para a mistura ser totalmente digerida no digestor e ocorre quando a produção de gás é máxima, definindo a melhor qualidade digestora. Seu valor depende do substrato, tipo de digestor, além de outros fatores, e pode variar de 50 dias, em alguns tipos de digestores rurais, em apenas algumas horas, em certos digestores industriais (SALOMON, KARINA RIBERIO, 2007).

4.4.2.4 Inóculo

Como a biodigestão compreende num processo complexo que exige a presença de diferentes espécies microbianas, faz-se necessário utilizar um inóculo apropriado, que contenha os microrganismos necessários para que o processo de degradação possa ser estabelecido. O inóculo não só proporciona um consórcio microbiano variado, como também macro e micro nutrientes e capacidade de neutralização (YANG *et al.*, 2015).

A concentração de inóculo é importante para o processo e varia de acordo com o material utilizado para ativar a população microbiana. De fato, o tipo de inóculo afeta a população microbiana no processo, bem como a diferença na composição físico-química e na capacidade de produção de biogás (DE VRIEZE *et al.*, 2015; SILVA, C. E. D. F.; ABUD, 2016)

O inóculo deve possuir uma ampla composição trófica de modo a garantir a biodegradação de qualquer tipo de substrato. Frequentemente, as lamas digeridas constituem o tipo de inóculo mais usados em processos de biodigestão. No entanto, a utilização do material digerido (produto final resultante do processo) é preferível relativamente a outras fontes de inóculo, como lamas ativadas (suspensas ou granulares), esterco de gado e fluidos de ruminantes, pois possuem populações microbianas metanogênicas já perfeitamente desenvolvidas e adaptadas ao ambiente anaeróbio, reduzindo assim o risco de inibição. Inóculos provenientes de reatores com composições de alimentação específicas deverão ser misturados com diferentes tipos de inóculo, inclusive inóculos mesofílicos e termofílicos (ANGELIDAKI *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2015).

O esterco já biofertilizado de bovinos, aves, suínos pode ser utilizado como inóculo, principalmente quando os resíduos são materiais difíceis de serem digeridos em decorrência dos elevados teores de celulose e lignina, como os presentes na cama de frango (COSTA *et al.* 2011). Vale ressaltar que o esterco bovino é um inóculo em potencial, uma vez que as Archaeas metanogênicas representam cerca de 40% de sua microfauna (FERREIRA, N. A. D. L. *et al.*, 2017)

Barcelos (2009) investigou o potencial de aplicação do esterco bovino, suíno e rúmen bovino como inóculo da digestão anaeróbia de resíduos sólidos urbanos (RSU). Comparou-se o desempenho desses diferentes inóculos e também com biorreator testemunha, na qual o meio de reação consistia apenas de FORSUP (fração orgânica de resíduos sólidos urbanos preparada), água e tampão. E observou que a maior produção total de biogás aconteceu no biodigestor inoculado com rúmen bovino (144 L), seguido da testemunha (137 L), esterco suíno (122 L) e, por último, esterco bovino (117 L). Concluiu que, apesar da partida da digestão anaeróbia não ter sido acelerada, os inóculos podem ser utilizados, pois auxiliaram na manutenção do pH e umidade e favoreceram a elevada produção de biogás.

Bueno (2010) comparou dois biodigestores em batelada para a produção de biogás utilizando esterco bovino em duas concentrações 1:2 e 1:1 (esterco: água). E, para a aclimação, os substratos foram colocados em biodigestores vedados e, para a remoção de

traços de O₂, permaneceram em repouso por 24 horas, à temperatura de 20 °C. O autor concluiu que o volume produzido de biogás foi maior para a diluição 1:2, evidenciando que a diluição tem papel fundamental na produção de biogás.

Syaichurrozi (2018) utilizou fluído ruminal como inóculo na co-digestão do *Salvinia molesta* e palha de arroz. Neste estudo, o líquido do rúmen em condições frescas foi obtido do matadouro de vacas na Serang City, província de Banten, na Indonésia. O líquido ruminal continha *Clostridium sp.*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium butyricum* e bactérias metanogênicas ricas. (SYAICHURROZI, 2018)

Barros e colaboradores (2016) utilizaram resíduos de suinocultura para arranque de reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), em experimento com processo de digestão anaeróbia com posterior alimentação dos reatores utilizando-se vinhaça natural, proveniente de plantio de cana em Ribeirão Preto, São Paulo. O volume de lodo de resíduos da suinocultura atingiu 30% do volume de cada reator, com o restante sendo preenchido pela vinhaça natural. A média da eficiência de remoção de DQO foi de aproximadamente 70 a 80%, tendo atingido até 82% de eficiência máxima pelos reatores UASB. Este estudo, que também analisou a conversão anaeróbia da vinhaça em biometano com aumento gradual da carga orgânica em dois reatores UASB, com volumes de 40,5 e 21,5 litros e com operação em temperatura mesófila, verificou produções máximas de metano na ordem de 0,19 L (g DQO total removido), alcançadas após 140 dias de operação dos reatores.

4.5 Uso da biodigestão anaeróbica para tratamento da vinhaça

A aplicação da digestão anaeróbia no tratamento de vinhaça, assim como de outras águas residuais com alta carga orgânica, está intimamente relacionada ao aperfeiçoamento deste processo nas últimas décadas, considerando o desenvolvimento de tecnologias que permitiram o aumento do tempo de retenção de sólidos (biomassa) nos reatores (VAN LIER *et al.*, 2015).

A aplicação de tecnologias de biodigestão anaeróbica para tratar a vinhaça de cana-de-açúcar não se mostrou ser vantajosa por causa dos pequenos ganhos envolvidos no uso de biogás para gerar eletricidade. Atualmente está recebendo mais atenção principalmente por ganhos ambientais, mas o progresso científico neste tópico ainda é insatisfatório, com vários estudos questionáveis ou conflitantes. Um relatório anterior sobre os aspectos econômicos e energéticos da biodigestão anaeróbia da vinhaça em fábricas de processamento de cana-de-açúcar apontou os ganhos consideráveis em termos de eletricidade ou cogeração, bem como combustíveis alternativos de veículos. O potencial energético da vinhaça, que se perdeu por

aplicação deste subproduto "*in natura*" ao solo, pode ser comparável às demandas elétricas de algumas cidades, ou a capacidade de geração de algumas usinas hidrelétricas e, em alguns casos, excedeu a energia obtida da combustão do bagaço de cana-de-açúcar. Portanto, os conceitos de sustentabilidade envolvidos na biodigestão anaeróbia da vinhaça ainda necessitam ser melhor explorados em biorefinarias de cana-de-açúcar no Brasil (MORAES et al., 2015).

As vantagens da digestão anaeróbica da vinhaça incluem baixa produção de lodo biológico, menor necessidade de nutrientes e produção de hidrogênio e / ou metano, que pode ser usado como fonte de energia. Tal processo se encaixa no conceito de biorrefinaria, integrando a produção etanol, a recuperação de energia e o uso de efluente tratado na fertirrigação de plantações de cana-de-açúcar (VOLPINI *et al.*, 2018).

Satyawali & Balakrishnan (2008) relataram que o sistema de reatores em batelada tem futuro promissor no tratamento de vinhaça, principalmente nas pequenas fábricas, o qual seria composto por um tanque receptor, um tanque de retenção intermediária, 2 tanques de armazenamento e um tanque de tratamento aeróbio.

A tecnologia de digestão anaeróbia aplicada a vinhaça foi implementada em algumas destilarias de grande porte, no qual demonstrou uma eficiência de conversão de mais de 80% em taxas de carregamento orgânico de mais de 20 kg DQO/ m³/ d. Para a quantidade de DQO em vinhaça, cerca de 100 kg de metano é produzido com uma eficiência de remoção de 80% (TUNES, 2017; VAN HAANDEL, 2005).

4.6 Digestores

A Índia foi o primeiro país a instalar biodigestores para a produção de biogás, de maneira sistemática. A primeira unidade foi construída por volta de 1908. Este país começou seu programa de implantação de biodigestores em 1951 e contava até 1992 com cerca de 160 mil unidades instaladas. A China iniciou seu programa de implantação de biodigestores na década de cinquenta e contava até 1992 com cerca de 7,2 milhões de unidades (ANDRADE; RANZI; MUNIZ, 2002; BAUMANN; KARPE, 1980).

No Brasil os biodigestores rurais tiveram maior desenvolvimento na década de 80 quando contaram com grande apoio dos Ministérios da Agricultura e de Minas e Energia. Cerca de 8.000 unidades, principalmente os modelos chinês e indiano, além de alguns de plástico tinham sido construídos até 1988, dos quais 75% estavam funcionando adequadamente (COELHO; PALETTA; FREITAS, 2000) .

A constituição básica de um digestor é a câmara de fermentação, onde ocorre a biodigestão da matéria orgânica, uma campânula que armazena o gás produzido, ou se permite a saída deste gás, a entrada do substrato a ser fermentado e a saída para o efluente produzido pelo processo. Trata-se de uma tecnologia simples, onde a principal preocupação é a manutenção das propriedades fermentativas da biomassa bacteriana. São muitos os modelos de biodigestores, alguns com importantes detalhes construtivos, que dependem do tipo de aplicação a que são destinados e, também, do nível tecnológico disponível. Na construção do biodigestor eficiente com alta produtividade, deve-se atender basicamente a três requisitos: o saneamento, o atendimento de uma demanda energética e a utilização do material biodegradado como fertilizante (GRANATO; SILVA, 2002).

Segundo Pinto (1999), classificam-se os digestores quanto ao tipo de construção, modo de operação, forma de armazenamento do gás, fluxo das substâncias em fermentação, temperatura de operação, com ou sem agitação e com ou sem dispositivos para agregar a biomassa bacteriana.

Dotto & Wolff (2012) desenvolveram um biodigestor anaeróbio em escala experimental e de alimentação intermitente. O biodigestor foi alimentado inicialmente com 80 kg de esterco bovino, proveniente de um abatedouro, misturado com 374 L de água, e observaram que o esterco bovino apresentou bom desempenho como inóculo de microrganismos e matéria orgânica de partida do biodigestor.

4.7 Uso de biodigestores em propriedades rurais

Segundo Deganutti e colaboradores (2002), existem uma gama de modelos de biodigestores, sendo cada um adaptado a uma realidade e uma necessidade de biogás. No entanto os biodigestores mais utilizados em pequenas propriedades no meio rural são o modelo indiano, chinês e batelada.

O biodigestor modelo Indiano é caracterizado possuir uma campânula que é uma espécie de tampa conhecida como gasômetro, a qual pode estar mergulhada sobre a biomassa em fermentação ou pode estar em um selo d'água externo. Sua estrutura é composta de uma parede central que serve para dividir o tanque de fermentação de duas câmaras, para assim permitir que o material possa circular pelo interior da câmara de fermentação (TARRENTO; MARTINEZ, 2006).

O biodigestor modelo Chinês é formado por uma câmara cilíndrica em alvenaria onde ocorre a fermentação, apresenta um teto impermeável e abobado que é destinado ao

armazenamento do biogás. O seu funcionamento é com base no princípio de prensa hidráulica, ocorrendo então aumentos de pressão em seu interior devido ao acúmulo de biogás resultando em deslocamento do efluente da câmara de fermentação para a caixa de saída em sentido contrário quando ocorre descompressão (JORGE & OMENA, 2012)

Já o biodigestor modelo Batelada trata-se de um sistema bastante simples e de pequena exigência operacional. Sua instalação poderá ser apenas um tanque anaeróbio, ou vários tanques em série. Esse tipo de biodigestor é abastecido de uma única vez, portanto não é um biodigestor contínuo, mantendo-se em fermentação por um período conveniente, sendo o material descarregado posteriormente após o término do período efetivo de produção de biogás (DE LUCA BONTURI; VAN DIJK, 2012).

Neste modelo, a biomassa permanece no reservatório fechado até que o ciclo da digestão anaeróbio esteja completo. Ou seja, o fim da produção de biogás indica que o ciclo está completo e o biodigestor está apto a receber uma nova carga de matéria orgânica (JORGE & OMENA, 2012).

4.8 Biogás

O biogás é composto principalmente por metano e gás carbônico, e pode ser utilizado na geração de energia elétrica, mecânica e no aquecimento (CALZA *et al.*, 2016). A geração de energia elétrica pode ser feita pela queima do biogás em turbinas e em motores do ciclo de Otto e diesel, devidamente adaptados, sendo considerada uma fonte de energia limpa e própria para uso em propriedades rurais. O biofertilizante por outro lado trata-se de um adubo natural rico em nitrogênio (MARCUCCI, 2018).

De acordo com Granato *et al.* (2002) o biogás proveniente da biodigestão anaeróbia da vinhaça pode ser explorada das seguintes maneiras: (i) queimá-lo completamente na caldeira, gerando vapor para operar todo o mecanismo para esmagar a cana-de-açúcar. Neste caso, os estudos mostram que existe um excedente de 25-28% de todo o bagaço que é geralmente queimado em caldeiras e poderia ser utilizado para outros fins; (ii) um terço do biogás poderia ser purificado, produzindo metano para substituir todos os combustíveis utilizados na indústria agrícola durante a colheita, e os restantes dois terços seriam queimados em caldeiras que fornecem um excedente de 18% do bagaço; (iii) utilizar a totalidade do biogás para acionar uma turbina a gás, conjugada a um gerador elétrico.

O aumento do gás metano é considerado um dos componentes do aquecimento global. Portanto, é essencial reduzir a auto decomposição da biomassa e utilizar o biometano gerado por biomassa para fins úteis sem liberá-lo na atmosfera (DE BHOWMICK; SARMAH; SEN, 2018).

O poder calorífico do biogás é variável estando na faixa de 22.500 a 25.000 kJ/m³, admitindo o metano com cerca de 35.800 kJ/m³. Isto significa um aproveitamento de 6,25 a 10 kWh/m³ (JORDÃO *et al.*, 1995). Sua potencialidade é demonstrada quando tratado, pois o seu poder calorífico pode chegar a 60% do poder calorífico do gás natural (SALOMON, KARINA RIBEIRO; LORA, 2009)

Há um alto potencial na produção de biogás globalmente. Moreda (2016), avaliou um potencial elétrico mínimo de 0,162 TWh/ano no Uruguai, considerando a digestão anaeróbia de resíduos agrícolas, esterco animal, vinhaça, lodo de tratamento de efluentes e resíduos sólidos urbanos (MOREDA, 2016).

Lamo (1991), demonstrou o potencial energético de uma tonelada de cana. Segundo este, uma tonelada de cana pode gerar 909,90 x 10³ kcal de energia (álcool e biogás). Porém, caso não se aproveite o biogás resultante da biodigestão da vinhaça, deixa-se de recuperar 7,5% do total de energia disponível em uma tonelada de cana.

4.9 Análises físico-químicas

De acordo com Instituto Mineiro de Gestão das Águas - IGAM, (2004), os parâmetros que aferem a qualidade do efluente podem ser divididos em físicos e químicos. Os parâmetros físicos são representados pela condutividade elétrica, sólidos totais, sólidos dissolvidos, sólidos suspensos, cor, turbidez, alcalinidade bicarbonato, dureza. Já, nos parâmetros químicos, encontram-se pH, oxigênio dissolvido, DBO, DQO, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, nitrato, fósforo, cloretos, ferro, potássio, sódio, magnésio, manganês, zinco, cobre.

4.10 Análise Quimiométrica – Análise dos Componentes Principais

Análise dos Componentes Principais – PCA (*Principal Component Analysis*) é um método estatístico linear que encontra os autovalores e auto vetores da matriz de covariância dos dados. Tal método serve de base fundamental da maioria dos métodos modernos para tratamento de dados multivariados. O PCA consiste numa manipulação da matriz de dados com

objetivo de representar as variações presentes em muitas variáveis, através de um número menor de "fatores". Constrói-se um novo sistema de eixos (denominados rotineiramente de fatores, componentes principais, variáveis latentes ou ainda autovetores) para representar as amostras, no qual a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões (FERREIRA, M. M. C. et al., 1999).

A ferramenta multivariada de análise de componentes principais (PCA) foi empregada para a classificação das imagens. PCA consiste em uma mudança de base dos dados multivariados, representados pela matriz X , contendo os histogramas médios das imagens digitalizadas para cada categoria, encontrando o vetor N o, chamado autovetor, e um escalar, T , chamado autovalor, para o qual a igualdade $cov(X)N = T \cdot N$ é satisfeita. $cov(X)$ é o auto-sistema da covariância dos dados multivariados, de maneira que transforme um espaço multidimensional em um subespaço menor, como por exemplo, de dimensão um, gerado por um autovetor. Ou seja, X (multivariável) representada por muitos vetores, passa a ter as informações relevantes, representadas por um ou mais autovetores. Esse subsistema deve reter as informações relevantes e representar, de modo mais adequado, cada variável individualmente. Desse modo, PCA descreve, em termos geométricos das componentes principais, a covariância das variáveis (no presente caso, os canais RGB) usando o menor número de autovetores. O novo subsistema consiste, então, dos eixos das componentes principais, sendo as coordenadas das amostras nesses novos eixos denominados de *scores*. Como cada componente principal é uma combinação linear das variáveis originais, os coeficientes dessas variáveis (ou seja, os autovetores) são chamados de *loadings* (GODINHO et al., 2008).

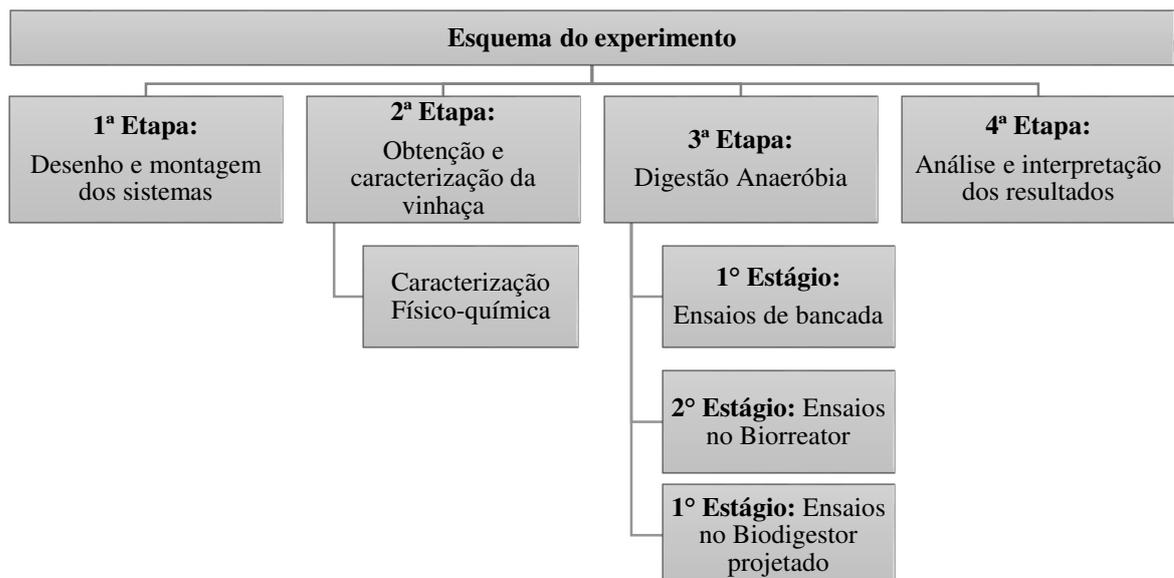
5 METODOLOGIA

Neste tópico, são apresentadas as metodologias que foram utilizadas neste experimento.

5.1 Características gerais

A pesquisa foi conduzida em quatro etapas, conforme Figura 1, sendo a terceira etapa subdividida em três estágios: inicialmente realizaram-se testes de biodigestão da vinhaça em escala de bancada utilizando reatores de 250 mL, para testar o desempenho da biodigestão, variando a quantidade de inóculo, temperatura e diluição da vinhaça. Na segunda etapa, os ensaios da Biodigestão foram realizados em um biorreator de bancada anaeróbio, da marca TECNAL, com capacidade total de 4,5 litros e com um sistema de monitoramento e controle que permitiu o acompanhamento do pH, CO₂, temperatura e nível de volume do reator. A terceira etapa consistiu na construção de um biodigestor de 450 litros, dimensionado conforme a realidade dos pequenos produtores de cachaça da região e construído com tecnologias atuais, utilizando material de baixo custo, acessível e de fácil manuseio.

