



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**

Universidade Federal de Ouro Preto

**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental - PROAMB**



**UFOP**

Universidade Federal  
de Ouro Preto

**Paula Fontoura Procópio**

**EFICIÊNCIA DE LODOS ATIVADOS EM ESCALA DE BANCADA PARA O PÓS-  
TRATAMENTO DE EFLUENTE DE REATOR ANAERÓBIO ALIMENTADO COM  
ÁGUAS RESIDUÁRIAS DA INDÚSTRIA SUCROALCOOLEIRA**

Ouro Preto

2021



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
Universidade Federal de Ouro Preto  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental - PROAMB**



**Paula Fontoura Procópio**

**EFICIÊNCIA DE LODOS ATIVADOS EM ESCALA DE BANCADA PARA O PÓS-  
TRATAMENTO DE EFLUENTE DE REATOR ANAERÓBIO ALIMENTADO COM  
ÁGUAS RESIDUÁRIAS DA INDÚSTRIA SUCROALCOOLEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Ouro Preto para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Área de concentração: Tecnologias Ambientais  
Orientador: Prof. Dr. Sérgio Francisco de Aquino

Ouro Preto

2021

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

P963e Procopio, Paula.  
EFICIÊNCIA DE LODOS ATIVADOS EM ESCALA DE BANCADA PARA O  
PÓS-TRATAMENTO DE EFLUENTE DE REATOR ANAERÓBIO ALIMENTADO  
COM ÁGUAS RESIDUÁRIAS DA INDUSTRIA SUCROALCOOLEIRA.  
[manuscrito] / Paula Procopio. - 2021.  
139 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Aquino.  
Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro  
Preto. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. Programa  
de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.  
Área de Concentração: Tecnologias Ambientais.

1. Agroindústria - Indústria sucroalcooleira. 2. Resíduos industriais -  
Efluente Anaeróbico. 3. Pós-tratamento. 4. Águas residuais - Purificação -  
Processo de lodo ativado. I. Aquino, Sérgio. II. Universidade Federal de  
Ouro Preto. III. Título.

CDU 502:004

Bibliotecário(a) Responsável: Maristela Sanches Lima Mesquita - CRB-1716



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Paula Fontoura Procópio**

**Eficiência de lodos ativados em escala de bancada para o pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio alimentado com águas residuárias da indústria sucroalcooleira**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de mestre

Aprovada em 22 de setembro de 2021

Membros da banca

Dr. Sérgio Francisco de Aquino - Orientador / Universidade Federal de Ouro Preto  
Dr. Bruno Eduardo Lobo Baeta - Examinador / Universidade Federal de Ouro Preto  
Dr. Hector Luna Wandurraga - Examinador / Universidade Antônio Nariño

Dr. Sérgio Francisco de Aquino, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 15/03/2022



Documento assinado eletronicamente por **Sérgio Francisco de Aquino, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 21/03/2022, às 10:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0293686** e o código CRC **152424E1**.

## AGRADECIMENTO

Há muito o que se agradecer após um período tão enriquecedor e desafiador.

Primeiramente agradeço a meus pais, que fizeram todo o possível para que eu tivesse as melhores oportunidades, na educação e na vida, e que - como os dois excelentes professores que são – foram meus maiores exemplos de educação, cultura e ciência. À minha irmã, Maria Clara, pela companhia, carinho, apoio e também por ser um exemplo de dedicação e determinação, me ajudando a buscar fazer sempre o melhor.

A toda a minha família e amigos, pelo apoio, suporte e carinho durante este período, muito obrigada!

Ao Matheus, meu maior companheiro, agradeço imensamente pela paciência, amor, apoio e por sempre me fazer acreditar mais em mim mesma. E, claro, pelas horas que passou me esperando terminar meus experimentos no laboratório.

Aos colegas do mestrado e do galpão, por toda a ajuda, a paciência para ensinar, o cuidado com o laboratório e a companhia nas horas de trabalho e descanso. Eu não teria feito metade do que fiz sem o apoio de vocês!

Aos professores do Proamb e do galpão, em especial ao Sérgio, pela excelente orientação, por sempre estar disponível e dando excelentes contribuições, por ter sido compreensivo das dificuldades de se terminar um mestrado trabalhando em tempo integral, e por ter me motivado (e acalmado) sempre que necessário, muito obrigada!

Agradeço também aos colegas de trabalho na Agência Peixe Vivo, sempre dispostos a ajudar.

Agradeço à Fapemig, pela bolsa concedida durante parte do mestrado e à Capes e CNPq pelo suporte financeiro.

É com muita alegria que me torno a quarta geração de minha família a passar pela UFOP. Assim, gostaria de aproveitar para agradecer aos que vieram antes de mim, especialmente ao meu bisavô, Professor Salathiel Torres, que muito contribuiu para que a Escola de Minas e a UFOP alcançassem a grandeza que representam hoje.

## RESUMO

Apesar de ser considerado uma fonte de energia limpa, o etanol de cana de açúcar gera, em seu processo produtivo, efluentes líquidos de elevada carga orgânica, como a vinhaça e o hidrolisado hemicelulósico. Estes efluentes são considerados um dos grandes passivos ambientais do setor sucroalcooleiro. Diversos estudos têm mostrado que a digestão anaeróbia é uma tecnologia efetiva para tratar tais efluentes e recuperar a energia neles presentes na forma de biogás. No entanto, o efluente anaeróbio não tem qualidade condizente com o padrão de lançamento de efluentes, necessitando de uma etapa de pós-tratamento para polimento do efluente final. Por esta razão, este trabalho buscou avaliar a eficiência de um pós-tratamento em sistema de lodos ativados, para o efluente gerado em reator anaeróbio alimentado com vinhaça e hidrolisado hemicelulósico (75:25). Para isto, foram utilizados reatores em escala de bancada, tendo sido operado, na Fase I, um sistema anaeróbio de duplo estágio (acidogênico-metanogênico) e na Fase II, reator UASB único, ambos seguidos por um sistema de lodos ativados em modo contínuo. Os parâmetros operacionais do sistema de pós-tratamento foram variados para avaliação de suas condições ideais, tendo sido consideradas condições ótimas de operação as da Fase IId, em que o sistema foi operado em TDH de 12 horas, sem diluição e sem adição de glicose no afluente. Vale ressaltar, no entanto, que a adição de glicose se mostrou fundamental na fase de arranque do reator, podendo esta ser reduzida e/ou retirada da alimentação após o período de adaptação dos microrganismos (em torno de 60 dias). A eficiência média de remoção de DQO obtida no sistema aeróbio na Fase I foi de 67%, e de 63% na Fase II. A remoção observada de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal foi suficiente para atender aos padrões de lançamento. No entanto, as concentrações remanescentes de fenóis encontram-se fora destes padrões. Amostras de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados foram analisadas por espectroscopia de UV-Vis e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS), permitindo a avaliação da persistência de substâncias potencialmente tóxicas e recalcitrantes ao tratamento aeróbio. Estas análises demonstraram a remoção completa da maior parte das substâncias identificadas. Contudo, foi observada no efluente final a presença de Ácidos Graxos Voláteis (AGV), principalmente os ácidos propanóico e isobutírico; Ácidos Graxos de Cadeia Longa, como os ácidos palmítico, esteárico e linoleico; o esteroide estigmasterol; e outros compostos aromáticos, como ftalatos.

**Palavras-chave:** Indústria sucroalcooleira; efluente anaeróbio; pós-tratamento; lodos ativados.

## ABSTRACT

Despite sugarcane ethanol is considered as a clean energy source, the generation of liquid effluents of high organic load in its production chain, such as vinasse and hemicellulose hydrolysate, still is of high environmental concern. Anaerobic digestion has shown to be an effective technology for treating such effluents, allowing energy recovery in form of biogas. Yet, the anaerobic treated effluent doesn't meet the Brazilian legal standards for disposal in water bodies. A post-treatment is then required to guarantee the quality of the final effluent. In this matter, this work aims to evaluate the efficiency of an activated sludge system as post-treatment for the effluent of an anaerobic reactor fed with vinasse and hemicellulose hydrolysate (75:25). To meet this objective, bench scale reactors were operated. In Phase I, the system consisted of a two-stage anaerobic reactor followed by a conventional activated sludge. In Phase II, the anaerobic digestion occurred in a single stage Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB), which was followed by the same activated sludge system. Operating parameters of the post-treatment were varied to evaluate its optimal operation condition, which were defined as a 12-hour HRT, with no dilution and no glucose added on the influent. It should be noted, however, that glucose addition is important to the start-up of the process, for stimulating the microorganism's metabolism. After the start-up phase (about 60 days), the reduction/removal of glucose had no effect on the process efficiency. The efficiency of the aerobic system for COD removal in Phase I was of 67% and, in Phase II, of 63%. The removal of organic matter and ammonium observed in the aerobic system was enough to meet the legal standards, but the residual concentration of phenol in the effluent was above these limits. Influent and effluent of activated sludge were analyzed by UV-Vis Spectrophotometry and Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry (GC-MS), allowing evaluation of the persistence of potentially toxic and recalcitrant compounds to the aerobic treatment. These analyses have demonstrated complete removal of most compounds identified. However, we could observe on the final effluent the presence of volatile fatty acids (mainly propanoic and isobutyric acids); long-chain fatty acids (palmitic, stearic and linoleic acids); stigmaterol and other aromatic compounds, such as phthalates.

**Keywords:** Sugarcane biorefinery; anaerobic effluent; distillery spentwash; activated sludge; post-treatment.

## LISTA DE FIGURAS

|  |     |
|--|-----|
| Figura 1 - Produção de etanol de primeira e segunda geração em biorrefinaria de cana de açúcar (adaptado de Hoarau J. et al, 2018).....  | 18  |
| Figura 2 - Principais monômeros formadores de lignina (Fonte: Henriksson, (2009)).....   | 26  |
| Figura 3 – Efeito do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica e geração de subprodutos (Fonte: adaptado de Monlau <i>et al.</i> (2014)).....   | 28  |
| Figura 4 - Descrição do processo de digestão anaeróbia (Fonte: adaptado de Moraes, Zaiat e Bonomi (2015)).....   | 33  |
| Figura 5 - Representação simplificada das unidades do sistema de lodos ativados (Fonte: von Sperling, 2002).....   | 40  |
| Figura 6 - Fluxograma-resumo da metodologia do trabalho.....   | 48  |
| Figura 7 - Diagrama representando o sistema de tratamento na Fase I (a) e na Fase II (b) do estudo.....  | 51  |
| Figura 8 - DQO efluente aos reatores anaeróbios que alimentaram o sistema de lodos ativados.....   | 64  |
| Figura 9 - Concentração de SSV no tanque de aeração na Fase I.....   | 69  |
| Figura 10 – Concentração de SSVTA durante a operação do sistema de lodos ativados.....   | 73  |
| Figura 11 - Entrada, Saída e Remoção de DQO no sistema de Lodos Ativados.....  | 74  |
| Figura 12 - Espectros obtidos em varredura UV-VIS nos dias 207 (amostras 1 e 2) e 214 (amostras 3 e 4) de operação do sistema aeróbio.....   | 91  |
| Figura 13 - Espectro da varredura UV-VIS entre 200 e 500 nm para as amostras 1 e 2.....  | 92  |
| Figura 14 - Espectro da varredura UV-VIS entre 200 e 500 nm para as amostras 3 e 4.....  | 92  |
| Figura 15 - Cromatogramas obtidos com amostras dos efluentes ao sistema aeróbio: a) Efluente ao TA na Fase I (amostra 5); b) Efluente ao TA na Fase II (amostra 2); c) Amostras 5 (amarelo) e 2 (preto) sobrepostas..... | 97  |
| Figura 16 - Ácidos graxos de cadeia longa identificados no efluente aeróbio na Fase I (Fonte: adaptado de <i>NCBI</i> , 2021).....   | 101 |
| Figura 17 - Compostos aromáticos identificados na amostra de efluente aeróbio da Fase I (Fonte: adaptado de <i>NCBI</i> , 2021).....   | 102 |
| Figura 18 - Compostos com grupamentos amina ou nitrila identificados na amostra de efluente aeróbio da Fase I (Fonte: adaptado de <i>NCBI</i> , 2021).....   | 103 |



|   |     |
|---|-----|
| Figura 19 - Cromatogramas obtidos com amostras do 207º dia de operação: a) afluyente ao sistema aeróbio (amostra 1) b) efluente ao sistema aeróbio (amostra 2) c) sobreposição do espectro do afluyente (amarelo) e efluente (preto) ao sistema de lodos ativados ..... | 106 |
| Figura 20 - Ácidos graxos identificados nas amostras de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados (Fonte: adaptado de <i>NCBI</i> , 2021) .....  | 109 |
| Figura 21 - Esteroides identificados nas amostras de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados (Fonte: adaptado de <i>NCBI</i> , 2021).....  | 110 |
| Figura 22 – Compostos aromáticos identificados nas amostras de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados (Fonte: adaptado de <i>NCBI</i> , 2021) .....   | 111 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Características da vinhaça de diferentes substratos (adaptado de Moraes, Zaiat e Bonomi, 2015).....                | 21 |
| Tabela 2 - Caracterização do Hidrolisado Hemicelulósico produzido a partir de diferentes processos de pré-tratamento .....    | 27 |
| Tabela 3 - Estudos com a digestão anaeróbia de efluentes da produção de etanol .....  | 36 |
| Tabela 4 - Parâmetros do processo de tratamento por lodos ativados convencional. (von Sperling, 2002) .....                   | 40 |
| Tabela 5 - Condições de operação na fase inicial de operação do reator .....  | 52 |
| Tabela 6 - Frequência de monitoramento dos parâmetros operacionais do sistema de lodos ativados.....                          | 53 |
| Tabela 7 - Variação nas condições de alimentação do reator durante a Fase I (com TDH constante de 12 h). .....                | 53 |
| Tabela 8 - Variação nas condições de alimentação do reator durante a Fase II (efluente anaeróbio sem diluição).....           | 55 |
| Tabela 9 - Concentrações de AGV em amostras de efluente anaeróbio da Fase II.....   | 66 |
| Tabela 10 - Caracterização do inóculo do sistema de lodos ativados .....  | 67 |
| Tabela 11 - Resultados das análises de DBO ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) no sistema de lodos ativados .....                          | 75 |
| Tabela 12 - DQO efluente ao sistema de lodos ativados na Fase I .....   | 75 |
| Tabela 13 - Valores médios de DQO afluente, efluente e eficiência do sistema de lodos ativados em cada etapa da Fase II ..... | 77 |
| Tabela 14 - Concentração de AGV no efluente do sistema de lodos ativados.....   | 79 |
| Tabela 15 – Concentração média de $\text{N}_T$ no afluente e efluente do sistema de lodos ativados .                          | 81 |
| Tabela 16 – Concentração das espécies iônicas de nitrogênio ( $\text{mgN.L}^{-1}$ ) no sistema de lodos ativados.....         | 82 |
| Tabela 17 - Análise cromatográfica de íons nas amostras de afluente e efluente ao sistema de lodos ativados .....             | 85 |
| Tabela 18 - Concentração de compostos fenólicos totais no sistema de lodos ativados na Fase IId .....                         | 87 |
| Tabela 19 – Amostras do sistema de lodos ativados analisadas por espectroscopia UV-Vis e GC-MS .....                          | 90 |
| Tabela 20 - Absorbância a 254nm de diferentes amostras coletadas ao longo da operação do sistema de lodos ativados .....      | 94 |

|   |     |
|---|-----|
| Tabela 21 – Substâncias identificadas nos cromatogramas dos efluentes do sistema de lodos ativados nas Fases I e II.....        | 99  |
| Tabela 23 - DQO equivalente exercida por ácidos graxos de cadeia longa .....  | 103 |
| Tabela 24 - Índices médios E2/E4 e E4/E6 de amostras de efluente aeróbio das Fases I e II de operação.....                      | 104 |
| Tabela 25 - Substâncias identificadas nos cromatogramas do afluente e efluente ao sistema aeróbio no 207º dia de operação ..... | 107 |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 13 |
| 2. OBJETIVOS.....   | 16 |
| 2.1. Objetivo geral .....   | 16 |
| 2.2. Objetivos específicos .....  | 16 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....   | 17 |
| 3.1. A biorrefinaria de etanol de cana-de açúcar .....  | 17 |
| 3.1.1. Produção de etanol de primeira e segunda geração.....  | 18 |
| 3.1.2. Efluentes da indústria sucroalcooleira.....  | 19 |
| 3.1.2.1. Vinhaça.....   | 20 |
| 3.1.2.2. Hidrolisado Hemicelulósico .....   | 24 |
| 3.1.2.3. Origem da cor característica dos efluentes da indústria sucroalcooleira.....               | 29 |
| 3.2. Tratamento dos efluentes da indústria sucroalcooleira.....                                     | 31 |
| 3.2.1. Digestão Anaeróbia .....   | 32 |
| 3.2.2. Pós-tratamento do efluente anaeróbio .....   | 37 |
| 3.2.2.1. Sistema de lodos ativados .....  | 39 |
| 3.3. Considerações Finais da Revisão de Literatura .....  | 46 |
| 4. METODOLOGIA.....   | 48 |
| 4.1. Obtenção da biomassa e efluentes .....   | 48 |
| 4.1.1. Coleta do bagaço e da vinhaça de cana-de-açúcar .....  | 48 |
| 4.1.2. Coleta do inóculo de lodos ativados .....  | 48 |
| 4.1.3. Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana - produção do Hidrolisado Hemicelulósico ..... | 49 |
| 4.2. Tratamento por co-digestão anaeróbia.....  | 49 |
| 4.2.1. Alimentação do reator anaeróbio.....   | 49 |
| 4.2.2. Operação do reator anaeróbio de dois estágios .....  | 50 |
| 4.2.3. Operação do reator anaeróbio de fase única.....  | 50 |

|          |  |     |
|----------|--|-----|
| 4.3.     | Pós-tratamento em sistema de Lodos Ativados .....  | 51  |
| 4.4.     | Caracterização dos efluentes e inóculo .....   | 56  |
| 4.4.1.   | Análise dos teores de açúcares e ácidos orgânicos.....                                   | 57  |
| 4.4.2.   | Determinação de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis.....                          | 58  |
| 4.4.3.   | Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) 59              |     |
| 4.4.4.   | Carbono orgânico total (COT) e Nitrogênio Total (N <sub>T</sub> ).....                   | 59  |
| 4.4.5.   | Análise de íons .....  | 59  |
| 4.4.6.   | Caracterização por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS)..... | 60  |
| 4.4.7    | Fenóis .....   | 61  |
| 4.4.8    | Varredura em espectrofotometria de UV-Vis.....   | 61  |
| 5.       | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 62  |
| 5.1.     | Operação do Pós-Tratamento em Lodos Ativados .....                                       | 62  |
| 5.1.1.   | Caracterização do Efluente Anaeróbio .....   | 63  |
| 5.1.2.   | Inoculação do sistema de lodos ativados .....  | 67  |
| 5.1.3.   | Fases de operação .....  | 69  |
| 5.1.4.   | Matéria Orgânica .....   | 74  |
| 5.1.5.   | Substâncias inorgânicas.....   | 80  |
| 5.1.6.   | Compostos Fenólicos.....   | 86  |
| 5.2.     | Caracterização Qualitativa dos Efluentes do Processo .....                               | 90  |
| 5.2.1.   | Cor – Absorção em UV-Vis .....   | 91  |
| 5.2.2.   | Análises em GC-MS.....   | 96  |
| 5.2.2.1. | Composição do efluente final das Fases I e II de operação.....                           | 96  |
| 5.2.2.2. | Efeito do tratamento aeróbio na composição química do efluente.....                      | 105 |
| 5.2.2.3. | Identificação de compostos de interesse no efluente final .....                          | 112 |
| 6.       | CONCLUSÃO.....   | 120 |
| 7.       | RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....  | 124 |

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 125

## 1. INTRODUÇÃO

O início do século XXI foi marcado por um acelerado desenvolvimento tecnológico, que criou um mundo cada vez mais conectado e globalizado. Além das facilidades de comunicação, a humanidade se vê unida por outras questões que ultrapassam qualquer fronteira ou limite físico, como as preocupações climática e ambiental. Neste contexto, encontram-se um grande desafio: o crescimento das demandas por água e energia. Com o aumento da população e a sofisticação dos meios de produção, o acesso à água é dificultado não só em termos de quantidade, mas também de qualidade – uma vez que os corpos hídricos são os principais receptores dos poluentes presentes em efluentes domésticos e industriais. Quanto à energia, busca-se dissociar cada vez mais da dependência dos combustíveis fósseis, investindo em energias mais limpas e acessíveis.

Desta forma, cresce o interesse na biorrefinaria: indústria que permite a conversão de biomassa em combustíveis, energia e diversos produtos químicos. A biomassa utilizada pode advir de produtos agrícolas diretos, como a cana-de-açúcar e os grãos de soja e milho, ou de materiais lignocelulósicos, que muitas vezes são considerados resíduos ou subprodutos - bagaço de cana, palha de milho e casca de café, por exemplo. Nesta segunda opção, chamada de “biorrefinaria de segunda geração (2G)” o processo se torna mais sustentável, pois permite transformar resíduos em matérias primas valiosas, além de não haver competição com a produção de alimentos.

A extensão territorial e o clima brasileiro tornam o país propício a culturas agrícolas destinadas à produção de biocombustíveis. Um exemplo, já bem estabelecido na indústria brasileira, é a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), cerca de 53,8% da cana-de-açúcar produzida no Brasil na safra 2020/2021 foi destinada à produção de etanol (CONAB, 2021). As usinas brasileiras geram cerca de 50% do etanol de cana-de-açúcar produzido no mundo (PARSAEE; KIANI; KARIMI, 2019) e têm potencial para se destacar ainda mais. Isto porque a indústria brasileira está apenas iniciando o investimento na produção de etanol 2G, a partir do bagaço de cana, o que permitiria elevar esta produção sem a necessidade de expansão da área plantada.

Para produzir etanol a partir do bagaço de cana é necessário um pré-tratamento desta biomassa, visando desagregar o complexo lignocelulósico (celulose, hemicelulose e lignina), de forma a aumentar a acessibilidade dos açúcares fermentescíveis aos microrganismos responsáveis pelo processo de fermentação (LIMA, 2018). Por ser um processo complexo e

de custo elevado, sua implantação efetiva em escala industrial ocorreu a passos lentos, sendo a primeira planta deste tipo no Brasil instalada apenas em 2014.

Outra questão que pode elevar os custos da fabricação de etanol são os efluentes gerados no processo. Na fermentação, é gerado um efluente de cor escura e marrom e elevada carga de matéria orgânica e de substâncias como nitrogênio, enxofre e potássio, chamado “vinhaça”. Estima-se que para cada litro de etanol produzido são gerados de 8 a 16 litros de vinhaça. É comum no Brasil a disposição da vinhaça no solo, como fertirrigação, o que entretanto pode causar uma série de problemas ambientais e a redução da produtividade do solo a longo prazo (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015).

No caso de fabricação de etanol de segunda geração, a etapa de pré-tratamento também produz um efluente de elevada capacidade poluidora, o hidrolisado hemicelulósico (HH). No hidrolisado, encontram-se solubilizados a maior parte dos açúcares que compõem a hemicelulose e alguns componentes derivados da lignina, sendo uma parte destes compostos recalcitrantes ou tóxicos a microrganismos.

É interessante que estes efluentes sejam vistos não como problemas a serem solucionados, mas como oportunidades para novos processos. Suas cargas orgânicas elevadas possibilitam que eles também sejam matéria prima para a biorrefinaria, uma vez que a partir deles é possível produzir outros compostos químicos ou biocombustíveis. Uma alternativa que tem se tornado popular no tratamento da vinhaça é sua digestão anaeróbia, que permite transformar a matéria orgânica carbonácea do efluente em biogás, através de um processo de relativamente simples implantação e operação (HOARAU *et al.*, 2018). Mais recentemente, a digestão anaeróbia do hidrolisado hemicelulósico também tem recebido atenção. Apesar da presença de compostos tóxicos e/ou inibidores no hidrolisado, este processo mostrou-se viável em estudos recentes de Baêta *et al.* (2016) e Ribeiro *et al.* (2017). Por fim, Adarme *et al.* (2019) demonstraram a possibilidade de realizar a digestão anaeróbia de ambos os efluentes em um sistema de co-digestão, uma possibilidade interessante para aumentar a viabilidade da implantação da biorrefinaria de segunda geração integrada à de primeira geração. O biogás produzido no processo pode ser utilizado como combustível, gerando calor e energia para serem usados na própria usina ou exportados à rede elétrica.

Entretanto, mesmo após a digestão anaeróbia estes efluentes ainda possuem carga orgânica elevada e compostos orgânicos que tornam perigosa sua disposição no ambiente. Ademais, as concentrações observadas nos efluentes anaeróbios de DQO e nitrogênio amoniacal não



atendem aos padrões de lançamento em corpos hídricos, sendo importante considerar, portanto, um pós-tratamento para polimento do efluente final. É interessante buscar, como alternativa, um pós-tratamento que também ocorra de forma biológica, preferencialmente aeróbia, de forma que as características dos dois sistemas de tratamento se complementem e as substâncias que não têm sua degradação facilitada no ambiente anaeróbio possam, então, ser metabolizadas pelos microrganismos aeróbios. Além disso, o uso de pós-tratamento com sistema biológico abre a possibilidade de utilização do lodo de excesso gerado (biomassa aeróbia) como fonte de carbono e energia para produção de biogás em digestores anaeróbios.

O processo mais conhecido de pós-tratamento aeróbio de efluentes anaeróbios é o sistema de lodos ativados (SATYAWALI; BALAKRISHNAN, 2008). Este sistema geralmente apresenta elevada eficiência para remoção de matéria orgânica e capacidade de se aclimatar para degradação de fenóis e outros compostos aromáticos, o que o torna popular para o tratamento de efluentes lignocelulósicos, sendo amplamente utilizado na indústria de papel e celulose, por exemplo.

Sendo assim, o presente estudo avaliou a eficiência de um sistema de lodos ativados para o pós-tratamento da co-digestão anaeróbia de vinhaça e hidrolisado hemicelulósico, por meio da operação de um sistema contínuo em escala de bancada, buscando atingir os padrões requisitados pela legislação brasileira para o lançamento em corpos hídricos. Além disso, a composição química dos afluentes e efluentes ao sistema foi analisada de forma a verificar a presença de compostos de interesse, potencialmente poluentes ou que colocam em risco a saúde humana, permitindo uma análise completa e integrada sobre o efeito do tratamento biológico nos efluentes da indústria sucroalcooleira.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar a eficiência do pós-tratamento aeróbio de efluente de reator anaeróbio alimentado com vinhaça e hidrolisado hemicelulósico, provenientes da indústria sucroalcooleira, em sistema de lodos ativados em escala de bancada.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar as melhores condições de operação do sistema de Lodos Ativados para a remoção de matéria orgânica carbonácea do efluente anaeróbio.
- Avaliar a qualidade final do efluente tratado, visando verificar o atendimento à legislação vigente e normas relacionadas.
- Avaliar o efeito do tratamento aeróbio na composição química do efluente, de forma a identificar as principais substâncias que são removidas, que persistem ao tratamento ou que são formadas no reator aeróbio.
- Identificar a presença, no efluente final do sistema, de substâncias de interesse, sendo aquelas citadas nas normativas e literatura nacionais e internacionais como potencialmente causadoras de dano ao equilíbrio ambiental e à saúde humana.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. A biorrefinaria de etanol de cana-de-açúcar**

A produção de biocombustíveis foi impulsionada nas últimas décadas pelo aumento da preocupação ambiental e da demanda energética, que levaram à busca por alternativas aos combustíveis fósseis. Com isso, observa-se o crescimento da indústria de biorrefinaria, descrita pelo Laboratório Nacional de Energia Renovável (NREL) dos Estados Unidos (EUA) como um “complexo fabril que processa e converte biomassa em produtos com valor agregado” (NREL, 2020).