Figura 1 - Fluxograma do processo



5.2 Local do experimento

O experimento foi realizado no laboratório de Processos Biotecnológicos e Tecnologia Ambiental, no laboratório de Microbiologia do Campus I e no laboratório de Tecnologia de Biomassas do Cerrado, da Universidade Federal dos vales do Jequitinhonha e Mucuri- UFVJM / Campus Diamantina.

5.3 Substrato

O substrato utilizado no experimento foi vinhaça proveniente da produção de Cachaça Artesanal, produzida no Laboratório de Tecnologia de Biomassas do Cerrado pela equipe de pesquisa “Cachaça Artesanal de Qualidade”. A vinhaça foi coletada diretamente na saída do alambique ao longo da safra de cana-de-açúcar, onde foi armazenada em reservatórios plásticos (volumes de 2, 5 e 20 L) e congeladas (-20 °C), de acordo com a Figura 2, buscando-se preservar as suas características físico-químicas, especialmente quanto à concentração de carboidratos.

Figura 2 – Aparelho de destilação para produção de cachaça



Alambique de cobre , com serpentina de aço inox.

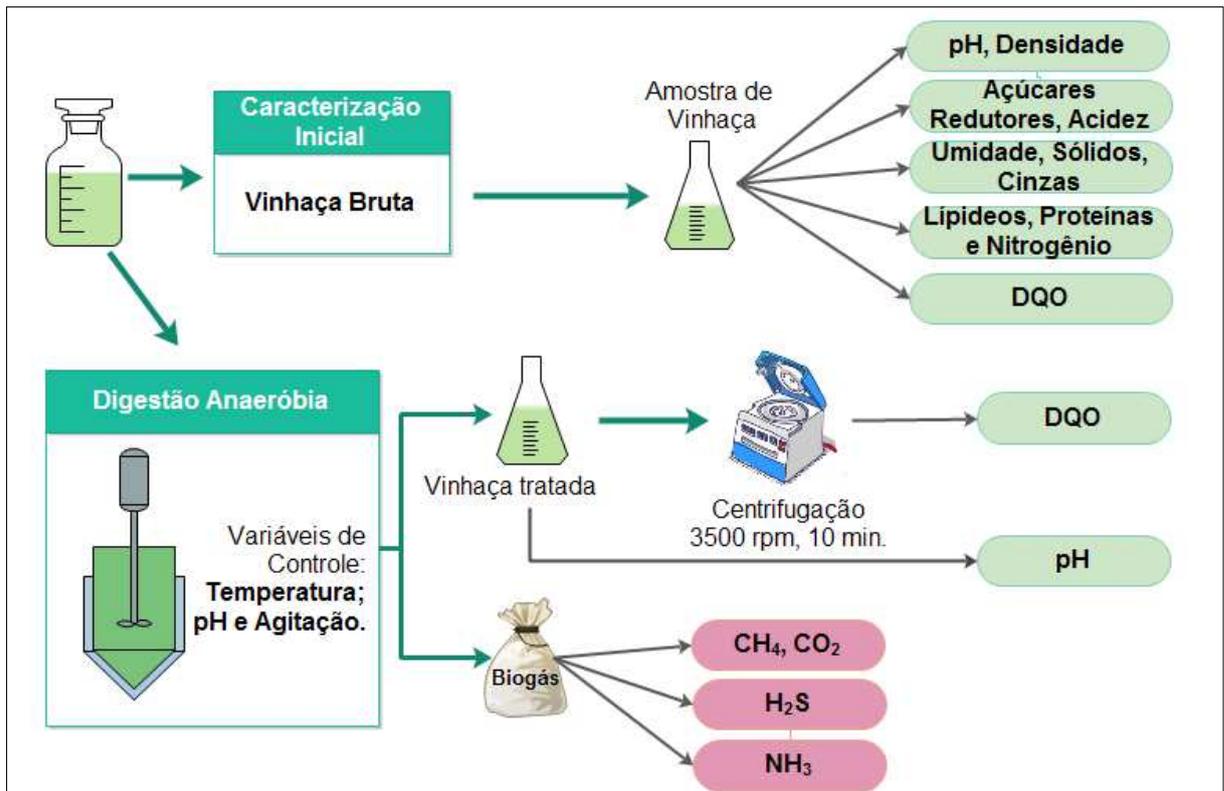
Fonte: Autora.

5.4 Caracterização da vinhaça bruta e do subproduto da biodigestão

A vinhaça *in natura* foi caracterizada quanto a umidade, matéria seca, cinzas sólidos suspensos voláteis e totais, densidade, potencial hidrogeniônico, demanda química de oxigênio

(DQO), proteínas, lipídeos e nitrogênio total. O efluente da biodigestão foi caracterizado quanto a DQO e pH. As análises descritas acima foram realizadas nos Laboratórios da UFVJM e as técnicas utilizadas obedeceram os procedimentos estabelecidos pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). A Figura 3 apresenta um fluxograma das análises realizadas.

Figura 3 - Fluxograma das análises realizadas



Fonte: Autora.

5.4.1 pH

A determinação do pH é usada para quantificar a concentração de íons hidrogênio de uma solução, e se refere a acidez e alcalinidade desta solução. A concentração hidrogeniônica é reguladora de muitas reações químicas e microbiológicas, fazendo com que esse parâmetro tenha grande importância na atividade enzimática e no desempenho do biodigestor. Além disso, a taxa de crescimento de micro-organismos é significativamente afetada pela mudança de pH.

A determinação do pH se deu por meio de um pHmetro digital de bancada (microprocessado), modelo MPA-210 da marca TECNOPON, dotado de um eletrodo de vidro

com sonda de correção automática de temperatura, de acordo com o método 4500-H+ B proposto por *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

5.4.2 Densidade

Densidade absoluta ou massa específica de uma substância qualquer de massa m e volume V é definida por:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (1)$$

ou seja, é a razão entre a massa de um corpo pelo volume que o mesmo ocupa.

A densidade foi determinada por meio da Equação (1), onde a massa foi determinada em uma balança analítica modelo M214Ai da marca Bel Engineering, com capacidade máxima para 210 g e mínima de 10 mg e o volume da amostra pesada foi determinado por um picnômetro de 25 mL. As determinações de densidade foram feitas em triplicata e os resultados obtidos como a média das repetições.

5.4.3 Sólidos Solúveis Totais – SST

A determinação de sólidos solúveis totais nas amostras de vinhaça foi avaliada usando um refratômetro da marca Hand Hel Refractometer, modelo RHB–18ATC. O resultado foi expresso em °Brix.

5.4.4 Umidade e Matéria Seca

A determinação da matéria seca, também chamada de sólidos totais (ST) foi realizada seguindo o método 2540B proposto por *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Como a vinhaça possui compostos termolábeis, deixou-se a amostra na estufa a 60°C até peso constante. A quantidade de sólidos totais foi determinada pela Equação (2). As análises de ST foram feitas em triplicata e os resultados obtidos como a média das repetições.

$$FT_{(g.kg^{-1})} = \frac{P_1 - P_0}{kg_{amostra}} \times 1000 \quad (2)$$

Onde:

P₀ = Peso da capsula de porcelana (g)

P₁ = Peso do resíduo seco + capsula de porcelana (g).

Uma vez calculado o teor de sólidos totais a umidade foi calculada pela diferença entre 100 e o conteúdo de sólidos totais ($U(\%) = 100 - ST(\%)$).

5.4.5 Sólidos Fixos Totais (Cinzas) - SFT

A quantificação dos sólidos fixos totais (SFT) foi feita em triplicata, utilizando-se o método 2540E da metodologia proposta por *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). O conteúdo de sólidos totais fixos foi determinado a partir da incineração em mufla a 550°C e o conteúdo de SFT foi obtido com a Equação (3).

$$SFT_{(g.kg^{-1})} = \frac{P_2 - P_0}{kg_{amostra}} \times 1000 \quad (3)$$

Onde:

P₀ = Peso da capsula de porcelana (g)

P₂ = Peso do resíduo após ignição + capsula de porcelana (g).

5.4.6 Sólidos Voláteis Totais - SVT

Os sólidos voláteis totais (SVT) foram determinados de acordo com o método 2540E da metodologia proposta por *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), através da diferença entre os ST e os SFT, conforme mostrado pela Equação (4). Estas análises foram feitas em triplicata e os resultados obtidos como a média das repetições.

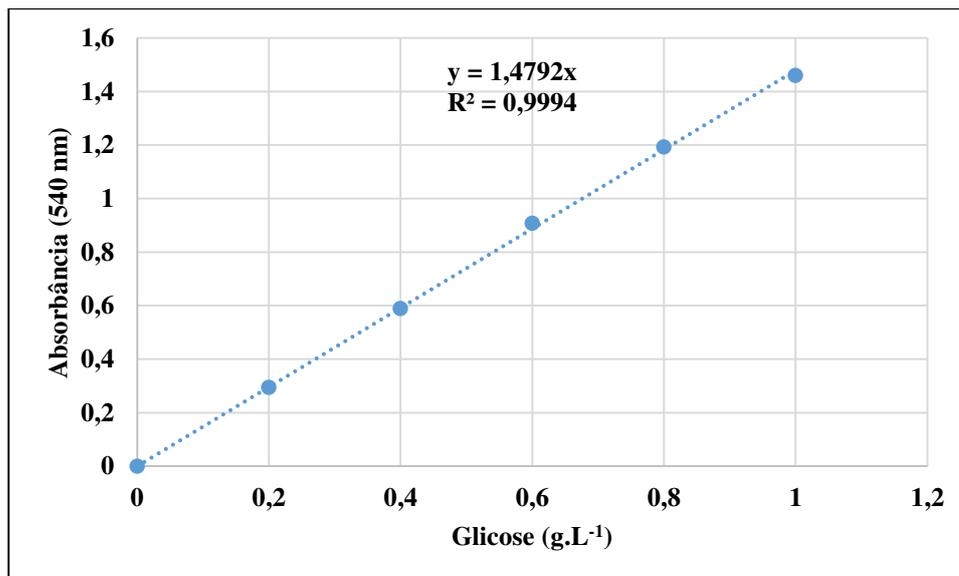
$$STV_{(g.kg^{-1})} = ST - STF \quad (4)$$

5.4.7 Açúcares Redutores -AR

A quantificação de açúcares redutores nas análises foi determinada pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), como proposto por Miller (1959). Inicialmente, preparou-se uma solução padrão de glicose 1g L⁻¹, para ser utilizada na construção de uma curva padrão de glicose (Gráfico 1). A curva continha 6 pontos e as diluições, em triplicata.

A análise foi feita pela adição de 800 μL do reagente DNS, 400 μL da amostra (centrifugada, ou agitada) e 400 μL da H_2O em um microtubo tipo *Eppendorf* de 2 mL, seguido de incubação a 100 °C por 5 minutos e resfriamento em banho de água com gelo por mais 10 minutos. A seguir, transferiu-se a solução para um tubo de vidro e acrescentou 8000 μL de água destilada, e posteriormente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

Gráfico 1 – Curva Padrão para determinação de Açúcares Redutores



A partir da equação da reta $y = ax + b$, foi calculada a concentração de açúcar redutor nas amostras de vinhaça, onde: x é o valor da concentração de glicose; y é o valor da absorbância; e a é a constante 1,4792.

5.4.8 Acidez Total Titulável - ATT

Para a determinação de acidez total titulável foram medidas cerca de 20 mL das amostras de vinhaça, transferidas para frascos Erlenmeyers de 125 mL. Em seguida, adicionaram-se 3 gotas da solução de fenolftaleína a 1%, e fez-se a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,01 M, sob agitação até mudança de cor da solução para levemente róseo.

A acidez titulável pode ser expressa como volume gosto da solução de NaOH 1,0 N por 100 g de amostra (mL %), como mostrado na equação (5):

$$ATT_{(mL\%)} = \frac{(V \times f \times 100)}{(P \times c)} \quad (5)$$

Onde:

V = nº. de mL gasto na titulação; f = fator de correção;

P = g de amostra;

c = correção p/ NaOH 1M (c=10 p/ NaOH 0,1M e c=100 p/NaOH 0,01M)

5.4.9 Lipídeos

A determinação do teor de lipídeos nas amostras de vinhaça foi realizada pelo método gravimétrico, baseado na perda de peso do material submetido a extração com éter etílico, segundo a Association of Official Analytical Chemists (AOAC., 1990). Foram pesadas 0,5 g das amostras, previamente secas em estufa a 60°C, em cartucho de papel e transferidas para o aparelho extrator tipo Soxhlet, da marca QUIMIS Q388-268. O extrator foi conectado ao balão de fundo chato previamente calcinado a 105°C em estufa e pesado. A amostra foi extraída com éter etílico durante, aproximadamente, 6 horas com manta aquecedora. Ao término da extração, o solvente foi evaporado e recuperado. Posteriormente, fez-se a secagem do balão com o resíduo lipídico (extrato etéreo) em estufa por 105°C por 2 horas, em seguida foi resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado para obtenção da massa de lipídeos presentes na amostra.

5.4.10 Nitrogênio total e Proteínas

O nitrogênio total e proteínas foram determinados de acordo metodologia proposta por *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). O nitrogênio da amostra foi convertido em sulfato de amônio, sem prévia remoção da amônia, por digestão com ácido sulfúrico, sulfato de potássio e sulfato de cobre. Em seguida, o material foi tratado com tiosulfato de sódio em meio alcalino (adição de NaOH 30 a 50 %) e a amônia restante foi destilada por arraste de vapor em um destilador de nitrogênio tipo Kjeldahl, da marca Solab, modelo SL 74, e recolhida em solução saturada de ácido bórico como solução indicadora, vermelho de metila + verde de bromocresol. Por titulação com ácido clorídrico, determinou-se a quantidade de amônio que reagiu com ácido bórico, conforme as equações (6) e (7).

$$\text{Nitrogênio}_{(\%)} = \frac{(\text{Volume gasto HCl})_{(mL)} \times N_{\text{HCl}} \times \text{Fator} \times 14}{\text{Peso da amostra}_{(mg)}} \times 100 \quad (6)$$

$$Proteína_{(\%)} = \frac{(Vol. gasto HCl)_{(mL)} \times N_{HCl} \times Fator \times 14 \times Fator de conversão}{Peso da amostra_{(mg)}} \times 100 \quad (7)$$

Onde o fator utilizado foi de 6,25.

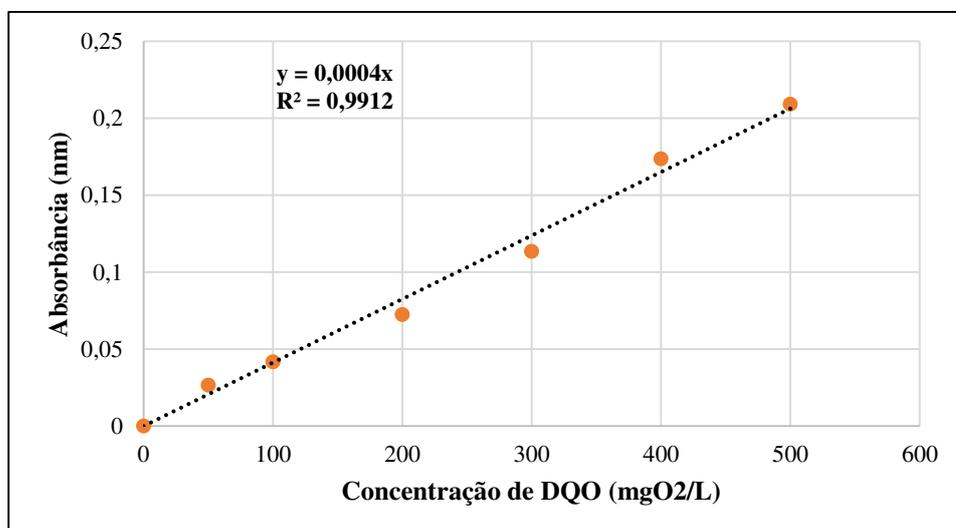
5.4.11 Demanda Química de Oxigênio – DQO

A determinação de DQO foi realizada pelo método Colorimétrico: DR2000 - Standard Methods 5220 D (APHA, 2012). O método de digestão do dicromato, trata-se de uma reação de oxidação em meio fortemente ácido e elevada temperatura na presença de um catalisador (o sulfato de prata). É usado o dicromato de potássio (cromo na forma de Cr^{6+}) devido a sua forte capacidade oxidante, facilidade de manipulação e aplicabilidade, além de ser um padrão primário. A utilização de um catalisador, como o sulfato de prata, é necessária para tornar possível a oxidação de compostos alifáticos de cadeia reta. Após a oxidação da matéria orgânica presente, a DQO é obtida diretamente ($mg O_2/L$) no espectrofotômetro.

Dessa forma, as amostras foram preparadas acrescentando-se os reagentes supracitados e, em seguida, os tubos contendo as amostras foram colocados no bloco digestor, marca SOLAB SL -25/40, para fazer a digestão das mesmas a $150\text{ }^{\circ}C$ por 2 horas. Após a digestão, retiraram-se os tubos do bloco digestor, estes foram em banho de gelo, e em seguida, fez-se a leitura da absorbância, no espectrofotômetro da marca FEMTO, modelo Cirrus 80PE, utilizando 600 nm de comprimento de onda.

A calibração do método foi feita por meio de uma curva padrão utilizando biftalato de potássio. A curva analítica foi construída conforme evidenciado no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Curva de calibração DQO



5.5 Crescimento microbiano na vinhaça bruta

O crescimento de microrganismos foi desenvolvido no laboratório de microbiologia do Campus I, da UFVJM, utilizando-se a técnica de cultivo por isolamento de colônias em meio sólido, tal técnica possibilita a imobilização das células, o que torna possível a visualização do crescimento em massas celulares isolados, o que permite a contagem direta no microscópio. Os meios de cultura utilizados foram ágar sabouraud 2%, para isolamento de fungos, e o agar nutriente, para isolamento e identificação de bactéria.

O meio de cultivo ágar sabouraud 2% (Sb) é utilizado para o isolamento e identificação de fungos. A composição desse meio é 5,0 g L⁻¹ de peptona de carne, 20 g L⁻¹ de glicose, 5,0 g L⁻¹ de peptona de caseína e 15 g L⁻¹ de ágar bacteriológico. Para o preparo, pesaram-se 45 g do meio e diluí-as em 1000 mL de água destilada, misturando até que uma solução uniforme fosse obtida. Esta solução foi aquecida até dissolução completa. Em seguida, o meio foi esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C. Posteriormente, foi vertido em placas de Petri esterilizadas.

Já o meio ágar nutriente (AN), utilizado para isolamento e identificação de bactéria, tem a composição de 1,0 g L⁻¹ de extrato de carne, 2,0 g L⁻¹ de extrato de levedura, 5,0 g L⁻¹ de peptona, 5,0 g L⁻¹ de cloreto de sódio e 15 g L⁻¹ de ágar. O preparo foi realizado conforme o meio de cultivo ágar sabouraud, utilizando 28 g do pó em 1 litro de água.

O método utilizado para a contagem das colônias foi o de espalhamento em placa. Fez-se uma placa inoculando a vinhaça pura, sem diluição, e oito com diferentes diluições, que foram: 1:10; 1:25; 1:50; 1:100; 1:10³; 1:10⁴; 1:10⁵ e 1:10⁶. Todas as diluições foram feitas em triplicas para os dois meios. Dessa forma, após fazer as diluições, fez-se o plaqueamento das amostras. Respeitando-se um raio de 15 cm da chama do bico de Bunsen, pipetou-se 0,1 mL da solução de vinhaça, por meio de uma pipeta automática, com a ponteira esterilizada, e a transferiu para a placa de Petri contendo o meio de cultura sólido. Logo após, flambou-se uma alça de Drigalsky na chama, e espalhou-se a vinhaça em toda a superfície.

Em seguida, as placas contendo o meio ágar Nutriente foram transferidas para uma BOD, com temperatura a 37 °C, e as placas com o meio ágar sabouraud foram mantidas em temperatura ambiente. As observações e contagens das colônias foram feitas em intervalos de 12 em 12 horas, por 7 dias, totalizando 14 observações. As observações foram realizadas através de um lupa, para análise dos aspectos morfológicos e contagem das colônias.

5.6 Inóculo

Nos ensaios de biodigestão da vinhaça, foi necessário o uso de um inóculo com fonte de microrganismos exigidos para degradação da matéria orgânica durante o processo de biodigestão, uma vez que a vinhaça *in natura* coletada diretamente do alambique não houve presença de microrganismo pelo teste de crescimento de colônia. O esterco bovino é considerado uma fonte promissora de inóculo para a biodigestão, pois é rico em microrganismos anaeróbios capazes de acelerar o tempo de biodegradação da matéria orgânica, além de ser uma fonte de fácil aquisição aos produtores de cachaça artesanal.

Dessa forma, utilizou-se como inóculo o estrume bovino fresco oriundo de fazendas de produtores rurais da região de Diamantina/MG. O esterco foi coletado, homogeneizado via mistura manual, acondicionado em embalagem plásticas e mantidos sob temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, em freezer. Para preparação dos inóculos, o estrume bovino foi descongelado em temperatura ambiente, em seguida, pesado e diluído com água destilada, até atingir as concentrações do experimento. Para os ensaios de bancada utilizou-se 50 mL de inóculo variando as concentrações em 100 g L^{-1} , 200 g L^{-1} ou 300 g L^{-1} de esterco, utilizado, respectivamente, 5, 10 e 15 g do esterco e completava o volume para 50 mL.

5.7 Pré-testes da biodigestão de vinhaça

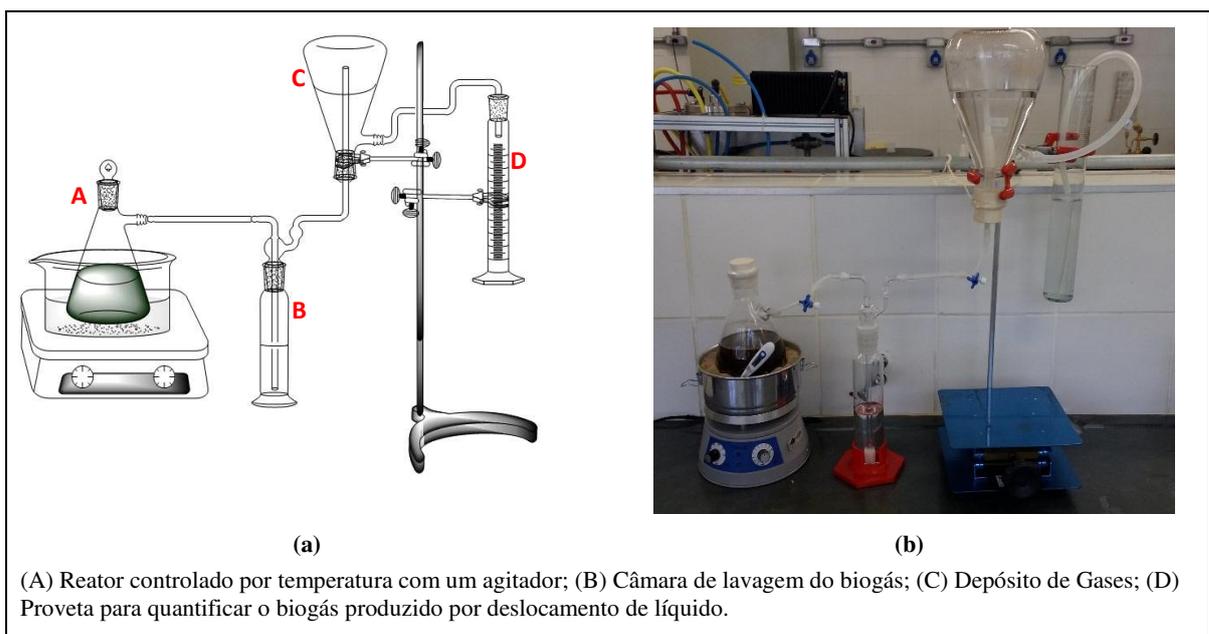
Inicialmente, os protótipos dos reatores a serem utilizados no processo de biodigestão foram desenhados com auxílio do *software* ChemDraw Ultra 12 e depois montados em laboratório, conforme apresentado na Figura 4a. Foi desenvolvido um reator do tipo batelada para realizar testes de produção do biogás. O sistema de biodigestão foi montado e operado no Laboratório de Processos Biotecnológicos e Tecnologia Ambiental da UFVJM. Esse sistema foi composto por um reator, uma câmara de lavagem e depósito de armazenamento de gás. O reator foi constituído por um kitassato de vidro com capacidade de 500 mL acoplado em um banho-maria para que o substrato pudesse ser aquecido à temperatura de operação, 20 a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, conforme metodologia empregada por Silva e Abud (2016). A mistura de gases produzido nesse reator foi conduzida, por uma mangueira de silicone, passava por uma válvula de coleta de amostra, e entrava em uma unidade de solução de lavagem (Solução de hidróxido de sódio a 5%), onde o dióxido de carbono foi fixado. Ao sair da câmara de lavagem, o biogás era dirigido, por uma mangueira de silicone conectada a um kitassato invertido contendo água,

que quantificava o volume de biogás produzido pela expansão do gás e deslocamento da coluna de líquido dentro do kitassato. A água deslocada foi coletada em um recipiente graduado, neste caso, utilizou-se uma proveta de vidro graduada.

Nos experimentos iniciais, o reator foi testado utilizando vinhaça de cachaça com pH neutralizado como substrato e esterco bovino fresco como inóculo. A faixa de pH ideal para a digestão anaeróbica é relatada, por Mao *et al.* (2015), como sendo entre 6,8-7,4. Como a vinhaça *in natura* possui uma faixa de pH inferior, foi necessária a sua neutralização para realização dos ensaios. O pH da vinhaça foi neutralizado utilizando solução de NaOH 5%.

Por meio de teste iniciais determinou-se um processo de referência, ou seja o processo na qual foi obtido maior produção de biogás. Este foi utilizado como ponto central para comparação de parâmetros. Assim, se determinou o delineamento experimental, a ser utilizado no 2º estágio do processo de biodigestão.

Figura 4 - Representação esquemática do sistema e fotografia do sistema de biodigestão



Fonte: Autora.

5.8 Delineamento experimental

Os experimentos foram executados de acordo com um planejamento fatorial 2^3 completo com três repetições no ponto central, de acordo a Tabela 1. Este experimento foi dimensionado com 3 fatores, que são: **A** – concentração de inóculo; **B** – temperatura e **C** – diluição da vinhaça; e dois níveis em cada fator, ou seja, duas variações em cada fator, sendo para o **A**, a variação de 100 g L^{-1} e 300 g L^{-1} na concentração do inóculo; para o **B**: variação da

temperatura em 25 e 35 °C e para o C variação de 25 e 50% na diluição da vinhaça. O experimento possuiu um total de 11 tratamentos.

Tabela 1 – Matriz de planejamento fatorial 2³.

Ensaio	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	Concentração de Inóculo	Temperatura	Diluição da vinhaça	Concentração de Inóculo*	Temperatura	Diluição da vinhaça
1	-1	-1	-1	10%	25 °C	25%
2	1	-1	-1	30%	25 °C	25%
3	-1	-1	1	10%	25 °C	50%
4	1	-1	1	30%	25 °C	50%
5	-1	1	-1	10%	35 °C	25%
6	1	1	-1	30%	35 °C	25%
7	-1	1	1	10%	35 °C	50%
8	1	1	1	30%	35 °C	50%
9	0	0	0	20%	30 °C	0%
10	0	0	0	20%	30 °C	0%
11	0	0	0	20%	30 °C	0%

* Concentração expressa em % m.v⁻¹ de inóculo (massa de esterco por volume de inóculo).

5.9 Ensaios da Biodigestão em escala laboratorial

Os ensaios da biodigestão de vinhaça conforme o delineamento proposto foram executados em três conjuntos, agrupados de acordo com a temperatura. O sistema de biodigestão foi montado conforme descrito no item 5.7, mudado apenas o reator, que nestes ensaios foram utilizados frascos de vidro boro silicato 3.3 com anel antigota e tampa azul de rosca com duas conexões de mangueira, com capacidade de 250 mL, da marca Larboglas. Estes foram mantidos em banho-maria ultra com controle de temperatura e circulação, da marca Lucadema, demonstrado na Figura 5.

Antes de cada batelada, os biorreatores, as mangueiras e as vidrarias foram esterilizadas a 121°C e 15 psi por 20 minutos, na autoclave vertical da marca Primatec. Uma vez montado e devidamente esterilizado, em cada biorreator (4 no total) foi adicionado 200 mL de substrato (vinhaça diluída). As condições do ponto central (ensaios 09, 10 e 11) foram determinadas através dos dados obtidos nos pré-testes, citado no item 5.7. Dessa forma, aos 200 mL de substrato foram acrescentados 50 mL de inóculo com concentração de 100 g L⁻¹, 200 g L⁻¹ e 300 g L⁻¹ de esterco bovino fresco. Resultando as concentrações finais de: 20 g L⁻¹, 40 g L⁻¹ e 60 g L⁻¹.

Figura 5 – Ensaio da Biodigestão da vinhaça



Fonte: Autora.

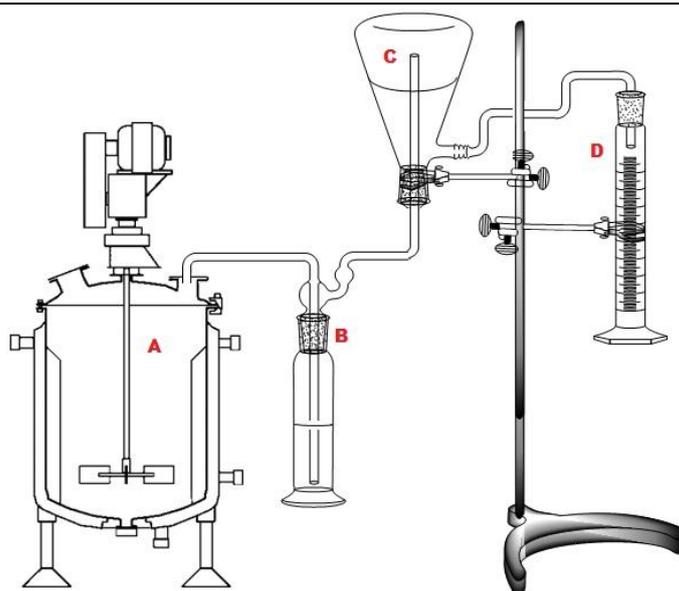
Os fatores temperatura, concentração de inóculo e diluição da vinhaça foram estudados quanto à sua influência na DQO e na formação de biogás. O término da produção de biogás (volume constante de biogás formado) foi utilizado como critério para interromper os ensaios de biodigestão.

Ao final de cada processo a vinhaça biodigerida com o inóculo foram centrifugados a 3.500 rpm por 10 min, conforme metodologia proposta por Dias e colaboradores (2016), utilizando a centrífuga da marca Thermo Scientific Sorvall, modelo Legend Mach 1.6 (Figura 6). Em seguida, as amostras de vinhaça tratada foram separadas e armazenadas (congeladas) em recipientes previamente higienizados com solução de Ácido Nítrico 50%.

5.10 Ensaio da biodigestão em um biorreator automatizado

Para a otimização da produção de biogás através da biodigestão da vinhaça, os ensaios de bancada (descrito no item 5.9) com melhor destaque foram reproduzidos em um Biorreator de bancada automatizado com capacidade de 7,5 litros, e com um sistema de monitoramento e controle que permitiu o acompanhamento do pH, CO₂, temperatura, pressão e nível de volume.

O equipamento consiste em um vaso de reação de vidro encamisado, um módulo de aeração, um módulo de bombas peristálticas, um módulo de medição e atuação, um módulo de banho termostatizado, um módulo de suporte do vaso, uma tampa em aço inox, um motor e um software de controle do sistema, demonstrado na Figura 6.

Figura 6 – Biorreator automatizado

A: biorreator anaeróbio com vinhaça; B: câmara de lavagem do biogás; C: reservatório de biogás; D: proveta para coleta de água.

Fonte: Autora.

O sistema foi montado e operado no Laboratório de Processos Biotecnológicos e Tecnologia Ambiental da UFVJM. Foram realizadas dois ensaios montados conforme os parâmetros da Tabela 2, e sistemas da Figura 6. A caracterização físico-química da vinhaça e dos produtos da biodigestão foi realizada em triplicata conforme metodologia apresentada no item 5.4. Fez-se análises de pH, umidade, matéria seca, cinzas, sólidos totais, sólidos totais fixos e DQO. Ao final dos processos de digestão anaeróbica foi realizada a quantificação do CO_2 , CH_4 , H_2S e NH_3 .

Tabela 2 - Parâmetros utilizados dos ensaios de biodigestão

Parâmetros	Ensaio 1	Ensaio 2
Vol. de vinhaça	2 litros	2 litros
Vol. de água	2 litros	2 litros
Inóculo	300g de esterco bovino e 700ml de água	300g de esterco bovino e 700ml de água
pH	Não controlado	Controlado (7)
Tem. média	20 °C	26 °C
Tempo	25 dias	25 dias

Essas condições (Tabela 2) de diluição de vinhaça e quantidade de inóculo foram determinadas, por meio dos resultados obtidos nos ensaios de biodigestão de bancada. Ou seja, os ensaios que se destacaram com maior produção de biogás no experimento anterior foram reproduzidos conforme os parâmetros que indicavam uma melhor resposta, produção de biogás, pela análise no gráfico de superfície na etapa de otimização.

Conforme apresentado na Tabela 2, foram realizados dois ensaios utilizando, em cada, 2 litros de vinhaça bruta, pH (3,5), 2 litros de água e 1 litro de inóculo (composto por 300 g de esterco bovino e 700 mL de água). Em seguida, foram misturados e neutralizados (pH 7) com solução de NaOH (20%), o processo de biodigestão durou por 25 dias e o volume de produção de gás foi monitorado diariamente.

O primeiro ensaio foi conduzido a temperatura média de 20 °C e o pH não foi controlado, já no segundo ensaio a temperatura média foi de 26 °C e o pH foi controlado através da adição de solução de NaOH (20%), visando manter o mesmo em torno de 7, pois nessa condição o metabolismo dos microrganismos fermentativos e metanogênicos é favorecido e a produção de biogás otimizada.

5.11 Desenvolvimento e construção de um biodigestor industrial

O biodigestor em batelada anaeróbio foi construído e instalado no galpão do laboratório de Biomassa do Cerrado da UFVJM, conforme demonstrado na Figura 7. Esse aparelho foi dividido em três compartimentos, contendo em cada, uma câmara de fermentação com capacidade de 240 litros, que consiste em um recipiente fechado feito PVC, com uma entrada do substrato a ser fermentado, e uma saída para efluentes produzidos pelo processo, vinhaça biodigerida. Acoplado às essas câmaras foi instalado um registro para saída de gases que é ligado ao depósito de gases, construído com mangueira hidráulica de alta pressão e com

6” de diâmetro. Esse depósito, possui um manômetro para leitura da pressão e uma saída de gás com válvula de segurança.

Figura 7 - Biodigestor anaeróbio de vinhaça



Fonte: Autora.

5.12 Análises da composição do Biogás

A composição do biogás gerado foi determinada utilizando o kit de análise de Biogás com Biofoto Microprocessado (Figura 8), desenvolvido pela empresa Alfakit Ltda em colaboração com a Embrapa Suínos e Aves, e que apresenta precisão conforme Tabela 3. As análises foram feitas seguindo o método de Orsat com algumas adaptações.

Figura 8 – Kit de análise de Biogás



Fonte: Autora.

Tabela 3 - Ficha técnica e limite de detecção do kit de análise do biogás.

Parâmetro	Método	Informações
Metano	ORSAT	0 – 100 % Resolução de 2,5 %
Dióxido de carbono	ORSAT	0 – 100 % Resolução de 2,5 %
Amônia	Azul de Indofenol	Concentração leitura em ppmV de gás (mg m^{-3}); Resolução: 0,01 para absorbância; Espectro de emissão de 619 - 630 nm, pico em 633 nm.
Ácido Sulfídrico	Azul de Metileno	Concentração leitura direta em de gás (mg m^{-3}); Resolução: 0,01 para absorbância; Espectro de emissão de 619 - 630 nm, pico em 633 nm.

Fonte: Manual de Análise: biogás (KUNZ; OLIVEIRA; PICCININ, 2013).

5.12.1 Determinação de Gás Carbônico e Gás Metano

A determinação de gás carbônico e metano foram realizados por diferença de volume, pelo método de Orsat. Este é um método volumétrico envolvendo absorção e oxidação seletivas. Ele é geralmente utilizado para detectar CO_2 , O_2 e CO (KUNZ *et al.*, 2013). O Analisador Orsat (Figura 9) é utilizado para se determinar a composição e peso molecular de gases.

Figura 9 – Mini-orsat: suporte analisador de gás carbônico



Fonte: Autora.

5.12.2 Determinação de Amônia

As análises colorimétricas para quantificação de amônia presente no biogás foram realizadas de acordo com o método “Azul de Indofenol”. O método consiste no burbulhamento de uma amostra do biogás em uma solução diluída de ácido sulfúrico, formando sulfato de amônia. O sulfato de amônia formado na amostra é analisado colorimetricamente pela reação

com fenol e hipoclorito de sódio alcalino, produzindo indofenol, um corante azul. A reação é acelerada pela adição de nitroprussiato de sódio, um catalisador (LODGE, 1989). A leitura colorimétrica foi feita através do fotocolorímetro, da linha alfa kit com faixa de onda de 621 – 638 nm, e com as curvas de calibração, para amônia, já inseridas, conforme apresentado na Figura 10.

Figura 10 – Fotocolorímetro para análise de Amônia e Gás Sulfídrico



Fonte: Autora.

5.12.3 Determinação de Ácido Sulfídrico

Os testes colorimétricos para determinar as concentrações de H_2S no biogás foram realizadas pelo método “Azul de Metileno”. Também chamado de método do corante azul de metileno. A amostra de biogás é submetida em reações físico-químicas, após faz-se a análise colorimétrica utilizando o fotocolorímetro (KUNZ *et al.*, 2013). Este equipamento já contém as curvas de calibração para H_2S inseridas. Os resultados do gás sulfídrico são fornecidos em ppmv.

5.13 Análise estatística

Os valores médios dos dados obtidos foram comparados usando o teste de Tukey em níveis de confiança de 95%. Todos os cálculos estatísticos foram feitos com os softwares "Statistica", versão 10.0 e o “The Unscrambler X, versão 10.5.1”.

5.13.1 *Análise de componentes principais*

Avaliou-se a estrutura de correlação do volume de biogás gerado com os resultados das variáveis físico-químicas, variação de pH, demanda química de oxigênio (DQO), % de CH₄, NH₃ e H₂S, mediante uma análise de componentes principais (ACP), utilizando o programa estatístico, o Software The Unscrambler X 10.1 (The Unscrambler X são marcas registradas da CAMO Software).

Neste programa realizou-se a análise de componentes principais (PCA). Na PCA os dados foram projetados através de combinações lineares das variáveis originais (variação de pH, demanda química de oxigênio (DQO), % de CH₄, NH₃ e H₂S), formando as componentes principais (PC). Foram então obtidos os gráficos de *scores* e de *loading*, isto é, a distribuição das amostras em função da importância das variáveis.

Para a realização dos cálculos quimiométricos, uma matriz de dados **X** foi construída colocando-se as amostras nas linhas e as respectivas variáveis nas colunas. Dessa forma, a matriz de dados (11x6) foi organizada com 3 variáveis e 11 casos (amostras), para cada parâmetro

5.13.2 *Otimização*

Para a etapa de otimização na produção de biogás utilizaram-se os planejamentos compostos centrais e Doehlert, que se baseiam na metodologia de superfície de resposta. Os coeficientes foram obtidos utilizando-se o método dos quadrados mínimos.

A metodologia de superfície de resposta baseia-se na construção de modelos matemáticos empíricos que geralmente empregam funções polinomiais lineares ou quadráticas para descrever o sistema estudado e, conseqüentemente, dão condições de explorar (modelar e deslocar) o sistema até sua otimização (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Caracterização da vinhaça

As características físico-químicas da vinhaça são importantes à serem avaliadas porque este efluente foi utilizado com substrato para a produção de biogás, e as suas características podem proporcionar um melhor crescimento e atividade microbiana ao sistema anaeróbico. Os resultados referentes às características físico-químicas da vinhaça *in natura* estão apresentados na Tabela 4. Observa-se que a vinhaça exibiu parâmetros considerados prejudiciais ao meio ambiente, principalmente a alta DQO, baixo pH e grande conteúdo sólido total (MORAES et al., 2015; SALOMON, KARINA RIBEIRO; LORA, 2009).