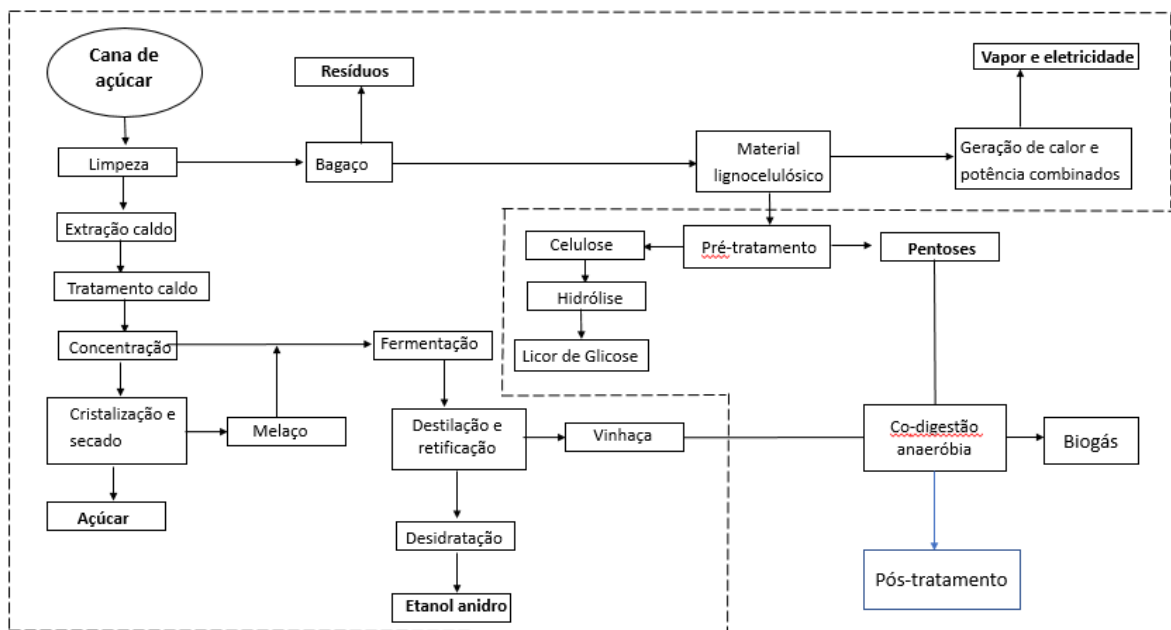
Atualmente, a pesquisa científica na área de biorrefinaria tem se desenvolvido no sentido de buscar o aproveitamento máximo da biomassa e dos resíduos gerados no processo de produção, aumentando a produtividade sem necessidade de expansão na área de plantio. Surgem, assim, os conceitos de biorrefinaria de primeira, segunda e terceira geração. A biorrefinaria de primeira geração (1G) é aquela cuja matéria-prima constitui-se de açúcares e amidos facilmente disponíveis nas plantas, que usualmente também servem de base para a produção de alimentos. Seus produtos são, por exemplo, o etanol gerado a partir de caldo e melaço de cana, melaço de beterraba ou grão de milho; o biodiesel do grão de soja, entre outros. Já os produtos de segunda geração (2G) são derivados de biomassas lignocelulósicas, geralmente resíduos agrícolas, como é o caso do bagaço de cana. A terceira geração (3G), por sua vez, utiliza a biomassa algal como base para produção de combustíveis e produtos químicos de maior valor agregado.

No Brasil, o principal produto da biorrefinaria é o etanol de cana-de-açúcar. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), o país é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com 665 milhões de toneladas na safra 2019/2020. Além disso, o órgão registrou uma produção total de 29,8 bilhões de litros de etanol nesta safra (CONAB, 2021). Segundo Parsaee, Kiani e Karimi (2019), o Brasil produz cerca de 50% do etanol de cana-de-açúcar comercializado no mundo. Esta produção provém principalmente de indústrias de etanol de primeira geração, sendo o investimento em plantas de segunda geração recente; a planta de etanol de 2G da empresa Raízen, uma das maiores produtoras deste tipo de etanol no Brasil, começou a operar apenas em 2014. Vale ressaltar, entretanto, que a instalação desta planta permitiu à empresa aumentar sua produtividade em 50%, o que revela o potencial de crescimento que o investimento em biorrefinarias de segunda geração pode significar para o país (RAÍZEN, 2020). Recentemente, em 2021, a empresa anunciou a construção de uma

nova planta para geração de etanol 2G, com o dobro da capacidade de produção da anterior, demonstrando que a tecnologia está em amplo crescimento no Brasil (NOVACANA, 2021).

### 3.1.1. Produção de etanol de primeira e segunda geração

Os processos de produção de etanol de primeira e segunda geração em uma biorrefinaria de cana-de-açúcar encontram-se exemplificados no fluxograma da Figura 1. De acordo com Moraes, Zaiat e Bonomi (2015), a maior parte das plantas de produção de etanol existentes atualmente no Brasil são anexas às de produção de açúcar, permitindo o deslocamento da capacidade de produção na direção do produto mais rentável em cada safra. Como mostra o fluxograma, o etanol de primeira geração pode ser produzido tanto a partir do caldo da cana quanto do melaço, o que também contribui para a flexibilidade do processo de produção e aumenta as vantagens de se ter uma biorrefinaria anexa à produção de açúcar.



**Figura 1 - Produção de etanol de primeira e segunda geração em biorrefinaria de cana de açúcar (adaptado de Hoarau J. et al, 2018)**

Por sua vez, o etanol de segunda geração é produzido a partir do bagaço de cana, rico em material lignocelulósico. Para a conversão do bagaço em etanol, é necessário separar os componentes da biomassa – celulose, hemicelulose e lignina – uma vez que, geralmente, apenas a celulose é utilizada na produção do etanol. Entretanto, estes componentes se encontram fortemente ligados, sendo difícil realizar sua separação sem modificá-los quimicamente (TELEMAN, 2009). Para realizar esta separação, foram desenvolvidos diversos tipos de pré-tratamentos.

O principal objetivo do pré-tratamento é tornar a celulose mais disponível para o ataque enzimático, que por sua vez produzirá o licor de hexoses a ser usado pelos microrganismos fermentadores. Neste processo, o recobrimento do material por lignina é quebrado e a hemicelulose é reduzida a monômeros de açúcar - principalmente xilose, açúcar contendo cinco carbonos (KELLER; HAMILTON; NGUYEN, 2003 apud ALBARELLI, 2013). A necessidade de um pré-tratamento aumenta os custos de produção do etanol lignocelulósico, além de gerar um efluente carregado de componentes recalcitrantes (como a lignina e seus derivados), o que tem prejudicado sua implantação em escala industrial.

Atualmente, o destino do bagaço na indústria tem sido a queima em sistemas CHP (do inglês *combined heat and power*) para produção de energia, tornando-as autossuficientes energeticamente. Na entressafra, apesar de não haver produção de etanol/açúcar, o bagaço continua sendo queimado e a energia gerada é exportada à rede. Um ponto importante do etanol de segunda geração é o de permitir que se produza etanol com este bagaço remanescente, produzindo etanol durante todo o ano. Para não prejudicar a independência energética da usina, abre-se a possibilidade de utilizar o biogás como nova fonte de energia, sendo este gerado a partir da biodigestão dos efluentes do processo (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015).

### **3.1.2. Efluentes da indústria sucroalcooleira**

É possível observar, pela Figura 1, que a produção de etanol de cana-de-açúcar gera dois efluentes principais: a vinhaça, gerada na operação de destilação do etanol; e o licor de pentoses, também chamado de hidrolisado hemicelulósico (HH), produzido apenas nas plantas de segunda geração. Estes efluentes se caracterizam como grandes passivos ambientais da indústria sucroalcooleira, pois além de serem gerados em grandes quantidades, possuem proporcionalmente pouco carbono prontamente disponível apesar de sua elevada carga orgânica (PANT; ADHOLEYA, 2007).

Para garantir a sustentabilidade da biorrefinaria de etanol é fundamental, portanto, que se saiba lidar com estes efluentes, de forma a evitar que eles tornem o processo ambientalmente inviável. O primeiro passo neste sentido é conhecê-los de forma mais detalhada, para que seja possível identificar o melhor caminho para seu tratamento e disposição final.

### 3.1.2.1. Vinhaça

A vinhaça é o efluente gerado na operação de destilação do etanol (Figura 1). De acordo com a literatura, são gerados de 8 a 16 litros de vinhaça por litro de etanol produzido, o que representa cerca de 300 bilhões de litros de vinhaça por safra no Brasil (COLLING KLEIN; BONOMI; MACIEL FILHO, 2018; HOARAU *et al.*, 2018; SANTANA *et al.*, 2017). Suas elevadas concentrações de matéria orgânica, pH ácido e natureza altamente corrosiva caracterizam a vinhaça como um efluente aproximadamente 100 vezes mais poluente que o esgoto doméstico (CARRILHO; LABUTO; KAMOGAWA, 2016).

As características da vinhaça dependem principalmente do tipo de biomassa precursora e das condições operacionais da usina em questão, tais quais o tipo de fermentação ou destilação empregadas (PARSAEE, KIANI E KARIMI, 2019). Desta forma, a vinhaça gerada no processo de produção de etanol a partir do caldo da cana será diferente daquela do etanol de melação, assim como suas propriedades variam com a safra, a localização e os processos utilizados na usina. Comparando a vinhaça do etanol de cana-de-açúcar com a de outras biomassas, esta é a que apresenta maiores conteúdos de matéria orgânica (HOARAU *et al.*, 2018; PARSAEE; KIANI; KARIMI, 2019). A Tabela 1 apresenta alguns valores disponíveis na literatura para caracterização da vinhaça de 1G produzida a partir de caldo e melação de cana e da vinhaça de etanol 2G. Os elevados conteúdos de matéria orgânica observados e a acidez acentuada são dois importantes fatores que tornam a vinhaça o principal passivo ambiental da indústria sucroalcooleira.

A principal diferença entre os tipos de vinhaça apresentados na Tabela 1 encontra-se no conteúdo de matéria orgânica. Observa-se que a vinhaça gerada a partir do caldo de cana apresenta valores de DQO e DBO consideravelmente inferiores às outras duas. Além disso, pode-se destacar também as concentrações mais elevadas de nitrogênio, potássio e sólidos totais na vinhaça proveniente do etanol de melação de cana.

Outro fator interessante a se avaliar é a relação DQO/DBO. Segundo von Sperling (2005), valores inferiores a 2,5 são indicativos de que o tratamento biológico é recomendado para o efluente. Pelo apresentado na tabela, pode-se dizer que é viável tratar a vinhaça por meios biológicos. Entretanto, os valores encontrados para a vinhaça de etanol de melação de cana geram um alerta sobre a possibilidade de serem encontradas dificuldades neste tratamento em alguns casos.

**Tabela 1 - Características da vinhaça de diferentes substratos (adaptado de Moraes, Zaiat e Bonomi, 2015)**

| Tipo de etanol | Características da Vinhaça  |                             |         |                           |                           |                            |                            |                            |           | Referência                          |
|----------------|-----------------------------|-----------------------------|---------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|-------------------------------------|
|                | DQO<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | DBO<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | DQO/DBO | N<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | P<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | K<br>(g.L <sup>-1</sup> )  | ST<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | SV<br>(g.L <sup>-1</sup> ) | pH        |                                     |
| 1G             | 15-33                       | 6-17                        | 2,09    | 0,2-0,7                   | 0,004-0,1                 | 1,0-1,7                    | 24                         | 20                         | 3,7-4,6   | (COSTA <i>et al.</i> , 1986)        |
|                | 31,3                        | 17,1                        | 1,83    | 0,41                      | 0,11                      | 1,5                        | 21,2                       | 15,6                       | 3,9       | (CRAVEIRO; SOARES; SCHMIDELL, 1986) |
|                | 30,4 ± 8,2                  | 16,7 ± 3,4                  | 1,82    | 0,63 ± 0,32               | 0,13 ± 0,11               | 2,0 ± 1,2                  | n.d. <sup>(1)</sup>        | n.d.                       | 4,0 ± 0,5 | (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000)     |
|                | 18,7 ± 0,9                  | -                           |         | 0,41 ± 0,02               | -                         | 2,24 ± 0,09                | 23,01 ± 0,05               | 61,25 ± 0,6                | -         | (ADARME, 2020)                      |
| Melaço de cana | 65                          | 25                          | 2,6     | 0,5-1,60                  | 0,04-0,13                 | 3,1-6,5                    | 82                         | 60                         | 4,2-5,0   | (COSTA <i>et al.</i> , 1986)        |
|                | 84 ± 30,6                   | 39,0 ± 10,8                 | 2,15    | 1,23 ± 0,63               | 0,19 ± 0,35               | 5,1 ± 3,1                  | n.d.                       | n.d.                       | 4,5 ± 0,4 | (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000)     |
| 2G             | 75,8-109,7                  | 31,5-87,7                   | 1,56    | 0,20-0,46                 | 0,1 <sup>(2)</sup>        | 0,040-0,088 <sup>(3)</sup> | 0,467-5,805                | 0,45-5,72                  | 4,0-4,9   | (Cammarota <i>et al.</i> , 2012)    |
|                | 38 - 43                     | -                           |         | -                         | 0,04 - 0,065              | 0,280-0,330                | -                          | -                          | 3,9 - 4,3 | (COOPER <i>et al.</i> , 2020)       |

<sup>(1)</sup> não determinado

<sup>(2)</sup>gP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.L<sup>-1</sup>

<sup>(2)</sup> gK<sub>2</sub>O.L<sup>-1</sup>

Pode-se inferir que o conteúdo de DQO na vinhaça proveniente do melaço de cana possui maior concentração proporcional de componentes recalcitrantes. Isto ocorre porque a produção do melaço se dá a partir da cristalização e evaporação do caldo da cana, de forma que o conteúdo de orgânicos não fermentescíveis é maior no melaço. Estes componentes mantêm-se na vinhaça após a fermentação, elevando sua concentração de DQO na forma de matéria orgânica dificilmente biodegradável (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

Já para o etanol 2G, pode ocorrer menor biodegradabilidade devido à presença de compostos fenólicos remanescentes ou derivados da lignina, que podem não ser completamente removidos na etapa de pré-tratamento.

Em suma, pode-se dizer que os principais componentes orgânicos da vinhaça são: carboidratos, aminoácidos, lipídeos, proteínas, ácidos graxos, melanoidinas e, em alguns casos, frações de lignina. Ademais, podem ser encontradas neste complexo efluente também algumas substâncias inorgânicas, como íons sódio, nitrato, cloreto, potássio, sulfeto e sais de amônia; micronutrientes como zinco, ferro, cobre e manganês; além de metais pesados como níquel, chumbo e cádmio (KUMAR, V.; CHANDRA, 2020). Segundo Parsaee, Kiani e Karimi (2019), entre os macronutrientes presentes na vinhaça o potássio é o mais abundante, seguido do enxofre, magnésio, nitrogênio, cálcio e fósforo. Quanto aos micronutrientes, as maiores concentrações correspondem ao ferro, seguido do manganês, zinco e cobre.

Deve ser ressaltada a presença de componentes recalcitrantes como fenóis, melanoidinas, furfurais e outros derivados da decomposição de açúcares, encontrados em todas as variedades de vinhaça (PANT; ADHOLEYA, 2007; SATYAWALI; BALAKRISHNAN, 2008). Estes componentes são possivelmente os causadores de sua cor escura e marrom, que é dificilmente removida pelos tratamentos biológicos convencionais devido à sua complexidade estrutural e propriedades antioxidantes, que as tornam tóxicas e/ou inibidoras a alguns microrganismos envolvidos em processos de tratamento de efluentes (SATYAWALI E BALAKRISHNAN, 2008). Sendo assim, a remoção de cor é um dos desafios para a destinação ambientalmente adequada da vinhaça em corpos hídricos, ou para seu reuso industrial. Além disso, as características supracitadas das substâncias causadoras de cor tornam sua remoção nos efluentes ainda mais necessária. Devido à grande disponibilidade de estudos sobre o tema e à relevância da presença destes compostos causadores de cor nos efluentes da produção de bioetanol, este assunto será tratado em um item específico, mais adiante neste mesmo capítulo.



Em se tratando da identificação dos componentes orgânicos da vinhaça, é também reportada na literatura a presença de álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e açúcares (CARRILHO; LABUTO; KAMOGAWA, 2016); poluentes orgânicos recalcitrantes como ácido benzoico e ácido furanocarboxílico; e substâncias classificadas como disruptores endócrinos, como ácido butanodióico e ácido vanililpropiónico (KUMAR, V.; CHANDRA, 2020).

Kumar e Chandra (2020) identificaram ainda outros compostos listados como disruptores endócrinos no lodo produzido após o tratamento anaeróbio da vinhaça, entre eles alguns ácidos carboxílicos (pentadecanóico, hexanóico, dodecanóico e octadecanóico), sitosterol, estigmasterol e ciclohexanol.

A presença destes tipos de compostos no efluente torna perigoso o seu descarte no ambiente, pois possuem características tóxicas, neurogênicas e mutagênicas, trazendo riscos ao equilíbrio ambiental, à fauna e à flora. Ademais, existe o risco às populações humanas que eventualmente são abastecidas por mananciais que recebem, direta ou indiretamente, este tipo de efluente, uma vez que os poluentes nele presentes não são facilmente degradados no ambiente nem são comumente removidos nos sistemas de tratamento de água convencionais.

Devido ao seu elevado conteúdo de matéria orgânica, potássio e nitrogênio, o destino mais comum da vinhaça no país tem sido a fertirrigação. Esta prática consiste em aspergir o efluente no solo com o objetivo de aumentar seu conteúdo de água, matéria orgânica e nutrientes, trazendo, em teoria, benefícios para as plantações.

Entretanto, o uso indiscriminado da prática de fertirrigação com efluentes sem tratamento prévio pode levar a problemas (além dos já citados) como salinização do solo por excesso de íons, contaminação por metais pesados, contaminação de águas subterrâneas e geração de maus odores e gases estufa (como metano e óxidos de nitrogênio), devido à decomposição anaeróbia da vinhaça em excesso no solo (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015). Ademais, a vinhaça da produção de etanol de segunda geração é pobre em nutrientes, notadamente potássio (Tabela 1), limitando seu uso para fertirrigação (PARSAEE; KIANI; KARIMI, 2019).

Não foi encontrada, na legislação federal, nenhuma norma relacionada à disposição de efluentes industriais no solo. Por sua vez, os estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul possuem normas específicas para regular as atividades sucroalcooleiras, dispondo inclusive sobre a prática de disposição de vinhaça no solo agrícola (FERNANDES FILHO; ARAUJO, 2016). Segundo a Norma Técnica P4.231 da Cetesb, no estado de São Paulo, a dosagem de

vinhaça no solo deve ser calculada tendo como base sua concentração de potássio, de forma que esta concentração não exceda 5% da Capacidade de Troca Catiônica (CTC) do solo (CETESB, 2015). No estado do Mato Grosso do Sul, a Lei nº 4.661/2015 também se baseia na concentração de potássio para definição da dosagem de vinhaça a ser aplicada no solo, estabelecendo que tal concentração não deve ultrapassar as necessidades nutricionais da cultura (MATO GROSSO DO SUL, 2015). Segundo especificações da OMS (2006), em suas “Diretrizes para o uso seguro de efluentes, excretas e águas cinzas” o limite do conteúdo de DQO em um efluente para disposição no solo deve ser de 400 mg.L<sup>-1</sup>. Considerando as características da vinhaça demonstradas na Tabela 1 e as eficiências comumente observadas em sistemas de tratamento anaeróbio, esta concentração dificilmente é alcançada após apenas a digestão anaeróbia da vinhaça, demonstrando a importância da utilização de um sistema de pós-tratamento.

### **3.1.2.2. Hidrolisado Hemicelulósico**

Em se tratando da produção de etanol de segunda geração, um importante efluente do processo é o Hidrolisado Hemicelulósico (ou “licor de pentoses”). Uma vez que é um efluente diretamente ligado à biorrefinaria 2G, a composição do hidrolisado hemicelulósico está atrelada à composição básica dos materiais lignocelulósicos. Este tipo de biomassa se constitui basicamente por três tipos de compostos: a celulose, que representa 30 a 45% dos tecidos; a hemicelulose, 25 a 30%; e a lignina, 25 a 30% (ADARME, 2020). Zeng *et al.* (2014) realizaram uma caracterização do bagaço de cana bruto, obtendo a seguinte composição: Glucano (40,57%), Xilano (16,75%), Arabinano (4,84%), Galactano (5,92%) e Ácido Acético (1,52%).

Como dito anteriormente, é necessário um pré-tratamento do bagaço de cana para desconstruir a biomassa lignocelulósica, de forma a facilitar a exposição da celulose para o ataque enzimático dos microrganismos. Com isso, a celulose é convertida a glicose, que por sua vez é fermentada pelas leveduras para produção de etanol (LIMA, 2018). Existem diversos tipos de pré-tratamento, todos eles com foco na modificação da estrutura e composição química da biomassa lignocelulósica, principalmente com a remoção de frações de lignina e a solubilização da hemicelulose.

Um exemplo de pré-tratamento é o processo hidrotérmico (ou autohidrólise), que consiste em tratar a biomassa com água líquida a alta temperatura e pressão, promovendo a hidratação da celulose, solubilização das hemiceluloses e ainda alguma remoção da lignina. Este processo

tem como grande vantagem a independência da utilização de substâncias químicas, o que o torna, em certo ponto, mais sustentável. O resultado deste pré-tratamento é uma fase sólida, parcialmente deslignificada e rica em celulose, que pode ser utilizada na produção de etanol 2G; e uma fase líquida com grande concentração de monossacarídeos e xilo-oligômeros, que é chamada de hidrolisado hemicelulósico (BAËTA *et al*, 2016).

Diversos estudos avaliaram a utilização de toda a biomassa pré-tratada, incluindo fase sólida e fase líquida, para a produção de etanol ou metano. Entretanto, esta alternativa mostrou-se pouco viável em escala real devido à dificuldade das leveduras produtoras de álcool em fermentar as pentoses e ao caráter tóxico de alguns componentes do hidrolisado (BAËTA *et al.*, 2016), tópico que será discutido em mais detalhes adiante. Desta forma, a separação das fases sólida e líquida tem resultado em um melhor aproveitamento ambiental e energético do bagaço pré-tratado. A fase sólida – rica em celulose – é encaminhada para etapas de deslignificação e hidrólise enzimática, sendo então a glicose restante fermentada para produção de etanol. A fase líquida, por sua vez, pode ser encaminhada para outros processos.

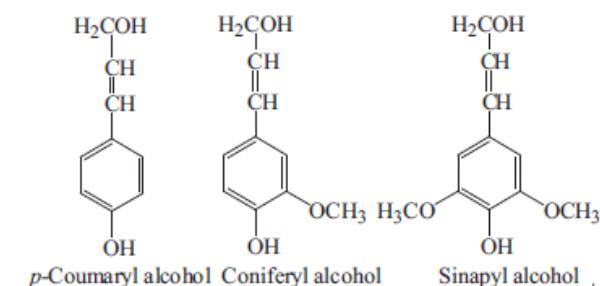
Como a maior parte da celulose mantém-se na fase sólida, a composição química do efluente do pré-tratamento deriva-se, majoritariamente, da hemicelulose, e, em menor parte, da lignina.

As hemiceluloses geralmente se apresentam como heteropolissacarídeos, sendo responsáveis na estrutura celular vegetal pela interligação entre a celulose e a lignina, de forma a criar uma rede de ligações que fornece força estrutural à planta (ADARME, 2020). As principais unidades formadoras da hemicelulose são hexoses (glicose, manose e galactose) e/ou pentoses (xilose e arabinose). Também se encontram presentes menores quantidades de certos ácidos urônicos (ácido galacturônico, ácido glicurônico). Além disso, grupos acetil são comumente encontrados (TELEMAN, 2009).

Por sua vez, a lignina é considerada um biopolímero, altamente hidrofóbico, que possui a estrutura mais complexa entre os polímeros naturais, apresentando uma mistura de unidades aromáticas e alifáticas. Ao contrário da celulose, que é um polímero linear, e da hemicelulose, um polímero ramificado, a lignina forma uma rede tridimensional (HENRIKSSON, 2009). É a segunda substância orgânica mais abundante em tecidos vegetais, menos frequente apenas que a celulose (ZANUNCIO; COLODETTE, 2011).

As ligninas são formadas prioritariamente por meio da polimerização de três monômeros: álcool cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (Figura 2). Para monocotiledôneas,

caso da cana de açúcar, as ligninas usualmente possuem conteúdo de álcool cumarílico superior aos encontrados em madeiras (HENRIKSSON, 2009).



**Figura 2 - Principais monômeros formadores de lignina (Fonte: Henriksson, (2009))**

A Tabela 2 apresenta a composição de hidrolisados hemicelulósicos obtidos por meio de diferentes tipos de pré-tratamento. Observa-se que em todos os casos a xilose – açúcar de 5 carbonos – é o componente mais abundante. Destaca-se também a elevada concentração de ácido acético nas amostras provenientes de pré-tratamento hidrotérmico. A presença dos compostos 5-Hidroximetilfurfural (5-HMF) e 2-furfuraldeído (2-FF), substâncias inibidoras da atividade de microrganismos, é um indicador de dificuldade para o tratamento deste efluente por meios biológicos. Adicionam-se a estes compostos aqueles provenientes da degradação da lignina, que também contribuem para a recalcitrância do hidrolisado hemicelulósico.

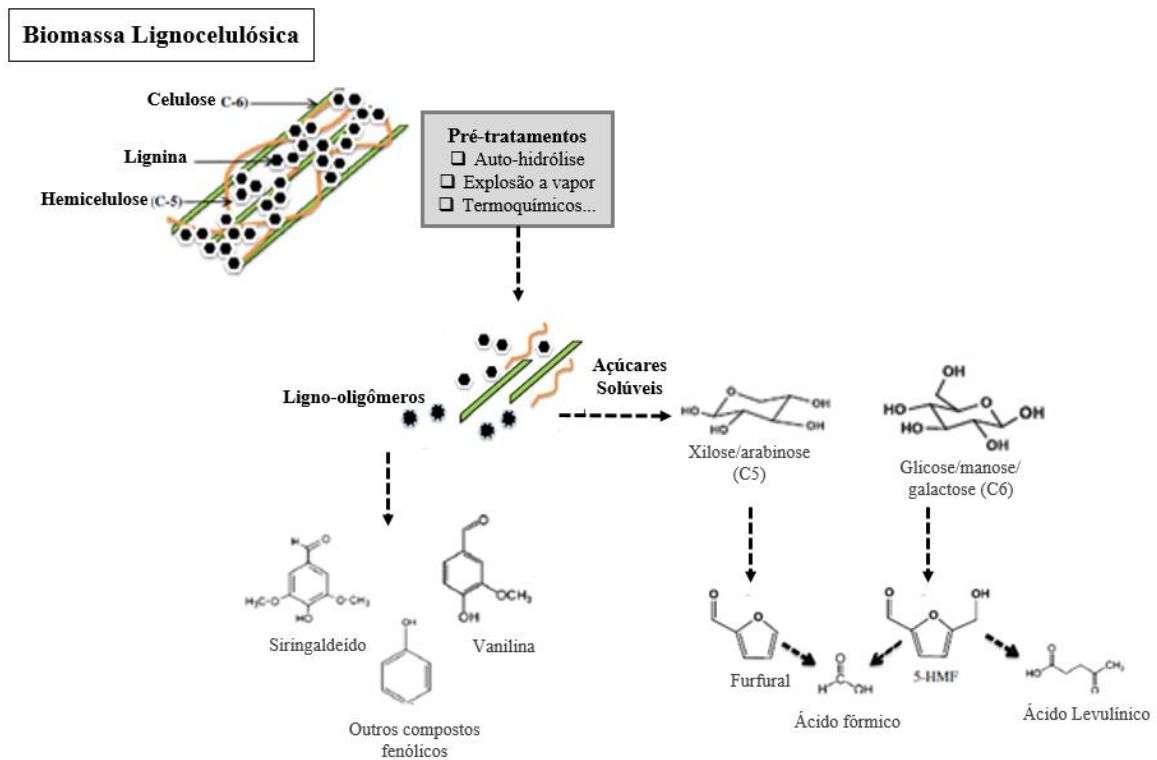
Ademais, vale ressaltar que o licor de pentoses também apresenta uma coloração marrom, proveniente de substâncias recalcitrantes, assim como ocorre na vinhaça. Entretanto, é possível que os componentes causadores de cor em efluentes derivados de biomassas lignocelulósicas sejam diferentes daqueles causadores da cor da vinhaça, predominando os componentes fenólicos e outros derivados da lignina. Informações relacionadas à descrição de componentes causadores de cor em efluentes do etanol lignocelulósico ainda são escassas na literatura (SHAN *et al.*, 2016).