Tabela 4 - Caracterização físico-química da vinhaça bruta.

Características	Nesse estudo	Outros estudos	Referência
Umidade (%)	97,700 ± 0,08	95,85	(PINTO, M. P. M. <i>et al.</i> , 2018)
Matéria Seca (%)	2,300 ± 0,05	2,08 ± 0,04	(NEVES, 2016)
Cinzas (%)	23,94 ± 0,18	21,54	(PIRES <i>et al.</i> , 2018)
pH	3,330 ± 0,097	3,7 –4,6	(SALOMON, KARINA RIBEIRO; LORA, 2009)
Densidade Relativa (g cm ⁻³)	1,003 ± 0,0001	1,015 ± 0,005	(SILVA, C. E. D. F.; ABUD, 2016)
SST (°Brix)	3,000 ± 0,01	1,20	(PIRES <i>et al.</i> , 2018)
Matéria Orgânica (%)	76,06 ± 0,18	26,80	(UENO <i>et al.</i> , 2013)
ST (g.kg ⁻¹)	32,770 ± 0,79	20,82 ± 0,44	(NEVES, 2016)
STF (g.kg ⁻¹)	07,140 ± 0,08	6,33 ± 0,065	(NEVES, 2016)
SVT (g.kg ⁻¹)	25,620 ± 0,42	29,64	(PINTO, M. P. M. <i>et al.</i> , 2018)
AR (g.L ⁻¹)	13,70 ± 0,21	10,61	(PIRES <i>et al.</i> , 2018)
Proteínas (% total de MS)	55,94 ± 3,01	3.155 ± 0.32*	(PINTO, M. P. M. <i>et al.</i> , 2018)
Lipídios (%)	1,630 ± 1,1	9,51	(PIRES <i>et al.</i> , 2018)
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	31.559 ± 1.180	30.732,8	(SILVERIO, 2017)

Observações: ST, sólidos totais; STF, sólidos totais fixo; STV, sólidos voláteis totais; MS, matéria seca; AR, açúcares redutores; *expresso em matéria úmida.

A diferença entre os valores obtidos por outros trabalhos referenciados na Tabela 4 e os valores encontrados neste experimento, pode ser justificada por variações nas operações de processos de produção, composição da cana-de-açúcar, tipo de fermento utilizado, entre outros, que influenciam a composição química da vinhaça. Moraes *et al.* (2015) relataram que as características da vinhaça dependem da matéria-prima e, portanto, das práticas agrícolas que influenciam a composição da cana. No caso da vinhaça de cana-de-açúcar, sua composição também varia de acordo com a matéria-prima de fermentação, ou seja, caldo de cana e/ou melaço. Nas plantas autônomas, que produzem apenas etanol, a vinhaça é proveniente do caldo

de cana, assim como na produção de cachaça artesanal. Nas plantas anexas, que produzem açúcar e etanol, a vinhaça deriva do melaço e do suco.

6.1.1 Umidade e matéria seca

A vinhaça representa uma mistura de água, compostos orgânicos e inorgânicos (BAEZ-SMITH, 2006). A determinação da umidade se faz necessária porque esse parâmetro influencia na troca de oxigênio entre os micro-organismos e o meio (ALBUQUERQUE et al., 2006). A vinhaça utilizada neste estudo apresentou um percentual de umidade e matéria seca, respectivamente, de 97,7 e 2,3%. Estes valores corroboram com resultados de outros autores. Carrilho et al. (2016) descreveram que a vinhaça é composta predominantemente de água e de sólidos, respectivamente 93 % e 7 %. Já Pinto et al. (2018), obtiveram 2,47% de sólidos totais, e 97,53 % de umidade na vinhaça de cana-de-açúcar.

Observa-se, que a vinhaça da fabricação de cachaça, possui alta porcentagem de água. Segundo Khalid et al. (2011), elevadas taxas de umidade facilitam o processo da digestão anaeróbia. A água é um componente essencial no processo de degradação da matéria orgânica, pois ela atua como solvente e contribui para a transferência de massa e a difusão de micro-organismos, permitindo a interação entre a superfície do substrato com os microrganismos envolvidos no processo (SHEWANI et al., 2015).

6.1.2 Cinzas e Matéria Orgânica

Pelos dados obtidos de matéria seca e cinzas é possível observar que maior parte da vinhaça que está presente em matéria seca possui característica orgânica, sendo 23,94 % inorgânica, restando 76,06 % de matéria orgânica que será utilizada para a produção de biogás. Valores próximos ao encontrados por Pires e colaboradores (2018) na caracterização de vinhaça de etanol: 97,49 % de umidade, 0,040 g 100 g⁻¹ de matéria seca e 21,54% de cinzas. A determinação das cinzas indica a quantidade de minerais presentes na matéria prima utilizada nos processos biotecnológicos. Segundo Fick (1976), as cinzas contém, principalmente, os seguintes cátions: cálcio, potássio, sódio, magnésio, ferro, cobre, cobalto e alumínio; e ânions: sulfato, cloreto, silicato e fosfato.

6.1.3 pH

A vinhaça *in natura* de cachaça, utilizada neste experimento, apresentou pH ácido de $3,330 \pm 0,097$, o que não favorece o processo de biodigestão anaeróbica. Dessa forma foi necessário neutralizar esse pH com uma solução de NaOH antes de alimentar os biorreatores. Sydney e colaboradores (2014), relataram o valor de pH de 4,52 para a vinhaça que estudaram. Já Cruz-Salomón et al. (2017) obtiveram o valor de pH 3,9 em uma vinhaça de uma bebida nativa do México. Para o uso na biodigestão anaeróbica, esta vinhaça foi neutralizada com uma solução de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Os microrganismos envolvidos no processo de biodigestão anaeróbica têm um pH ótimo de operação de acordo com a fase de produção do biogás. A maioria das bactérias cresce melhor em uma faixa estreita de pH perto da neutralidade, entre pH 6,5 e 7,5. Poucas bactérias crescem em um pH ácido abaixo de 4,0 (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). De acordo com Ferreira (2017), a formação do metano ocorre em um intervalo de pH relativamente estreito, de aproximadamente 6,5 a 8,5 com uma faixa ótima entre 7,0 e 8,0. Salomon (2007) relata que a atividade das bactérias metanogênicas, produtoras de biogás, tem um rendimento ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4. Granato (2016), em uma biodigestão cujo pH do aflente vinhaça foi corrigido para 7, obteve uma produção de biogás 97,5% maior do que em um processo na qual a vinhaça operou com pH *in natura*, ou seja, exatamente como produzido na coluna de destilação. Observa-se desta maneira que a biodigestão anaeróbia da vinhaça apresenta maior produção de biogás quando o pH é neutralizado, ou seja, corrigido para 7.

6.1.4 Densidade Relativa

A densidade relativa obtida na vinhaça *in natura* foi de $1,003 \pm 0,0001 \text{ g cm}^{-3}$. Valor próximo foi encontrado por Silva e Abud (2016) em vinhaça de etanol, de $1,015 \pm 0,005 \text{ g cm}^{-3}$.

6.1.5 Sólidos totais, Fixos e Voláteis

A vinhaça de cachaça apresentou $32,770 \pm 0,79 \text{ g kg}^{-1}$ de sólidos totais, $07,140 \pm 0,08 \text{ g kg}^{-1}$ de sólidos fixos totais e $25,620 \pm 0,42 \text{ g kg}^{-1}$ de sólidos voláteis totais. Valores de sólidos semelhantes aos obtidos neste trabalho foram observados por Neves (2016), que obteve

para vinhaça um teor de $20,82 \pm 0,44 \text{ g kg}^{-1}$ de sólidos totais e $6,33 \pm 0,065 \text{ g kg}^{-1}$ de sólidos fixos totais. Pires e colaboradores (2018) obtiveram $29,64 \text{ g.kg}^{-1}$ de sólidos voláteis totais na vinhaça de etanol.

A análise de sólidos totais (ST) interpreta quantitativamente a presença total de matéria que não seja água (dissolvida, coloidal ou em suspensão). Segundo Goularte (2014), quanto maior for o conteúdo de sólidos voláteis, os quais representam a quantidade de sólidos orgânicos presentes na amostra, e a disponibilidade de nitratos e fosfatos, maior será a produção de biogás. Logo, os valores de sólidos observados na vinhaça deste estudo, potencializa seu uso na biodigestão anaeróbica.

6.1.6 Açúcares Redutores Totais e Sólidos Solúveis Totais

A determinação de açúcares redutores totais (ART) e sólidos solúveis totais (SST) se fez necessária porque esses componentes são excelentes fontes de carbono para os microrganismos presentes no processo de biodigestão. Os SST são usados como índices de açúcares totais em diversos substratos. A vinhaça utilizada neste trabalho apresentou concentração de açúcares redutores e SST de $13,70 \pm 0,21 \text{ g.L}^{-1}$ e 3° Brix , respectivamente. Valores semelhantes foram obtidos por Pires et al. (2018), $1,015^\circ \text{ Brix}$ de sólidos solúveis totais e $10,61 \text{ g.L}^{-1}$ de açúcares redutores.

6.1.7 Proteínas e Lipídios

As proteínas são fontes de nitrogênio. Segundo Zheng et al. (2005), o nitrogênio é um elemento determinante para o cultivo de microrganismos. A presença de nitrogênio durante a digestão anaeróbia é importante quando o objetivo é a produção de biogás, pois as bactérias precisam de nutrientes para converter a matéria orgânica em biogás (KHALID et al., 2011).

A vinhaça *in natura* estudada era composta por $55,94 \%$ de proteína expressa em matéria seca e $1,630 \%$ de lipídios. A quantidade destes composto no substrato são importantes para a produção de biogás. Pois, na primeira etapa do processo de biodigestão, a matéria orgânica complexa, tais como carboidratos, proteínas e lipídios são hidrolisados pelas bactérias fermentativas hidrolíticas em compostos orgânicos simples.

6.1.8 DQO

Conforme a Tabela 4, observa-se que a vinhaça utilizada neste trabalho apresentou uma demanda química de oxigênio de $31.559 \pm 1.180 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Sydney e colaboradores (2014), relataram valores de DQO de $29.600 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ para a vinhaça que estudaram. De acordo com Freire & Cortez (2000), a vinhaça apresenta elevadas taxas de DQO 10.000 a $210.000 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Solomon (2007) relata que a vinhaça de cana-de-açúcar possui uma DQO em torno de $30.000 \text{ a } 40.000 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Com essas altas taxas de demanda bioquímica de oxigênio e o baixo pH, a vinhaça se encontra entre os dejetos industriais de maior potencial poluidor. O motivo desse poder impactante se deve ao elevado teor de matéria orgânica coloidal, o que leva a oxidação de praticamente todo o oxigênio disponível na água.

As análises da DQO demonstram que a vinhaça estudada é um efluente de alto teor de matéria orgânica. Embasado nestas determinações, optou-se por avaliar a influência da diluição desta no processo de biodigestão. Esta decisão foi tomada a fim averiguar que, ao se utilizar a vinhaça bruta, os microrganismos eram submetidos a um choque capaz de incapacitá-los de exercerem a digestão anaeróbia.

6.2 Pré-testes da biodigestão de vinhaça

Os resultados obtidos nos pré-testes, realizados conforme descritos no item 5.7, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados dos pré-testes de biodigestão

Ensaio	Tempo de Operação (dias)	Diluição (%)	pH ^{Inicial}	Inóculo (% v/v)	Temper. (°C)	Volume de biogás produzido (mL)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	NH ₃ (ppmV)	H ₂ S ₄ (ppmV)
A	48	-	7,10	-	21 a 25	0	-	-	-	-
B	7	-	7,10	10	25	249	-	-	-	-
C	12	30	7,10	10	35	265	70	30	43,24	8,82

O pré-teste inicial, nomeado como ensaio A, teve um período de incubação de 48 dias, utilizando apenas a vinhaça bruta com o pH neutralizado, sem diluição e sem adição inóculo. Por meio dos resultados obtidos, notou-se que não houve formação de biogás no ensaio A; isso pode ter ocorrido pela ausência da microbiota envolvida no processo de biodigestão, uma vez que a vinhaça utilizada foi coletada diretamente na saída no destilador, e está sai com temperatura em torno de $80 \text{ a } 100 \text{ }^\circ\text{C}$, motivo que pode ter levado a ausência de microrganismo. Afirmção que pôde ser comprovada pelo teste de crescimento de colônia na vinhaça bruta, que

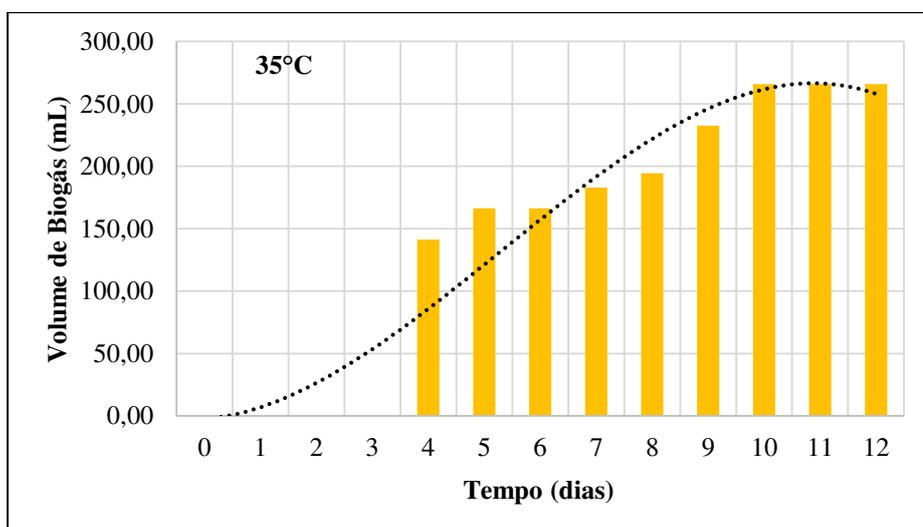
demonstraram a ausência de fungos e bactérias, pois não teve crescimento significativo de colônias no experimento montado, conforme descrito no item 5.5.

A ausência de um inóculo neste ensaio foi um fator determinante para a taxa de geração de biogás. De fato, segundo Oliveira *et al.* (2012), é indispensável o uso de um inóculo para se ter um tratamento anaeróbio eficiente. O inóculo funciona como catalisador da reação, acelerando o processo de decomposição da matéria orgânica e, conseqüentemente, reduzindo o tempo necessário para geração de biogás. Para contribuir com o bom funcionamento da biodigestão anaeróbia, o inóculo deve apresentar quantidade considerável de biomassa (PENTEADO *et al.*, 2018; SILVA, G. A., 2012).

O segundo pré-teste, denominado como ensaio B (Tabela 5), também foi utilizado apenas a vinhaça bruta neutralizada (pH 7,10), sem diluição da vinhaça e com adição de 10% (v/v) do inóculo, o esterco bovino fresco. Neste ensaio o período de incubação foi de 7 dias, e houve uma produção de 249 mL de biogás. O período de incubação foi inferior ao ensaio A devido ao sistema montado não ter suportado o volume de biogás gerado, motivo que levou a interrupção do processo de biodigestão. Observa-se, que com a adição do inóculo, houve uma aceleração o processo de decomposição da matéria orgânica e, conseqüentemente, auxiliou na geração de biogás

Dentre os pré-testes, o ensaio C foi considerado o processo com melhor desempenho para a biodigestão da vinhaça. Esta biodigestão teve duração de 12 dias, utilizando 350 mL de vinhaça e 10% (v/v) de inóculo, o esterco bovino fresco, e se obteve 265 mL de biogás composto por 70% de metano e 30% CO₂, conforme apresentado no Gráfico 3.

Gráfico 3 - Volume diário de Produção de Biogás em 12 dias



Nota-se, no Gráfico 3, que o início da produção de biogás ocorreu a partir do quarto dia, descrevendo, inicialmente, um crescimento da taxa de produção de gases, seguido de um período de taxa constante. Esses resultados estão de acordo com Silva & Abud (2016) que obtiveram o início da fase exponencial no quinto dia da biodigestão de vinhaça em sistema mesofílicos.

Comparando os pré-testes, nota-se que a adição do inóculo auxiliou na ativação do potencial de geração de biogás pela vinhaça de cachaça. O mesmo foi observado por Santos et al. (2014), onde, utilizando lodo de esgoto como inóculo para a biodigestão da vinhaça, comprovaram que a produção máxima de biogás foi atingida rapidamente nos primeiros dias.

6.3 I Estágio: Ensaios da Biodigestão em escala laboratorial

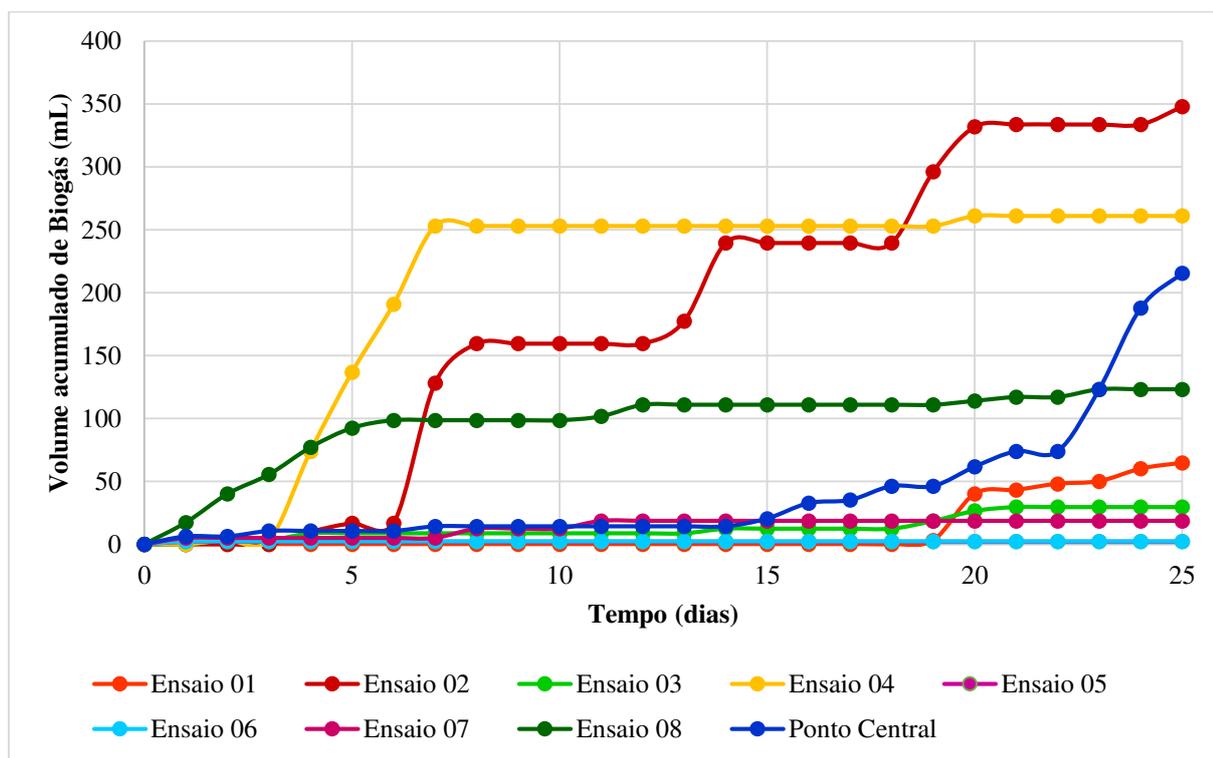
Os dados obtidos nos ensaios realizados conforme o delineamento apresentado no item 5.8 estão descritos nas Tabelas 6 e 7. O processo de biodigestão durou por 25 dias em todos os ensaios. Este tempo de retenção foi determinado após um estudo prévio na literatura. Segundo Salomon (2007), o tempo de retenção é definido pela relação entre o volume do digestor e o volume da carga diária, e pode variar em função da adição de nutrientes, ou pela agitação e variação da temperatura da mistura no digestor. Bouallogui e colaboradores (2003) obtiveram um tempo de retenção de 20 dias na biodigestão de resíduos vegetais. Já Lastella et al (2002), relataram um tempo de retenção de 22,5 à 33,7 dias em biodigestão de resíduos orgânicos semissólidos. Para Silva & Abud (2016), o tempo de retenção hidráulica foi de 25 dias em seus ensaios de biodigestão anaeróbia da vinhaça, mas relataram que não houve produção significativa de biogás após 15 a 20 dias. Nesse sentido, considerou-se que este intervalo de tempo, de 25 dias, representa um tempo de retenção hidráulica ideal para a biodigestão anaeróbia da vinhaça.