Na Figura 3, representa-se a geração de subprodutos a partir do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica. Considerando-se que no pré-tratamento hidrotérmico não são inseridas no sistema outras substâncias químicas além da água, pode-se concluir que a composição do hidrolisado será inteiramente derivada deste tipo de subproduto, que pode ser dividido, basicamente, em três grupos: ácidos fracos - como o acetato, ácido levulínico e ácido fórmico; furanos - como o 5-HMF e o furfuraldeído; e compostos fenólicos - tais quais a vanilina e o siringaldeído (MONLAU *et al.*, 2014; PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

**Tabela 2 - Caracterização do Hidrolisado Hemicelulósico produzido a partir de diferentes processos de pré-tratamento**

| Pré-tratamento  | Componentes do Hidrolisado Hemicelulósico      |                             |                              |                                |                                    |                            |                           | Referências                      |
|---|--|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------------|
|   | Açúcares reduzidos totais (g.L <sup>-1</sup> ) | Xilose (g.L <sup>-1</sup> ) | Glicose (g.L <sup>-1</sup> ) | Arabinose (g.L <sup>-1</sup> ) | Ácido acético (g.L <sup>-1</sup> ) | 5-HMF (g.L <sup>-1</sup> ) | 2-FF (g.L <sup>-1</sup> ) |                                  |
| Hidrólise ácida<br>(121°, 60min,<br>0,5% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) | N.Q. <sup>(1)</sup>                            | 13,64                       | 11,00                        | 2,10                           | 2,26                               | N.Q.                       | 0,12                      | (PATTRA <i>et al.</i> , 2008)    |
| Explosão a vapor<br>(12 bar, 190°C,<br>15min)                             | 142  | 84,6%                       | 4,5%                         | N.Q.                           | N.Q.                               | N.Q.                       | N.Q.                      | (MORAES; ZAIAT; BONOMI,<br>2015) |
| Hidrotérmico<br>(190°C, 10 min,<br>injeção direta de<br>vapor)            | N.Q.   | 23,88                       | 4,01                         | 1,39                           | 5,79                               | 0,19                       | 0,32                      | (MARIANO <i>et al.</i> , 2013)   |
| Hidrotérmico<br>(178,6°C, 43,6<br>min)                                    | N.Q.   | 18,40 ± 1,13                | 3,16 ± 0,21                  | 0,66 ± 0,06                    | 10,98 ± 1,10                       | 7,82 ± 0,97                | 3,93 ± 0,41               | (RIBEIRO <i>et al.</i> , 2017)   |
| Hidrotérmico<br>(183°C, 41min)  | N.Q.   | 15,31 ± 0,34                | 2,65 ± 0,02                  | 0,86 ± 0,09                    | 11,92 ± 0,24                       | 0,58 ±<br>0,003            | 1,33 ± 0,01               | (ADARME, 2020)                   |

(1) NQ- Não Quantificado



**Figura 3 – Efeito do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica e geração de subprodutos (Fonte: adaptado de Monlau *et al.* (2014))**

Em uma caracterização do bagaço de cana por meio de extração com acetona seguida de análise em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), del Río *et al.* (2015) identificaram, predominantemente, aldeídos (48% dos lipídeos identificados) e álcoois graxos (23%), além de menores concentrações de ácidos graxos (10%) e esteroides (14%).

Para o tratamento biológico do HH, pode-se dizer que os principais compostos de interesse são aqueles que causam efeitos negativos no metabolismo e multiplicação dos microrganismos. Os furanos, por exemplo, como o furfural e o hidroximetilfurfural (HMF), são conhecidos por causar danos ao DNA, reduzir as taxas de fermentação, inibir enzimas integrantes do ciclo de degradação da glicose e até interromper o crescimento e multiplicação de microrganismos como bactérias e leveduras (ALMEIDA *et al.*, 2009). Por sua vez, compostos fenólicos também podem causar danos às células dos microrganismos por meio de alterações na permeabilidade das membranas, causando escape de componentes intracelulares e inativação de sistemas enzimáticos essenciais. Em culturas mistas de microrganismos, como é o caso da maioria dos sistemas de tratamento de efluentes, a ação dos furanos e compostos fenólicos é também relevante pelo fato de poder afetar seletivamente algumas espécies, alterando as rotas metabólicas e a dinâmica populacional do sistema (MONLAU *et al.*, 2014).

Assim, pode-se dizer que a correta destinação do hidrolisado é um dos fatores que dificultam a implantação da produção de etanol de segunda geração. Além da presença de substâncias tóxicas aos microrganismos, citada anteriormente, é comum que ocorra no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica a solubilização da lignina, composto conhecidamente recalcitrante (BAËTA *et al.*, 2016). Adicionalmente, o tratamento biológico do hidrolisado é prejudicado pelo seu baixo teor de nitrogênio (ADARME, 2020), o que também o torna pouco atrativo para utilização em sistemas de fertirrigação.

### **3.1.2.3. Origem da cor característica dos efluentes da indústria sucroalcooleira**

Como dito anteriormente, a vinhaça e o hidrolisado hemicelulósico apresentam uma característica cor marrom, que ocorre principalmente em razão da presença dos compostos conhecidos como melanoidinas, além de polifenóis e substâncias insaturadas derivadas da lignina. A existência de uma variedade de compostos coloridos, ao invés de um pigmento específico, dificulta a remoção de cor pela degradação biológica dos poluentes orgânicos presentes nos efluentes da usina de bioetanol (KUMAR, V.; CHANDRA, 2020).

As melanoidinas, principais causadores de cor, são produtos naturais da condensação de açúcares e aminoácidos, comumente gerados na indústria de alimentos através das reações de Maillard. Possuem estrutura complexa e indefinida, dependente das condições da reação de formação, com fórmula empírica  $C_{17-18}H_{26-27}O_{10}N$  (PRASAD, 2009) e peso molecular entre 5 e 40 kDa (KUMAR, V.; CHANDRA, 2020). Segundo Kaushik *et al.* (2018), as melanoidinas constituem cerca de 2% da composição da vinhaça. Vale destacar que as melanoidinas são mais solúveis em meios alcalinos, gerando cor mais forte em pH superiores a 8 (CHANDRA, RAM; BHARAGAVA; RAI, 2008).

A redução da DQO dos efluentes da indústria sucroalcooleira a níveis permitidos para o lançamento no ambiente é um grande desafio. Entretanto, a remoção da cor do efluente é ainda mais complicada. Processos físico-químicos de tratamento, como floculação, coagulação, nanofiltração ou adsorção mostram-se como os mais efetivos, porém, seus custos elevados, consumo de substâncias químicas e a produção de quantidades significativas de lodo tóxico os tornam pouco viáveis para aplicação em larga escala (CHANDRA, R.; KUMAR; TRIPATHI, 2018a).

A redução de cor por meios biológicos é dificultada, primeiramente, pela complexidade química dos compostos causadores de cor, além do fato de que estes são, geralmente, substâncias antioxidantes e inibidoras do metabolismo e crescimento microbiano. As

eficiências de degradação de melanoidinas em processos anaeróbio-aeróbio convencionais são comumente de cerca de 6 a 7%, contrastando com as elevadas remoções de matéria orgânica (GEBREEYESSUS; MEKONEN; ALEMAYEHU, 2019). Alguns estudos com culturas puras, notadamente dos gêneros *Pseudomonas* e *Aeromonas*, alcançaram mais sucesso nesta questão, obtendo remoções de até 66% de cor (SATYAWALI; BALAKRISHNAN, 2008). Em outro exemplo, Sirianuntapiboon, Phothilangka e Ohmomo (2004) utilizaram bactérias acetogênicas para remover até 75% da cor da vinhaça anaerobiamente digerida. Kumar e Chandra (2006) obtiveram eficiências de 50% de degradação de melanoidinas sintéticas utilizando uma combinação de cepas de *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus brevis* e *Bacillus* sp.

Dentre estes estudos que demonstraram maior sucesso na degradação de melanoidinas, grande parte tem em comum a utilização de uma fonte suplementar de carbono, como glicose, frutose ou manose, por exemplo, indicando que as melanoidinas são pouco biodisponíveis e que são degradadas por meio de co-metabolismo dos microrganismos. Segundo Kumar e Chandra (2020), a degradação de melanoidinas se dá fortuitamente pela quebra das ligações C=O, C=C e C≡N, que ocorre normalmente pela reação destes grupos insaturados com o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que é produzido de forma secundária nas reações enzimáticas de oxidação de glicose, caracterizando, portanto, o co-metabolismo.

A caracterização qualitativa e quantitativa destes compostos no efluente é complexa devido à grande variedade de produtos gerados nas reações de Maillard, tornando difícil sua purificação, identificação e quantificação por métodos analíticos convencionais (CHANDRA, RAM; BHARAGAVA; RAI, 2008). Contudo, podem ser citados alguns exemplos de metodologias para a identificação destes e outros compostos orgânicos em vinhaça. Um exemplo é a utilização da absorvância em 420 nm em espectroscopia UV-Vis como indicação da formação de produtos da reação de Maillard de elevado peso molecular (MOHSIN *et al.*, 2018).

Shan *et al.* (2016) utilizaram ácidos húmicos como indicadores de compostos causadores de cor em efluente de produção de etanol lignocelulósico. Os autores realizaram análises de espectroscopia de fluorescência em matriz de excitação-emissão (EEM), espectroscopia de infravermelho (FTIR) e posterior fracionamento em ultrafiltração (UF) para análise do peso molecular aparente dos compostos identificados. O estudo concluiu que a cor dos efluentes era realmente causada, em grande parte, pelas concentrações de substâncias húmicas, e que a distribuição de peso molecular influencia a cor dos efluentes. Além disso, observou-se neste



estudo a persistência dos ácidos húmicos após o tratamento biológico em reator anaeróbio de dois estágios seguido de reator aeróbio de bateladas sequenciais.

Considerando-se as substâncias húmicas como importantes causadores de cor, outros dois indicadores relacionados à absorvância em espectrofotometria de UV-Vis podem ser utilizados na análise da degradação destas substâncias após o tratamento biológico. O aumento da razão entre a absorvância a 260 e 400 nm, conhecida como “E2/E4”, após o tratamento, indica a degradação de substâncias húmicas fenólicas a compostos aromáticos carboxílicos mais simples (Shan *et al.*, 2016). Outro índice utilizado é a razão E4/E6 (absorvâncias a 465 e 665 nm), que se relaciona aos pesos moleculares das frações de ácidos húmicos (PEACOCK *et al.*, 2014). Segundo Lu *et al.* (2020) valores elevados do índice E4/E6 são associados à predominância de moléculas orgânicas menores e alifáticas, em detrimento de estruturas aromáticas.

Os métodos e índices aqui citados permitem investigar o perfil das substâncias orgânicas que compõem os efluentes antes e após o tratamento biológico, indo além dos parâmetros convencionais de medição de concentração de matéria orgânica, como a DQO. Conhecendo-se este perfil, é possível realizar uma análise mais exata da efetividade dos tratamentos em relação aos possíveis danos causados pelo descarte destes efluentes, uma vez que mesmo com a remoção elevada de DQO, podem resistir no efluente substâncias relevantes do ponto de vista do risco ambiental.

### **3.2. Tratamento dos efluentes da indústria sucroalcooleira**

Cabe ressaltar, com base na caracterização da vinhaça e do hidrolisado hemicelulósico, que a principal forma de poluição a ser tratada nestes efluentes é a matéria orgânica, seja ela prontamente biodisponível ou não. Para possibilitar o lançamento deste efluente no ambiente, seu uso em fertirrigação ou outros tipos de reuso, é necessário um tratamento com eficiências elevadas de remoção desta carga orgânica. Além disso, para se adequar à realidade da indústria, é importante buscar por tratamentos de maior simplicidade operacional e custos mais baixos. Outro fator importante é a possibilidade de se implementar tratamentos que permitam agregar valor ao processo produtivo, gerando subprodutos rentáveis a partir de materiais que habitualmente são tratados apenas como resíduos do processo. Este fator faz parte do conceito de Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) sustentáveis, no qual busca-se demonstrar que todos os subprodutos do processo (sólidos, líquidos e gasosos) possuem potencial de serem reaproveitados.

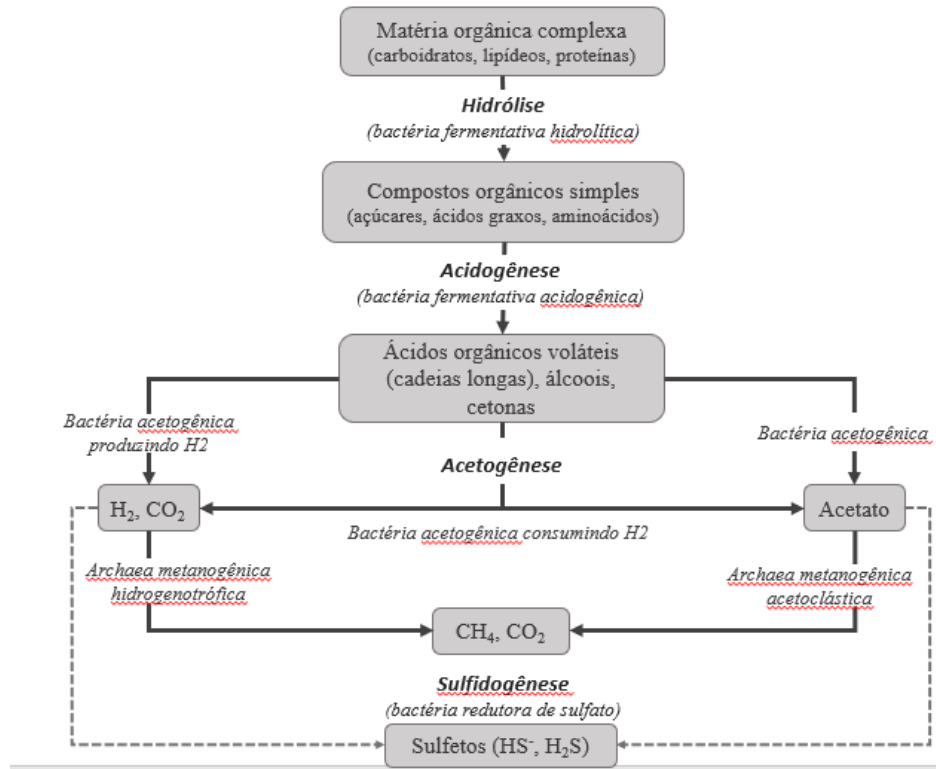
Neste cenário, a digestão anaeróbia apresenta-se como uma boa opção para os efluentes da indústria de bioetanol, por ser um processo robusto e de relativa simplicidade operacional, além de produzir biogás como subproduto. De acordo com Fuess *et al.* (2018), de 5 a 15% do consumo de energia global da indústria de etanol pode ser coberto pela digestão anaeróbia da vinhaça e posterior queima do biogás, o que a torna atrativa ambiental e economicamente. Entretanto, a eficiência de remoção de DQO e outros parâmetros nos sistemas anaeróbios não é suficiente para atender aos padrões legais de descarte ou permitir um reuso seguro, sendo normalmente necessário um pós-tratamento dos efluentes anaeróbios.

### **3.2.1. Digestão Anaeróbia**

Na digestão anaeróbia (DA), microrganismos heterotróficos metabolizam a matéria orgânica sem utilização de oxigênio molecular, convertendo-a a metano, dióxido de carbono e gás sulfídrico, que constituem o biogás. Calcula-se que mais de 50% da DQO da vinhaça aplicada a sistemas anaeróbios pode ser convertida em biogás, que, por sua vez, pode ser utilizado como combustível dentro da própria indústria (SATYAWALI; BALAKRISHNAN, 2008).

A DA é um processo complexo, constituído principalmente das etapas: hidrólise/acidogênese, acetogênese e metanogênese, sendo cada uma delas exercida por um grupo microbiano específico (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015). Durante cada uma destas etapas ocorrem diferentes reações que geram diferentes produtos intermediários, conforme mostra a Figura 4. Esta variedade de reações pode tornar trabalhoso o controle operacional de biodigestores anaeróbios, principalmente em efluentes cuja composição é variável, como é o caso da vinhaça. Diante disso, apesar de ser reconhecidamente o melhor tipo de tratamento para este efluente, a biodigestão anaeróbia da vinhaça ainda não é uma tecnologia bem estabelecida em escala real, devido às várias possibilidades de parâmetros e condições para sua operação (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015). Ressalta-se, portanto, que as condições estabelecidas como ideais em determinado estudo não serão necessariamente as melhores para qualquer usina de etanol ou mesmo para qualquer época do ano, sendo profundamente dependentes das características da biomassa e do processo que levou à geração do efluente.

Uma das formas utilizadas para reduzir problemas operacionais é a digestão em dois estágios, dividindo-se espacialmente (geralmente em dois reatores), os microrganismos acidogênicos dos acetogênicos e metanogênicos. Com esta configuração, é possível otimizar as etapas da DA por meio da adoção de parâmetros mais adequados para as reações que ocorrem em cada uma delas, aumentando-se a estabilidade do processo de tratamento (ADARME, 2020).



**Figura 4 - Descrição do processo de digestão anaeróbia (Fonte: adaptado de Moraes, Zaiat e Bonomi (2015))**

Além disso, a otimização das etapas iniciais da DA por meio da implantação de um reator acidogênico leva a um ganho considerável no que tange ao tratamento de efluentes com elevada concentração de substâncias recalcitrantes e de cadeias longas, uma vez que aumenta a eficiência da hidrólise deste tipo de compostos, que muitas vezes passariam inalterados pelo processo de tratamento. Garante-se, assim, maiores concentrações de substrato para as etapas posteriores da DA, levando a uma maior eficiência na mineralização de matéria orgânica e maior produção de metano.

Para garantir a divisão espacial dos microrganismos, a operação do primeiro reator, acidogênico, ocorre em pH mais baixo e com menores tempos de detenção hidráulica – TDH. Isto inibe o crescimento das bactérias metanogênicas neste primeiro reator, uma vez que as mesmas são mais ativas em pH de 6,5 a 8,0 e possuem crescimento lento, com tempo de duplicação superior a 24h (MARA; HORAN, 2003). Enquanto isto, o reator metanogênico opera em pH próximo à neutralidade e com TDH cerca de 3 a 4 vezes superior ao da primeira fase (SIDDIQUE; WAHID, 2018). Adarme (2020) demonstrou, por meio da análise metagenômica das comunidades microbianas em reatores de um sistema de duplo estágio, que o controle do pH e TDH foi suficiente para garantir a separação física dos microrganismos nos dois reatores. O mesmo foi observado por Shan *et al.* (2015).

Os sistemas anaeróbios de duplo estágio são representados na literatura relacionada ao tratamento de vinhaça, por exemplo, por Blonskaja, Menert e Vilu (2003) que reportaram remoção de 93% da DQO aplicada no reator de dois estágios, Shan *et al.* (2015) que obtiveram eficiência média de 90%, e Ferraz *et al.* (2016), que obtiveram melhor remoção de DQO neste tipo de reator quando comparado ao reator UASB único, resultando em remoção de 74,6% da DQO total, além de um rendimento da produção de energia 25,7% superior. Da mesma forma, Evangelista *et al.* (2019), demonstraram eficiência de remoção de DQO de cerca de 50%, com produção de biogás 58% superior em dois estágios quando comparada a estágio único (Tabela 3).

Adarme (2020) também demonstrou melhor performance na remoção de DQO e produção de metano do sistema anaeróbio de duplo estágio quando comparado ao reator único, ambos operados em modo contínuo. As eficiências globais obtidas neste estudo foram de 80% para o sistema duplo e 65% para o sistema simples. Ademais, o rendimento de metano foi de 0,245 NL CH<sub>4</sub>g.DQOr<sup>-1</sup> em dois estágios e 0,205 NL CH<sub>4</sub>g.DQOr<sup>-1</sup> em um reator único.

A otimização da produção de biogás e tratamento da vinhaça de cana de açúcar por meios anaeróbios tem sido amplamente estudada. Moraes, Zaiat e Bonomi (2015), em uma revisão acerca da DA da vinhaça de etanol brasileiro, identificaram, em estudos com reatores anaeróbios de diferentes configurações, eficiências de remoção de DQO variando entre 58 e 89% e rendimentos de metano de 0,023 a 0,47 NL<sub>CH<sub>4</sub></sub>.gDQO<sub>removida</sub><sup>-1</sup>. Embora o último valor provavelmente esteja superestimado em razão da ocorrência de morte celular no reator (uma vez que é superior ao valor teórico de produção de metano – 0,35 NL<sub>CH<sub>4</sub></sub>.gDQO<sub>removida</sub><sup>-1</sup>), a amplitude dos resultados observados demonstra a variabilidade da eficiência da digestão anaeróbia em razão de alterações nas características do efluente, dos reatores e dos parâmetros operacionais da DA.

Também são avaliadas na literatura diversas técnicas para aumento desta eficiência não relacionadas à configuração dos reatores, como o pré-tratamento da vinhaça por meios físico-químicos, imobilização da biomassa no reator e a co-digestão (HOARAU *et al.*, 2018). Esta última técnica tem se mostrado uma alternativa interessante, pois possibilita a utilização de outros resíduos e efluentes da indústria de etanol, como, por exemplo, o hidrolisado hemicelulósico.

A decomposição anaeróbia do hidrolisado apresenta alguns desafios, como a elevada concentração de compostos potencialmente inibidores, como o 5-HMF e 2-Furfuraldeído;

recalcitrantes, como a lignina solúvel; além da baixa concentração de nutrientes. Baêta *et al.* (2016) sugeriram a adoção de reator em dois estágios para reduzir estes problemas, permitindo que os compostos inibidores e recalcitrantes sejam convertidos com mais eficiência em Ácidos Graxos Voláteis (AGVs) no primeiro estágio, o que conseqüentemente levaria a um aumento da eficiência do estágio metanogênico. Com esta configuração, os autores obtiveram elevadas remoções de Carbono Orgânico Total (COT) – de 82 a 89% - e produção de metano até 50% superior à obtida em experimentos com DA em único estágio.

A co-digestão anaeróbia, que consiste em tratar dois substratos diferentes no mesmo reator, pode ser uma interessante solução para problemas observados na digestão da vinhaça e do HH. Com a mistura, ocorre a diluição de substâncias que prejudicam a digestão anaeróbia em ambos os efluentes (sulfatos na vinhaça e furfurais no HH), reduzindo seu impacto nos microrganismos e melhorando o rendimento das reações (Baêta *et al.*, 2016). Além disso, a co-digestão destes efluentes contribui para a integração da biorrefinaria de primeira e segunda geração.

Adarme *et al.* (2019) avaliaram a co-digestão da vinhaça, HH e outros resíduos da indústria de etanol (como cinzas e leveduras), buscando otimizar a produção de metano. Além da diluição de componentes indesejados, a co-digestão auxilia no balanço de Carbono/Nitrogênio (C/N), uma vez que a vinhaça possui concentrações de nitrogênio de 3 a 4 vezes superiores às do hidrolisado. De acordo com os resultados obtidos, a mistura de 25% de HH para 75% de vinhaça apresentou o maior rendimento de metano, superior ao obtido pela digestão da vinhaça pura. Foi utilizando esta proporção que Adarme (2020) obteve o resultado de eficiência global de 80% na remoção de DQO em sistema de duplo estágio, já citada anteriormente. Além disso, também foi observada neste estudo a remoção de furanos e degradação de alguns componentes fenólicos durante a digestão anaeróbia.

Para melhor visualização das informações encontradas acerca da DA dos efluentes da produção de etanol, foi construída a Tabela 3, que destaca os principais parâmetros operacionais e eficiências obtidas nos estudos já apresentados neste capítulo, acrescido de outros estudos que avaliaram a produção de metano e remoção de matéria orgânica em vinhaça e hidrolisado hemicelulósico. Observando a variedade de estudos disponíveis acerca da digestão anaeróbia de efluentes da indústria de etanol, com bons resultados de remoção de matéria orgânica e produção de metano, pode-se dizer que esta tecnologia se mostra promissora como tratamento inicial destes efluentes. Contudo, apesar das elevadas eficiências de remoção de DQO reportadas, os valores de DQO remanescente no efluente anaeróbio

ainda são elevados na maioria dos casos. Com base nos dados disponibilizados por Moraes, Zaiat e Bonomi (2015), observam-se valores de DQO remanescente no efluente anaeróbio variando entre 2,4 e 29 g.L<sup>-1</sup>.

**Tabela 3 - Estudos com a digestão anaeróbia de efluentes da produção de etanol**

| Substrato                                      | Tipo de reator                            | Operação  | Eficiência global de remoção de DQO (%) | Rendimento de metano (NL <sub>CH4</sub> .gDQO <sup>-1</sup> ) | Referência                          |
|--|---|---|---|---|-------------------------------------|
| Vinhaça  | Filtro Anaeróbio (FA) + UASB              | TDH (FA): 10 dias<br>COA (FA): 2-4 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup><br>TDH (UASB): 20 dias<br>COA (UASB): 1-2 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>      | 93%                                     | -   | (BLONSKAJA; MENERT; VILU, 2003)     |
| Vinhaça  | APBR <sup>(1)</sup> + UASB                | TDH: 10,2 horas<br>COA: 84 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup><br>TDH: 23 horas<br>COA: 25 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>                            | 74,6%                                   | 0,306   | (FERRAZ <i>et al.</i> , 2016)       |
| Vinhaça  | UASB(R1) + UASB(R2)                       | TDH (R1): 2 dias<br>COA (R1): 7,5-12,5 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup><br>TDH (R2): 1,6 dia<br>COA (R2): 6,5-11,3 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> | 50%                                     | 0,093   | (EVANGELISTA <i>et al.</i> , 2019)  |
| Vinhaça (etanol lignocelulósico)               | CSTR <sup>(2)</sup> + EGSB <sup>(3)</sup> | TDH: 11,5 horas<br>COA: 40 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup><br>TDH: 24 horas<br>COA: 17 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>                            | 90%                                     | 28.7 ± 2.5 (L.dia <sup>-1</sup> )                             | (SHAN <i>et al.</i> , 2015)         |
| Vinhaça + Hidrolisado Hemicelulósico (75%-25%) | ASTBR <sup>(4)</sup> + UASB               | TDH: 6 horas<br>COA: 2,5 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup><br>TDH: 19,9 horas<br>COA: 1,61 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>                          | 80%                                     | 0,245   | (ADARME, 2020)                      |
| Vinhaça + Hidrolisado Hemicelulósico (75%-25%) | HAR <sup>(5)</sup>                        | TDH: 18,7 horas<br>COA: 1,39 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>   | 65%                                     | 0,205   | (ADARME, 2020)                      |
| Vinhaça de Melão de cana                       | EGSB                                      | TDH: 3,2 dias<br>COA: 21,5 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>   | 58%                                     | 0,26  | (LÓPEZ; BORZACCONI, 2011)           |
| Vinhaça de Caldo de cana                       | UASB                                      | TDH: 4,9 dias<br>COA: 10,5 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>   | 88,5%                                   | 0,22  | (CRAVEIRO; SOARES; SCHMIDELL, 1986) |
| Hidrolisado Hemicelulósico (Autohidrólise)     | UASB                                      | TDH: 0,77 dias<br>COA: 2,4 g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>   | 85,7%                                   | 0,29  | (RIBEIRO <i>et al.</i> , 2017)      |

<sup>(1)</sup>Anaerobic Packed-Bed Reactor – Reator anaeróbio de leito fixo

<sup>(2)</sup>Continuous stirred tank reactor – Reator com tanque de agitação contínua

<sup>(3)</sup>Expanded Granular Sludge Bed – Leito expandido granular

<sup>(4)</sup>Acidogenic Structured-Bed Reactor – Reator acidogênico de leito estruturado

<sup>(5)</sup>Hybrid Anaerobic Reactor - (UASB de leito estruturado)

Após o tratamento, para que possam ser lançados em corpos d'água, os efluentes devem obedecer aos padrões, condições e diretrizes dispostos nas Resoluções Conama nº 357/2005 e nº 430/2011 (CONAMA, 2005; CONAMA, 2011). É importante ressaltar que estas normas não definem condições de concentração de DQO para os efluentes a serem dispostos, considerando apenas a DBO, que deve ser removida em no mínimo 60% pelo sistema de tratamento para que o efluente possa ser lançado em corpo d'água. Entretanto, pela legislação estadual de Minas Gerais, o limite de DQO para lançamento é de 180 mg/L ou eficiência de remoção média anual de 75%, conforme a DN COPAM/CERH-MG N.º 1 de 2008 (COPAM/CERH, 2008).

Adicionalmente, o Estado de Minas Gerais proibiu o lançamento de efluentes das indústrias de açúcar, etanol e aguardente, sem tratamento prévio, em qualquer curso d'água ou lagoa, por meio da Lei Estadual nº 9.367/1986 (MINAS GERAIS, 1986). Apesar desta lei ter perdido em grande parte seu efeito após a publicação das Resoluções CONAMA acima mencionadas, visto que qualquer efluente está sujeito ao atendimento dos padrões de lançamento, sua existência demonstra que a preocupação com a destinação dos efluentes da indústria sucroalcooleira é antiga no Estado e no país. Entretanto, pouco se avançou na legislação específica desde então, uma vez que não foi encontrada nenhuma norma, federal ou estadual (em Minas Gerais) que trate especificamente da destinação destes efluentes, seja em cursos d'água ou por meio da fertirrigação.

### **3.2.2. Pós-tratamento do efluente anaeróbio**

Devido à variedade de processos microbiológicos que ocorrem em um reator anaeróbio, estes sistemas são sensíveis a condições de estresse e excesso de carga orgânica. Nestes períodos, pode ocorrer acumulação de ácidos graxos voláteis (AGVs), resultando em valores elevados de DQO residual no efluente anaeróbio (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). Como o processo de produção de etanol em usinas sucroalcooleiras é dinâmico, variando inclusive em substrato (caldo, melão, bagaço) de acordo com as condições da safra, é possível que se tenha uma variação considerável nas características da vinhaça ao longo do ano, o que se refletirá nas condições operacionais do reator. É indicado, portanto, que se tenha um sistema adicional de tratamento, menos sensível a estas variações, que permita equalizar a qualidade do efluente final do processo.

Processos físico-químicos são extensamente avaliados como alternativa de pós-tratamento, uma vez que estes apresentam maiores eficiências na remoção de cor e das substâncias

orgânicas recalcitrantes. Entretanto, este tipo de processo pode apresentar maiores custos e necessidade de disposição de grandes quantidades de lodo químico, de disposição mais complexa que o lodo biológico, o que dificulta sua implantação em escala industrial (SATYAWALI; BALAKRISHNAN, 2008).

Desta forma, o pós-tratamento por meios biológicos, geralmente aeróbios, representa grande potencial de implantação, além de ser considerado ambientalmente mais sustentável por se inserir no ciclo natural de nutrientes e energia (GEBREEYESSUS; MEKONEN; ALEMAYEHU, 2019). São encontrados na literatura diversos estudos utilizando sistemas de wetlands construídos, biocompostagem, sistemas algais e variadas configurações de biorreatores compostos por fungos e bactérias visando o pós-tratamento biológico de vinhaça anaerobiamente digerida (SATYAWALI; BALAKRISHNAN, 2008). Ademais, em grande parte destes estudos, observou-se a adição de glicose e nutrientes para suplementação do crescimento dos microrganismos (GHOSH *et al.*, 2004; MOHANA; DESAI; MADAMWAR, 2007; SIRIANUNTAPIBOON; PHOTHILANGKA; OHMOMO, 2004), como forma de viabilizar o pós-tratamento biológico de um efluente com características reconhecidamente recalcitrantes.

Além da matéria orgânica, o efluente da digestão anaeróbia da vinhaça apresenta tipicamente pH alcalino, podendo conter também níveis elevados de sólidos dissolvidos totais, nitrogênio total,  $\text{SO}_4^{3-}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  (KUMAR, V.; CHANDRA, 2020). Cabe também ressaltar que a ressonância de insaturações das melanoidinas se intensificam em condições anaeróbias e em pH elevado, podendo agravar o problema da cor escura da vinhaça (HOARAU *et al.*, 2018; PEÑA *et al.*, 2003).

O processo de pós-tratamento a ser empregado precisa ser capaz de lidar com todas estas características. É recomendada a utilização de um sistema biológico aeróbio, de forma a complementar as reações bioquímicas ocorridas no sistema anaeróbio. Ademais, sistemas aeróbios são geralmente mais resistentes a variações na qualidade do afluente ao sistema.

Sendo assim, optou-se no presente estudo por realizar o pós-tratamento do efluente em um sistema de lodos ativados, que é robusto, reconhecidamente eficiente e amplamente utilizado em sistemas de escala real. Segundo Mara e Horan (2003), o sistema de lodos ativados pode ser considerado um dos principais processos biotecnológicos do mundo, provendo tratamento para uma infinidade de efluentes nas mais diversas condições ambientais. Busca-se assim entender se este sistema, quando aplicado como pós-tratamento de efluentes anaeróbios



derivados da indústria sucroalcooleira (que possuem características reconhecidamente recalitrantes), atingirá as elevadas eficiências de remoção de carga orgânica tipicamente observadas. Além disso, o efluente aeróbio produzido será caracterizado com vistas à identificação de substâncias orgânicas de relevância ambiental.

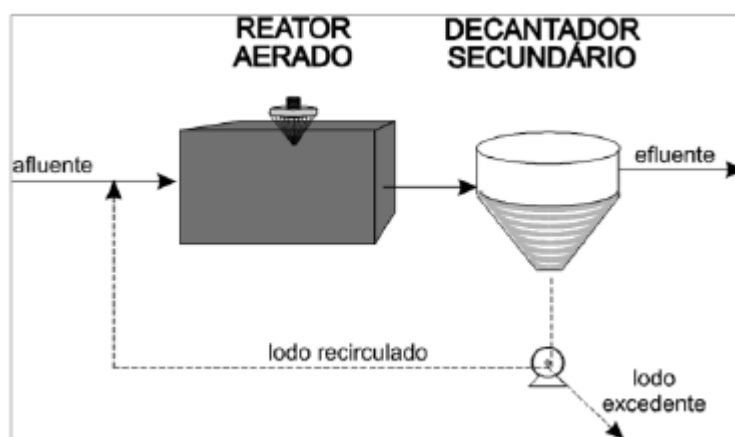
### **3.2.2.1. Sistema de lodos ativados**

O processo de lodos ativados é um dos mais utilizados, em nível mundial, para o tratamento de efluentes domésticos e industriais. Suas principais vantagens são a elevada eficiência de remoção de matéria orgânica, possibilidade de remoção de nutrientes e baixos requisitos de área, quando comparados a outros sistemas aeróbios de tratamento de efluentes. Como pontos negativos do sistema cita-se o nível de mecanização, que é superior ao de grande parte dos tratamentos biológicos, levando a maiores custos com energia elétrica; e a produção de lodo não estabilizado, que exige tratamento antes da sua disposição (von Sperling, 2002).

Para o tratamento de efluentes celulósicos, processos aeróbios ou anaeróbio-aeróbios são os mais frequentes, sendo utilizados há décadas em sistemas de escala real (ZITOMER; SPEECE, 1993). Dentre estes, o mais comumente aplicado é o processo de lodos ativados.

O funcionamento do sistema de lodos ativados baseia-se na decomposição da matéria orgânica por microrganismos de respiração aeróbia, que a convertem em água e CO<sub>2</sub>. Para isto, é necessário fornecer oxigênio a estes microrganismos, o que ocorre no tanque de reação. A faixa de pH ideal de operação de um sistema de lodos ativados, para garantir o bom crescimento dos microrganismos, é em torno de 6,0 a 8,5 (DIONISI, 2017)

As principais unidades do processo convencional encontram-se apresentadas na Figura 5. Destaca-se a existência da recirculação de lodo do decantador secundário, que é fundamental para a elevada eficiência alcançada por este processo. Esta unidade permite que os microrganismos retornem para o reator, fazendo com que o tempo de residência celular seja notoriamente superior ao tempo de detenção hidráulica, o que conseqüentemente leva a maiores eficiências de remoção de matéria orgânica (BITTON, 2005).



**Figura 5 - Representação simplificada das unidades do sistema de lodos ativados (Fonte: von Sperling, 2002)**

Na concepção do sistema de lodos ativados, os principais parâmetros de projeto relacionam-se à concentração de microrganismos no tanque de aeração e ao seu controle, que é realizado por meio da recirculação e descarte de lodo. A Tabela 4 apresenta os valores típicos para estes parâmetros encontrados na literatura. Ressalta-se, porém, que a maioria destes valores foi estabelecida para o tratamento de esgoto doméstico, podendo haver variações em sistemas de tratamento de efluentes industriais.

**Tabela 4 - Parâmetros do processo de tratamento por lodos ativados convencional. (von Sperling, 2002)**

| Parâmetro                    |  | Mínimo | Máximo |
|------------------------------|--|--------|--------|
| <b>E</b>                     | Eficiência de remoção (DBO) (%)  | 85     | 90     |
| <b><math>\theta_c</math></b> | Idade do lodo (d)  | 4      | 10     |
| <b>TDH</b>                   | Tempo de detenção hidráulica (h)   | 6      | 8      |
| <b><math>X_v</math></b>      | Concentração de Sólidos Suspensos Voláteis no reator ( $\text{g.L}^{-1}$ )     | 1,5    | 3,5    |
| <b>A/M</b>                   | Relação alimento/microrganismo ( $\text{kgDBO}_5.\text{kgSSV}.\text{d}^{-1}$ ) | 0,3    | 0,8    |
| <b>R</b>                     | Razão de recirculação ( $Q_r.Q^{-1}$ )   | 0,7    | 1,2    |

A “idade do lodo” ( $\theta_c$ ) representa o tempo de residência celular no reator, ou seja, o tempo médio que as células microbianas permanecem no sistema de tratamento. Como mostra a Tabela 4, em sistemas convencionais o valor de  $\theta_c$  fica entre 4 e 10 dias. Para sistemas industriais, cujas cargas de matéria orgânica geralmente são superiores às do esgoto doméstico e pode haver presença de compostos tóxicos e/ou recalcitrantes, o mais comum é que este valor se situe entre 8 e 10 dias (METCALF; EDDY; TCHOBANOGLOUS, 1991).

A idade do lodo, em dias, deve ser adotada para o projeto com base nos valores usuais, sendo seu controle realizado por meio da retirada de lodo do sistema, que é calculada pela equação 1 (adaptado de BITTON, 2005).

$$\theta_c = \frac{V.SSV_R}{Q_{efl}.SSV_{efl} + Q_{ex}.SSV_{LR}} \quad (1)$$

Em que  $V$  corresponde ao volume do reator (L);  $Q_{efl}$  à vazão efluente do sistema (L.dia<sup>-1</sup>);  $Q_{ex}$  à vazão de lodo a ser descartado (L.dia<sup>-1</sup>); e  $SSV_R$ ,  $SSV_{efl}$  e  $SSV_{LR}$  às concentrações de sólidos suspensos voláteis no reator (mg.L<sup>-1</sup>), no efluente e no lodo de retorno, respectivamente. Esta equação é válida para a retirada de lodo por meio da linha de recirculação.

A retirada periódica de lodo e o controle da razão de recirculação do lodo decantado para o tanque de aeração possibilita também a manutenção da relação alimento/microrganismo (A/M), por meio do controle da concentração de microrganismos (SSV) no TA (BITTON, 2005). A manutenção de menores valores de A/M no sistema estimula maior consumo de matéria orgânica complexa e menos favorável energeticamente pelos microrganismos, uma vez que há pouco alimento disponível no sistema (ZITOMER; SPEECE, 1993).

É importante diferenciar o tempo de residência celular (idade do lodo) do tempo de detenção hidráulica (TDH) do reator. O primeiro, como já dito, refere-se aos microrganismos, enquanto o segundo determina o tempo em que o líquido permanece no sistema de tratamento. O TDH é calculado pela equação 2.

$$TDH = \frac{V}{Q} \quad (2)$$

Em que  $Q$  é a vazão de entrada do efluente no sistema. O TDH também é um parâmetro fundamental para garantir a eficiência de remoção de matéria orgânica dissolvida. Assim como para a idade do lodo, no tratamento de efluentes industriais podem ser necessários TDH maiores que os indicados para o esgoto sanitário (ORHON; GERMIRLI BABUNA; KARAHAN ÖZGÜN, 2009).

Outro fator de relevância para os sistemas de lodos ativados é a aeração, que deve ser suficiente para permitir que os microrganismos aeróbios possam metabolizar os compostos orgânicos presentes no efluente por meio das reações de oxidação. Há dois tipos principais de aeradores utilizados em sistemas de lodos ativados: difusores, que são aqueles que produzem bolhas de gás no tanque aeração, transferindo o oxigênio da fases gasosa para a fase líquida; e

aeradores mecânicos, que produzem movimentação suficiente no líquido para estimular a transferência de oxigênio atmosférico para o efluente em tratamento (DIONISI, 2017). A definição dos parâmetros de aeração é essencial para a eficiência do sistema e influencia, também, na demanda energética do sistema de tratamento, podendo ser um fator determinante para a viabilidade técnica e econômica de sua implantação.

Como mostrado na Tabela 4, no sistema convencional de Lodos Ativados são utilizados, geralmente, valores de TDH variando entre 6 e 8 horas e  $\theta_c$  entre 4 e 10 dias. Quando empregado um TDH mais elevado, da ordem de 16 a 24 horas, e  $\theta_c$  entre 18 e 30 dias, o processo de lodos ativados é conhecido como de “aeração prolongada”, sendo considerado uma variação do sistema convencional (von Sperling, 2002).

Valores elevados de TDH e idade do lodo, que resultam em um tempo superior de contato entre os microrganismos e o efluente, são interessantes para a degradação de compostos recalcitrantes, pois permitem a adequada aclimatação dos microrganismos. Esta aclimatação se dá, por exemplo, por meio do mecanismo de indução da produção de enzimas, que acontece quando o microrganismo degradador é exposto por tempo suficiente ao composto a ser degradado, podendo ocorrer na escala de minutos ou horas (MARA; HORAN, 2003). Vale ressaltar, entretanto, que quanto maior o TDH do processo, maiores serão as áreas requeridas para o TA, sendo importante portanto buscar um equilíbrio entre a eficiência desejada e a viabilidade econômica da instalação do sistema de tratamento.

Outra forma de modificação do processo de lodos ativados convencional é o Reator de Bateladas Sequenciais (RBS). Este tipo de reator dispensa a necessidade de um decantador secundário, uma vez que a decantação ocorre no próprio TA. O RBS funciona em ciclos, que abrangem as seguintes fases: (I) enchimento do reator; (II) reação; (III) sedimentação/decantação; (IV) retirada do sobrenadante. Na fase IV, é retirado do reator apenas o efluente clarificado, restando no mesmo o lodo decantado. Ao final de cada ciclo se inicia o próximo, com o enchimento do reator com efluente bruto, que é misturado ao lodo decantado por um sistema de mistura ou pela ação do próprio sistema de aeração, que pode ser acionado nas fases I ou II (von Sperling, 2002).

Uma vez que o processo de lodos ativados é o tipo de pós-tratamento mais comum para efluentes anaeróbios, os esforços da pesquisa científica atual têm focado em melhorias na eficiência deste sistema e na configuração dos reatores. Neste sentido, os reatores do tipo RBS têm sido o foco de diversas pesquisas, como em Kanimozhi e Vasudevan (2014), que

obtiveram eficiência de 74% na remoção de DQO em um sistema de RBS tratando vinhaça anaerobiamente digerida e Hu, Fan e Gao (2017) que observaram eficiência global de 78,5% em um sistema em escala piloto, que consistiu em um reator anaeróbio de mistura completa seguido de um sistema aeróbio do tipo RBS.

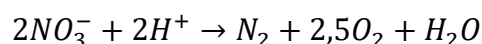
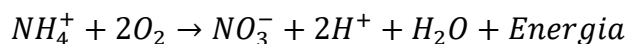
Podem também ser citados outros exemplos de variações nos sistemas convencionais de tratamento aeróbio, como os estudos em cultura pura realizados por Ghosh, Ganguli e Tripathi (2002), os quais resultaram em 66% de redução na concentração de DQO em um biorreator aeróbio de dois estágios utilizando *Pseudomonas putida* e *Aeromonas* sp.

As variações na configuração de sistemas de tratamento são empregadas não apenas para aumento da eficiência do processo, mas também para reduzir os seus passivos, como, por exemplo, a elevada geração de lodo não estabilizado em sistemas convencionais de lodos ativados. Os microrganismos que formam o lodo de um reator convencional encontram-se em plena atividade, o que faz com que ele precise ser estabilizado antes de sua desidratação e descarte no meio ambiente. No caso do uso de lodos ativados como pós-tratamento de uma unidade anaeróbia, esta estabilização pode ser feita no próprio reator anaeróbio do sistema, dispensando a implantação de uma unidade específica para o tratamento de lodo. Por sua vez, nos sistemas de aeração prolongada, o lodo retirado para descarte já se encontra estabilizado, devido às elevadas idades do lodo e baixa relação alimento microrganismo (A/M) empregadas nestes processos, podendo ser encaminhado diretamente para as unidades de desidratação (von Sperling, 2002).

Como dito anteriormente, a suplementação do efluente com glicose tem sido utilizada para estimular a atividade microbiana no tratamento de efluente da digestão anaeróbia de vinhaça. É comum também a adição de nutrientes para o tratamento de efluentes industriais, visto que estes geralmente não possuem concentrações de nitrogênio e fósforo suficientes para manter as condições ótimas para o crescimento dos microrganismos. Para sistemas aeróbios, a razão DBO:N:P ideal é reportada como sendo 100:5:1 (METCALF; EDDY; TCHOBANOGLOUS, 1991). Entretanto, como descrito no item 3.1.2, a vinhaça geralmente apresenta algum conteúdo de nitrogênio, de forma que sua degradação direta por vias aeróbias poderia, na maioria dos casos, não necessitar da suplementação deste nutriente.

Vale ressaltar que quando uma etapa anaeróbia é inserida previamente à aeróbia, ocorre uma ‘amonificação’ do efluente devido à conversão de proteínas e matéria orgânica nitrogenada em íon amônio, sendo esta a espécie mais abundante de nitrogênio no efluente anaeróbio.

O sistema de lodos ativados é utilizado, em muitos casos, para a remoção de nitrogênio, o que ocorre normalmente pelas reações de nitrificação e desnitrificação, como representadas a seguir (von Sperling, 2002):



A reação de nitrificação possui requisitos um pouco diferentes da remoção de matéria carbonácea. A taxa de crescimento das bactérias nitrificantes é mais lenta que a dos microrganismos que removem matéria orgânica, o que exige idades do lodo mais elevadas. Desta forma, a adoção de idades do lodo mais elevadas em sistemas de tratamento de efluente industrial podem favorecer a ocorrência da reação de nitrificação.

No geral, os microrganismos nitrificantes são mais sensíveis a componentes tóxicos e variações nas condições do ambiente. Por exemplo, a nitrificação exige maior garantia da presença de oxigênio no tanque de aeração, uma vez que a reação cessa no instante em que o oxigênio fica abaixo do nível crítico (von Sperling, 2002).

A reação de desnitrificação ocorre necessariamente a partir do nitrato, e não da amônia, de forma que a desnitrificação deve ser obrigatoriamente precedida da nitrificação. É comum, portanto, que a nitrificação ocorra no TA, onde há abundância de oxigênio, e a desnitrificação na unidade seguinte, quando cessada a aeração do líquido. Contudo, em um sistema convencional de lodos ativados, deve-se evitar que a reação de desnitrificação ocorra no decantador secundário. Quando isto ocorre, a liberação de nitrogênio na forma de  $N_2$  forma pequenas bolhas que se aderem ao lodo, causando o fenômeno de flotação do lodo (lodo ascendente). Com isso, pode ocorrer a saída de parte do lodo pelos vertedores do decantador, prejudicando a qualidade final do efluente (METCALF; EDDY; TCHOBANOGLOUS, 1991).

Em se tratando dos fluxos de carbono durante a degradação de matéria orgânica no sistema aeróbio, pode-se dizer que existem 4 rotas principais: assimilação biológica; acúmulo de polímeros intracelulares; formação de substâncias poliméricas extracelulares (EPS, do inglês *extracellular polymeric substances*); e formação de substâncias metabólicas secundárias, como os produtos microbianos solúveis (SMP, do inglês *soluble microbial products*) (WU; ZHOU; SONG, 2016).

As substâncias conhecidas como EPS geralmente formam um tipo de envelope nas células bacterianas, protegendo-as contra possíveis estresses ambientais (como a presença de substâncias tóxicas). Além disso, auxiliam na formação de flocos dos lodos ativados, o que aumenta a eficiência de decantação, gerando um efluente final de melhor qualidade e um lodo de retorno mais adensado (WU *et al.*, 2018).

A formação de SMP, por sua vez, é relevante pois em muitos casos estas substâncias constituem a maior parte da DQO remanescente nos efluentes tratados. Os SMP são geralmente classificados de duas formas: “produtos associados à utilização do substrato” (UAP, do inglês *utilization associated products*), que são aqueles relacionados ao metabolismo de substratos e ao crescimento da biomassa; e “produtos associados à biomassa” (BAP, do inglês *biomass associated products*), que se relacionam ao decaimento endógeno ou morte celular (AQUINO; STUCKEY, 2008).

Geralmente, tem-se uma maior produção de EPS e SMP na presença de substâncias tóxicas, o que ocorre como resposta dos microrganismos às condições de estresse ambiental (AQUINO; STUCKEY, 2004). Wu, Zhou e Song (2016) investigaram as alterações na eficiência de remoção de matéria orgânica e na formação de SMP em sistema de lodos ativados alimentado primeiramente com acetato e posteriormente com fenol, como fontes únicas de carbono. Para o acetato, foram observadas eficiências de remoção de DQO superiores a 90%, com cerca de 10% do carbono sendo transformado em SMP no período de estabilidade do reator. Quando o sistema passou a ser alimentado com fenol, inicialmente não foi observada utilização deste como fonte de carbono, indicando a necessidade de aclimação para a remoção de fenol por degradação biológica. Neste período, observou-se também um rápido crescimento da concentração de EPS e SMP no sistema, devido provavelmente à morte celular causada pela toxicidade do fenol e à falta de uma fonte primária de carbono. Após 18 dias de operação, foi observada degradação quase completa do fenol alimentado no sistema, alcançando eficiência similar à do sistema alimentado com acetato. Neste caso, entretanto, observou-se que a concentração de SMP no efluente final foi mais de duas vezes superior àquela encontrada na fase anterior. Adicionalmente, identificou-se um menor crescimento celular no sistema quando fenol foi utilizado como substrato, o que pode significar uma menor geração de lodo nos sistemas de tratamento que operam com substratos mais complexos.

Similarmente, Huang *et al.* (2008) avaliaram os efeitos na geração de SMP em um sistema de RBS alimentado com glicose e fenol. Também se observou neste estudo uma maior concentração final de SMP do sistema alimentado com fenol. Além disso, os autores

identificaram que a distribuição de peso molecular nos SMP apresentava o mesmo padrão – distribuição bimodal - para ambos os substratos, com concentração majoritária de compostos com peso molecular menor que 1 kDa ou superior a 10 kDa.

A concentração e o tipo de SMP predominantes em um efluente de sistema de tratamento biológico irá variar de acordo com a carga inicial do substrato, com a composição do afluente e com as características do reator (AQUINO; STUCKEY, 2008). Para substratos como a vinhaça e o HH, pode-se inferir que a composição de SMPs e seu processo de formação no tratamento de lodos ativados serão ainda mais dinâmicos, devido à degradação parcial das melanoidinas, derivados da lignina e outros compostos de maior peso molecular. Segundo Kumar e Chandra (2020), as bactérias aeróbias demonstram capacidade de degradar estes tipos de substâncias, fenólicas e não-fenólicas, por meio da produção de enzimas extracelulares lignolíticas conhecidas como MnP, Lac e Lip, que são capazes de quebrar as ligações C=O, C=C e C≡N.

### **3.3. Considerações Finais da Revisão de Literatura**

Dentre as informações levantadas na revisão de literatura, destaca-se, primeiramente, a elevada variabilidade dos efluentes da indústria sucroalcooleira, cuja composição depende de diversos fatores, como o substrato da produção de etanol, a época do ano, as características da cana-de-açúcar, entre outros. Além disso, é relevante a presença de compostos tóxicos, inibidores e com características antioxidantes, tais como fenóis, melanoidinas e furanos, que podem afetar o metabolismo dos microrganismos, prejudicando a eficiência dos sistemas de tratamento biológico, além de serem de difícil degradação, persistindo no efluente após o tratamento e causando risco ambiental no caso de seu descarte.

Observou-se que a destinação mais comum da vinhaça atualmente é a fertirrigação, mas, quando opta-se pelo tratamento, a digestão anaeróbia é a mais utilizada, uma vez que alcança elevadas eficiências de remoção de matéria orgânica e possibilita a geração de energia a partir da queima do biogás. Contudo, o efluente da digestão anaeróbia ainda apresenta carga orgânica considerável, além de persistirem em sua composição diversos compostos potencialmente tóxicos, que representam risco ao meio ambiente e causam na vinhaça e no hidrolisado sua peculiar coloração amarronzada.

Ademais, a variabilidade das características da vinhaça pode afetar, em alguns períodos, a eficiência da digestão anaeróbia, gerando flutuações na qualidade do efluente tratado ao longo da safra. Desta forma, é interessante a complementação do sistema com um pós-tratamento,

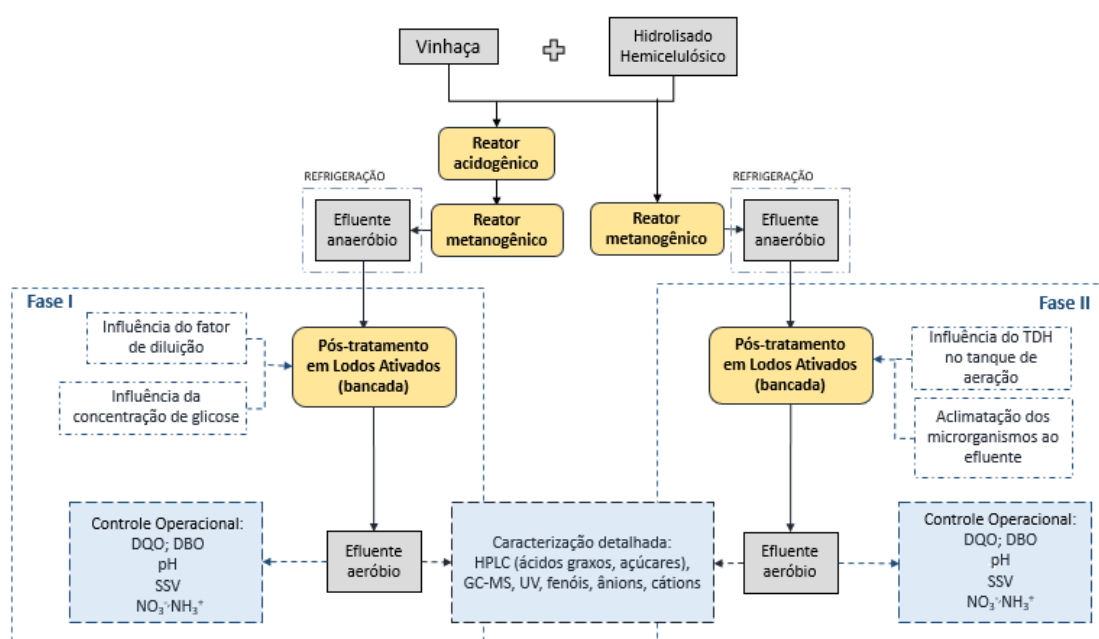


preferencialmente aeróbio, que possui melhor capacidade de absorver as alterações na composição do afluente, gerando maior segurança operacional do sistema de tratamento.

O processo de tratamento aeróbio conhecido como “lodos ativados” é robusto, eficiente e amplamente utilizado em escala real para tratar diferentes tipos de efluentes industriais, o que o torna atrativo como pós-tratamento para efluentes de reatores anaeróbios alimentados com vinhaça e hidrolisado hemicelulósico. Entretanto, o efeito do pós-tratamento aeróbio na composição química do efluente final não tem sido muito estudado, sendo relevante para a avaliação das limitações deste pós-tratamento e da existência, no efluente, de compostos potencialmente causadores de risco ambiental, seja por resistência aos processos de tratamento ou por geração na forma de SMP.

## 4. METODOLOGIA

Nesta seção serão apresentadas as metodologias utilizadas para que fossem cumpridos os objetivos deste trabalho. As atividades descritas vão desde a obtenção da biomassa e dos efluentes da indústria sucroalcooleira, passam pela operação dos reatores nos quais se deu a co-digestão anaeróbia e possuem enfoque no sistema de pós-tratamento do efluente anaeróbio e na caracterização do efluente final do sistema. Apresenta-se na Figura 6 um esquema das atividades experimentais realizadas nessa pesquisa, que foi primariamente dividida em duas fases (Fases I e II) e que serão detalhadas a seguir.



**Figura 6 - Fluxograma-resumo da metodologia do trabalho**

### 4.1. Obtenção da biomassa e efluentes

#### 4.1.1. Coleta do bagaço e da vinhaça de cana-de-açúcar

O bagaço de cana de açúcar utilizado, pertencente à safra 2016/2017, foi cedido pela Usina Jatiboca Açúcar e Álcool, situada em Ponte Nova, Minas Gerais, Brasil. A vinhaça foi cedida pela empresa sucroalcooleira Agropéu localizada em Pompéu, Minas Gerais. As características da vinhaça utilizada são as descritas por Adarme (2020).