Os volumes acumulados de biogás produzido nos onze ensaios do planejamento experimental estão expressos na Tabela 6. Os volumes totais de biogás produzido nestes ensaios variaram entre 2,08 mL e 347,90 mL. Os ensaios de 01 a 04, conduzidos a temperatura de 25 °C, produziram um volume de biogás acumulado de, respectivamente, 64,65; 347,90; 29,56 e 261,08 mL. Sendo os ensaios 02 e 04 com as maiores produções de biogás dentre os onze ensaios. Já os processos de biodigestão conduzidos na temperatura de 35 °C, ensaios 05 ao 08, geraram, respectivamente, 2,08; 2,29; 18,47 e 123,15 mL de biogás. Os pontos centrais, ensaios 09 ao 11, que foram mantidos numa temperatura de 30 °C, obtiveram um volume de biogás de 215,51; 73,89 e 231,52 mL, respectivamente.

Tabela 6 - Volume Acumulado de Biogás Produzido.

Ensaio	Volume de Biogás (mL)
1	64,65
2	347,90
3	29,56
4	261,08
5	2,08
6	2,29
7	18,47
8	123,15
9	215,51
10	73,89
11	231,52

O Gráfico 4 apresenta as curvas da produção acumulada de biogás gerado durante um período de 25 dias nos 8 ensaios, e a curva da média dos pontos centrais, conforme o delineamento apresentado na Tabela 1.

Gráfico 4 - Monitoramento da formação de biogás

Pelo Gráfico 4, é possível observar como ocorreu a formação do biogás nos ensaios, ao longo do tempo de incubação. Os ensaios mantidos a 25 °C com as maiores concentrações de inóculo, ensaios 02 e 04, tiveram um destaque maior na quantidade de biogás acumulado. Dessa forma, pode se inferir que a concentração de inóculo tem grande interferência no volume

de biogás produzido, sendo um parâmetro que merece estudos mais aprofundados. Notou-se ainda, que o ensaio 04 possui um processo mais estável em relação ao ensaio 02. Este apresentou pequenas fases estacionárias durante o período de operação. Este fato pode ser atribuído à formação de substâncias intermediárias que pode ser inibidoras para as bactérias fermentativas e as acetogênicas que estão envolvidas nas etapas de acidogênese e acetogênese, respectivamente.

Speece (1996) afirma que a instabilidade do processo anaeróbio ocorre quando a velocidade de produção de ácidos for maior que seu consumo, acarretando queda do pH e inibição das atividades das arqueias metanogênicas, altamente sensíveis a mudanças nas condições ambientais. Segundo Rajagopal et al (2013) e Syaichurrozi (2018), o baixo pH pode perturbar a estabilidade da biodigestão anaeróbica, que depende da manutenção de um equilíbrio bioquímico delicado entre os microrganismos acidogênicos e metanogênicos. Os microrganismos metanogênicos são mais sensíveis com baixo pH do que os microrganismos acidogênicos.

No ensaio 04, com diluição de 50% da vinhaça, a formação de biogás teve início no terceiro dia de biodigestão, e estabilizou a produção a partir do sétimo dia de incubação. Já no ensaio 02, a formação do biogás teve início no quinto dia; entretanto, este produziu um volume maior de biogás no período de 25 dias, ou seja, cerca de 25 % a mais que o ensaio 04. Por outro lado, comparando-se estes dois ensaios em termos de gasto de energia e tempo de biodigestão versus volume de biogás gerado, nota-se, que a reprodução do ensaio 02 numa empresa seria mais viável. Pois, como neste processo a produção do biogás foi estabilizada no oitavo dia com um volume de 253 ml, num período de 25 dias poderia realizar-se até três bateladas, obtendo, no final, um volume total de aproximadamente 760 ml de biogás.

Em relação ao ponto central, verificou-se que houve início da formação de biogás com 24 horas da biodigestão. O mesmo foi relatado por Budiyo e colaboradores (2014) quando previram o rendimento de biogás a partir de resíduos de vinhaça contendo alto teor de carboidratos. Em seus experimentos, o biogás foi gerado no primeiro momento da fermentação da vinhaça (1 dia).

Os ensaios 01, 03, 05, 06 e 07, conforme apresentado no Gráfico 4, tiveram baixa produção de biogás. No ensaio 01, o biogás começou a ser produzido no décimo nono dia de biodigestão; a partir daí teve uma taxa de geração crescente até o 25º dia. Já no ensaio 03 teve a formação de biogás em torno de 3 mL no terceiro dia e estabilizou a produção entre o quarto e décimo terceiro dia com a formação de 8,7 ml. A partir desse dia, voltou a produzir com uma velocidade de formação constante e lenta.

Nos ensaios 05 e 06, a formação de biogás iniciou-se a partir do segundo dia de biodigestão, produzindo cerca de 2 ml; entretanto, teve a produção paralisada durante todo o período de incubação. E no ensaio 7, o deslocamento de líquido iniciou-se no segundo dia, e a formação biogás se encerrou por volta do decimo primeiro dia.

Os ensaios 05 e 06 foram os que tiveram uma menor produção de biogás, respectivamente, 2,08 e 2,29 mL de biogás. Está baixa produção pode estar atribuída a presença de algum inibidor. É sabido que a presença de agentes inibidores pode ocasionar baixa produção de biogás, o que inclui amônia, sulfeto, metais pesados, etc. (CHEN, J. L. et al., 2014; CHEN, Y.; CHENG; CREAMER, 2008a; KARHADKAR et al., 1987; PENTEADO et al., 2018; RAJAGOPAL et al., 2013; SILES et al., 2010).

No entanto, de acordo com avaliações de energia realizados, mostraram que, na biodigestão anaeróbia da vinhaça, é possível realizar ainda uma maior produção de metano, alcançando valores de 6,97-14,23 m³ de CH₄ por m³ de vinhaça (SALOMON, KARINA RIBEIRO; LORA, 2009; TUNES, 2017).

A Tabela 7 apresenta os valores dos parâmetros: pH, variação de pH, volume de gás acumulado, composição do biogás, DQO e percentual de remoção de DQO, avaliados nos experimentos de biodigestão de bancada utilizando o planejamento experimental fatorial completo 2³ em diferentes temperaturas, concentrações de inóculo e diluição da vinhaça.

Em relação a variação e influência da temperatura na biodigestão, conforme apresentado na Tabela 7, nota-se que no grupo dos ensaios (01 ao 04) mantidos com temperatura de 25 °C obtiveram uma média de produção de biogás de 175,80 mL, que foi superior aos demais. Os ensaios conduzidos na temperatura de 30 °C (pontos centrais) produziram uma média de 173,64 mL, e o grupo acondicionado na temperatura de 35 °C, ensaios do 05 ao 08, teve uma média de produção de 36,50 mL. Esse fato demonstrou que a temperatura de 25 °C influenciou positivamente a produção de biogás, possibilitando o aproveitamento energético da vinhaça.

Estes resultados estão de acordo com Morell e colaboradores (2015) quem avaliaram a influência da temperatura na produção de biogás proveniente da vinhaça de destilaria de álcool, utilizando como inóculo efluente de suinocultura. Eles realizaram dois ensaios com temperatura de 25 °C e 35 °C. A biodigestão foi favorecida sob a temperatura de 25 °C, alcançando-se volumes de biogás superiores aos obtidos sob a temperatura de 35 °C. Speece (1996) considera a temperatura ótima na faixa de 25 a 30 °C para processos mesofílicos.

Tabela 7 – Dados obtidos nos ensaios da biodigestão de vinhaça de cachaça.

Ensaio	Diluição (%)	Massa de Esterco (g)	Temperatura (°C)	pH Final	ΔpH	Volume de Gás (mL)	Composição do Biogás				DQO final (mg O ₂ .L ⁻¹)	Percentual de Remoção de DQO
							CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	NH ₃ (mL/m ³)	H ₂ S (mL/m ³)		
1	25	5	25	5,91 ± 0,5	1,09	64,65	85	15	0,00	4,72	8.225 ± 944	74%
2	25	15	25	6,22 ± 0,5	0,78	347,90	87,5	12,5	0,00	7,18	5.833 ± 1.168	82%
3	50	5	25	6,19 ± 0,5	0,81	29,56	92,5	7,5	0,00	2,71	3.972 ± 118	87%
4	50	15	25	5,18 ± 0,5	1,82	261,08	95	5	24,23	3,60	3.877 ± 2017	88%
5	25	5	35	6,28 ± 0,5	0,72	2,08	95	5	69,44	0,54	6.513 ± 453	79%
6	25	15	35	7,02 ± 0,5	0,05	2,29	90	10	1,03	0,00	4.632 ± 12	85%
7	50	5	35	7,03 ± 0,5	0,03	18,47	95	5	34,08	0,00	4.424 ± 756	86%
8	50	15	35	5,69 ± 0,5	1,31	123,15	95	5	17,23	0,00	4.228 ± 255	87%
9	0	10	30	6,38 ± 0,5	0,62	215,51	85	15	4,43	0,00	10.162,50 ± 1.500	68%
10	0	10	30	6,5 ± 0,5	0,50	73,89	90	10	0,00	0,00	18.893,75 ± 1.595	40%
11	0	10	30	5,56 ± 0,5	1,44	231,52	87,5	12,5	0,00	0,00	17.925,00 ± 1.480	43%

No presente experimento, as menores taxas de produção de biogás foram obtidas nos ensaios realizados à 35 °C. De acordo Soares (1990), o grupo de bactérias metanogênicas são os que mais sofrem com a influência da temperatura, pois apresentam um intervalo de temperatura muito restrito de operação, podendo causar o aumento de ácidos voláteis em baixas temperaturas, e, conseqüentemente, uma queda de pH.

Nota-se que nos ensaios 02 e 04, que foram conduzidos na temperatura de 25 °C, a proporção maior de inóculo influenciou positivamente na produção de biogás. Enquanto que, no ensaio 02, a proporção menor de diluição (25%) favoreceu ainda mais a produção de biogás, atingindo um aumento de 25 % no volume de biogás gerado, se comparado com o ensaio 04.

No ensaio 2 foi utilizando 150 mL de vinhaça bruta, adicionado 50 mL de água destilada, em reator com 250 mL de volume total. Dessa forma, para cada mL de vinhaça bruta foi possível obter em torno de 0,036 g de biogás. Morell e colaboradores (2018), estudando a influência da matéria prima na produção de biogás por diferentes tipos de vinhaça, obtiveram um volume de biogás acumulado entre 127 mL e 200 mL nos ensaios utilizando a vinhaça de cana de açúcar em reatores de 120 mL com 10 mL de inóculo de efluente de suinocultura.

Todos os processos de biodigestão da vinhaça foram iniciados com o pH neutralizado, e todos sofreram uma redução de pH ao final do processo. De acordo a Tabela 7, nota-se que essa redução variou entre 0,03 a 1,88 durante o período de incubação. Essa redução no pH ocorre devido à produção de substâncias ácidas na fase acidogênica. Para Silva & Abud (2016), essa produção de substâncias ácidas pode ser atribuída ao fato de que a vinhaça de cana não contém matéria orgânica recalcitrante, como celulose, hemicelulose ou lignina, além, também, de passar por temperaturas elevadas (104 - 107 °C) no processo de destilação.

Os ensaios 01, 04, 08 e 11 tiveram as maiores reduções do pH, atingindo os valores finais de 5,91; 5,18; 5,69 e 5,56, respectivamente. O processo de biodigestão é severamente inibido se o pH decresce para valores inferiores a 6,0 ou aumento acima de 8,5 (WEILAND, 2010). Segundo Deublein e Steinjauser (2011), quando o pH diminui, a produção de ácidos orgânicos leva a uma futura redução do pH pelas bactérias hidrolíticas e pode causar a interrupção do processo de fermentação (DEUBLEIN; STEINJAUSER, 2008).

De acordo com Aquino & Chernicharo (2005), em estudo que avaliaram causas e estratégias de controle em reatores anaeróbios sob estresse, apontam que a inibição dos microrganismos sintróficos pela acumulação de produtos acidogênicos levará a uma contínua acumulação de ácidos graxos voláteis, o que contribuirá para a diminuição de alcalinidade e decréscimo do pH. Essa redução do pH afetará principalmente o crescimento de

microrganismos metanogênicos e sintróficos, compondo o problema de acumulação de ácidos graxos voláteis e podendo levar à falha do processo.

As colunas de 08 a 11, da Tabela 7, apresenta a composição do biogás em relação aos percentuais de metano e dióxido de carbono e as quantidades de amônia e ácido sulfídrico. De acordo com Starr et al (2012), a proporção de cada gás na mistura do biogás depende de vários parâmetros, como o tipo do biodigestor e o substrato utilizado, sendo basicamente constituído de metano, dióxido de carbono, oxigênio, nitrogênio, água e ácido sulfídrico.

Segundo Drosig (2013), a composição do biogás é um parâmetro útil para o monitoramento do processo. Uma diminuição no teor de metano pode ser um primeiro sinal de sobrecarga orgânica. Do mesmo modo, um aumento súbito de H₂S pode provocar instabilidade do processo. Nos ensaios realizados, o conteúdo de CO₂ variou entre 2,5% e 15%, indicando um rendimento teórico de CH₄ de 85 a 97,5% (Tabela 7). Segundo Silva & Abud (2016), essa redução de CO₂ poderia ser explicado pelo fato de que o gás carbônico é utilizado como um substrato para a síntese de metano.

Nos ensaios 04, 05, 07 e 08, tiveram um rendimento teórico de metano de 95%, e o ensaio 03 teve 92,5%; já os ensaios 06 e 10 tiveram 90%, os experimentos 02 e 11, 87,2% de CH₄ e os 01 e 09, 85% de CH₄. Estes valores foram superiores aos obtidos por Rajendran *et al.* (2012), Amon *et al.* (2007) e Bouallagui *et al.* (2004), que relataram um rendimento médio de CH₄ em processos de biodigestão anaeróbica de 55 - 70%. Nota-se que as variações na diluição da vinhaça, quantidade de esterco e temperatura da biodigestão não houve diferença significativa na composição de metano e dióxido de carbono do biogás gerado, mas sim no volume do biogás.

A produção de biogás a partir da biodigestão em m³ DQO⁻¹ depende da composição do substrato. O valor calorífico do biogás varia, em torno de 22,5 a 25 MJ m³, assumindo o metano com cerca de 35.800 kJ m³. Isso significa de 6,25 a 10 kWh m³. Portanto, a potencialidade do biogás é melhor demonstrada quando este é tratado (remoção de CO₂) e seu poder calorífico pode atingir 60% do valor calorífico do gás natural (SALOMON, KARINA RIBEIRO; LORA, 2009). Dessa forma, o biogás obtido apresenta alto poder calorífico devido à sua alta concentração de metano.

Com relação aos componentes indesejáveis no biogás, todos os ensaios apresentaram baixas concentrações de ácido sulfídrico (H₂S) (inferiores a 10 ppmV), e amônia (NH₃) (inferiores a 70 ppmV), como pode ser visualizado na Tabela 7, colunas 10 e 11. As baixas concentrações de gases não comburentes como o ácido sulfídrico, aumenta o potencial energético do biogás, além de facilitar sua compressão e armazenagem.

O gás sulfídrico é produzido no processo de digestão anaeróbia através da quebra de sais de e enxofre presentes na alimentação. A quantidade de H₂S efluente dependerá da composição afluyente. Salomon & Lora (2005) relatam que a vinhaça de cana-de-açúcar pode conter sulfato em níveis de 600 a 760 mg L⁻¹ SO₄. Segundo Kaltschmitt & Streicher (2009), a composição média de ácido sulfídrico no biogás varia de 20 a 20000 ppm.

Traços de gás sulfídrico foi detectado no biogás produzidos nos ensaios 01 ao 05, respectivamente, 4,72; 7,18; 2,71; 3,60 e 0,54 ml m⁻³ (ppmV). Estes baixos valores são favoráveis, pois segundo Salomon (2007), o H₂S, além de ser perigoso ao ambiente por apresentar características tóxicas e corrosivas, pode inibir o processo de biodigestão anaeróbia.

Observa-se que o ácido sulfídrico teve maior ocorrência nos ensaios mantidos na temperatura de 25 °C; isso pode indicar que essa temperatura propiciou a presença de os microrganismos produtores de sulfetos. Por outro lado Park et al (2002), utilizando microrganismo na biofiltração, constatou que o desempenho máximo da atividade de remoção do H₂S no biogás foi atingida em temperaturas entre 30 e 35 °C. Janke e colaboradores (2015) descrevem que a co-digestão da vinhaça com resíduos ricos em lignina e celulose, como é o caso do bagaço, pode acarretar na produção em excesso de ácido sulfídrico.

Em geral, a produção de H₂S em sistemas anaeróbios tratando água residuária é um processo considerado indesejado, dado que sua produção causa uma série de problemas, como toxicidade, corrosão, emissão de compostos odorantes, aumento da DQO no efluente líquido, bem como redução da qualidade e quantidade de biogás.

No biogás gerado neste experimento, houve a presença de amônia nos ensaios 04 ao 09, com concentração variando entre 1.03 a 69,44 ppmV. Estes ensaios, com exceção do ensaio 04, foram mantidos na temperatura de 35 °C, O aumento da temperatura pode ter contribuído para o aumento da concentração de amônia no biogás, e, conseqüentemente, contribuído para a baixa taxa de produção de biogás neste ensaios. O ensaio 5 foi o que apresentou maior concentração de NH₃ e, logo, a menor produção de biogás, 2,08 mL. A amônia é produzida pela degradação biológica da matéria nitrogenada, principalmente na forma de proteínas e ureia (KAYHANIAN, 1999). Entre os quatro tipos de microrganismos anaeróbios, os metanogênicos são os menos tolerantes e os mais prováveis de cessar o crescimento devido à inibição da amônia (KAYHANIAN, 1994). Com o aumento do pH ou da temperatura, a porcentagem de nitrogênio amoniacal apresenta amônia livre (NH_{3(aq)}). A amônia livre é considerada a principal causa de inibição, uma vez que passa livremente através da membrana celular dos microrganismos (CHEN, Y.; CHENG; CREAMER, 2008b).

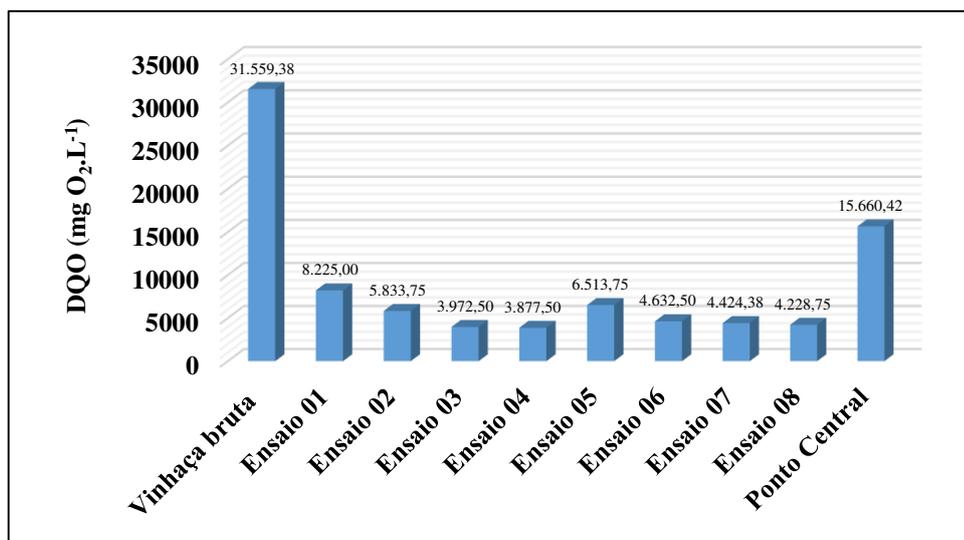
Segundo Kabdasli *et al.* (2000), para remover a amônia do substrato, dois métodos físico-químicos podem ser utilizados: remoção de ar e precipitação química. Ambos provaram ser tecnicamente viáveis em altas concentrações de amônia e em uma complexa matriz de efluentes. Uma abordagem comum à inibição da amônia depende da diluição do esterco a um nível total de sólidos de 0,5 a 3,0%. No entanto, o aumento resultante no volume de resíduos que deve ser processado torna este método economicamente pouco atraente (CALLAGHAN *et al.*, 2002).