#### 4.1.2. Coleta do inóculo de lodos ativados

O inóculo do sistema de lodos ativados foi coletado na unidade de recirculação de lodo do sistema de tratamento de efluentes da indústria Ponte Nova Papéis, produtora de papel

reciclado, também localizada no município de Ponte Nova, Minas Gerais. O lodo de inóculo foi mantido sob aeração constante e adição diária de glicose até ser utilizado para inoculação do sistema.

#### **4.1.3. Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana - produção do Hidrolisado Hemicelulósico**

O hidrolisado hemicelulósico foi produzido no Laboratório de Química Tecnológica e Ambiental (LQTA), da UFOP, a partir do pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana, utilizando as condições otimizadas por Baeta, *et al.* (2016). Estas condições caracterizam-se pela temperatura de 183°C, tempo de contato de 40,7 minutos e razão líquido-sólido (RLS) de 4 mL.g<sup>-1</sup> de bagaço. A massa de bagaço de cana utilizada foi fixada em 120g (base seca). Os ensaios de auto-hidrólise realizados ao longo do projeto foram feitos em um reator Parr, modelo 4848, com capacidade de 2 litros.

Para obtenção do hidrolisado hemicelulósico, após o pré-tratamento, o bagaço foi prensado em uma prensa hidráulica da marca Solab, modelo SL10/15/E sob 9 toneladas, com rendimento aproximado de 90%. O hidrolisado hemicelulósico extraído foi então mantido resfriado a 4°C até sua utilização para o preparo da solução de alimentação do reator anaeróbio.

Os ensaios de auto-hidrólise foram realizados durante todo o período de operação do reator anaeróbio, conforme a demanda de hidrolisado hemicelulósico para alimentação do reator, que seguiu as condições de vazão e carga orgânica descritas a seguir.

### **4.2. Tratamento por co-digestão anaeróbia**

#### **4.2.1. Alimentação do reator anaeróbio**

O reator anaeróbio foi alimentado com mistura de vinhaça de cana-de-açúcar, proveniente da produção de etanol de primeira geração, e hidrolisado hemicelulósico produzido conforme descrito no Item 4.1.3. A proporção vinhaça/hidrolisado utilizada foi de 75%-25%, conforme determinado por Adarme *et al.* (2019) para otimização da produção de metano. A mistura foi diluída em água para atingir a carga orgânica aplicada (COA) prevista para operação do reator.

#### 4.2.2. Operação do reator anaeróbio de dois estágios

Para a primeira fase do projeto foram utilizados 2 reatores anaeróbios, operados em série, que constituíram o sistema anaeróbio de duplo estágio. O primeiro estágio consistiu em um reator acidogênico, construído em tubos de PVC rígido, com leito estruturado (utilizando espuma de poliuretano como meio suporte) e volume útil de 1,8 L. Este reator foi inoculado por recirculação com lodo de um reator UASB e operado por alimentação contínua com TDH de 8 horas, para uma COA aproximada de  $8,2 \text{ kgDQO.m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$ .

Em seguida, o efluente deste reator foi utilizado para alimentação de um reator metanogênico do tipo UASB, escalonado, também construído em tubos de PVC rígido e com volume de 2,3 L, representando o segundo estágio da reação anaeróbia. Este reator foi inoculado com uma mistura (1:1 m/m) de lodo proveniente de um reator UASB e esterco bovino, e suplementado com extrato de levedura e cinzas da queima do bagaço de cana, conforme descrito por Adarme (2020). Para alimentação do segundo reator, o pH do efluente foi ajustado a 7 por meio da adição de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ). O reator metanogênico foi operado com TDH de 22 horas, para uma COA de aproximadamente  $3,5 \text{ kgDQO.m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$  (sendo este valor dependente do desempenho do reator acidogênico).

Ambos os reatores possuíam um sistema de controle de temperatura por termostato ajustado em  $35^\circ\text{C}$ . Foi monitorada, na frequência de 3 vezes por semana, a DQO nas entradas e saídas dos reatores. Medições de vazão e pH da corrente de alimentação também foram realizadas para controle operacional durante todo o período de operação do reator.

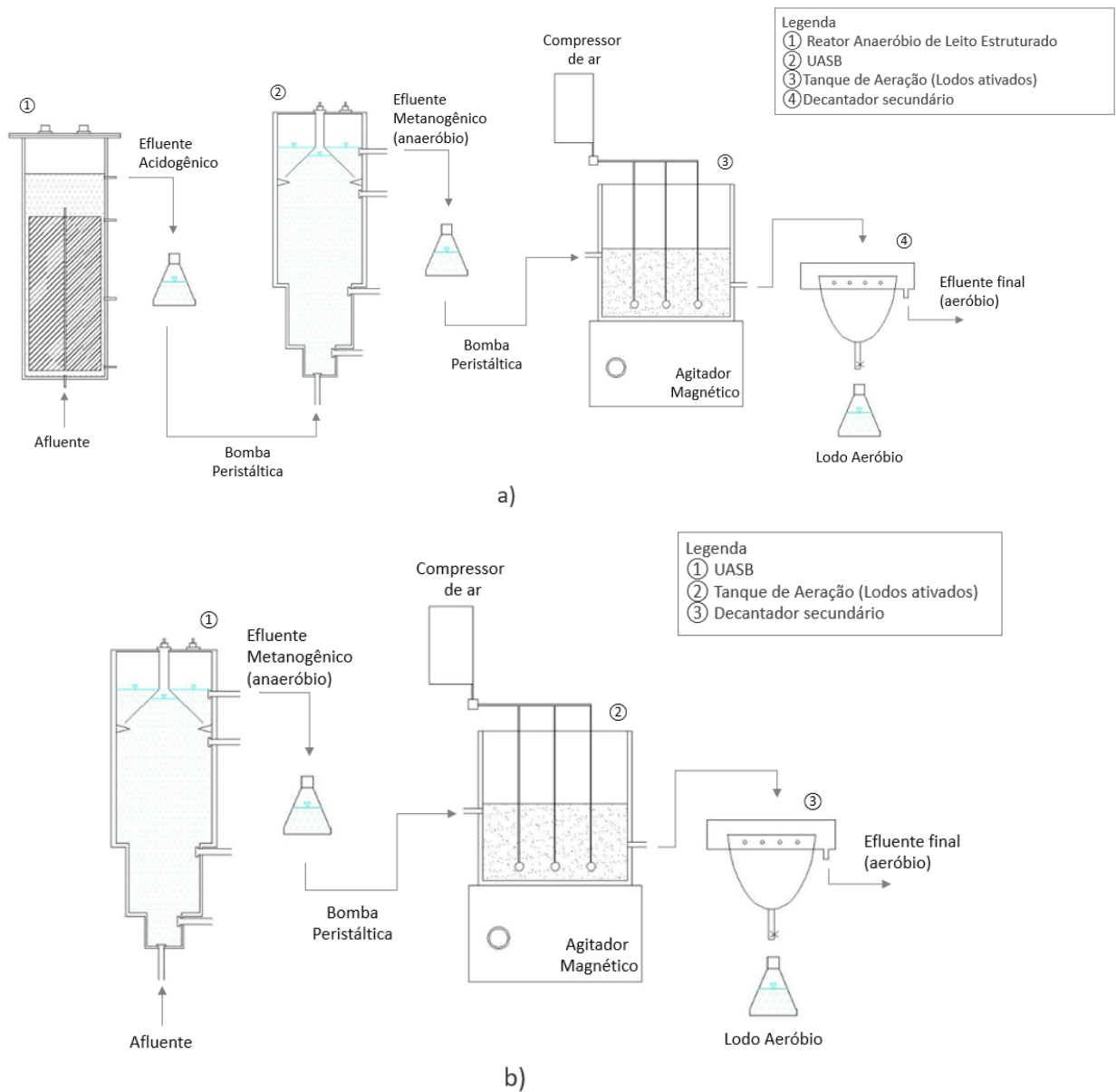
#### 4.2.3. Operação do reator anaeróbio de fase única

Em um segundo momento, a digestão anaeróbia foi realizada em fase única, no mesmo reator UASB utilizado na Fase I. Manteve-se a operação com TDH de 22 horas e a alimentação com COA de  $8,2 \text{ kgDQO.m}^{-3} \text{ .dia}^{-1}$ , o que foi feito por meio da redução da diluição da solução de alimentação. Assim, considerando-se a DQO média da vinhaça e do Hidrolisado Hemicelulósico, a solução de alimentação foi preparada com 900 mL de vinhaça e 150 mL de HH, e diluída em 4,95 L de água da torneira.

O pH da solução de alimentação foi ajustado para o valor 7 com adição de  $\text{NaHCO}_3$ . Também se manteve a temperatura do reator em  $35^\circ\text{C}$  e o monitoramento contínuo da DQO afluyente e efluente ao sistema, 3 vezes por semana, além do controle operacional da vazão.

### 4.3. Pós-tratamento em sistema de Lodos Ativados

Para a avaliação do sistema de lodos ativados convencional no pós-tratamento do efluente anaeróbio foi construído um sistema, em escala de bancada, com configuração similar àquela apresentada na Figura 5. A operação se deu de forma contínua, com bomba peristáltica (Milan, modelo BP600 com dois canais) e vazão máxima estabelecida em 3 litros por dia, sendo esta equivalente à produção diária máxima do reator anaeróbio. A Figura 7 mostra um esquema completo do sistema de tratamento na Fase I (Figura 7a) e na Fase II (Figura 7b).



**Figura 7 - Diagrama representando o sistema de tratamento na Fase I (a) e na Fase II (b) do estudo**

De acordo com von Sperling (2002), as dimensões do tanque de aeração (TA) devem ser definidas principalmente com base na quantidade de aeradores utilizados e em sua disposição, ficando o formato a critério do projetista. Sendo assim, o reator foi construído nas dimensões (internas) de 7 x 15 cm com 15 cm de altura. A aeração foi realizada por um compressor de ar Aleas AP-2000, com vazão de 1,6 L.min<sup>-1</sup> e pressão 0,012 MPa. A saída do ar e sua distribuição no líquido foi feita por meio de três pedras porosas.

Após o tanque de aeração, o líquido seguia para o decantador secundário, de formato aproximadamente cônico, 9 cm de diâmetro interno e volume total de 0,25 L. Durante a maior parte da operação, o lodo acumulado no fundo do decantador foi retirado manualmente de duas a três vezes ao dia – de acordo com a produção de lodo - por uma descarga de fundo, e recirculado para o interior do tanque de aeração. Na fase final, a recirculação foi realizada de forma automática utilizando o segundo canal da mesma bomba peristáltica e mangueira de mesmo diâmetro, de forma que a vazão de recirculação passou a ser idêntica à de alimentação. A saída do líquido se deu por meio de vertedores e calha de coleta, sendo direcionado a um béquer de capacidade de 2 L.

O sistema foi inoculado com 50% do volume de lodo proveniente da unidade de recirculação de sistema de lodos ativados para tratamento de efluente da produção de papel reciclado (ver Item 4.1.2). Este inóculo foi escolhido devido à sua prévia adaptação ao tratamento de compostos derivados de material lignocelulósico. O restante do volume de reação foi preenchido com o efluente proveniente da co-digestão anaeróbia da vinhaça e hidrolisado hemicelulósico, em reator de duplo estágio. O início da operação se deu conforme a Tabela 5.

**Tabela 5 - Condições de operação na fase inicial de operação do reator**

| <b>Parâmetro</b> | <b>Condição Operacional</b> |
|------------------|-----------------------------|
| Vazão            | 1,54 L.d <sup>-1</sup>      |
| Volume           | 0,63 L                      |
| TDH              | 12 h                        |

Buscou-se manter a idade do lodo entre 8 e 10 dias, conforme citado por Metcalf; Eddy e Tchobanoglous (1991) para efluentes industriais. Para este controle, o volume de lodo a ser descartado diariamente foi quantificado por meio da equação (1), baseado nos ensaios de quantificação de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) no tanque de aeração, no lodo de retorno e no efluente do sistema. Contudo, em alguns períodos observou-se elevada concentração de SSV no efluente do sistema, de forma que a idade do lodo ficou em torno de 4 a 5 dias,

mesmo sem descarte do lodo de retorno. Vale ressaltar que estes valores ainda se mantêm dentro da faixa esperada para sistemas de lodos ativados convencionais (4 a 10 dias), conforme a Tabela 4.

O monitoramento das condições de operação e da eficiência do sistema de lodos ativados foi feito seguindo as frequências apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 6 - Frequência de monitoramento dos parâmetros operacionais do sistema de lodos ativados**

| Parâmetro  | Frequência de monitoramento |
|--|-----------------------------|
| pH   | Diariamente                 |
| Oxigênio Dissolvido (OD)   | Diariamente                 |
| DQO (afluente e efluente)  | 3 vezes por semana          |
| Sólidos <sup>(1)</sup> no tanque de aeração, no lodo de retorno e no efluente final do sistema | Semanalmente                |
| Nitrogênio Total (NT)  | Quinzenalmente              |

<sup>(1)</sup>Sólidos suspensos totais (SST), Fixos (SSF) e Voláteis (SSV)

A operação do sistema de lodos ativados deu-se em duas fases: a Fase I, com afluente advindo da operação do reator anaeróbio de dois estágios (Item 4.2.2) e a Fase II, com afluente advindo de reator UASB escalonado (Item 4.2.3).

Durante a Fase I de operação, as condições de diluição e a concentração de glicose na solução de alimentação foram variadas conforme descreve a Tabela 7, com o objetivo de permitir a aclimatação dos microrganismos ao efluente e identificar as condições ideais de alimentação do sistema aeróbio. Os demais parâmetros de operação mantiveram-se conforme apresentado na Tabela 5.

**Tabela 7 - Variação nas condições de alimentação do reator durante a Fase I (com TDH constante de 12 h).**

| Fase de Operação | Tempo de operação (d) | Diluição (V <sub>eff</sub> /V <sub>água</sub> ) | Concentração de glicose (mg.L <sup>-1</sup> ) | COA <sup>(1)</sup> (gDQO.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> ) |
|------------------|-----------------------|---|---|---|
| Ia               | 13                    | 50:50   | 0   | 0,45  |
| Ib               | 10                    | 50:50   | 500   | 1,00  |
| Ic               | 10                    | 50:50   | 250   | 0,71  |
| Id               | 7                     | 75:25   | 250   | 0,55  |
| Ie               | 27                    | 100:00  | 250   | 0,79  |
| If               | 26                    | 100:00  | 100   | 0,62  |

<sup>(1)</sup>COA média de cada período de operação

O objetivo da diluição do efluente anaeróbio na fase inicial de operação foi de reduzir a carga orgânica e a concentração de compostos tóxicos e inibidores, auxiliando na adaptação dos microrganismos. Para isto, utilizou-se solução de diluição de DBO produzida conforme descrito no compêndio *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) método 5210B, cujas soluções nutrientes adicionadas são: solução tampão de fosfato; cloreto de cálcio, sulfato de magnésio e cloreto férrico.

Adicionalmente, observou-se a necessidade de acrescentar glicose à solução de diluição, como forma de carbono facilmente disponível, com o objetivo de estimular a atividade microbiana na fase inicial. Isto foi necessário porque, durante os 13 dias de monitoramento da Fase Ia, não foi observada redução na concentração de DQO do efluente anaeróbio após o pós-tratamento, indicando que os microrganismos não estavam sendo capazes de consumir a matéria orgânica disponível e de se adaptar às condições do efluente sem uma suplementação de carbono. Vale ressaltar que em alguns exemplos de tratamento aeróbio de vinhaça encontrados na literatura, como Ghosh et al (2002), Sirianuntapiboon et al. (2004), Mohana et al. (2007) e Kumar et al. (1998), a glicose mostrou-se um importante suplemento para o crescimento dos microrganismos e melhoria da eficiência do tratamento.

Nas fases subsequentes, buscou-se avaliar se a diminuição na diluição e na concentração de glicose da alimentação reduziriam a eficiência do sistema de tratamento. O tempo de operação de cada fase dependeu principalmente de dois fatores: da resposta dos microrganismos às variações e das características do efluente anaeróbio. Ou seja, as condições de alimentação eram alteradas quando observada a estabilização na eficiência do sistema de lodos ativados ou quando havia alteração relevante na concentração de DQO do efluente anaeróbio, de forma a evitar escassez de alimento aos microrganismos do sistema aeróbio. Este segundo fator explica o curto período de operação nas fases Ic e Id, como será melhor discutido quando apresentados os resultados.

É importante destacar que o sistema de pós-tratamento está sujeito a variações na COA e deve ser capaz de absorver estas alterações para garantir a qualidade do efluente final. No caso deste estudo, uma vez que ambos os sistemas (anaeróbio e aeróbio) foram operados simultaneamente em laboratório, as concentrações de DQO no afluente ao sistema de lodos ativados estiveram sujeitas às questões operacionais relacionadas ao tratamento anaeróbio. Contudo, no princípio da operação (Fase I) optou-se por evitar variações bruscas, uma vez que os microrganismos ainda estavam se adaptando às condições do efluente. Além disso,



vale esclarecer que para cálculo da COA em cada fase de operação, apresentada na Tabela 7, utilizou-se a média dos valores de DQO afluente registrados em cada período.

Também foi necessário o ajuste do pH do efluente anaeróbio, cujo valor mantinha-se em aproximadamente 8,5, o que resultava em um pH no TA de cerca de 10, provavelmente devido à amonificação do efluente anaeróbio. Sendo assim, para obtenção de um pH próximo das condições ideais para lodos ativados no TA, foi feito o ajuste do afluente para valores próximos a 6, com solução de HCl 1 mol.L<sup>-1</sup>. Adicionalmente, foi necessário manter o efluente sob refrigeração para minimizar a degradação de proteínas.

Na Fase II, variou-se o TDH do sistema, conforme apresentado na Tabela 8. Este ajuste foi realizado por meio de alterações na vazão do sistema, tendo o volume útil sido mantido em 0,84L. Além disso, na Fase IId, o sistema passou a ser alimentado com o efluente anaeróbio bruto, sem adição de glicose, de forma a avaliar a adaptabilidade dos microrganismos ao efluente após 6 meses de operação do sistema. Da mesma forma, os parâmetros operacionais foram sendo ajustados conforme a resposta do sistema a cada condição aplicada.

**Tabela 8 - Variação nas condições de alimentação do reator durante a Fase II (efluente anaeróbio sem diluição)**

| Fase de Operação | Tempo de operação (d) | Concentração de glicose (mg.L <sup>-1</sup> ) | Modo de operação   | Tempo de Detenção Hidráulica (h) | COA (gDQO.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) |
|------------------|-----------------------|---|--------------------|----------------------------------|--|
| Ia               | 48                    | 100   | RBS <sup>(1)</sup> | 24h                              | 2,00   |
| Ib               | 10                    | 100   | Contínuo           | 18h                              | 1,43   |
| Ic               | 32                    | 100   | Contínuo           | 12h                              | 2,86   |
| IId              | 27                    | 0   | Contínuo           | 12h                              | 2,78   |

<sup>(1)</sup>Reator de bateladas sequenciais

No início da fase II, observou-se uma maior carga orgânica no efluente do reator UASB, provavelmente decorrente da adaptação deste reator às suas novas características de alimentação. Removendo-se o reator acidogênico do sistema de tratamento, o reator UASB passou a receber não somente uma carga mais elevada, mas um efluente com compostos mais complexos, visto que o reator acidogênico otimiza as duas primeiras fases da digestão anaeróbia (Figura 4), gerando um efluente rico em ácidos graxos voláteis (AGV).

Desta forma, para evitar um choque do sistema aeróbio, considerando as novas características de seu afluente, optou-se por iniciar a operação da Fase II com um TDH elevado, de 24h, em sistema de bateladas sequenciais, como o descrito no Item 3.2.2.1. O volume de efluente

anaeróbio tratado diariamente durante a Fase IIa foi de 1 L, com ciclo consistindo de: 10 minutos de enchimento; 23,5 horas de reação; 30 minutos de decantação. O esvaziamento se deu por gravidade, por meio de uma mangueira de saída localizada na altura de 3 cm do tanque de aeração, de forma que um volume aproximado de 0,3 L era mantido no reator entre os ciclos.

Foi necessário operar o tratamento como RBS, neste período, devido à limitação das bombas de alimentação do sistema em fornecer a vazão necessária para garantir o TDH de 24 h. Após o período de estabilização, retornou-se à operação de forma contínua, com decantador secundário e redução gradual do TDH por meio do aumento da vazão do sistema. O sistema em RBS não foi testado em outros TDH, também por questão de limitações operacionais.

Com a recirculação de lodo sendo feita de forma manual, 2 a 3 vezes ao dia, nas fases I, IIb e IIc, recirculou-se diariamente cerca de 0,4 a 0,5 L, representando uma razão de recirculação (R) de aproximadamente 0,3. Para aproximar esta razão de valores típicos de lodos ativados - de 0,7 a 1,2 segundo von Sperling (2002) - na última fase de operação (IIc) foram instaladas mangueiras para recirculação automática do lodo de fundo do reator. As mangueiras de recirculação foram instaladas de forma a passar pelo segundo canal da mesma bomba peristáltica de alimentação do sistema, fixando a razão de recirculação no valor de 1.

#### **4.4. Caracterização dos efluentes e inóculo**

Os efluentes e inóculo do processo foram caracterizados conforme o Quadro 1, utilizando-se dos métodos descritos nos itens seguintes desta seção. Parte dos parâmetros foram avaliados ao longo de toda a operação, conforme indicado na Tabela 6, para controle operacional do reator, permitindo a avaliação da influência do fator de diluição, da concentração de glicose e do TDH na eficiência do tratamento e suas modificações conforme os microrganismos mostravam-se adaptados aos parâmetros operacionais vigentes. Os demais parâmetros foram analisados ao final da operação, com o objetivo de avaliar as alterações causadas no efluente pelo metabolismo dos microrganismos nas duas fases de operação, e verificar se o efluente final do sistema apresentava substâncias consideradas de relevância em termos de poluição e risco ambiental.

As metodologias utilizadas na caracterização dos afluentes e efluentes do sistema de tratamento encontram-se apresentadas nos itens a seguir.

Quadro 1 - Caracterização dos efluentes e inóculo do sistema

| Material  | Parâmetros  | Descrição                        |
|---|---|----------------------------------|
| <b>Inóculo do sistema de lodos ativados</b>                                   | ST, SF, SV (g/L)  | Sólidos Totais                   |
|   | N <sub>T</sub> (mg/L)   | Nitrogênio Total                 |
|   | COD (mg/L)  | Carbono Orgânico Dissolvido      |
|   | F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)            | Ânions                           |
|   | Li <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , Sr <sup>2+</sup> , Ba <sup>2+</sup> (mg/L) | Cátions                          |
| <b>Afluente ao sistema de lodos ativados (efluente da digestão anaeróbia)</b> | DQO e DBO (mg/L)  | Matéria Orgânica                 |
|   | SST, SSF, SSV (g/L)   | Sólidos Suspensos                |
|   | N <sub>T</sub> (mg/L)   | Nitrogênio Total                 |
|   | F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)            | Ânions                           |
|   | Li <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , Sr <sup>2+</sup> , Ba <sup>2+</sup> (mg/L) | Cátions                          |
|   | Açúcares e ácidos orgânicos   | Análise em HPLC (ver Item 4.4.1) |
|   | Fenóis totais (ácido tânico)  | Fenóis                           |
|   | Cor   | Absorbância em UV-Vis            |
| Identificação de compostos orgânicos  | Análise em GC-MS (ver Item 4.4.6)   |                                  |
| <b>Efluente do sistema de lodos ativados (efluente final)</b>                 | DQO e DBO (mg/L)  | Matéria Orgânica                 |
|   | SST, SSF, SSV (g/L)   | Sólidos Suspensos                |
|   | N <sub>T</sub> (mg/L)   | Nitrogênio Total                 |
|   | F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)            | Ânions                           |
|   | Li <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , Sr <sup>2+</sup> , Ba <sup>2+</sup> (mg/L) | Cátions                          |
|   | Açúcares e ácidos orgânicos   | Análise em HPLC (ver Item 4.4.1) |
|   | Fenóis totais (ácido tânico)  | Fenóis                           |
|   | Cor   | Absorbância em UV-Vis            |
| Identificação de compostos orgânicos  | Análise em GC-MS (ver Item 4.4.6)   |                                  |

#### 4.4.1. Análise dos teores de açúcares e ácidos orgânicos

Os teores de açúcares (celobiose, glicose, xilose e arabinose), ácidos orgânicos (acético, fórmico, propiônico, butírico, isobutírico e isovalérico) e subprodutos da degradação térmica de açúcares (furfuraldeído - FF e hidroximetil furfuraldeído - HMF) dos afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados foram determinados por análise cromatográfica em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*). Foi utilizado um sistema Shimadzu HPLC equipado com um sistema binário de bombas (modelo LC-30AD Shimadzu®), amostrador automático (modelo SIL 30AC – Shimadzu®), detector de índice de refração (RID-6A Shimadzu) e coluna Aminex

HPX 87H (300 x 7.8mm Bio-Rad), com forno operando à temperatura de 55°C. Utilizou-se fase móvel composta de ácido sulfúrico 5 mmol.L<sup>-1</sup> sob fluxo isocrático de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>.

#### 4.4.2. Determinação de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis

A determinação dos sólidos foi feita em triplicata, em cadinhos de porcelana calcinados na mufla a 550°C por 2 horas. Depois de calcinados, os cadinhos foram resfriados em dessecador e pesados (P<sub>0</sub>).

Nas análises de sólidos suspensos (centrifugáveis nesse procedimento), para cada cadinho foram coletados 15 mL de amostra (medido em proveta), conforme Tabela 6. As amostras foram levadas à centrífuga a 3000 rpm por 10 minutos em tubos Falcon de volume 15mL. O sobrenadante era descartado e os sólidos centrifugados eram ressuspensos em água destilada e transferidos para os cadinhos já calcinados.

Os cadinhos foram então levados à estufa a 103-105°C por 24 horas. Novamente, os cadinhos foram pesados após resfriados (P<sub>1</sub>). A diferença entre o peso (em gramas) antes e após a estufa de cada cadinho (P<sub>1</sub>-P<sub>0</sub>) indica a quantidade de sólidos suspensos totais (SST) presentes na amostra, conforme a equação 3.

$$SST (gL^{-1}) = \frac{P_1 - P_0}{0,015} \quad (3)$$

Após a pesagem, os cadinhos foram levados à mufla a taxa de aquecimento de 2°C.min<sup>-1</sup>, mantendo-se a uma temperatura de 550°C por 2 horas. Por fim, os cadinhos foram retirados da mufla, resfriados e pesados novamente (P<sub>2</sub>). Os sólidos restantes após a mufla (P<sub>2</sub>-P<sub>0</sub>) são caracterizados como sólidos suspensos fixos (SSF), segundo a equação 4. A diferença entre P<sub>2</sub> e P<sub>1</sub> representa a quantidade de sólidos voláteis (SSV) presentes na amostra, como mostra a equação 5.

$$SSF (gL^{-1}) = \frac{P_2 - P_0}{0,015} \quad (4)$$

$$SSV (gL^{-1}) = \frac{P_2 - P_1}{0,015} \quad (5)$$

Para as análises de sólidos totais (suspensos e dissolvidos), foi removida a etapa de centrifugação.

#### 4.4.3. Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

As análises dos indicadores de matéria orgânica DQO e DBO<sub>5</sub> foram realizadas conforme as metodologias descritas em *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), métodos 5210B (DBO<sub>5</sub>) e 5220D (DQO).

#### 4.4.4. Carbono orgânico total (COT) e Nitrogênio Total (N<sub>T</sub>)

O Carbono Orgânico Total (COT) e o Nitrogênio total (N<sub>T</sub>) foram quantificados no instrumento TOC-L CSH/CSN da marca SHIMADZU. Para determinação do carbono o método utilizado é indireto, medindo-se o carbono total (CT) a partir da conversão de todo o carbono presente na amostra a CO<sub>2</sub> por oxidação catalítica a 720°C. O carbono inorgânico (CI) é medido após purga do gás CO<sub>2</sub> por tratamento ácido, sendo o valor de carbono orgânico total obtido pela diferença entre CT e CI.

Para o N<sub>T</sub>, O módulo utilizado foi o TNM-L, complementar ao instrumento, que utiliza a decomposição térmica catalítica a 720°C, levando todas as formas de nitrogênio na amostra a oxidação com ozônio (O<sub>3</sub>) para formação de NO, que então é medido por um detector por quimioluminescência. As amostras submetidas à análise foram centrifugadas a 4500 rpm por 15 minutos e o sobrenadante filtrado em membrana de 25 µm. A determinação de nitrogênio total realizada na fração líquida engloba, portanto, todas as espécies de nitrogênio dissolvidas presentes no efluente, tanto as orgânicas quanto inorgânicas (oxidadas ou reduzidas).