Na Tabela 7, os valores de demanda química de oxigênio ao final da biodigestão e o percentual de remoção de DQO são apresentados nas colunas 12 e 13. A demanda química de oxigênio nos 11 ensaios foram, respectivamente, 8.225, 5.833, 3.972, 3.877, 6.513, 4.632, 4.424, 4.228, 10.162, 18.893 e 17.925 mg O₂ L⁻¹.

A vinhaça de cachaça *in natura* apresentou uma DQO de 31.559 mg O₂ L⁻¹. Este valor está de acordo com os estudos de Rossette (1987), na qual relata que a DQO da vinhaça pode variar de 20.000 a 35.000 mg O₂ L⁻¹. Segundo Lyra *et al.* (2003), a Demanda Química de Oxigênio do resíduo *in natura* da vinhaça para o uso em fertirrigação apresentou um valor de 21.000 mg O₂ L⁻¹ em seus estudos. Estes altos valores de DQO prejudica o crescimento das plantas, especialmente em solos pobres.

O Gráfico 5 apresenta os valores da DQO na vinhaça bruta, ou seja, antes do processo de biodigestão e após a biodigestão, vinhaça tratada.

Gráfico 5 – Comparação da DQO da vinhaça bruta e vinhaça tratada



Na digestão anaeróbia, o material orgânico que é representado pelo valor da DQO foi convertido em biogás. Dessa maneira, a matéria orgânica do substrato foi decomposta por microrganismos durante o processo de fermentação no digestor. O valor da percentagem de

decomposição da DQO é chamado de remoção de DQO (TUNES, 2017). De acordo com as verificações, pode-se observar na Tabela 7 e no Gráfico 5 que foram obtidas eficiências de remoção de DQO de 74, 82, 87, 88, 79, 85, 86, 87, 68, 40 e 43% nos onze ensaios, respectivamente. Nota-se, ainda, que os menores valores de remoção foram obtidos nos pontos centrais, uma média de 50%. Nestes ensaios a vinhaça foi utilizada sem diluição, ou seja, in natura. Por outro lado, as melhores remoções da DQO foram alcançadas nos ensaios 03, 04, 07 e 08, onde a biodigestão foi realizada utilizando uma diluição de 50% na vinhaça. Logo, verifica-se que a diluição do substrato foi um fator que contribuiu positivamente para a degradação da matéria orgânica pelos microrganismos envolvidos no processo de biodigestão.

Conforme Rabelo (2010), a elevada remoção se deu devido à produção de gás, ou seja, grande parte da matéria orgânica presente nestes reatores foi consumida. Neste estudo, a eficiência de remoção de DQO nos ensaios variou de 40 a 89%, tendo uma média de 74% de redução da DQO. A diminuição deste parâmetro também é relatada por outros autores.

Valores de remoção de DQO muito próximos aos obtidos neste estudo foram obtidos por Pompermayer e Junior (2000) ao avaliar a biodigestão da vinhaça, onde conseguiram taxas de remoção de DQO de 72%. Já Tian *et al.* (2013) produziram biogás utilizando somente vinhaça como substrato, alcançaram taxas de remoção de DQO de 80 %.

Pugliano e colaboradores (2014), utilizando reatores UASB para biodigestão de vinhaça, operando na faixa de temperatura mesofílica, alcançaram eficiência de remoção de DQO de 54 a 60 %. Já Silva & Abud (2016), também no tratamento de vinhaça, obtiveram redução de DQO e teores sólidos totais de 54 a 83% e 52 a 87%, respectivamente, com tempo de retenção hidráulico de 23 dias. Tunes (2017), utilizando um reator UASB para tratamentos de efluentes orgânicos, apresentou eficiência de remoção de DQO de 71% para carga orgânica volumétrica.

Segundo Wilkie, Riedesel e Owens (2000), é possível obter uma eficiência de remoção de DQO superior a 70% com a digestão mesofílica, bem como um rendimento médio de metano superior a 0,25 m³ /kg DQO. Santos e colaboradores (2018) estudaram a produção de biogás em reator UASB em série tratando vinhaça suplementada com a torta de filtro, e foram obtidas eficiências de remoção de DQO de até 41%.

Dessa forma, a biodigestão anaeróbica da vinhaça mostrou-se uma eficiente alternativa para tratamento do resíduo, além do sub-aproveitamento do biogás. O biogás gerado a partir da biodigestão anaeróbica da vinhaça pode ser usado na queima direta do metano para

substituir o gás de cozinha ou para geração de calor e eletricidade nas propriedades rurais produtoras de cachaça artesanal.

6.4 Otimização da produção de biogás

Com a realização dos ensaios, foi possível observar que os ensaios que obtiveram uma maior produção de biogás foram os ensaios 02 e 04, respectivamente, com 347,90 e 261,08 mL de biogás formado num período de 25 dias. Ambos possuíam um inóculo com concentração de 300 g.L⁻¹ de esterco bovino. Entretanto, faz-se necessário otimizar o processo para encontrar as melhores condições para a biodigestão de vinhaça de cachaça de acordo com um estudo matemático, ou seja, qual os melhores valores das variáveis estudadas: concentração de inóculo.

Otimizar significa encontrar os valores das variáveis que irão produzir a melhor resposta desejada, isto é, encontrar a região ótima na superfície definida pelos fatores. Isso indicará com quais os valores de variáveis irá se obter o melhor desempenho na produção de biogás. Para o otimização do experimento, fez-se o gráfico de superfície 3D e 2D, no software Estática, Figuras 11 e 12.

Os gráficos de superfície foram construídos relacionando a correção da diluição da vinhaça e concentração de inóculo na produção de biogás para uma temperatura de 25 °C (ponto central). Nota-se que o área vermelha é onde teremos o maior volume de biogás, região dos valores críticos. Dessa forma, de acordo o modelo proposto, na região vermelho escuro, estará localizado o ponto ótimo para a biodigestão da vinhaça para se alcançar o maior volume de biogás, que é na faixa de 22 a 33 % de concentração de inóculo e sem diluição da vinhaça.

A equação (8) representa o modelo matemático do modelo proposto, onde Z é o volume de biogás, x a concentração de inoculo, e y a diluição da vinhaça. Os coeficientes detalhado deste modelo está demonstrado no Anexo I.

$$Z_{(x,y)} = 151,523 + 65,80x - 0,732x^2 - 16,451y - 1,02 \times 25x + 0,0527xy + 0,518 \times 25y - 321,84 \quad (8)$$

Figura 11 – Gráfico de Superfície 3D

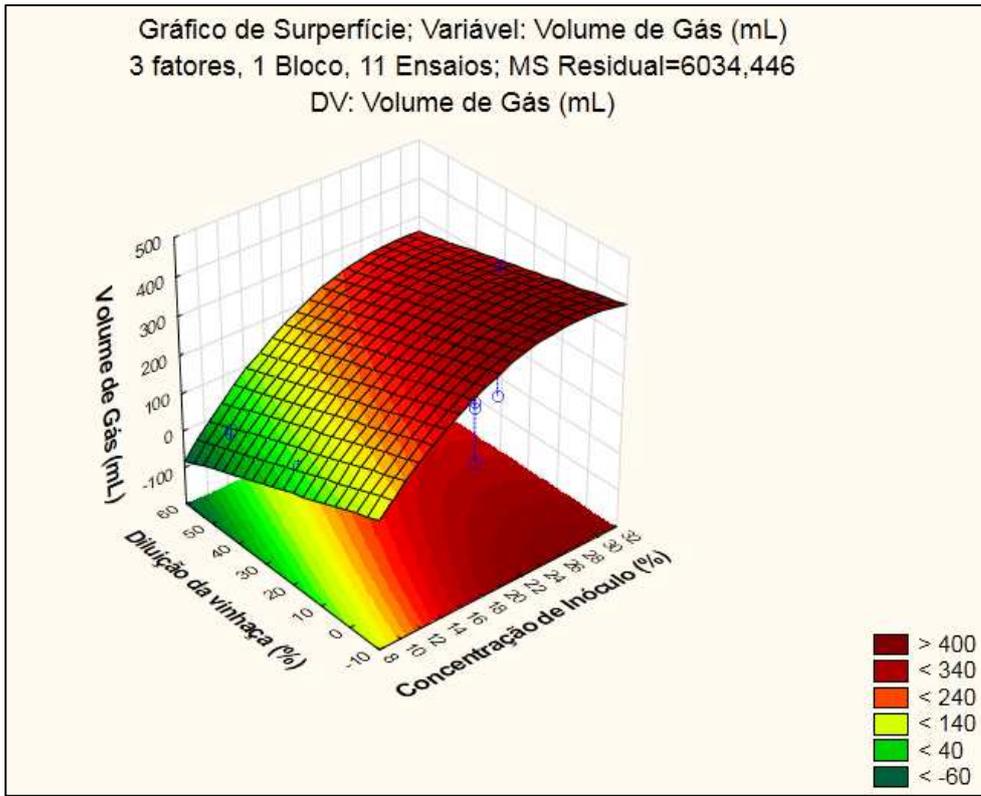
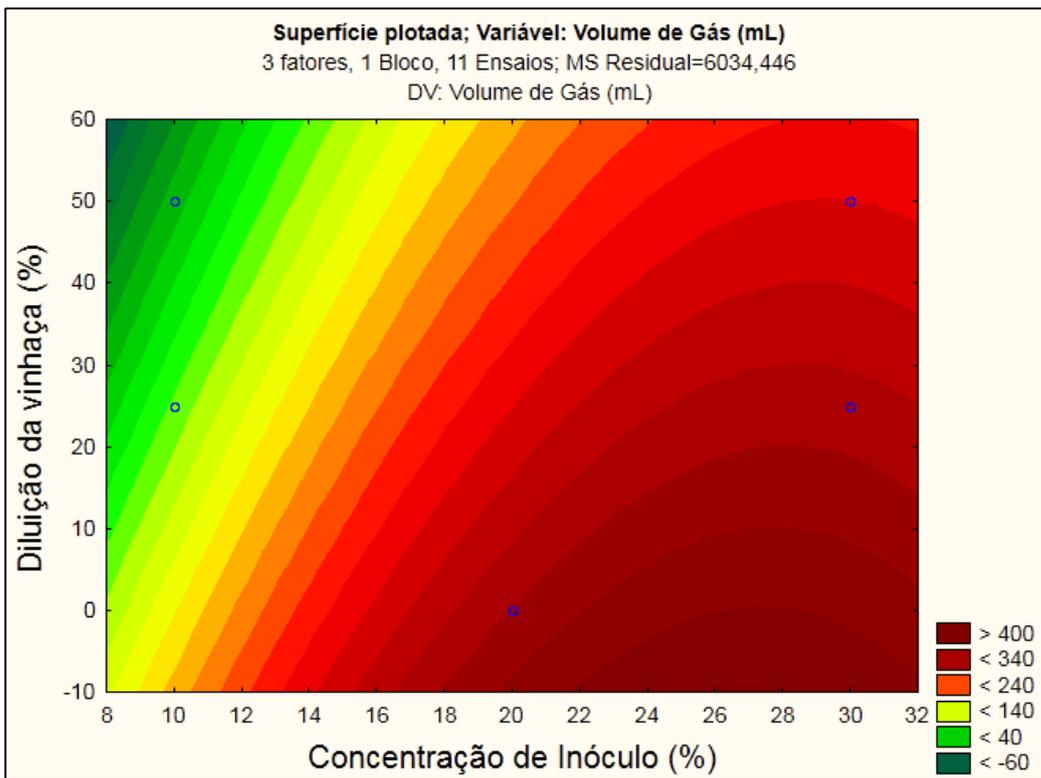
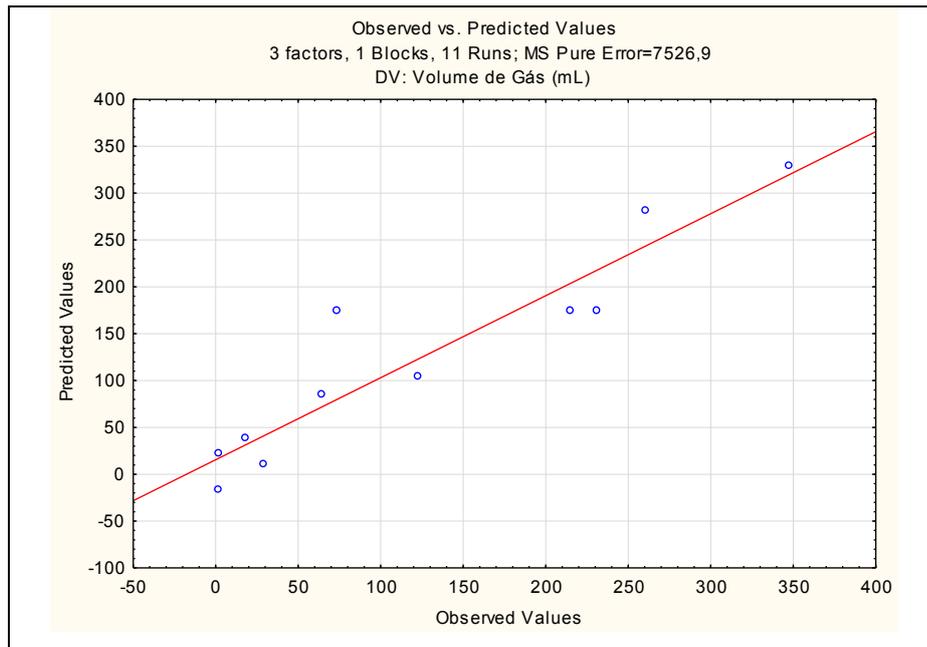


Figura 12 – Gráfico de Superfície 2D



A Figura 13 apresenta o gráfico dos valores previstos e obtidos, dado uma resposta se o modelo está bem calibrado. A linha vermelha representa a equação do modelo matemático do experimento, e os pontos azuis são os resultados obtidos. Logo, quando mais próximo estes pontos azuis estiverem da linha vermelha, mais eficiente é esse modelo. Pelo gráfico, nota-se que o modelo obtido foi bem preditivo, o que demonstra sua confiabilidade.

Figura 13 – Gráfico dos valores preditos e observados



6.5 II Estágio: Ensaios da Biodigestão no biorreator anaeróbico

Os resultados da caracterização físico-química da vinhaça e dos produtos da biodigestão estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Caracterização físico-química

Características	Vinhaça Bruta	Ensaio 01b*	Ensaio 02b*
pH	3,7 ± 0,00	4,85 ± 0,00	6,15 ± 0,00
Umidade (%)	95,75 ± 0,41	98,89 ± 0,40	99,12 ± 0,01
Matéria Seca (%)	4,25 ± 0,41	1,10 ± 0,40	0,87 ± 0,01
Cinzas (%)	25,33 ± 3,38	38,06 ± 0,65	39,78 ± 2,66
ST (g L ⁻¹)	31,57 ± 1,78	6,83 ± 2,53	5,23 ± 0,21
STF (g L ⁻¹)	10,14 ± 1,34	4,19 ± 1,52	3,46 ± 0,25
STV (g L ⁻¹)	21,43 ± 0,44	2,64 ± 1,01	1,77 ± 0,23
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	31559 ± 1179	4665 ± 815	4012 ± 296

* Dados do subproduto da biodigestão da vinhaça.

Neste experimento, vinhaça bruta utilizada apresentou pH de 3,7. O processo de biodigestão foi iniciado com pH 7. Ao final, se obteve um pH de 4,85 no ensaio 01b e 6,15 no

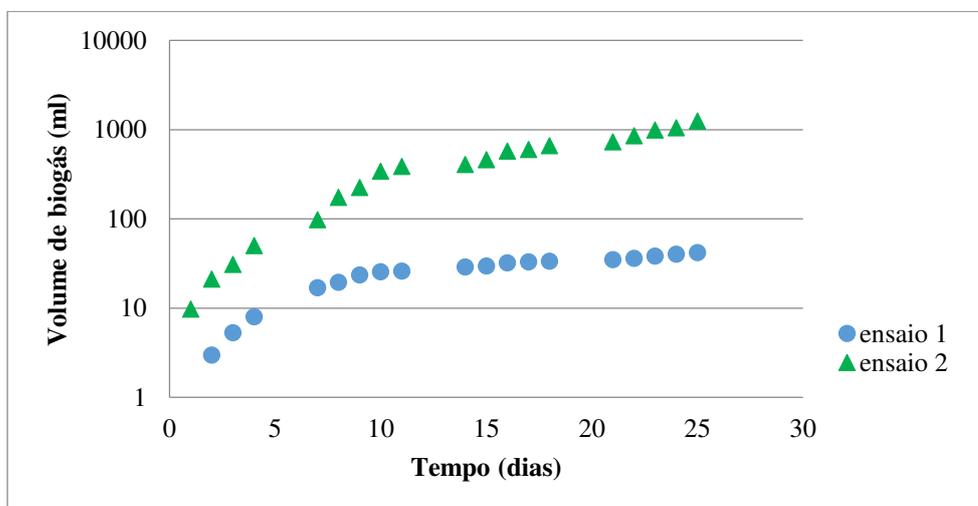
ensaio 02b. O não controle do pH no ensaio 01b, resultando numa diminuição de 30% deste durante o período de incubação, pode ter ocasionado a baixa produção de biogás no experimento. O processo de biodigestão é severamente inibido se o pH decresce para valores inferiores a 6,0.

Conforme observado na Tabela 8, a vinhaça utilizada nessa fase do estudo e os subprodutos dos ensaios 01b e 02b apresentaram um percentual de umidade, respectivamente, de 95,75; 98,89 e 99,12%. E um percentual de matéria seca de 4,25; 1,1% e 0,87%, respectivamente. Esse aumento da umidade nos subprodutos dos ensaios ocorreu devido a diluição da vinhaça.

Após o processo de biodigestão anaeróbia da vinhaça, houve redução considerável da DQO e elevação do pH final do subproduto. No ensaio 01b, a diminuição na DQO foi de 85,21% e no ensaio 02b foi 87,28%. Esse fato se deve a conversão da matéria orgânica em biogás. Essa conversão da matéria orgânica pode ser observada, também, na redução do conteúdo dos sólidos voláteis. A vinhaça bruta apresentou 21,43 g L⁻¹ de SVT, já os subprodutos dos ensaios 01b e 02b tiveram, respectivamente, 2,64 e 1,77 g L⁻¹ de SVT. Os sólidos voláteis representam a quantidade de sólidos orgânicos presentes na amostra. Logo, quanto maior for o conteúdo de sólidos voláteis, maior será a produção de biogás. O ensaio 02b teve uma maior redução dos sólidos orgânicos, cerca de 91%, e, conseqüentemente, este ensaio teve uma maior produção de biogás, se comparado com o ensaio 01b.

O Gráfico 06 apresenta a produção do biogás ao longo do período de incubação nos ensaios 01b e 02b.

Gráfico 6 – Produção de Biogás



Fazendo uma análise comparativa dos ensaios 01b e 02b, pode-se verificar que, ao ser realizar o controle do pH e aumentar a temperatura média em 6 °C, houve um aumento em 29 vezes no volume de biogás produzido entre um ensaio e outro. Isso comprova que o controle de pH influencia positivamente no processo de biodigestão, sendo está variável relevante na manutenção da produtividade de biogás. Dessa forma, o controle do pH foi importante para o aumento da produtividade de biogás, bem como, a temperatura ambiente influenciou no resultado, uma vez que os microrganismos apresentam parâmetros ótimos para o crescimento.

Em termos de aplicabilidade, devido ao baixo custo e facilidade de realização, o controle do pH pode ser melhor estudado e adaptado ao sistema de biodigestão em larga escala, bem como a temperatura, e assim viabilizar o tratamento da vinhaça pelos pequenos produtores de cachaça, destinando de forma sustentável os resíduos da produção.

A Tabela 9 apresenta as configurações do processo e composição do biogás gerado nos dois ensaios realizados no biorreator automatizado.

Tabela 9 - Resultados da produção e composição do biogás

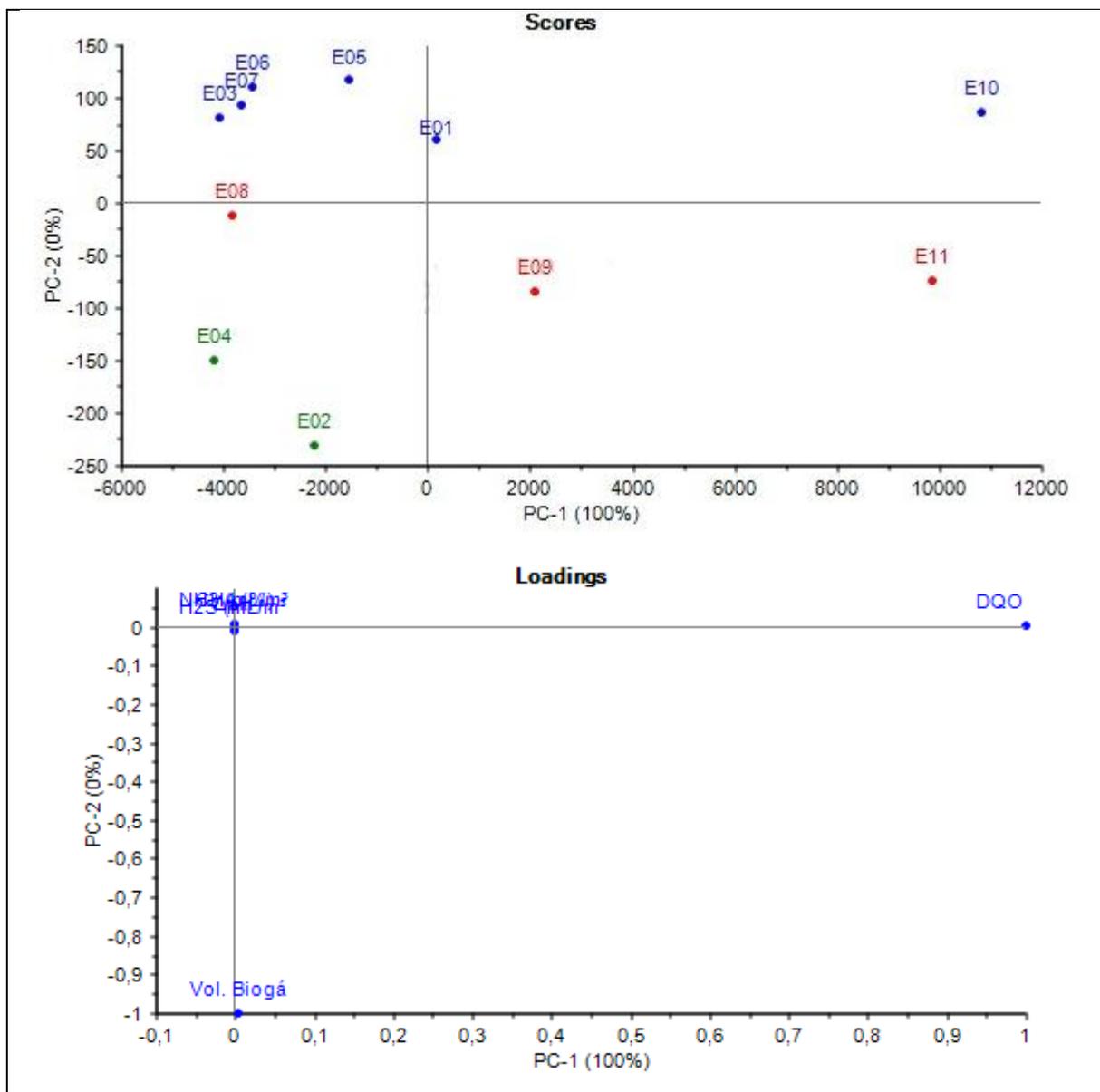
Parâmetros	Ensaio 01b	Ensaio 02b
Volume de Vinhaça (L)	2	2
Diluição	50%	50%
Inoculo (g L ⁻¹)	60	60
pH	Não controlado	Controlado (7)
Temperatura (°C)	20	26
Volume de gás produzido (mL)	42	1245
CH ₄ (%)	87,5	95
CO ₂ (%)	12,5	5
NH ₃ (ppmV)	33,4	11,65
H ₂ S (ppmV)	9,84	2,07

Ao final do período de incubação, no ensaio 01b foi obtido 42 mL de biogás, composto por, aproximadamente, 12,5% de CO₂, 87,5% de CH₄, 33,4 ppmV de NH₃ e 9,84 ppmV de H₂S₄. Já no segundo ensaio (02b), obteve-se 1245 mL de biogás com 95% de CH₄, 5% de CO₂, 11,65 ppmV de NH₃ e 2,07 ppmV de H₂S₄.

6.6 Análises Quimiométricas

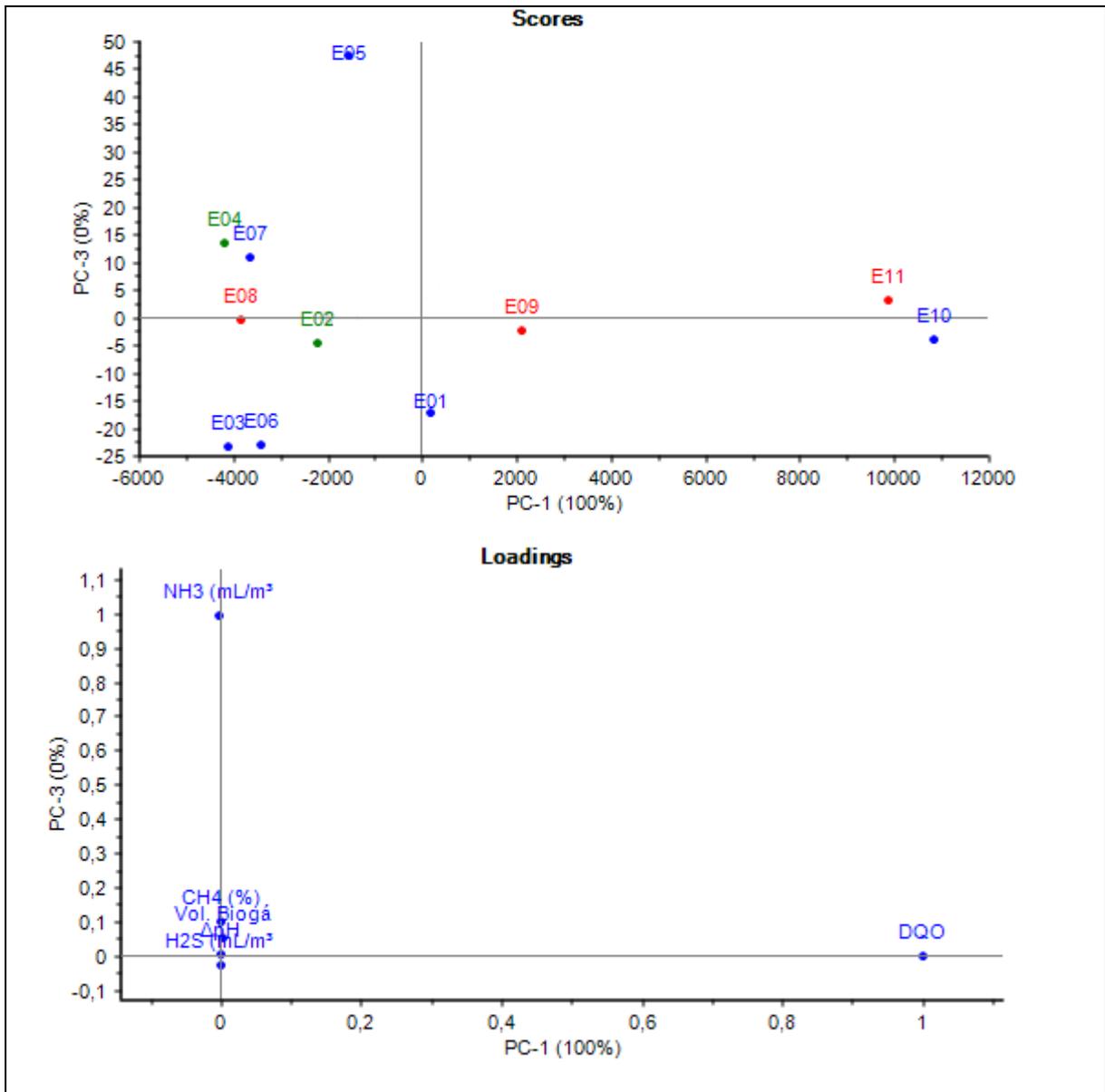
Os gráficos demonstrados na Figura 14 apresentam a correlação do volume de biogás gerado com o percentual de CH_4 na composição do biogás. O gráfico dos *scores* das duas primeiras componentes principais explica a variância total dos dados, sendo que 100% é explicada por PC1. Ao fazer um agrupamento dos ensaios no gráfico dos *scores*, observa-se que os ensaios 02 e 04 foram agrupados juntos, confirmando a aproximação de ambos, sendo o volume de biogás o fator de maior peso em PC1, o que pode ser observado pelo gráfico dos *loadings*.

Figura 14 - Gráfico dos *scores* e *loadings* das duas primeiras componentes principais



Na análise de componente principal (PCA) avaliando a correlação do volume biogás gerado com a DQO, Figura 15, a PC1 foi responsável por explicar 100% da variação dos dados, formando três agrupamentos, contendo os ensaios 01, 03, 05, 06, 07 e 10 em um grupo; o segundo agrupou os ensaios 02 e 04, e o ultimo, os ensaios 08, 09 e 10. Os grupos com coloração vermelha e verde estão contribuindo negativamente em PC2. O gráfico de *Loadings*, dos pesos para PC1 e PC2, mostrado no segundo gráfico desta figura, indica que a DQO é o principal fator de peso na variância em PC1.

Figura 15 - Gráfico dos *scores* e *loadings* das duas primeiras componentes principais



Com os resultados obtidos nesse trabalho, observa-se que os ensaios 02 e 04, que tiveram a melhor produção de biogás, apresentaram aproximação na influência das variáveis estudadas. No entanto, são necessários estudos mais aprofundados que levem em consideração a variação de outros parâmetros para identificação daqueles parâmetros que possuem influência direta na produção de biogás.

6.7 III Estágio: Construção do biodigestor

O desenvolvimento do biodigestor para tratamento de vinhaça de cachaça é uma tecnologia que contribui para criar possibilidades de permanência de trabalhadores no meio rural, propiciando um melhor aproveitamento e tratamento dos resíduos, além de contribuir com desenvolvimento sustentável.

Em relação ao uso do biodigestor desenvolvido para ser empregado nas unidades produtoras de cachaça artesanal, ainda está em fase de validação, pois existem muitas melhorias e modificações à se fazer, como por exemplo, instalar um coletor de amostra e adaptar uma entrada para correção do pH durante o período de incubação, sem interromper o processo.

O biodigestor construído possui muitas vantagens, entre as quais, resumidamente, destacam-se a fácil aquisição, baixo custo, fácil manuseio e versatilidade. O emprego deste nas propriedades rurais produtoras de cachaça para geração de biogás e/ou eletricidade é uma forma de incluir os produtores no meio tecnológico, favorecendo assim, os que muitas vezes estão à margem dos benefícios do desenvolvimento científico e tecnológico.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As aplicações de novas fontes de tecnologias para produção de energia renovável, combinadas com fontes de energia convencionais, no caso da produção de bioetanol, desempenham um papel crucial no processamento de biomassa para geração de bioenergia. Dessa forma, a utilização da vinhaça provinda da fabricação de cachaça artesanal, matéria-prima consideradas desperdício, resíduo, se mostrou eficiente para a produção de biogás e no tratamento da vinhaça.

A vinhaça de cachaça artesanal foi biodigerida em condições anaeróbicas mesófilas com redução de DQO. Os ensaios que obtiveram uma maior produção de biogás foram os ensaios 02 e 04, respectivamente, com 347,90 e 261,08 mL de biogás formado num período de 25 dias; ambos possuíam um inóculo com concentração de 300 g.L⁻¹ de esterco bovino. Dessa forma, as melhores condições operacionais para a biodigestão foram a temperatura de 25 °C, concentração de inóculo de 300 g.L⁻¹ com 50% de diluição da vinhaça e pH de 6 a 7, pois apresentou maior produção de biogás e melhor estabilidade do processo.

Quanto à remoção de carga orgânica, os ensaios mostraram-se uma boa alternativa para o tratamento e disposição da vinhaça, visto que a eficiente redução de carga orgânica na vinhaça biodigerida, a média em torno de 74%, evidencia a transformação desta matéria orgânica em biogás. Estas descobertas enfatizam o uso promissor da vinhaça de cachaça biodigerida como biofertilizante para aplicações agrícolas, sem contaminar o solo.

O biogás obtido nesse trabalho apresentou, em sua composição, uma média de 90% de metano e 10% de CO₂. Este biogás pode ser usado na própria fábrica de produção de cachaça para suprir suas próprias demandas de energia elétrica, ou realizar a queima do metano para gerar calor nos estágios de fermentação ou destilação, como por exemplo, aquecer o mosto e destilar a cachaça, ou até mesmo, para manter o biodigestor aquecido (no caso de optar por aquecer o biodigestor ao longo do processo). Além disso, existe a possibilidade de vender o excedente de energia elétrica para concessionárias de energia.

Em todos os ensaios, o biogás produzido apresentou baixas concentrações de gases não combustíveis como o ácido sulfídrico e amônia. Isso aumenta o potencial energético do biogás, além de facilitar sua compressão e armazenagem.

Na etapa de otimização da produção de biogás, apontou maior viabilidade em se realizar a biodigestão da vinhaça com as seguintes condições operacionais: temperatura de 25 °C, sem diluição da vinhaça e com 22 a 33 % v/v de concentração de inóculo.

Durante o período de incubação, notou-se a mudança de coloração do meio conforme ocorria uma redução de pH e a degradação da matéria orgânica. Tal fato, carece de mais estudos para, se possível, futuramente desenvolver uma escala de cores relacionando a tonalidade do substrato com a degradação da matéria orgânica e redução da DQO. Esta tabela de cores poderia auxiliar os produtores na condução do processo de biodigestão da vinhaça.

O biodigestor construído, como se viu, tem muitas vantagens, entre quais, destacam-se a fácil aquisição, baixo custo, fácil manuseio e versatilidade, pois no período da entressafra da produção da bebida, os produtores podem utilizá-lo com outro substrato, tais como, resto alimentares, estrume bovino ou suíno, etc.

As vantagens da digestão anaeróbica da vinhaça são inúmeras, conforme apresentado neste estudo, e a produção do biogás e/ou metano pode ser usado como fonte de energia. Este estudo se adéqua no conceito de biorrefinaria, integrando a produção de cachaça artesanal, a recuperação de energia e o uso de efluente tratado na fertirrigação de plantações de cana-de-açúcar, se tornando uma atraente alternativa para os produtores de cachaça artesanal.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

O processo de biodigestão da vinhaça provinda da fabricação cachaça artesanal, para a produção de biogás e tratamento deste subproduto industrial, apresentado nesta dissertação deu apenas os seus primeiros passos, com a demonstração de suas etapas e da qualidade do biogás final.

Em relação aos estudos fundamentais, é necessário compreender melhor e modelar o processo de biodigestão, tanto na vertente de bioquímica como microbiológica. É necessário realizar um estudo microbiológico mais aprofundado, com intuito de identificar e caracterizar os microrganismos envolvidos no processo, bem como a microbiota presente no inóculo de estrume bovino.

Ainda, relativamente ao processo de biodigestão, é necessário realizar mais estudos de outros tipos de inóculos e sua eficiência, como por exemplo dejetos suínos e lodo de estação de tratamentos de esgotos. Bem como, estudar novos parâmetros operacionais que permitam um melhor rendimento de biogás, como por exemplo o uso de tampões para manutenção do pH do sistema, entre outros.

Em relação ao biodigestor projetado e construído para ser empregado nas unidades produtoras de cachaça artesanal, existem muitas melhorias e modificações à se fazer, sobretudo na perspectiva de torná-lo mais adaptável as rotinas de um processo de digestão, com por exemplo instalar um coletor de amostra e adaptar uma entrada para a manutenção e correção do pH durante o período de incubação, sem interromper o processo. Instalar um sistema de visualização do meio para análise colorimétrica da biodigestão.

Dessa forma, este estudo demonstra uma alternativa para se integrar a produção de cachaça com geração de energia, aumento a renda dos produtores e preservação o meio ambiente.

Por fim, exterioriza a esperança de que este trabalho possa cumprir sua missão e seus objetivos, vindo a tornar-se um guia de orientação e consulta a ser utilizado por pesquisadores e pelos produtores de cachaça artesanal. Estes que, frequentemente, se deparam com a difícil tarefa de produzir uma bebida de qualidade, mantendo as tradições e fazendo o manejo adequado dos seus resíduos.

Quanto a mim, é com muito orgulho que participei no nascimento deste projeto e dele fiz parte durante 4 anos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, P. M. et al. Production of *Rhizopus oligosporus* protein by solid-state fermentation of apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 91, 2006.

AMON, T. et al. Biogas production from maize and dairy cattle manure—influence of biomass composition on the methane yield. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 118, n. 1-4, p. 173-182, 2007.

ANDRADE, M. A. N.; RANZI, T. J. D.; MUNIZ, R. N. Biodigestores rurais no contexto da atual crise de energia elétrica brasileira e na perspectiva da sustentabilidade ambiental. **Proceedings of the 4th Encontro de Energia no Meio Rural**, 2002.

ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water science and technology**, v. 59, n. 5, p. 927-934, 2009.

AOAC. Official methods of analysis of AOAC. International, 1990. Association of Official Analytical Chemist International Washington, DC.

APHA, A. P. H. A. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater **American Public Health Association** v. 22, 2012.

AQUINO, S. F. D.; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Eng. sanit. ambient.**, v. 10, n.º. 2, p. 152-161, 2005.

AZEVEDO, S. M. D. et al. Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 618-624, 2003.

BAEZ-SMITH, C. Anaerobic digestion of vinasse for the production of methane in the sugar cane distillery. SPRI Conference on Sugar Processing, Loxahatchee, Florida, USA, 2006. p.268-287.

BARCELOS, B. R. D. Avaliação de diferentes inóculos na digestão anaeróbia da fração orgânica de resíduos sólidos domésticos. 2009.

BARROS, R.; VIÉGAS, P.; HOLANDA, F. Estudo dos Efeitos da Aplicação da Vinhaça na Qualidade de Solos em Cultivo de Cana-de-Açúcar (*Saccharum officinarum* L.), eo Uso de Indicadores no Sistema de Produção. 2009.

BARROS, V. G. D.; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. D. Biomethane production from vinasse in upflow anaerobic sludge blanket reactors inoculated with granular sludge. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 628-639, 2016/07/01/ 2016.

BAUMANN, W.; KARPE, H. J. **Wastewater Treatment and Excreta Disposal in Developing Countries**. German Appropriate Technology Exchange, 1980. ISBN 3880851514.

BORGES, A. F.; TAKEMOTO, S. N. C. Inovação no setor de cachaça artesanal: estudo de caso. **Revista Pensamento Contemporâneo em Administração**, v. 13, n. 1, p. 79-99, 2019.

BOUALLAGUI, H. et al. Two-phases anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: bioreactors performance. **Biochemical Engineering Journal**, v. 21, n. 2, p. 193-197, 2004.

BRAMLEY, J. et al. Agricultural biogas in the United States. A Market Assessment. **Tufts University Urban & Environmental Policy & Planning.–Field Project Team**, v. 6, 2011.

BRASIL. MINISTERIO DA AGRICULTURA, P. E. A. **Instrução Normativa nº 13 - de 29 de Junho de 2005**. BRASIL, D. O. D. R. F. D. 2005.

BUENO, R. D. F. Comparação entre biodigestores operados em escala piloto para produção de biogás alimentado com estrume bovino. **Holos Environment**, v. 10, n. 1, p. 111-125, 2010.

CALLAGHAN, F. J. et al. Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 22, n. 1, p. 71-77, 2002/01/01/ 2002.