#### 4.4.5. Análise de íons

A presença de ânions e cátions nos efluentes foi quantificada por cromatografia de íons, utilizando-se o equipamento da Metrohm (modelo 930 Compact IC Flex). Para quantificação dos ânions cloreto, nitrito, nitrato, fosfato e sulfato foi utilizada uma coluna METROSEP A Supp. 10-150/4.0 com detector de condutividade. A fase móvel era constituída por Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,005 mol.L<sup>-1</sup> e NaHCO<sub>3</sub> 0,005 mol.L<sup>-1</sup> com fluxo de 1,0 mL.min<sup>-1</sup> e temperatura de 45°C. Também foi analisada a presença dos cátions potássio, cálcio, magnésio, sódio, além do íon amônio, por meio de uma coluna METROSEP C4-150/4.0, utilizando o mesmo detector de condutividade. Nesse caso a fase móvel era constituída por ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) 0,0017 mol.L<sup>-1</sup> e ácido dipicolínico (C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>4</sub>) 0,0007 mol.L<sup>-1</sup> com vazão de 0,9 mL.min<sup>-1</sup> e temperatura de 25°C.

#### 4.4.6. Caracterização por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS)

Com o objetivo de identificar os principais compostos persistentes no efluente aeróbio após o tratamento e avaliar a possível formação de novos compostos, foi feita análise dos afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Utilizou-se um equipamento GCMS-QP2010 plus, Shimadzu®, coluna ZB-5HT (30 m x 0.25mm x 0.10 µm) com hélio como gás de arraste em fluxo de 1,46 mL/min. A temperatura do injetor e da interface foram de 280°C, voltagem do detector definido em 0,98 kV e temperatura da fonte de ionização 350°C, com tempo de corrida de 70 minutos.

As amostras analisadas por GC-MS eram processadas pelo método de extração com partição a baixa temperatura, da seguinte forma. Inicialmente adicionou-se, a 7 mL de amostra, 7 mL de acetonitrila; agitou-se as amostras em vórtex por 1 minuto e posteriormente em centrífuga a 3000rpm por 15 minutos. Em seguida, as amostras foram levadas ao freezer (-8°C) até o completo congelamento da fase aquosa. Após o congelamento da fase aquosa, a fase orgânica (cujo ponto de congelamento é muito inferior ao da água) foi retirada com um pipetador e transferida para um tubo Falcon previamente limpo com etanol e banho de ácido. Posteriormente as amostras dos tubos Falcon foram secadas sob fluxo de N<sub>2</sub>.

Em seguida, realizou-se a derivatização dos compostos presentes nas amostras. A derivatização é uma reação em que um reagente (derivatizante) substitui os hidrogênios ativos da molécula por grupos hidrofóbicos para conseqüentemente reduzir sua polaridade e aumentar sua volatilidade (SANSON, 2012). Utilizou-se, no presente estudo, o composto N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) como derivatizante. Em um *vial*, foram acrescentados 75µL de BSTFA (1%) a 25µL de amostra dissolvida em piridina. O *vial* foi então agitado manualmente e levado à estufa por 30 minutos a 80°C. Após este tempo, a amostra foi encaminhada para análise em GC-MS.

A identificação dos compostos presentes no efluente foi feita por meio da comparação dos espectros obtidos com a biblioteca do *National Institute of Standards and Technology* (NIST Mass Spectral Library®, versão 2.0 d) do equipamento. Foram consideradas apenas substâncias que obtiveram no mínimo 80% de similaridade com os espectros disponibilizados na biblioteca, em pelo menos uma das amostras analisadas.

#### 4.4.7 Fenóis

A quantificação de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu modificado conforme descrito a seguir. Inicialmente, em um tubo Falcon de 15mL, adiciona-se uma amostra de 1 mL do efluente a 9 mL de acetona (70%). O tubo Falcon era então colocado em banho de gelo por 20 minutos, e em seguida levado à centrífuga a 3000 rpm por 10 minutos. Finalmente, 50 µL do sobrenadante eram retirados para análise.

Adicionam-se a estes 50 µL de amostra, em um tubo de ensaio (com tampa), 450 µL de água deionizada, 520 µL do reagente Folin Ciocalteu (solução contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico) e 1,25 mL de solução de carbonato de sódio 7% peso/volume. Os tubos de ensaio eram levados para agitação em vórtex por 5 minutos e deixados em local sem incidência de luz por 35 minutos. Após este tempo, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu SPD-10AV) no comprimento de onda fixo de 725 nm.

A quantificação de fenóis totais foi realizada por meio do método de calibração externa, utilizando soluções padrão de ácido tânico em diferentes concentrações. Construiu-se uma curva de calibração relacionando a absorvância pela concentração de ácido tânico como fenóis, com 7 pontos no total, e concentrações de fenóis totais variando de 0,9 mg.L<sup>-1</sup> a 22 mg.L<sup>-1</sup>.

#### 4.4.8 Varredura em espectrofotometria de UV-Vis

Para a análise de cor procedeu-se avaliação da absorvância dos afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados em diferentes comprimentos de onda. Isso foi feito por análises de varredura em espectrofotometria de UV-Vis, utilizando cubetas de quartzo e o espectrofotômetro UV-Vis mencionado anteriormente. A varredura foi realizada entre 200 e 800 nm, em intervalos de 0,5 nm. As amostras foram mantidas congeladas a -4°C e descongeladas apenas para análise. As amostras descongeladas foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos, e o sobrenadante encaminhado para análise. O pH médio das amostras analisadas foi de  $7 \pm 0,2$ .

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados do trabalho serão apresentados em dois itens. O primeiro irá tratar do funcionamento do sistema de pós-tratamento em cada fase de operação, discutindo os resultados quantitativos, relativos principalmente à remoção de matéria orgânica, nutrientes, fenóis e cor. No segundo item será discutida a caracterização qualitativa dos afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados, na tentativa de identificar quais os compostos mais persistentes ao tratamento, verificar a presença de compostos de interesse no efluente final e a formação de SMP durante a etapa aeróbia de pós-tratamento.

### **5.1. Operação do Pós-Tratamento em Lodos Ativados**

O sistema de lodos ativados foi operado por 228 dias, sendo 180 dias de forma contínua (tanque de aeração seguido de decantador secundário) e 48 dias em sistema de bateladas sequenciais. A Fase I de operação, em que o sistema funcionou como pós-tratamento do efluente de reator anaeróbio em dois estágios (APBR + UASB), durou 93 dias. Durante a Fase I, as condições da solução de alimentação do sistema (fator de diluição e concentração de glicose adicionada) foram variadas, buscando investigar a influência destes fatores no funcionamento do processo de lodos ativados. A Fase I pode ser considerada como um período de adaptação do reator, na qual buscou-se identificar as melhores condições de alimentação do sistema, além de proporcionar aos microrganismos a aclimação ao efluente anaeróbio de forma gradual, o que foi feito por meio da redução, em cada etapa, do fator de diluição ou da concentração de glicose adicionada.

Por sua vez, a Fase II foi operada por 123 dias no total. Considerando-se que a aclimação dos microrganismos ao efluente anaeróbio já havia sido completada na Fase I, buscou-se avaliar na Fase II sua eficiência no tratamento de um efluente com maior carga orgânica e maior concentração de substâncias potencialmente tóxicas e recalcitrantes. Para isto, retirou-se do sistema o primeiro estágio da digestão anaeróbia (reator acidogênico), que possuía a função de otimizar a hidrólise e a acidogênese dos componentes da vinhaça e do HH.

O pH médio no interior do tanque de aeração (TA) foi de  $8,2 \pm 0,7$ , considerando todo o período de operação (Fases I e II). Este valor encontra-se acima do recomendado para sistemas de lodos ativados (cerca de 7,5, conforme descrito no Item 3.2.2.1), visto que o efluente demonstrou tendência de aumento do pH à temperatura ambiente. Cabe recordar que a solução de alimentação do sistema de lodos ativados tinha seu pH ajustado a 6 e recipiente



mantido em refrigeração durante todo o período de operação, de forma a evitar que o pH no TA fosse ainda maior que o obtido.

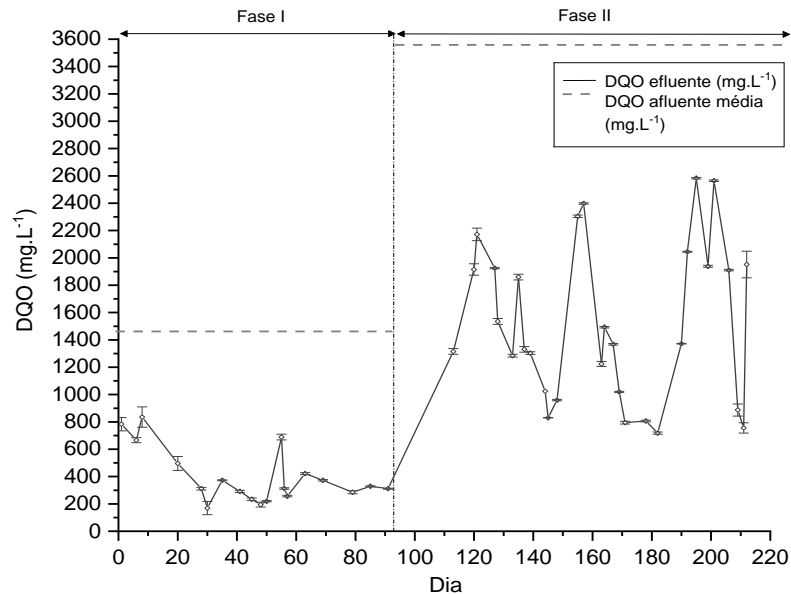
O oxigênio dissolvido foi medido periodicamente no TA para controle operacional, tendo sido observados valores entre 2,23 e 7,89 mg.L<sup>-1</sup> na Fase I, e entre 1 e 5,9 mg.L<sup>-1</sup> na Fase II, com média geral de  $5,5 \pm 2,0$  mg.L<sup>-1</sup>. Os valores observados variaram dentro do esperado para um sistema em escala de bancada e permitiram um bom desenvolvimento dos microrganismos no TA, conforme será demonstrado pelos valores de Sólidos Suspensos Voláteis no Tanque de Aeração (SSVTA), melhor detalhados no Item 5.1.2. As condições mantidas no TA permitiram que a biomassa se desenvolvesse com boa capacidade de formação de flocos (biomassa aeróbia floculenta), o que é fundamental para a operação de um sistema de lodos ativados.

De fato, durante a maior parte do período de operação, o lodo aeróbio apresentou boa decantabilidade, resultando em uma operação eficiente do decantador secundário. Observaram-se alguns episódios de “lodo ascendente” e “lodo disperso”, motivados pelas características do efluente e alterações na operação do sistema, como será descrito posteriormente. Contudo, estes episódios foram controlados com sucesso, sem prejuízo ao funcionamento do sistema.

### **5.1.1. Caracterização do Efluente Anaeróbio**

Antes de descrever os resultados obtidos com o sistema de lodos ativados em cada fase de operação, é importante apresentar os resultados da operação do sistema anaeróbio no mesmo período, uma vez que as características do efluente anaeróbio influenciarão diretamente no funcionamento do pós-tratamento aeróbio.

Como descrito anteriormente, na primeira fase dos estudos o processo de tratamento anaeróbio constituiu-se em um sistema de duplo estágio, que funcionou durante os 93 dias de operação da Fase I, operando em série com o sistema de lodos ativados. Neste período, o sistema anaeróbio apresentou elevada eficiência da remoção de matéria orgânica, com média de 82% de redução da DQO. Entretanto, destaca-se a variabilidade na concentração da DQO efluente ao tratamento anaeróbio (Figura 8), que apresentou valor mínimo de 169 mg.L<sup>-1</sup> e máximo de 835 mg.L<sup>-1</sup> na Fase I. Esta variabilidade resulta de episódios de instabilidade na operação do sistema anaeróbio, que tiveram como principais motivos problemas operacionais, como falhas na bomba de alimentação e entupimento das entradas dos reatores, por exemplo.



**Figura 8 - DQO efluente aos reatores anaeróbios que alimentaram o sistema de lodos ativados**

Além disso, as alterações na concentração de DQO efluente podem ter sido causadas por variações nas características da vinhaça e do hidrolisado hemicelulósico ao longo do período de operação. Buscou-se manter o controle operacional da DQO afluente para garantir a COA conforme o valor planejado, mas algumas variações diárias nestas características podem ocorrer. Entende-se que esta situação simula as condições reais de operação de um sistema de tratamento em uma indústria sucroalcooleira, na qual os efluentes apresentam variação de carga orgânica ao longo da safra. Desta forma, observa-se a baixa capacidade dos reatores anaeróbios de absorver as alterações na concentração de DQO afluente, o que demonstra a importância da implantação de uma etapa posterior de tratamento, utilizando-se um sistema robusto, como o processo de lodos ativados.

A Fase II do estudo consistiu na análise da resposta do pós-tratamento ao efluente de reator UASB, operando em fase única e alimentado com aproximadamente a mesma carga orgânica aplicada (COA) utilizada na entrada do reator acidogênico na Fase I. Observa-se, pela Figura 8, o aumento na concentração de DQO efluente na Fase II, cujo valor médio no período foi de 1487 mg.L<sup>-1</sup>, tendo a eficiência média do sistema no período sido de 53%.

É importante destacar que o reator UASB operado na Fase II foi o mesmo reator utilizado como segundo estágio do sistema anaeróbio na Fase I, de forma que não foi realizada nova inoculação do reator entre as duas fases de operação. Sendo assim, considera-se que os microrganismos presentes no reator anaeróbio na Fase II já se encontravam adaptados a parte

dos compostos fenólicos, melanoidinas e outras substâncias tóxicas e oxidantes que compõem a vinhaça e o hidrolisado hemicelulósico.

Entretanto, o reator acidogênico executa um importante papel na hidrólise de compostos orgânicos de cadeia longa e substâncias de estrutura complexa, que muitas vezes os microrganismos presentes no reator metanogênico não conseguem metabolizar. Adicionalmente, a separação física das fases acidogênica e metanogênica confere maior estabilidade ao tratamento, uma vez que permite a manutenção das condições ideais para o crescimento dos microrganismos responsáveis por cada etapa da digestão anaeróbia (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). Estes dois fatores explicam a diferença nos valores de DQO remanescente encontrados nas Fases I e II de operação.

Os resultados obtidos no tratamento anaeróbio de duplo estágio foram similares aos encontrados por Adarme (2020), que reportou eficiências de remoção de matéria orgânica superiores a 80%. Por sua vez, Shan *et al.* (2015) obtiveram eficiência ligeiramente superior, com média de 90% de remoção de DQO no tratamento de efluente de etanol lignocelulósico diluído com esgoto doméstico, a uma COA média de  $40,0 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ .

Na Fase II, o reator UASB apresentou melhor desempenho que o observado por Adarme (2020) em um reator híbrido (UASB de leito estruturado) alimentado com a mesma proporção de vinhaça e HH (3:1). Para a COA de  $8,2 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  utilizada nesse estudo, a DQO efluente ao reator UASB variou entre  $718 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $2586 \text{ mg.L}^{-1}$ , valores similares aos observados no reator híbrido com COA de  $4,8 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ .

Em relação ao acúmulo de AGVs no efluente anaeróbio, Adarme (2020) observou, na digestão anaeróbia em dois estágios (similar à Fase I deste estudo), predominantemente a presença de ácido acético e ácido propiônico, em proporções semelhantes entre si. Na Fase II deste estudo, também foram identificados estes dois AGVs em amostras do efluente anaeróbio, conforme apresentado na Tabela 9. Contudo, observou-se maiores concentrações de ácido propiônico em relação ao ácido acético, além de ter sido identificada a presença dos ácidos butírico e isobutírico na maior parte das amostras analisadas. De acordo com Aquino e Chernicharo (2005), o acúmulo de propionato e butirato no efluente pode ser resultado de limitações termodinâmicas na digestão anaeróbia, causadas geralmente por choque de carga e/ou estresse no reator.

Postula-se, portanto, que a retirada do reator acidogênico do sistema anaeróbio e o consequente aumento da COA no reator UASB causou uma condição de estresse neste reator,

levando ao acúmulo de AGVs no efluente. Tem-se, assim, menor eficiência do tratamento, resultando em maior concentração de DQO remanescente.

**Tabela 9 - Concentrações de AGV em amostras de efluente anaeróbio da Fase II**

| Analitos/<br>Concentração (mg.L <sup>-1</sup> ) | Dia da amostra             |                            |             |             |
|---|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|
|   | 206                        | 207                        | 209         | 213         |
| <b>Ac. Succínico</b>                            | <i>N.D.</i> <sup>(1)</sup> | <i>N.Q.</i> <sup>(3)</sup> | <i>N.D.</i> | <i>N.D.</i> |
| <b>Ac. Acético</b>                              | <i>N.D.</i>                | <b>343</b>                 | <i>N.D.</i> | <b>72</b>   |
| <b>Ac. Propiônico</b>                           | <i>N.Q.</i> <sup>(2)</sup> | <b>372</b>                 | <b>23</b>   | <b>103</b>  |
| <b>Ac. Isobutírico</b>                          | <b>108</b>                 | <b>249</b>                 | <i>N.Q.</i> | <i>N.Q.</i> |
| <b>Ac. Butírico</b>                             | <i>N.D.</i>                | <i>N.D.</i>                | <i>N.D.</i> | <b>45</b>   |

<sup>(1)</sup> Não detectado – abaixo do limite de detecção (5-10 mg.L<sup>-1</sup>)

<sup>(2)</sup> Não Quantificado – abaixo do limite de quantificação (15-30mg.L<sup>-1</sup>)

<sup>(3)</sup> No caso da amostra do dia 207, a análise foi realizada com diluição de 10 vezes, portanto o limite de quantificação passa a ser de 200 mg.L<sup>-1</sup>

Ressalta-se que não foram detectadas nas amostras analisadas em HPLC as seguintes substâncias: celobiose, glicose, xilose, arabinose, ácido fórmico, ácido isovalérico, ácido capróico, Hidroximetilfurfural (HMF) e Furfuraldeído (FF). A presença de ácido valérico foi detectada na maioria das amostras, à exceção do dia 199, contudo em todas elas a concentração foi inferior ao limite de quantificação de 20 mg.L<sup>-1</sup>.

Devido à elevada eficiência de remoção de matéria orgânica do sistema anaeróbio na Fase I, é provável que a DQO remanescente nesta fase se constitui principalmente de substâncias de baixa biodegradabilidade, o que representa um desafio para o pós-tratamento aeróbio. Por outro lado, espera-se que a composição do efluente anaeróbio na Fase II seja mais diversificada. Apesar de análise cromatográfica não ter identificado a presença de açúcares (glicose, xilose, arabinose e celobiose) no efluente da Fase II, as concentrações de AGV observadas correspondem de 20 a 70% da DQO solúvel no efluente anaeróbio. Ademais, com a retirada do reator acidogênico espera-se maior acúmulo de substâncias recalcitrantes tais quais fenóis e derivados lignina, que são bem removidas na etapa acidogênica (BAËTA, 2016). De fato, a análise de fenóis totais em amostras da Fase II indicou uma contribuição média de cerca de 215 mg.L<sup>-1</sup> de DQO por este tipo de composto, o que equivalia a cerca de 25 % da DQO efluente do reator anaeróbio. O restante da matéria orgânica presente no efluente provavelmente se encontra na forma de melanoidinas, esteroides, ácidos graxos e outras substâncias identificadas na vinhaça, como as citadas por Kumar e Chandra (2020), Parsaee, Kiani Deh Kiani e Karimi, (2019) e Carrilho, Labuto e Kamogawa (2016). A

identificação de algumas destas substâncias será apresentada no Item 5.2, no qual será discutida em detalhes a composição do efluente do sistema de lodos ativados.

Por um lado, é possível que a maior concentração de substâncias com melhor biodegradabilidade, como os AGV, no efluente gerado na Fase II, represente impacto positivo no pós-tratamento aeróbio, estimulando o metabolismo dos microrganismos e permitindo a retirada da suplementação de carbono na etapa de aclimatação, que neste caso foi feita com glicose. Entretanto, existe o risco de a maior concentração de compostos fenólicos e oxidantes, como as melanoidinas, causar inibição nos microrganismos aeróbios, prejudicando a eficiência do pós-tratamento.

### 5.1.2. Inoculação do sistema de lodos ativados

A inoculação do tanque de aeração foi realizada com uma mistura de lodo aeróbio e efluente da digestão anaeróbia em dois estágios (50:50 v/v), conforme descrito no Item 4.3. A caracterização do inóculo foi feita na semana seguinte à sua coleta, e encontra-se apresentada na Tabela 10. Vale ressaltar que os ânions e cátions não citados na tabela ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_3^{4-}$ ) não foram identificados na análise cromatográfica.

**Tabela 10 - Caracterização do inóculo do sistema de lodos ativados**

| Parâmetro          | Concentração ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) |
|--------------------|-------------------------------------|
| ST                 | $12.820 \pm 216$                    |
| SV                 | $6.113 \pm 198$                     |
| COD <sup>(1)</sup> | $488,9 \pm 11,4$                    |
| N <sub>T</sub>     | $47,4 \pm 2,1$                      |
| Cloreto            | 220,2                               |
| Sulfato            | 1.236,7                             |
| Sódio              | 295,2                               |
| Potássio           | 21,3                                |
| Magnésio           | 994,1                               |
| Estrôncio          | 46,5                                |

<sup>(1)</sup> Carbono Orgânico Dissolvido

Observou-se que a concentração de sólidos voláteis no lodo de inóculo é inferior ao descrito por von Sperling (2002) para lodo de recirculação de lodos ativados, de 8.000 a 12.000  $\text{mg.L}^{-1}$ , o que pode ocorrer devido à diferença de composição entre efluentes domésticos e industriais. Destaca-se também a elevada concentração de íons sulfato e magnésio, que provavelmente está relacionada aos processos utilizados na produção de papel reciclado.

Durante os primeiros 13 dias de operação (Fase Ia) foram realizados diversos ajustes na operação do sistema e nas condições de alimentação do reator. Desta forma, considera-se esta fase como o “período de arranque” do reator, onde não foi alcançada condição de estabilidade.

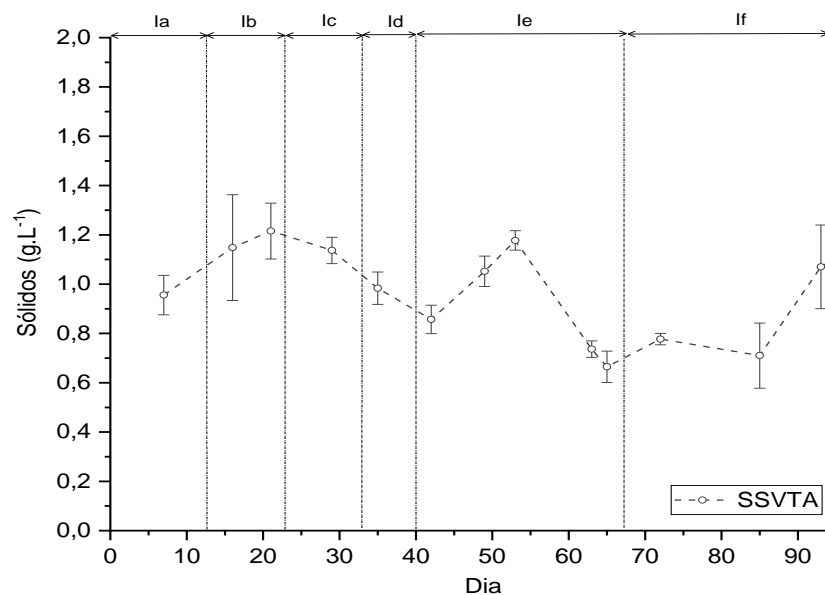
Não foi observada, nesta fase, remoção de matéria orgânica pelos microrganismos aeróbios, resultando em uma DQO efluente similar ou superior à afluente ao sistema. Estes resultados são indicativos da elevada recalcitrância do efluente anaeróbio após o tratamento em dois estágios. Para estimular a atividade metabólica dos microrganismos optou-se por adicionar glicose à solução de alimentação como fonte de carbono facilmente disponível, caracterizando o início da Fase Ib. Após a adição de glicose, passou-se a observar redução na concentração de DQO efluente ao pós-tratamento a valores inferiores àqueles observados no efluente anaeróbio bruto, o que demonstra que a presença de glicose foi suficiente para estimular o consumo da matéria orgânica presente neste efluente. Tais resultados indicam ainda que a degradação dos compostos recalcitrantes presentes provavelmente se deu por co-metabolismo.

Além disso, como citado anteriormente, observou-se a necessidade de ajustar o pH da solução de alimentação e mantê-la refrigerada, pois, caso contrário, o pH no interior do TA mantinha-se em torno de 10, valor considerado elevado para a operação de um sistema de lodos ativados. Uma provável explicação para este aumento é a ocorrência de amonificação do efluente anaeróbio em condições de temperatura ambiente. Cabe citar que a temperatura do líquido medida no TA variou entre 20,7°C e 25,7°C no período de operação, com média de 23,0°C, e a concentração de Nitrogênio Total ( $N_T$ ) média no efluente anaeróbio foi de 48,0 mg.L<sup>-1</sup>.

Nesta fase, a eficiência média observada no sistema foi de -23%, ou seja, houve aumento nos valores médios da DQO efluente em relação à afluente. Pode-se atribuir esta DQO adicional ao decaimento bacteriano causado pela escassez de matéria orgânica biodisponível no TA, que ativa os mecanismos de respiração endógena e gera, conseqüentemente, liberação de produtos microbianos solúveis (SMP) no efluente aeróbio, na forma de BAP (produtos associados à biomassa), tais quais compostos intracelulacelulares e debris de células em processo de decaimento/morte.

### 5.1.3. Fases de operação

Neste item, será apresentado o desempenho geral do sistema em cada fase de operação, de forma a discutir e justificar os motivos que levaram às alterações nas condições de alimentação e de operação do reator em cada fase. Na Fase I, as condições de alimentação foram variadas em função das condições do efluente anaeróbio, como já descrito, e de acordo com a resposta dos microrganismos às alterações realizadas, observada por meio da concentração de sólidos suspensos voláteis no tanque de aeração (SSVTA). Os resultados da concentração de SSVTA na Fase I são mostrados na Figura 9.



**Figura 9 - Concentração de SSV no tanque de aeração na Fase I**

Além do início da remoção de matéria orgânica observada na Fase Ib, após adição de glicose e ajuste do pH da solução de alimentação também foi observado aumento na concentração de SSVTA, que passou de  $0,95 \text{ g.L}^{-1}$  para  $1,21 \text{ g.L}^{-1}$  no final da Fase Ib. Segundo von Sperling (2002), há uma relação linear entre a taxa de crescimento bacteriano e a taxa de utilização de substrato, sendo este aumento portanto justificado pelo elevado consumo de glicose pelos microrganismos nesta fase.

Tendo sido observadas eficiências superiores a 70% de remoção de DQO na Fase Ib, além do pleno crescimento microbiano, optou-se por reduzir a concentração de glicose adicionada a  $250 \text{ mg.L}^{-1}$  como tentativa de estimular maior consumo da matéria orgânica presente no efluente anaeróbio, dando início à Fase de operação Ic. A diminuição da concentração de glicose adicionada levou a uma redução na concentração de SSVTA e redução na eficiência de remoção de matéria orgânica. Sendo assim, pode-se dizer que o sistema não respondeu

bem à alteração realizada na Fase Ic, o que demonstra que ainda havia dependência da utilização da glicose como fonte externa de carbono pelos microrganismos, de modo a viabilizar seu crescimento, permitir a aclimação às substâncias recalcitrantes do efluente ou ser utilizada para o co-metabolismo destas substâncias, conforme descrito por Kumar e Chandra (2020).

Observou-se, ainda neste período, uma diminuição gradual no conteúdo de DQO no afluente ao pós-tratamento (ver Figura 8 a partir do 20º dia de operação), o que, somado à redução na adição de glicose, levou a uma menor disponibilidade de alimento para os microrganismos no sistema aeróbio. Para minimizar este impacto, decidiu-se diminuir o fator de diluição da solução de alimentação após 10 dias de operação da Fase Ic.

Entretanto, durante a Fase Id, a concentração de DQO no efluente anaeróbio continuou reduzindo, o que fez com que, mesmo com a maior proporção de efluente na solução de alimentação, a COA nesta fase fosse a menor de toda operação do sistema. Por este motivo, após somente 7 dias de operação da Fase Id optou-se por passar a alimentar o sistema de lodos ativados com 100% de efluente anaeróbio, sem diluição. O efluente continuou a ser suplementado com 250 mg.L<sup>-1</sup> de glicose na tentativa de estimular os microrganismos aeróbios e aclimatá-los aos compostos recalcitrantes presentes no efluente anaeróbio.