CALZA, L. F. et al. Avaliação dos custos de implantação de biodigestores e da energia produzida pelo biogás. **Engenharia Agrícola**, v. 35, n. 6, 2016.

CAMPELO, E. A. P. Agronegócio da cachaça de alambique de Minas Gerais: panorama econômico e social. **Informe Agropecuário**, v. 23, p. 7-18, 2002.

CAMPOS, C. R. **Monitoramento da microbiota e dos parâmetros físico-químicos em vinhoto**. 2009. 97 (Doutorado). UFLA

CARRILHO, E. N. V. M.; LABUTO, G.; KAMOGAWA, M. Y. Chapter 2 - Destination of Vinasse, a Residue From Alcohol Industry: Resource Recovery and Prevention of Pollution. In: PRASAD, M. N. V. e SHIH, K. (Ed.). **Environmental Materials and Waste**: Academic Press, 2016. p.21-43. ISBN 978-0-12-803837-6.

CASTRO E SILVA, P. **Desempenho de um filtro anaeróbio de fluxo ascendente como unidade de tratamento para efluente da suinocultura**. 2014. 102 Dissertação (Mestrado em Tecnologias e Inovações Ambientais) (mestrado). Universidade Federal de Lavras

CHEN, J. L. et al. Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1523-1534, 2014/12/01/ 2014.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresour Technol**, v. 99, n. 10, p. 4044-4064, 2008a.

_____. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, p. 4044-4064, 2008b.

CHRISTOFOLETTI, C. A. et al. Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2752-2761, 2013.

COELHO, S. T.; PALETTA, C. E. M.; FREITAS, M. A. V. **Medidas mitigadoras para a redução de emissões de gases de efeito estufa na geração termelétrica**. Dupligráfica Ed./ANEEL/CENBIO/BUN/MCT, PNUD, 2000.

CRUZ-SALOMÓN, A. et al. Biogas production from a native beverage vinasse using a modified UASB bioreactor. **Fuel**, v. 198, p. 170-174, 2017/06/15/ 2017.

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

DAMIANO, E. D. S. G. **Tratamento da vinhaça em reator anaeróbio de leiteo fluidificado**. 2005. Universidade de São Paulo

DE BHOWMICK, G.; SARMAH, A. K.; SEN, R. Lignocellulosic biorefinery as a model for sustainable development of biofuels and value added products. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1144-1154, 2018/01/01/ 2018.

DE LUCA BONTURI, G.; VAN DIJK, M. Instalação de biodigestores em pequenas propriedades rurais: análise de vantagens socioambientais. **Revista Ciências do Ambiente On-Line**, v. 8, n. 2, 2012.

DE OLIVEIRA, B. G. et al. Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. **Geoderma**, v. 200, p. 77-84, 2013.

DE VRIEZE, J. et al. Inoculum selection influences the biochemical methane potential of agro-industrial substrates. **Microbial biotechnology**, v. 8, n. 5, p. 776-786, 2015.

DEGANUTTI, R.; PALHACI, M. D. C. J. P.; ROSSI, M. Biodigestores rurais: modelo indiano, chinês e batelada. **Proceedings of the 4th Encontro de Energia no Meio Rural**, 2002.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources: an introduction**. John Wiley & Sons, 2011. ISBN 3527643710.

DIAS, M. F. et al. Metagenomic analysis of a desulphurisation system used to treat biogas from vinasse methanisation. **Bioresour Technol**, v. 205, p. 58-66, Apr 2016.

DROSG, B. **Process monitoring in biogas plants**. IEA Bioenergy Paris, France, 2013. ISBN 1910154024.

ESPANA-GAMBOA, E. et al. Vinasses: characterization and treatments. **Waste management & research**, v. 29, n. 12, p. 1235-1250, 2011.

ESPAÑA-GAMBOA, E. I. et al. Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, p. 82-82, 11/21 07/25/received 11/09/accepted 2012.

FEIJÓ, A.; MACIEL, E. **Cachaça artesanal: do alambique à mesa**. Senac, 2002. ISBN 8574580953.

FEITOSA, P. C. L. **A cachaça como identidade cultural**. 2005. Universidade de Brasília

FERREIRA, C. R. Avaliação da influência da alimentação de biodigestores na produção flexível de biogás. 2017.

FERREIRA, M. M. C. et al. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, p. 724-731, 1999.

FERREIRA, N. A. D. L. et al. Avaliação das concentrações de metano gerado em um biorreator de bancada com base em parâmetros físico-químicos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 3, p. 473-479, 2017.

FERRER, I. et al. Increasing biogas production by thermal (70 C) sludge pre-treatment prior to thermophilic anaerobic digestion. **Biochemical Engineering Journal**, v. 42, n. 2, p. 186-192, 2008.

FICK, K. **Métodos de determinação de minerais em tecidos animais e plantas**. Univ. Florida-Inst. Alimentacao Ciencia Agricola-Centro de Agric. Tropical ..., 1976.

FREIRE, W. J.; CORTEZ, L. A. B. **Vinhaça de cana-de-açúcar**. Agropecuária, 2000. ISBN 8585347589.

FUESS, L. T. **Biodigestão anaeróbia termofílica de vinhaça em sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico para potencialização da recuperação de bioenergia em biorrefinarias de cana-de-açúcar de primeira geração**. 2017. Universidade de São Paulo

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Implications of stillage land disposal: a critical review on the impacts of fertigation. **Journal of environmental management**, v. 145, p. 210-229, 2014.

FUESS, L. T. et al. Diversifying the technological strategies for recovering bioenergy from the two-phase anaerobic digestion of sugarcane vinasse: An integrated techno-economic and environmental approach. **Renewable Energy**, v. 122, p. 674-687, 2018/07/01/ 2018.

GODINHO, M. D. S. et al. Classificação de refrigerantes através de análise de imagens e análise de componentes principais (PCA). **Química Nova**, v. 31, p. 1485-1489, 2008.

GOULARTE, P. G. **Produção de biogás a partir da co-digestão de resíduos da geração de energia**. 2014.

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

JANKE, L. et al. Biogas production from sugarcane waste: assessment on kinetic challenges for process designing. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 9, p. 20685-20703, 2015.

JANKE, L. et al. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresour Technol**, v. 217, p. 10-20, Oct 2016.

JIANG, Z.-P. et al. Effect of long-term vinasse application on physico-chemical properties of sugarcane field soils. **Sugar Tech**, v. 14, n. 4, p. 412-417, 2012.

KABDAŞLI, N. et al. **Ammonia Removal from Young Landfill Leachate by Magnesium Ammonium Phosphate Precipitation and Air Stripping**. 2000. 237

KALTSCHMITT, M.; STREICHER, W. Energie aus biomasse. In: (Ed.). **Regenerative Energien in Österreich**: Springer, 2009. p.339-532.

KARHADKAR, P. P. et al. Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. **Water Research**, v. 21, n. 9, p. 1061-1066, 1987/09/01/ 1987.

KAYHANIAN, M. **Performance of a high solids digestion process under various ammonia concentrations**. 1994. 349-352

_____. **Ammonia Inhibition in High-Solids Biogasification: An Overview and Practical Solutions**. 1999. 355-365

KHALID, A. et al. The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste management**, v. 31, n. 8, p. 1737-1744, 2011.

KOTHARI, R. et al. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 174-195, 2014a.

KOTHARI, R. et al. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 174-195, 2014b.

KUNZ, A.; OLIVEIRA, L. D.; PICCININ, L. S. Manual de análise: Biogás. **Alfakit LTDA e EMBRAPA Suínos e Aves**, 2013.

KWIETNIEWSKA, E.; TYS, J. Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 34, p. 491-500, 2014.

LAMONICA, H. M. Potencial de geração de excedentes de energia elétrica com o biogás produzido a partir da biodigestão da vinhaça na indústria sucro-alcooleira brasileira. **Proceedings of the 6. Encontro de Energia no Meio Rural**, 2006.

LODGE, J. **Methods of Air Sampling and Analysis**. 3. Lewis Publishers, 1989. 379

MALAJOVICH, M. A. Biotecnologia 2011. **Rio de Janeiro, Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT**, 2012.

MAO, C. et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540-555, 2015.

MARCUCCI, L. W. Otimização da produção de biogás em biodigestores batelada. 2018.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOLINO, A. et al. Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. **Fuel**, v. 103, p. 1003-1009, 2013.

MONTAÑÉS, R.; PÉREZ, M.; SOLERA, R. Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation in batch reactors: Effect of pH control. **Chemical Engineering Journal**, v. 255, p. 492-499, 2014.

MORAES, B. S. et al. Reduction in greenhouse gas emissions from vinasse through anaerobic digestion. **Applied Energy**, v. 189, p. 21-30, 2017.

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 888-903, 2015.

MOREDA, I. L. The potential of biogas production in Uruguay. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 54, p. 1580-1591, 2016/02/01/ 2016.

MORELL, P. O.; DOS SANTOS, V. T.; STREMEL, D. P. Influência da Temperatura sobre a Produção de Biogás utilizando a Biodigestão da Vinhaça. **Blucher Biochemistry Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 147-150, 2015.

MORELL, P. O. et al. Influência da Matéria Prima na Produção de Biogás por Diferentes Tipos de Vinhaça. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 7, n. 4, p. 349-358, 2018.

NEVES, N. Produção de hidrogênio e metano via codigestão anaeróbia em reatores de dois estágios a partir de resíduo alimentar e lodo do tratamento de vinhaça. 2016.

NIGRI, E. M. et al. PRODUÇÃO INTEGRADA: Aplicação de Novas Tecnologias e Formas de Gestão Para Diminuição de Custos e Impactos Ambientais no Processo de Produção de Cachaça COF11-0427. 2011.

NOGUEIRA, L. A. H. et al. Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. **Rio de Janeiro, BNDES/CGEE**, 2008.

NOGUEIRA LIZ, C. et al. Produção de cachaça artesanal e seu contexto: um estudo de caso com alambiques do sul de minas gerais. **Revista da UIIPS**, v. 4, n. 4, 2016.

OLIVEIRA, F. Vinhaça: O Futuro da Bioeletricidade, Tecnologia em Biocombustíveis. **Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, SP**, 2012.

PARK, D.-H. et al. Hydrogen sulfide removal utilizing immobilized Thiobacillus sp. IW with Ca-alginate bead. **Biochemical Engineering Journal**, v. 11, n. 2-3, p. 167-173, 2002.

PAULO, C. D. et al. Produção de cachaça artesanal com cepas de leveduras selvagens. **Nativa-Revista de Ciências Sociais do Norte de Mato Grosso**, v. 5, n. 2, 2016.

PENTEADO, M. C. et al. Análise do potencial de geração de biogás a partir da biodigestão anaeróbia de vinhaça e bagaço de cana. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 1, n. 1, p. 26-33, 2018.

PINTO, C. P. Tecnologia da digestão anaeróbia da vinhaça e desenvolvimento sustentável. **São Paulo, Faculdade de engenharia mecânica, Universidade Estadual de Campinas**, 1999.

PINTO, M. P. M. et al. Co-digestion of coffee residues and sugarcane vinasse for biohythane generation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 146-155, 2018/02/01/ 2018.

PIRES, J. R. D. M. et al. Optimization of Protein Production By Candida Utilis In Industrial Vinasse With Applicability In Food. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, p. 13-26, 2018.

POMPERMAYER, R. D. S.; PAULA JUNIOR, D. R. D. Estimativa do potencial brasileiro de produção de biogás através da biodigestão da vinhaça e comparação com outros energéticos. Proceedings of the 3. Encontro de Energia no Meio Rural, 2000. SciELO Brasil.

PUGLIANO, L. M. et al. Produção de biogás a partir da vinhaça e melaço utilizando reatores UASB. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 6, n. 1, 2014.

RAJAGOPAL, R.; MASSÉ, D. I.; SINGH, G. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. **Bioresource technology**, v. 143, p. 632-641, 2013.

RAJENDRAN, K.; ASLANZADEH, S.; TAHERZADEH, M. J. Household biogas digesters—A review. **Energies**, v. 5, n. 8, p. 2911-2942, 2012.

RAJESHWARI, K. et al. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 4, n. 2, p. 135-156, 2000.

ROSSETTO, A. Utilização agrônômica dos subprodutos e resíduos da indústria açucareira e alcooleira. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização. Campinas: Fundação Cargill**, v. 2, p. 435-504, 1987.

SALOMON, K. R. **Avaliação técnico-econômica e ambiental da utilização do biogás proveniente da biodigestão da vinhaça em tecnologias para geração de eletricidade**. 2007. UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ

SALOMON, K. R.; LORA, E. E. S. Estimativa do potencial de geração de energia elétrica para diferentes fontes de biogás no Brasil. **Biomassa & Energia**, v. 2, n. 1, p. 57-67, 2005.

_____. Estimate of the electric energy generating potential for different sources of biogas in Brazil. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 9, p. 1101-1107, 2009.

SANTO, D. S.; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. PRODUÇÃO BIOGÁS EM REATOR UASB EM SÉRIE TRATANDO VINHAÇA E TORTA DE FILTRO. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 10, 2018.

SANTOS, T. D. N.; MEDEIROS, N. V. S.; MENEZES, R. S. C. Proporção de inóculo para biodigestão anaeróbia de vinhaça - adequação de pH. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB (Online)**, v. 6, p. 73-78, 2014.

SATYAWALI, Y.; BALAKRISHNAN, M. Removal of color from biomethanated distillery spentwash by treatment with activated carbons. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 14, p. 2629-2635, 2007/10/01/ 2007.

SHEWANI, A. et al. Assessment of percolation through a solid leach bed in dry batch anaerobic digestion processes. **Bioresource technology**, v. 178, p. 209-216, 2015.

SIKARWAR, V. S. et al. Progress in biofuel production from gasification. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 61, p. 189-248, 2017.

SILES, J. A. et al. Impact of ammonia and sulphate concentration on thermophilic anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p. 9040-9048, 2010/12/01/ 2010.

SILVA, C. E. D. F.; ABUD, A. K. D. S. Anaerobic biodigestion of sugarcane vinasse under mesophilic conditions using manure as inoculum. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, p. 763-777, 2016.

SILVA, G. A. Estimativa da geração de biogás no aterro Sanitário metropolitano de João Pessoa através Do teste BMP. 2012.

SILVERIO, M. S. **Disgestão anaeróbia de vinhaça 2G para produção de biogás**. 2017. Universidade de São Paulo

SIVALOGANATHAN, P. et al. Effect of dilution of treated distillery effluent (TDE) on soil properties and yield of sugarcane. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 09, p. 1811, 2013.

SOARES, H. **Digestão anaeróbia de efluentes de fábricas de cervejas e refrigerantes em reator tipo fluxo ascendente com manta de lodo (UASB)**. 1990. 253 f, Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)–Escola Politécnica ...

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters 1996.

STARR, K. et al. **Life Cycle Assessment of Biogas Upgrading Technologies**. 2012. 991-9

SYAICHURROZI, I. Biogas production from co-digestion *Salvinia molesta* and rice straw and kinetics. **Renewable Energy**, v. 115, p. 76-86, 2018/01/01/ 2018.

SYDNEY, E. B. et al. Economic process to produce biohydrogen and volatile fatty acids by a mixed culture using vinasse from sugarcane ethanol industry as nutrient source. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 380-386, 2014/05/01/ 2014.

SZYMANSKI, M. S. E.; BALBINOT, R.; SCHIRMER, W. N. Biodigestão anaeróbia da vinhaça: aproveitamento energético do biogás e obtenção de créditos de carbono—estudo de caso. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 901-912, 2010.

TARRETO, G.; MARTINEZ, J. Analise da implantação de biodigestores em pequenas propriedades rurais, dentro do contexto da produção limpa. **XIII SIMPEP-Bauru, SP, Brasil**, v. 6, 2006.

TAVARES, E. D. F. L. **Desenvolvimento de eletrodo modificado com nanotubos de carbono e ácido ascórbico para determinação simultânea de cobre e chumbo em cachaça**. 2010. 72 (Mestre). Programa de Pós-graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, 2006.

TIAN, Z. et al. Anaerobic digestion for treatment of stillage from cellulosic bioethanol production. **Bioresource technology**, v. 144, p. 387-395, 2013.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. In: (Ed.). **Microbiologia**, 2012.

TUNES, C. R. Produção de biogás a partir da digestão anaeróbica de efluentes orgânicos em reator UASB. 2017.

UENO, C. R. J. et al. Influência da adição fracionada de vinhaça na produção de biogás. **Revista brasileira de Biociências**, v. 11, n. 1, 2013.

VAN HAANDEL, A. Integrated energy production and reduction of the environmental impact at alcohol distillery plants. **Water Science and Technology**, v. 52, n. 1-2, p. 49-57, 2005.

VAN LIER, J. et al. Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, n. 4, p. 681-702, 2015.

VERDI, A. R. Dinâmicas e perspectivas do mercado da cachaça. **Informações Econômicas, São Paulo**, v. 36, n. 2, p. 93-8, 2006.

VOLPINI, V. et al. Biomethane generation in an AnSBBR treating effluent from the biohydrogen production from vinasse: Optimization, metabolic pathways modeling and scale-up estimation. **Renewable Energy**, v. 116, p. 288-298, 2018/02/01/ 2018.

WARD, A. J. et al. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresour Technol**, v. 99, n. 17, p. 7928-7940, 2008/11/01/ 2008.

WEILAND, P. Biogas production: current state and perspectives. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 4, p. 849-860, 2010.

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.

YANG, L. et al. Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 824-834, 2015.

ZHENG, S.; YANG, M.; YANG, Z. Biomass production of yeast isolate from salad oil manufacturing wastewater. **Bioresource technology**, v. 96, n. 10, p. 1183-1187, 2005.

IBRAC. Instituto Brasileiro da Cachaça. Mercado interno. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/servicos/estatisticas/mercado-interno>>. Acesso em: 20 fev. 2019.

SEBRAE. Cachaça artesanal. *Série Estudos Mercadológicos*, SEBRAE 2013- Relatório Completo. Disponível em: <<http://goo.gl/TZ6edM>>

IGAM, Instituto Mineiro de Gestão de Águas. Qualidade das Águas Superficiais do Estado de Minas Gerais em 2004: Superficiais na Bacia do Rio Jequitinhonha em 2004. Belo Horizonte: IGAM Monitoramento das Águas, 116p. 2004.

ANEXO I

Dados

Regr. Coefficients;

Var.: Volume de Gás (mL)

R-sqr = 0,87482;

Adj.:58274 (analise 1)

3 fatores, 1 Bloco, 11 amostras;

MS Residual=6034,446

Variável dependente: Volume de Gás (mL)

Tabela 10 – Coeficiente do modelo estático

Fatores	Coef. Regres.	Std.Err.	t(3)	p	-95,% Cnf.Limt	+95,% Cnf.Limt
Mean/Interc.	151,5231	741,0362	0,20447	0,851069	-2206,78	2509,831
(1) Concentração de Inóculo (%) (L)	65,8062	43,3094	1,51944	0,225968	-72,02	203,636
Concentração de Inóculo (%) (Q)	-0,7324	0,9775	-0,74932	0,508070	-3,84	2,378
(2) Temperatura (°C) (L)	-12,8737	20,5526	-0,62638	0,575490	-78,28	52,534
(3) Diluição da vinhaça (%) (L)	-16,4518	14,0688	-1,16938	0,326709	-61,22	28,321
1L by 2L	-1,0247	0,5493	-1,86548	0,158963	-2,77	0,723
1L by 3L	0,0527	0,2197	0,24007	0,825747	-0,65	0,752
2L by 3L	0,5183	0,4394	1,17956	0,323199	-0,88	1,917

ANOVA

Fator	SS	df	MS	F	p
(1) Concentração de Inóculo (%) (L)	20086,8	1	20086,83	3,328694	0,165580
Concentração de Inóculo (%) (Q)	3388,2	1	3388,21	0,561478	0,508070
(2) Temperatura (°C) (L)	41653,5	1	41653,53	6,902627	0,078508
(3) Diluição da vinhaça (%) (L)	29,4	1	29,38	0,004869	0,948762
1L by 2L	21000,1	1	21000,08	3,480034	0,158963
1L by 3L	347,8	1	347,78	0,057632	0,825747
2L by 3L	8396,1	1	8396,07	1,391357	0,323199
Error	18103,3	3	6034,45		
Total SS	144622,0	10			