Como pode-se observar na Figura 9, entre o 23º e 40º dias de operação (Fases Ic e Id), a concentração de SSVTA continuou a diminuir, devido provavelmente à escassez de alimento no sistema. Definiu-se pela estratégia de reduzir a diluição da solução de alimentação para evitar-se retornar a concentrações maiores de glicose no efluente, de forma a seguir com a tentativa de estimular o consumo da matéria orgânica presente no próprio efluente anaeróbio. Tendo sido observada redução na eficiência do processo no início da Fase Ie, além de manter-se a diminuição gradual na concentração de sólidos, passou-se a adicionar também, no efluente anaeróbio, 1 ml.L<sup>-1</sup> de solução tampão de fosfato, uma vez que a análise cromatográfica de íons indicou ausência de fosfato em parte das amostras. O resultado obtido inicialmente foi positivo, com aumento da concentração de SSVTA e estabilização da eficiência de remoção de matéria orgânica.

Após 27 dias de operação da Fase Ie, mantendo-se a eficiência do sistema estável, a concentração de glicose na alimentação foi reduzida a 100 mg.L<sup>-1</sup>. Com isto, a princípio, observou-se redução na eficiência de remoção de matéria orgânica. Porém, após alguns dias, a mesma voltou a se estabilizar em valores similares aos da Fase Ie. Com a eficiência do



sistema estável e em torno de 70% ao final da Fase If, tendo sido retirada a diluição e reduzida a concentração de glicose, considerou-se que a etapa de aclimação dos microrganismos ao efluente anaeróbio foi realizada com sucesso, permitindo o início da operação da Fase II.

Decidiu-se então retirar o reator acidogênico do sistema anaeróbio, de forma que o sistema de lodos ativados em bancada passou a ser alimentado apenas com o efluente do reator UASB, que por sua vez era alimentado diretamente com a mistura de vinhaça e hidrolisado hemicelulósico. O aumento na concentração de DQO afluente ao sistema aeróbio era esperado na nova configuração, e passou de um valor médio de  $400 \text{ mg.L}^{-1}$  (fase If) para  $1.597 \text{ mg.L}^{-1}$  (fase IIa), o que representa um aumento de cerca de 300%.

Na Fase II, os parâmetros de operação do reator foram alterados inicialmente de forma a avaliar a resposta do reator à redução do TDH, uma vez que considerou-se necessário aplicar inicialmente o TDH de 24 horas para evitar o choque do reator aeróbio, devido ao aumento significativo na carga orgânica afluente. Por limitações operacionais, esta fase precisou ser operada com o sistema de alimentação do reator por bateladas sequenciais (RBS). Mesmo com o TDH elevado, a COA na Fase IIa foi de  $2,0 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  consideravelmente superior à média de  $0,68 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  utilizada na Fase I.

Foram observados na Fase IIa elevada eficiência do sistema e aumento na concentração de SSVTA, que passou de  $0,80 \text{ g.L}^{-1}$  na Fase I para uma média de  $1,42 \text{ g.L}^{-1}$  na Fase IIa. Os resultados obtidos são indicativos de uma boa adaptação dos microrganismos às características do efluente anaeróbio, mesmo considerando o aumento na concentração de substâncias tóxicas e inibidoras no TA, causado pela retirada da fase acidogênica do sistema anaeróbio e maior COA ao reator aeróbio. Ao final da Fase IIa, identificou-se diminuição na DQO do efluente anaeróbio, causada provavelmente por estabilização do reator UASB em relação às novas condições operacionais. Com isto, retornou-se a operação do sistema de lodos ativados para o modo contínuo, com TDH de 18h, dando início à Fase IIb.

A concentração de DQO afluente média da Fase IIb foi de  $1130,31 \text{ mg.L}^{-1}$ , o que resultou na menor COA da Fase II, de  $1,43 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ . No mesmo período, observou-se a menor eficiência média da operação do sistema aeróbio, em 58%, e a menor concentração de SSVTA da Fase II. Pode-se atribuir a redução na concentração de SSVTA ao retorno da operação para o modo contínuo, que exigiu uma readaptação dos microrganismos a este modo de operação, ou à menor COA, que representa menor disponibilidade de alimento no sistema.

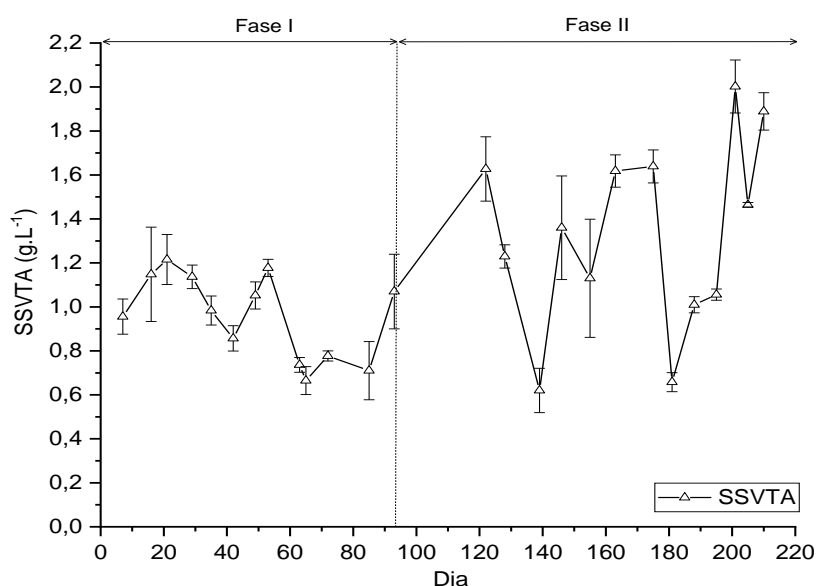
Tendo sido observada baixa eficiência e baixa concentração de sólidos após 10 dias de operação da Fase IIb, optou-se por passar à Fase IIc, na qual o sistema operou com TDH de 12h de forma a aumentar a COA ao reator, mantendo-se a suplementação com  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de glicose. Inicialmente, foi observada manutenção da baixa eficiência de remoção de matéria orgânica do sistema. Entretanto, cerca de 10 dias após o início da Fase IIc a eficiência do sistema começou a se estabilizar, resultando em um desempenho melhor que aquele observado na fase anterior.

Por fim, considerando a estabilização do sistema nas condições da Fase IIc com 30 dias de operação, suspendeu-se a adição de glicose e fosfato à alimentação. Assim, na Fase IId objetivou-se verificar se a retirada total da fonte externa de carbono e nutrientes resultaria em redução significativa na eficiência do reator ou na concentração de SSVTA. Vale ressaltar que o efluente anaeróbio da Fase II apresentava maior concentração de substâncias orgânicas biodegradáveis, como AGVs, o que o torna mais propenso a funcionar como fonte única de carbono que o efluente gerado na Fase I.

Apesar da retirada da fonte externa de carbono na Fase IId, a eficiência do sistema manteve-se em níveis similares aos obtidos nas fases anteriores. Além disso, houve uma queda inicialmente na concentração de SSVTA, porém, após cerca de 10 dias, esta voltou a se estabilizar em valores semelhantes aos obtidos anteriormente, o que demonstra adaptação dos microrganismos às características do efluente anaeróbio e disponibilidade suficiente de matéria orgânica biodegradável neste efluente para o seu crescimento. Por estes motivos, a Fase IId foi considerada como de operação ideal do sistema, após um período de aclimação, uma vez que foram obtidos resultados similares aos observados anteriormente, sem a necessidade de utilização de glicose ou diluição e com o menor TDH testado na Fase II.

Vale destacar a resposta dos microrganismos aeróbios à adição de glicose obtida neste estudo. Inicialmente, quando o sistema foi alimentado com efluente consideravelmente recalcitrante (Fase I), a glicose mostrou-se necessária para estimular seu metabolismo e crescimento, tendo sido observada rápida resposta do sistema, de forma positiva, quando foi adicionada (Fase Ib), e de forma negativa, quando houve redução em sua concentração (Fase Ic). Contudo, após a quinta fase de operação (67 dias - Fase Ie), as diminuições subsequentes na concentração de glicose não causaram efeito negativo no sistema, demonstrando certa adaptação dos microrganismos às condições do ambiente.

Adicionalmente, a maior disponibilidade de alimento no efluente anaeróbico que alimentava o sistema na Fase II levou a um aumento nas concentrações de SSVTA, como mostra a Figura 10. O maior valor obtido para SSVTA foi de 2,0 g.L<sup>-1</sup>, o que ocorreu na Fase IId. Já os menores valores, de 0,66 e 0,74 g.L<sup>-1</sup>, foram observados na Fase Ie. Contudo, isto ocorreu após um episódio onde observou-se o fenômeno de “lodo ascendente” no decantador secundário que levou à perda de sólidos junto ao efluente do sistema. É interessante destacar que neste mesmo período observou-se boa eficiência do reator, em torno de 70% de remoção de DQO, demonstrando elevada atividade dos microrganismos.



**Figura 10 – Concentração de SSVTA durante a operação do sistema de lodos ativados**

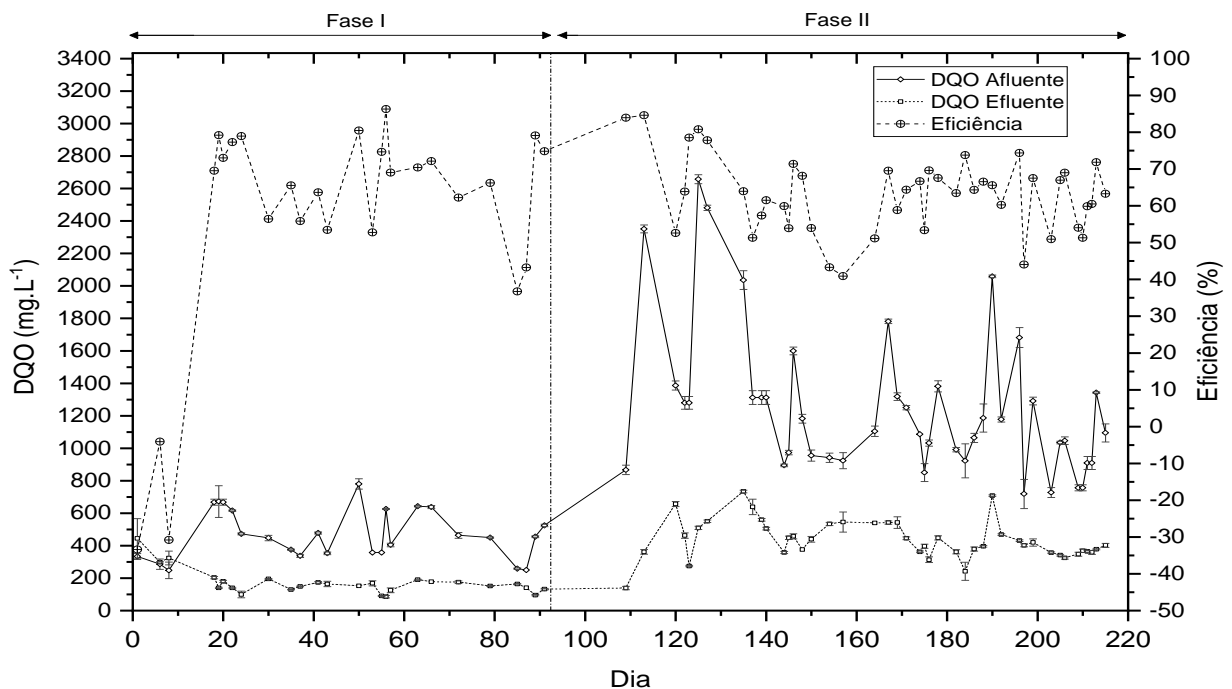
O episódio de “lodo ascendente” foi atribuído à ocorrência de desnitrificação no decantador secundário, o que foi verificado após as análises de Nitrogênio Total e íons demonstrarem diminuição na concentração de nitrogênio (ou nitrato) quando comparados o efluente de saída do reator e o efluente do decantador secundário. Tais resultados serão apresentados posteriormente, no item 5.1.4. Também foi observada a ocorrência de episódio de “lodo disperso” (quando há baixa formação de flocos) na Fase IId, provavelmente devido a um aumento significativo na relação A/M, causado por redução na concentração de SSVTA e aumento na DQO afluente. O episódio foi controlado fazendo-se a centrifugação do efluente de saída do reator e retorno de todo o lodo centrifugado para o TA, de forma a aumentar a concentração de SSVTA, reduzindo assim o valor de A/M.

Por fim, em relação à recirculação de lodo, como descrito no Item 3.2.2.1, inicialmente foi realizada manualmente, de duas a três vezes ao dia, com retorno diário aproximado de 0,5 L de lodo, resultando em uma razão de circulação em torno de 0,3. Na Fase IId, iniciou-se a

recirculação automática de lodo, por meio do segundo canal da mesma bomba de alimentação do sistema e com mangueira de mesmo diâmetro, de forma que a vazão de alimentação e recirculação eram idênticas (razão de recirculação igual a 1). Destaca-se, contudo, que não foi observada diferença significativa na eficiência do sistema após o aumento da razão de recirculação de lodo.

#### 5.1.4. Matéria Orgânica

Como dito anteriormente, no geral, observou-se que a eficiência de remoção de matéria orgânica no sistema de pós-tratamento seguiu tendência similar aos valores da concentração de DQO afluente, como é possível ver na Figura 11.



**Figura 11 - Entrada, Saída e Remoção de DQO no sistema de Lodos Ativos**

A explicação para este fato se encontra na variação da biodegradabilidade do efluente, que ocorre em função da eficiência observada no tratamento anaeróbico. Em outras palavras, quando a eficiência do sistema anaeróbico é elevada, a maior parte da matéria orgânica biodegradável presente nos efluentes da indústria sucroalcooleira é removida no reator UASB, restando, portanto, pouco a ser removido pelos microrganismos aeróbios – o que se reflete em baixa eficiência do pós tratamento. Por outro lado, quando observada deficiência no tratamento anaeróbico, há acúmulo no efluente de substâncias como AGVs, que são mais facilmente degradados no sistema aeróbico.

As análises de DBO realizadas com afluentes e efluentes ao sistema anaeróbio corroboram esta explicação. A eficiência média de remoção de DBO, obtida com análises realizadas nas fases Ie, Iib, Iic e Iid (Tabela 11) foi de  $94 \pm 2\%$ , o que indica que a remoção de matéria orgânica biodegradável pelo sistema não só foi elevada, mas manteve-se estável ao longo do tempo. Conclui-se, desta forma, que as menores eficiências de remoção de DQO registradas estão relacionadas ao período em que o sistema de lodos ativados foi alimentado com efluentes contendo maior concentração proporcional de substâncias recalcitrantes, visto que as substâncias biodegradáveis são quase completamente removidas na etapa aeróbia, independentemente das condições de operação e alimentação do sistema de pós-tratamento aeróbio.

**Tabela 11 - Resultados das análises de DBO ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) no sistema de lodos ativados**

| <b>Dia</b> | <b>DBO<br/>afluente<br/>(<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b> | <b>DBO<br/>efluente<br/>(<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b> | <b>Eficiência<br/>de remoção<br/>(%)</b> |
|------------|---|---|--|
| <b>45</b>  | 211,1   | 13,5  | 94%                                      |
| <b>169</b> | 301,0   | 21,5  | 93%                                      |
| <b>182</b> | 337,8   | 27,6  | 92%                                      |
| <b>199</b> | 435,4   | 11,7  | 97%                                      |
| <b>205</b> | 389,1   | 23,4  | 94%                                      |

Tendo isto em mente, pode-se dizer que a análise da eficiência de remoção de matéria orgânica do sistema na Fase I é pouco conclusiva, uma vez que ela é fortemente influenciada pela concentração de glicose na solução de alimentação. Tem-se, por exemplo, que a maior eficiência registrada em todo o período de operação ocorreu na Fase Ib, cujo valor médio foi de 75% de remoção de DQO. Contudo, essa eficiência é de 42% quando considerada apenas a DQO afluente correspondente ao efluente anaeróbio (ou seja, não computando a glicose adicionada). É válido, portanto, avaliar o desempenho do sistema na Fase I com base na DQO efluente ao sistema anaeróbio. Estes resultados são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12 - DQO efluente ao sistema de lodos ativados na Fase I**

| <b>Fase</b> | <b>DQO efluente<br/>média</b> |
|-------------|-------------------------------|
| <b>Ia</b>   | $355,5 \pm 78$                |
| <b>Ib</b>   | $165,7 \pm 31$                |
| <b>Ic</b>   | $147,1 \pm 67$                |
| <b>Id</b>   | $139,0 \pm 13$                |
| <b>Ie</b>   | $147,6 \pm 38$                |
| <b>If</b>   | $143,1 \pm 28$                |

Observa-se que o valor de DQO no efluente aeróbio na Fase Ib foi maior que o obtido nas fases seguintes, o que aponta para uma menor eficiência real do sistema nesta fase. Nas Fases Ic a If, tem-se uma performance estável do sistema, com DQO efluente média com pequena variação, entre 139,0 e 147,1 mg.L<sup>-1</sup>. Estes resultados indicam que as alterações no fator de diluição, de 50:50 para 100:0, e a redução na concentração de glicose, de 250 mg.L<sup>-1</sup> para 100 mg.L<sup>-1</sup>, não influenciaram significativamente na eficiência do reator para remover a matéria orgânica presente no efluente anaeróbio. Assim, concluiu-se que as condições de alimentação do sistema aplicadas na Fase If eram as ideais para continuação da operação, após o período de aclimação, visto que resultam em desempenho similar, porém com menor uso de glicose e sem necessidade de produção da solução de diluição.

A eficiência global do sistema de tratamento (anaeróbio + aeróbio) na Fase I foi de 90,5%. Este resultado está em acordo com o obtido por Shan *et al.* (2015), tratando efluente da produção de etanol lignocelulósico em sistema anaeróbio-aeróbio. As condições de tratamento anaeróbio utilizadas por Shan *et al.* (2015) encontram-se descritas na Tabela 3. Para o pós-tratamento aeróbio, os autores utilizaram reator de bateladas sequenciais (RBS) operado em TDH de 12 horas.

Vale ressaltar, também, que os valores de DQO efluente obtidos na Fase I, sendo inferiores a 180 mg.L<sup>-1</sup>, encontram-se dentro dos limites permitidos pela legislação estadual de Minas Gerais para lançamento de efluentes em corpos hídricos (COPAM/CERH, 2008).

Por sua vez, os valores médios de DQO afluente, efluente e eficiência de remoção de DQO do sistema aeróbio na Fase II são os apresentados na Tabela 13. A maior eficiência média, observada na Fase IIa, pode ser atribuída à maior concentração de AGVs presentes no efluente anaeróbio nesta etapa, uma vez que o reator UASB encontrava-se em fase de adaptação e em prováveis condições de choque de carga, gerando menor eficiência no tratamento anaeróbio. Além disso, o TDH de 24 horas aplicado na Fase IIa permite um o maior tempo de contato entre os microrganismos e o efluente, o que auxilia na indução da produção de enzimas e substâncias transportadoras dos poluentes para o interior das células, permitindo a degradação de compostos que não seriam mineralizados sem este tempo de aclimação.

**Tabela 13 - Valores médios de DQO afluente, efluente e eficiência do sistema de lodos ativados em cada etapa da Fase II**

| Fase | DQO afluente  | DQO efluente | Eficiência média de remoção (%) |
|------|---------------|--------------|---------------------------------|
| IIa  | 1.597,5 ± 617 | 479,2 ± 171  | 69 ± 12                         |
| IIb  | 1.130,3 ± 280 | 451,2 ± 56   | 58 ± 12                         |
| IIc  | 1.142,3 ± 259 | 426,6 ± 101  | 62 ± 9                          |
| IId  | 1.112,8 ± 375 | 404,5 ± 92   | 62 ± 9                          |

Em contraste ao observado na Fase IIa, a Fase IIb resultou na menor eficiência de todo o período de operação do sistema aeróbio. Todavia, o valor de 58% é semelhante aos valores de eficiência observados nas fases Id, If, IIc e IId, de modo que não se considera esta diferença significativa a ponto de indicar, realmente, a existência de algum problema com o funcionamento do sistema nesta fase de operação.

A comparação do desempenho do sistema de lodos ativados nas Fases IIc e IId, por sua vez, traz um resultado interessante. Nestas fases, observou-se que os valores de DQO afluente, COA e eficiência média foram muito similares entre si. Entretanto, na Fase IId foi retirada a glicose da alimentação, que tinha o objetivo de suplementar e estimular o metabolismo dos microrganismos, e não foi observada redução na eficiência média do sistema. Sendo assim, conclui-se que a adição de glicose no efluente anaeróbio com as características obtidas na Fase II de operação, não é necessária, após os microrganismos passarem por um período de adaptação.

Este resultado é semelhante ao encontrado por Shan *et.al.* (2015), que utilizou solução de diluição de sucrose na fase de adaptação dos microrganismos e observou que a retirada desta solução não influenciou na eficiência do sistema. Contudo, vale ressaltar que estes autores mantiveram a diluição do efluente anaeróbio com esgoto doméstico para alimentação do sistema aeróbio (RBS), obtendo eficiência média de 57% de remoção de DQO no pós-tratamento.

Foram observados, na Fase II, valores de eficiência média de remoção de DQO ligeiramente inferiores aos obtidos na Fase I, apesar da maior DQO afluente. Com base nos valores de DQO efluente obtidos e nas análises de DBO, que demonstraram eficiências superiores a 90% em ambas as fases, pode-se especular que a menor eficiência observada na Fase II se deve à maior concentração de substâncias recalcitrantes no efluente anaeróbio, resultado da retirada do reator acidogênico do sistema de tratamento, e à menor concentração de glicose adicionada

na solução de alimentação. A eficiência média de remoção de DQO obtida no sistema aeróbio na Fase I foi de 67%, frente a 63% observados na Fase II.

Em ambas as fases, os valores de DQO efluente ao sistema aeróbio apresentaram pouca variação, como é possível ver na Figura 11. Sendo assim, pode-se dizer que os sistemas anaeróbio e aeróbio se complementam, sendo o pós-tratamento por lodos ativados eficiente para alcançar a estabilização da qualidade do efluente final do sistema de tratamento. Considerando a operação de um sistema em escala real, esta é uma característica fundamental, pois evita períodos de descumprimento das normas ambientais causados por choque de carga e mau funcionamento do sistema anaeróbio. Além disso, uma etapa anaeróbia anterior ao pós-tratamento, além de resultar em redução de custos de investimento e operacionais ao tratamento (VON SPERLING, 2005), permite a recuperação da energia contida nos compostos biodegradáveis na forma de metano, que pode ser recuperado, purificado e utilizado para gerar energia elétrica e/ou térmica.

Inicialmente, quando se compara a DQO efluente média obtida na Fase I, de  $148,8 \pm 33,7$  mg.L<sup>-1</sup> aos valores obtidos na Fase II, de  $436,2 \pm 118,6$  mg.L<sup>-1</sup> pode-se concluir que a Fase I apresenta melhor eficiência global do sistema de tratamento. Contudo, para que a COA na Fase II fosse idêntica à da Fase I, a diluição inicial da solução de vinhaça e hidrolisado hemicelulósico foi reduzida a mais da metade do fator utilizado na Fase I, de forma que a DQO afluente aplicada ao reator acidogênico na Fase I foi de 1,5 g.L<sup>-1</sup> e ao reator UASB na Fase II foi de 3,5 g.L<sup>-1</sup>. Com isso, a eficiência global média de remoção de DQO na Fase I foi de 90,1% e, na Fase II, de 87,5%. Tem-se, assim, uma menor necessidade de diluição do efluente na Fase II, mantendo-se ainda uma boa eficiência global do sistema.

A eficiência do pós-tratamento aeróbio na remoção de matéria orgânica observada neste estudo foi semelhante àquela obtida por Ghosh, Ganguli e Tripathi (2002) com cepas de *Pseudomonas putida* e *Aeromonas* em um sistema aeróbio de duplo estágio com COA de 9,0 kg.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>. O sistema aqui avaliado mostrou-se mais eficiente que os demais exemplos de pós tratamento aeróbio de vinhaça anaerobiamente digerida apresentados por Cooper *et al.* (2020) em sua revisão sobre o tema. Vale ressaltar que em todos os trabalhos da literatura citados aqui utilizou-se suplementação com nutrientes e/ou glicose para estímulo do metabolismo microbiano.

Quanto à composição dos afluentes e efluentes ao sistema anaeróbio, análises cromatográficas identificaram a presença de AGVs no efluente metanogênico da Fase II, com predominância



de ácidos propiônico e isobutírico, e detecção em algumas amostras de ácido acético e ácido butírico, conforme apresentado na Tabela 9, Item 5.1.1. Observou-se, como esperado, que quanto maior a DQO do efluente, maior a proporção de AGV no mesmo.

Após o tratamento aeróbio, como demonstrado na Tabela 14, foi identificada persistência de ácido propiônico e ácido isobutírico em parte das amostras analisadas por cromatografia líquida (HPLC), em concentrações menores que as observadas anteriormente, indicando que houve remoção parcial dos AGVs contidos no afluente. Destaca-se o aumento na concentração de ácido propiônico observada na amostra do dia 206, em relação ao afluente ao sistema aeróbio, resultante, possivelmente, da degradação parcial de outros compostos presentes no efluente anaeróbio, como ácidos graxos de cadeia longa (AGCL).

**Tabela 14 - Concentração de AGV no efluente do sistema de lodos ativados**

| Analitos/<br>Concentração (mg.L <sup>-1</sup> ) | Dia da amostra             |                            |             |             |
|---|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|
|   | 50                         | 188                        | 206         | 207         |
| <b>Ac. Succínico</b>                            | <i>N.D.</i> <sup>(1)</sup> | <i>N.D.</i>                | <i>N.Q.</i> | <i>N.D.</i> |
| <b>Ac. Fórmico</b>                              | <i>N.D.</i>                | <i>N.D.</i>                | <i>N.D.</i> | <i>N.D.</i> |
| <b>Ac. Acético</b>                              | <i>N.D.</i>                | <i>N.Q.</i> <sup>(2)</sup> | <i>N.Q.</i> | <i>N.D.</i> |
| <b>Ac. Propiônico</b>                           | <b>21</b>                  | <i>N.D.</i>                | <i>N.Q.</i> | <b>205</b>  |
| <b>Ac. Isobutírico</b>                          | <i>N.D.</i>                | <b>68</b>                  | <b>264</b>  | <i>N.D.</i> |
| <b>Ac. Butírico</b>                             | <i>N.D.</i>                | <i>N.D.</i>                | <i>N.Q.</i> | <i>N.D.</i> |

<sup>(1)</sup> Não detectado – abaixo do limite de detecção (5-10 mgL<sup>-1</sup>)

<sup>(2)</sup> Não Quantificado – abaixo do limite de quantificação (15-30mg.L<sup>-1</sup>)

A persistência de AGVs no efluente dos reatores aeróbios é um indicativo de que há margem para melhoria da eficiência do sistema de lodos ativados, uma vez que estas substâncias não são recalcitrantes, sendo removidas comumente em sistemas biológicos. Para remoção completa de AGVs, uma possibilidade seria o aumento do TDH a valores não utilizados neste estudo, superiores a 24 horas. Porém, valores elevados de TDH resultam em um maior requisito de área para instalação do sistema, o que pode inviabilizar sua implantação, tendo como contrapartida um pequeno ganho de eficiência, visto que as concentrações de AGV remanescentes são pouco significativas.

Outra alternativa seria a redução da relação A/M do sistema, fazendo com que os microrganismos presentes no TA fiquem “famintos” (condição conhecida como *starvation*) e removam maiores concentrações de matéria orgânica. Para isto, podem ser utilizadas estratégias como o aumento da taxa de recirculação de lodo ou melhoria das condições de floculação e sedimentação no decantador secundário, de forma a aumentar a concentração de

lodo na linha de retorno. Em ambas as opções, busca-se aumentar a concentração de SSVTA, resultando na redução da relação A/M.

A utilização de meios de suporte no TA também seria uma possível estratégia para aumentar a concentração de SSVTA. Neste tipo de sistema, conhecido como MBBR (*moving bed bioreactor*), os microrganismos criam um biofilme nos meios de suporte, ao invés de crescer apenas dispersos, aumentando sua concentração e tempo no interior do reator.

É importante destacar que a razão DBO/DQO do afluente ao sistema de lodos ativados é considerada baixa, variando entre 0,33 e 0,44. Após o tratamento aeróbio, este valor é reduzido a  $0,06 \pm 0,02$ , o que representa um efluente significativamente recalcitrante. Com este resultado, pode-se dizer que o efluente final do sistema apresenta um potencial muito baixo de causar depleção de OD em um corpo hídrico receptor e que qualquer redução adicional de matéria orgânica deve ser perseguida por meio de processos físico-químicos de tratamento. Como a presença de compostos fenólicos e outras substâncias tóxicas potencialmente presentes no efluente da indústria sucroalcooleira pode representar risco à fauna aquática, a análise da eficiência dos tratamentos aqui empregados precisa ir além da avaliação da remoção dos parâmetros DBO e DQO, o que será realizado nos itens seguintes deste estudo e por meio da caracterização qualitativa dos efluentes do sistema.

#### **5.1.5. Substâncias inorgânicas**

Em se tratando do tratamento biológico de efluentes, as principais substâncias inorgânicas de interesse são os nutrientes, notadamente o nitrogênio e o fósforo. Para o bom funcionamento de um sistema aeróbio de tratamento, a proporção DBO:N:P deve ser de aproximadamente 100:5:1 (METCALF; EDDY; TCHOBANOGLIOUS, 1991). Como a vinhaça é um efluente normalmente rico em nitrogênio, buscou-se neste estudo o balanceamento de nutrientes, realizando a co-digestão com o hidrolisado hemicelulósico (HH), que geralmente não possui concentrações de nutrientes necessárias para viabilizar seu tratamento biológico.

Os resultados obtidos nas análises de Nitrogênio Total ( $N_T$ ) neste estudo estão resumidos na Tabela 15. Estes resultados mostram que houve redução na concentração de nitrogênio total no efluente após o tratamento aeróbio, com eficiências de remoção alcançando valores superiores a 80%. É importante ressaltar que estes resultados representam todas as espécies de nitrogênio, orgânicas e inorgânicas, dissolvidas no efluente (visto que as amostras são filtradas), não considerando o conteúdo de nitrogênio orgânico que faz parte da composição celular dos microrganismos.

A remoção de nitrogênio em sistemas biológicos pode ocorrer por meio de dois mecanismos: assimilação biológica ou reações de nitrificação e desnitrificação. A análise do perfil da concentração de nitrogênio ao longo do processo de lodos ativados pode indicar qual mecanismo predomina para a remoção de nitrogênio em cada caso, uma vez que as rotas de assimilação ocorrem predominantemente no tanque de aeração, onde as condições de presença de substrato e OD são ideais para o metabolismo e multiplicação celular. Por sua vez, as reações de desnitrificação se dão na ausência de oxigênio, e, portanto, tendem a acontecer no decantador secundário em sistemas de lodos ativados convencional. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 15, observa-se que a maior parcela do nitrogênio é removida no TA, indicando que as reações que predominam, neste estudo, são as de assimilação biológica, em que o nitrogênio é utilizado para o crescimento celular, sendo convertido em biomassa.

**Tabela 15 – Concentração média de  $N_T$  no afluente e efluente do sistema de lodos ativados**

| Nitrogênio Total ( $mgN.L^{-1}$ ) |     |                               |                     |                        |                             |
|-----------------------------------|-----|-------------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------------|
| Fase                              | Dia | Afluente ao TA <sup>(1)</sup> | Efluente do TA      | Efluente do decantador | Eficiência média de remoção |
| Ic                                | 24  | 18,5                          | 4,8                 | 6,9                    | 63%                         |
| Id                                | 38  | 59,4                          | 37,2                | 25,5                   | 57%                         |
| Ie                                | 45  | 32,5                          | 18,3                | 14,1                   | 57%                         |
| Ie                                | 55  | 35,1                          | 13,2                | 14,0                   | 60%                         |
| If                                | 69  | 113,0                         | 15,2                | 15,3                   | 86%                         |
| IIb                               | 150 | 35,2                          | N.A. <sup>(2)</sup> | 19,2                   | 45%                         |
| IIc                               | 162 | 77,4                          | N.A.                | 15,6                   | 80%                         |
| IIId                              | 192 | 29,2                          | N.A.                | 16,9                   | 42%                         |
| IIId                              | 207 | 51,6                          | 16,9                | 17,6                   | 66%                         |
| IIId                              | 214 | 28,8                          | 20,6                | 16,0                   | 44%                         |

<sup>(1)</sup>TA – Tanque de Aeração

<sup>(2)</sup>N.A. – Não analisado

Destaca-se também a elevada variabilidade das concentrações de  $N_T$  observada no efluente anaeróbico, cujos valores variaram entre 18,5 e 113,0  $mg.L^{-1}$ . Considerando os menores valores observados, vale verificar se a concentração de  $N_T$  no efluente anaeróbico pode ter sido, também, um fator limitante para o crescimento da biomassa no TA em algumas ocasiões. De acordo com von Sperling (2002), a proporção, em massa, de  $N_T$  em células aeróbicas é de aproximadamente 12,3%, indicando a necessidade de 123 mg de nitrogênio para o crescimento de 1 g de biomassa. Considerando a idade do lodo média de 9 dias e a equação

(1), apresentada no item 3.2.2.1, tem-se a produção de lodo de  $210 \text{ mgSSV.d}^{-1}$  no sistema, o que representa um requisito de nitrogênio de  $25,8 \text{ mgN.d}^{-1}$ . Como a vazão diária do sistema manteve-se em  $2,5 \text{ L.d}^{-1}$  na maioria das fases de operação, pode-se concluir que não houve limitação de nitrogênio para o crescimento da biomassa, indicando que a estratégia de balanceamento dos nutrientes com a mistura de vinhaça e HH foi adequada.

Por outro lado, concentrações elevadas de nitrogênio podem ter auxiliado no aumento da concentração de biomassa no TA em alguns momentos específicos. Pela Figura 9, é possível observar o aumento considerável da concentração de SSVTA na Fase If, que coincide com o maior valor – e maior remoção – de  $N_T$  apresentado na Tabela 15. Similarmente, a segunda maior remoção de  $N_T$  observada, no dia 162, coincide com um período de aumento da concentração de SSVTA observado na Fase Iic, como mostra a Figura 10. Estes resultados também são indicativos de que predomina no sistema a remoção de nitrogênio por assimilação biológica, para crescimento da biomassa.

Os resultados obtidos na análise cromatográfica de íons (Tabela 16) permitem o melhor entendimento da ocorrência de reações de nitrificação e desnitrificação ao longo do sistema. É comum em efluentes anaeróbios a predominância de íons amônio, o que explica a maior concentração desta espécie no afluente ao sistema de lodos ativados. Com o ambiente altamente oxidante do TA, a tendência do sistema é para a conversão deste amônio em nitrito e posteriormente a nitrato. Além disso, a reação de nitrificação é favorecida por idade do lodo elevada e baixa relação A/M. Observa-se na Tabela 16 que houve, no geral, redução na concentração de nitrogênio amoniacal e aumento na concentração de nitrato após o TA, indicando a ocorrência da reação de nitrificação no TA.

**Tabela 16 – Concentração das espécies iônicas de nitrogênio ( $\text{mgN.L}^{-1}$ ) no sistema de lodos ativados**

| Fase       | Dia | Espécie analisada | Afluente ao TA <sup>(1)</sup> | Efluente do TA      | Efluente do decantador | Remoção $\text{N-NH}_4^+$ (%) | Remoção de N (%) |
|------------|-----|-------------------|-------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------------|------------------|
| <b>Ib</b>  | 15  | $\text{NH}_4^+$   | 19,2                          | N.A. <sup>(2)</sup> | 9,1                    | 52                            | 49               |
|            |     | $\text{NO}_3^-$   | 1,1                           | N.A.                | 1,3                    |                               |                  |
| <b>Ie</b>  | 44  | $\text{NH}_4^+$   | 18,9                          | 8,3                 | 7,9                    | 58                            | 49               |
|            |     | $\text{NO}_3^-$   | 1,4                           | 4,9                 | 2,4                    |                               |                  |
| <b>If</b>  | 70  | $\text{NH}_4^+$   | 21,8                          | 2,2                 | 0,0                    | 100                           | 67               |
|            |     | $\text{NO}_3^-$   | 1,2                           | 5,8                 | 7,6                    |                               |                  |
| <b>IId</b> | 207 | $\text{NH}_4^+$   | 44,6                          | 9,2                 | 4,0                    | 91                            | 87               |
|            |     | $\text{NO}_3^-$   | 1,1                           | 0,8                 | 1,9                    |                               |                  |

<sup>(1)</sup>TA – Tanque de Aeração

<sup>(2)</sup>N.A. – Não analisado

Entretanto, apenas nas amostras correspondentes ao 44º dia de operação é possível identificar redução na concentração de nitrato no decantador, indicando reação de desnitrificação. De fato, esta amostra coincide com o início da Fase Ie, na qual já foi descrita, no Item 5.1.2, observação do fenômeno de “lodo ascendente” causado pela aderência das bolhas de nitrogênio gasoso ao lodo contido no decantador secundário.

A comparação dos resultados da amostra do dia 207 apresentados nas Tabelas 15 e 16 demonstra também que ocorre melhor remoção das espécies inorgânicas ( $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ ) de nitrogênio no sistema, visto que se observou 87% de remoção do nitrogênio nestas espécies, comparado a 66% de remoção do  $\text{N}_T$ . Pode-se assumir, portanto, que parte do nitrogênio que compõe o efluente após o tratamento encontra-se na forma orgânica, sendo proveniente provavelmente de lise celular ou ligada a compostos orgânicos complexos não degradados, como, possivelmente, melanoidinas e seus derivados.

Ressalta-se também a remoção completa do nitrogênio amoniacal observada na amostra do dia 70. Observa-se, nesta amostra, o maior aumento da concentração de nitrato no efluente, indicando boa eficiência da nitrificação. Além disso, esta amostra coincide com a Fase If, na qual, como citado previamente, foi observado elevado crescimento da biomassa no TA, sendo possível assumir que o restante do nitrogênio amoniacal foi removido por assimilação biológica.

Nas demais amostras, percebe-se um pequeno aumento nas concentrações de nitrato, demonstrando que as reações de nitrificação ocorriam – porém em pequena escala. Um possível motivo para esta limitação é a presença de fenóis no afluente ao sistema aeróbio, uma vez que estes possuem elevada capacidade de inibirem as reações de nitrificação (INGLEZAKIS *et al.*, 2017). Assim, a ocorrência de nitrificação não foi suficiente para causar redução de pH no TA, levando à necessidade de ajuste do pH na alimentação para que este se mantivesse em valores aceitáveis.

No geral, os resultados obtidos na análise cromatográfica de íons confirmam a predominância da remoção de nitrogênio por assimilação biológica, visto que as reduções observadas na concentração de nitrogênio amoniacal na maioria das amostras não se refletem em um aumento, nas mesmas proporções, da concentração de nitrogênio na forma de nitrato após o TA. Sendo assim, as condições de nitrificação podem ser otimizadas, de maneira a obter maiores remoções de nitrogênio no processo. A remoção de nitrogênio é desejável quando o destino do efluente é um corpo hídrico, uma vez que o despejo de nutrientes em excesso pode

causar o crescimento elevado de algas, resultando na chamada eutrofização do corpo hídrico. Com uma grande quantidade de algas, a tendência é de aumento da concentração de OD durante o dia, quando as mesmas realizam a fotossíntese, seguido de redução considerável nesta concentração durante a noite, o que pode levar à morte de uma série de organismos aquáticos. Vale também destacar que o padrão de lançamento de efluentes, segundo a Resolução CONAMA nº 430/2011, estabelece a concentração máxima de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  de Nitrogênio Amoniacal Total (CONAMA, 2011), estando todas as amostras analisadas abaixo deste limite.

Ademais, para remover maiores concentrações de nitrogênio do efluente, é necessário otimizar as condições para a reação de desnitrificação, o que pode ser feito, por exemplo, por meio da implantação de uma câmara anóxica após o sistema e adição de substrato biodegradável (ex. etanol ou bypass do efluente anaeróbio contendo AGVs). Contudo, para que estas estratégias apresentem sucesso, é necessário melhorar as condições para a remoção de fenóis no tanque de aeração, reduzindo o fator inibidor das reações de nitrificação, uma vez que a desnitrificação só ocorre a partir do íon nitrato.

No entanto, quando o destino do efluente é a fertirrigação, é interessante a manutenção de certa concentração de nitrogênio, de forma a substituir a utilização de fertilizantes industrializados que são comumente utilizados para fornecer nitrogênio às plantações. Contudo, esta prática não pode ser utilizada de forma indiscriminada, uma vez que, caso aplicado em excesso, a concentração de nitrogênio presente no solo pode exceder a necessidade de utilização das plantas, fazendo com que o nitrogênio remanescente seja lixiviado até atingir o lençol freático, contaminando a água subterrânea (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015).

Em relação às concentrações de fosfato, apresentadas na Tabela 17, observa-se a ausência desta espécie nas amostras correspondentes às Fase Ie (dia 44) e Fase IId (dias 205 e 215) de operação, que coincidem com os únicos períodos em que não se adicionou fosfato à solução de alimentação do reator aeróbio. Sendo assim, pode-se concluir que não havia presença significativa do íon fosfato no efluente do tratamento anaeróbio.

A deficiência de fosfato na Fase Ie foi identificada, no momento da operação, como um dos possíveis motivos para a diminuição da eficiência do sistema e da concentração de SSVTA no início desta fase. Com o retorno da adição de fosfato, houve estabilização nas condições de

funcionamento do reator, o que é um indício de que houve realmente um desbalanceamento de nutrientes naquele momento.

Já na Fase IId, como dito anteriormente, não foi observada alteração nas condições de funcionamento do sistema após a retirada da glicose e da solução de fosfato na alimentação. Uma possível explicação para este fato seria a existência de outras espécies fornecedoras de fósforo no efluente anaeróbio, suficientes para suprir a demanda do nutriente, garantindo a sobrevivência dos microrganismos.

**Tabela 17 - Análise cromatográfica de íons nas amostras de afluente e efluente ao sistema de lodos ativados**

| Identificação |          | Cátions                                  |   |  |  | Ânions                                   |  |  |  |
|---------------|----------|--|---|--|--|--|--|--|--|
| Dia           |          | Na <sup>+</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | K <sup>+</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Mg <sup>+</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Sr <sup>+</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Cl <sup>-</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Br <sup>-</sup><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) |
| 15            | Afluente | 1071,3                                   | 474,7                                   | 123,7                                    | N.D                                      | 229,6                                    | 2,9  | 35,1   | N.D                                      |
|               | Efluente | 836,2                                    | 303,3                                   | 72,7                                     | N.D                                      | 923,5                                    | 155,7  | 126,3  | N.D                                      |
| 44            | Afluente | 416,2                                    | 124,8                                   | 23,8                                     | 15,4                                     | 342,0                                    | N.D  | 18,4   | 13,6                                     |
|               | Efluente | 437,0                                    | 130,7                                   | 19,4                                     | 16,2                                     | 367,1                                    | N.D  | 26,5   | 16,1                                     |
| 70            | Afluente | 572,1                                    | 270,4                                   | 50,1                                     | 32,3                                     | 184,0                                    | 5,44   | 40,0   | N.D                                      |
|               | Efluente | 335,2                                    | 153,4                                   | 29,7                                     | 20,2                                     | 673,2                                    | 12,61  | 27,9   | N.D                                      |
| 205           | Afluente | 967,0                                    | 375,5                                   | 66,5                                     | N.D                                      | 1830,0                                   | N.D  | 8,1  | N.D                                      |
|               | Efluente | 545,7                                    | 196,2                                   | 34,1                                     | N.D                                      | 1487,6                                   | N.D  | 2,8  | N.D                                      |
| 215           | Afluente | 1085,2                                   | 391,4                                   | 89,0                                     | N.D                                      | 1095,4                                   | N.D  | N.D  | N.D                                      |
|               | Efluente | 60,4                                     | 27,6                                    | 9,0                                      | N.D                                      | 176,8                                    | N.D  | N.D  | N.D                                      |

Desta forma, existem indícios de que a deficiência de fósforo no efluente anaeróbio ocorreu apenas na Fase I de operação, quando o sistema operou em dois estágios (reator acidogênico seguido de metanogênico). Como nesta fase houve maior consumo de matéria orgânica nos reatores anaeróbios, presume-se que houve maior crescimento celular e, portanto, maior consumo de nutrientes, o que explicaria este fato. Vale ressaltar, porém, que não há como definir apenas com as informações obtidas neste estudo, se a retirada de fosfato no início da Fase Ie realmente levou à piora na performance do sistema, ou se houve outros motivos que levaram a esta situação.

Quanto aos demais íons identificados na análise cromatográfica, destaca-se a presença de potássio, que é o nutriente limitante para cálculo da quantidade de vinhaça por hectare utilizada na fertirrigação, segundo a legislação de alguns estados brasileiros. Observa-se uma

tendência de redução na concentração de potássio após o tratamento aeróbio, provavelmente devido à sua assimilação pelos microrganismos presentes no TA. Este resultado pode ser considerado negativo para a prática de fertirrigação, uma vez que reduz o potencial fertilizante do efluente final do sistema. Porém, menores concentrações de potássio significam que uma maior quantidade de vinhaça poderá ser utilizada por hectare quando este é utilizado como limitante na legislação. O cálculo da quantidade de vinhaça aplicada por hectare, tendo como base a concentração de potássio, depende da Capacidade de Troca Catiônica (CTC) do solo, portanto não é possível estimar a área passível de irrigação com o efluente final obtido neste estudo sem maiores informações sobre as características do solo em que será realizada a fertirrigação.

Ressaltam-se também as elevadas concentrações de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) apresentadas na Tabela 17. Apesar de ser comum a presença destas substâncias nos efluentes da indústria sucroalcooleira, principalmente na vinhaça, os valores observados na tabela são resultado do controle de pH realizado com os efluentes na alimentação dos sistemas anaeróbio e aeróbio. Para alimentação do reator UASB, em ambas as Fases de operação, adicionou-se  $\text{NaHCO}_3$  de forma que a solução entrasse no reator com pH próximo de 7. Já na alimentação do sistema de lodos ativados, foi adicionado  $\text{HCl}$  até que a solução apresentasse o pH 6, de forma que o pH no TA se mantivesse inferior a 9.

Não foi detectada na análise dos efluentes a presença dos íons  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{F}^-$  em nenhuma das amostras. Além disso, observa-se a redução na concentração da maioria dos íons após o pós-tratamento aeróbio, o que é positivo pois reduz a possibilidade de contaminação dos corpos hídricos ou de salinização do solo, caso o efluente seja utilizado para fertirrigação.

#### **5.1.6. Compostos Fenólicos**

Os compostos fenólicos presentes no efluente tem sua origem principal na lignina, um dos componentes que formam a biomassa lignocelulósica. Parte da lignina é solubilizada no processo de pré-tratamento do bagaço de cana para produção de etanol 2G e, devido à complexidade e toxicidade destes compostos, usualmente há persistência deles no efluente anaeróbio, o que faz com que concentrações consideráveis destes compostos cheguem até a etapa de pós-tratamento.

Para análise de compostos fenólicos neste estudo utilizou-se o método *Folin-Ciocalteu*, que avalia a concentração de compostos fenólicos totais por meio de extração em acetona e



análise da absorvância em 725nm. A quantificação foi feita por meio de curva de calibração construída com solução padrão de ácido tânico, conforme detalhado no Item 4.4.7 .

A concentração média de compostos fenólicos totais identificada nas amostras de efluente final (após decantador do sistema de lodos ativados) da Fase I foi de  $127,2 \pm 4,9$  mg.L<sup>-1</sup>. Considerando os resultados obtidos por Adarme (2020) para concentração de compostos fenólicos totais no efluente anaeróbio após a operação do sistema em duplo estágio, com COA similar à utilizada neste estudo, pode-se dizer que a remoção de fenóis no sistema aeróbio nesta Fase não foi significativa.

Na Fase IId, considerada como a de operação ideal do sistema aeróbio, a concentração média de compostos fenólicos totais no afluente foi de  $192 \pm 48$  mg.L<sup>-1</sup> (Tabela 18). Vale ressaltar que a COA ao reator anaeróbio de único estágio neste estudo foi muito superior à utilizada por Adarme (2020), o que justifica o valor elevado aqui obtido. Já a concentração efluente média obtida nas amostras da Fase IId foi de  $161 \pm 37$  mg.L<sup>-1</sup>, o que representa uma eficiência média de remoção de fenóis de apenas 16%.

**Tabela 18 - Concentração de compostos fenólicos totais no sistema de lodos ativados na Fase IId**

| <b>Dia</b> | <b>Fase</b> | <b>Concentração de fenóis Afluente (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | <b>Concentração de fenóis Efluente (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | <b>% em relação à DQO total do afluente</b> | <b>% em relação à DQO total do efluente</b> |
|------------|-------------|--|--|---|---|
| 188        | IId         | -  | 209,14   | -   | 65%   |
| 192        | IId         | 228,87   | 202,36   | 24%   | 54%   |
| 199        | IId         | 165,33   | 145,60   | 16%   | 43%   |
| 207        | IId         | 227,64   | 216,54   | 21%   | 47%   |
| 210        | IId         | 241,81   | 138,20   | 40%   | 47%   |
| 213        | IId         | 171,08   | 132,53   | 16%   | 44%   |

É importante ressaltar que a estratégia utilizada neste estudo para manutenção da COA aplicada ao reator anaeróbio na Fase II foi de redução na diluição da solução de alimentação aos reatores anaeróbios, mantendo-se o TDH no reator UASB utilizado na Fase I. Com isso, aumentou-se a concentração de fenóis afluentes ao sistema, o que permitiu avaliar a resposta dos microrganismos (anaeróbios e aeróbios) à maior presença destas substâncias nos afluentes aos sistemas de tratamento.

Considerando-se a fórmula básica do ácido tânico ( $C_{76}H_{52}O_{46}$ ), estima-se a contribuição de DQO equivalente à concentração de compostos fenólicos no efluente final em 1,24 gDQO.g $C_{76}H_{52}O_{46}^{-1}$ , conforme apresentado nas últimas colunas da Tabela 18.

Por meio desta estimativa, pode-se observar que a contribuição dos fenóis para a DQO remanescente no efluente cresce significativamente após o pós-tratamento. Isto ocorre porque a remoção de fenóis no sistema é menos eficiente do que a de outros compostos mais biodegradáveis, como, por exemplo AGVs. Desta forma, a baixa remoção de fenóis pelos microrganismos aeróbios mostra-se determinante para a carga orgânica remanescente no efluente final.

Ademais, identificou-se que a eficiência do sistema em remoção de matéria orgânica foi até 30% menor para os dias de operação da Fase IId em que as amostras de afluente apresentaram concentração de fenóis superiores a 200 mg.L<sup>-1</sup>. Tem-se, assim, um indicativo da ação tóxica e/ou inibidora dos compostos fenólicos sobre os microrganismos aeróbios.

A toxicidade e efeito inibitório dos fenóis relaciona-se com sua capacidade de danificar as células dos microrganismos por meio de alteração seletiva da permeabilidade da membrana celular, causando perda de componentes intracelulares e a inativação de enzimas essenciais (MONLAU *et al.*, 2014). Wu, Zhou e Song (2016) observaram a rápida alteração no metabolismo dos microrganismos de um sistema de RBS ao substituírem o acetato, como substrato, por fenol, identificando a ocorrência predominante de respiração endógena e morte celular. Além disso, nenhuma degradação dos fenóis foi observada inicialmente no sistema estudado. Uma análise mais detalhada da toxicidade de fenóis será apresentada no Item 5.2.2.3.

Os compostos fenólicos podem ser biodegradados aeróbia ou anaerobiamente. A degradação aeróbia ocorre, inicialmente, por meio da inserção de uma hidroxila no anel aromático por uma enzima mono-oxigenase, originando um catecol, que é o principal subproduto da degradação do fenol. A partir deste ponto existem duas rotas de degradação, que irão ocorrer de acordo com a espécie degradadora. Na primeira rota, o anel aromático é quebrado na posição orto por uma enzima 1,2-dioxigenase, originando succinil CoA e acetil CoA. A segunda rota ocorre por ação da enzima 2,3-dioxigenase, resultando na formação de piruvato e acetaldeído (RAJANI, 2017; SRIDEVI *et al.*, 2012). Para que a biodegradação ocorra, no entanto, é necessário que os microrganismos possuam a capacidade de produzir as enzimas mono e dioxigenases supracitadas.

A remoção de fenóis por meios biológicos é preferível em comparação aos métodos físico-químicos, uma vez que os microrganismos apresentam a capacidade de degradar os fenóis completamente, eliminando sua toxicidade. Nos métodos de tratamento físico-químico, existe o risco da formação de poluentes secundários, ainda mais tóxicos, além destes métodos usualmente apresentarem maior custo (SRIDEVI *et al.*, 2012). Contudo, a biodegradação destes compostos é dificultada por suas características tóxicas e pela incapacidade de grande parte dos microrganismos em produzir as enzimas necessárias para sua metabolização.

Desta forma, tem-se buscado otimizar as condições dos sistemas de tratamento no sentido de favorecer a maior degradação destes compostos, sendo uma prática muito utilizada a da aclimatação. Como exemplo, Wosman *et al.* (2016); Khardenavis, Kapley e Purohit (2008); e Wu *et al.* (2018) demonstraram que, após um período de aclimatação, os microrganismos aeróbios foram capazes de remover elevadas concentrações de fenóis nos sistemas avaliados. Em todos estes casos, porém, a aclimatação foi feita em ambiente em que os fenóis eram a única fonte de carbono disponível, de forma que a adaptação dos microrganismos para degradação desta substância era necessária para sua sobrevivência.

Para o presente estudo, apesar do longo período de exposição dos microrganismos aos compostos fenólicos, durante todo o período de operação do sistema aeróbio existiam no TA outras fontes de carbono. Assim, os microrganismos aeróbios eram capazes de se alimentar de outros substratos, o que fez com que a degradação de fenóis no sistema não fosse estimulada, resultando nas baixas eficiências de remoção destes compostos. Vale ressaltar que as bactérias comumente conhecidas pela habilidade de degradar fenóis, como as dos gêneros *Pseudomonas*, não apresentam especificidade no consumo deste substrato, sendo capazes de se alimentar de uma série de outros compostos orgânicos (SRIDEVI *et al.*, 2012).

A presença de concentrações significativas de fenóis no efluente final representa risco ao meio ambiente e à saúde pública, podendo inviabilizar seu lançamento em cursos d'água, uma vez que a legislação brasileira estabelece como padrão para o lançamento de efluentes a concentração de fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina) em  $0,5 \text{ mg.L}^{-1} \text{ C}_6\text{H}_5\text{OH}$ . Sendo assim, para uma operação adequada de um sistema de lodos ativados no tratamento de efluentes da indústria sucroalcooleira, é necessário que sejam avaliadas técnicas viáveis de estímulo à degradação de fenóis pelos microrganismos aeróbios.

## 5.2. Caracterização Qualitativa dos Efluentes do Processo

Para permitir um melhor entendimento das características químicas dos efluentes tratados no sistema anaeróbio-aeróbio avaliado no presente estudo, foram realizadas análises em espectroscopia na faixa do ultravioleta e da luz visível (UV-Vis) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), com diferentes amostras retiradas ao longo do período de operação do sistema. A espectroscopia de UV-Vis permite uma visão geral de quais tipos de substâncias ou classes de compostos foram majoritariamente removidos e quais persistiram ao tratamento. A análise em GC-MS, por sua vez, possibilita uma identificação mais precisa de substâncias de interesse no efluente, estando, contudo, sujeita a limitações do método. Neste tipo de análise, só é possível analisar os compostos voláteis, termoestáveis ou derivatizáveis, o que limita o rol de contaminantes passíveis de identificação na amostra.

A seguir serão apresentadas as amostras consideradas mais representativas, em que os espectros apresentaram melhor visualização (no caso das análises em UV-Vis) ou em que foi possível identificar a maior quantidade de substâncias por meio da comparação dos espectros com a biblioteca do *National Institute of Standards and Technology (NIST) Mass Spectrometry Data Center* (para as análises em CG-MS). Estas amostras possibilitam observar a evolução do sistema aeróbio após sua estabilização e aclimação dos microrganismos ao efluente, além de demonstrarem a capacidade do sistema aeróbio em degradar grande parte das substâncias identificadas no afluente ao sistema. Na Tabela 19 estão descritas as principais características das amostras para as quais serão apresentados os dados de UV-Vis e GC-MS nos itens subsequentes. As amostras serão referenciadas, ao longo do texto, conforme a coluna “Identificação da Amostra”.

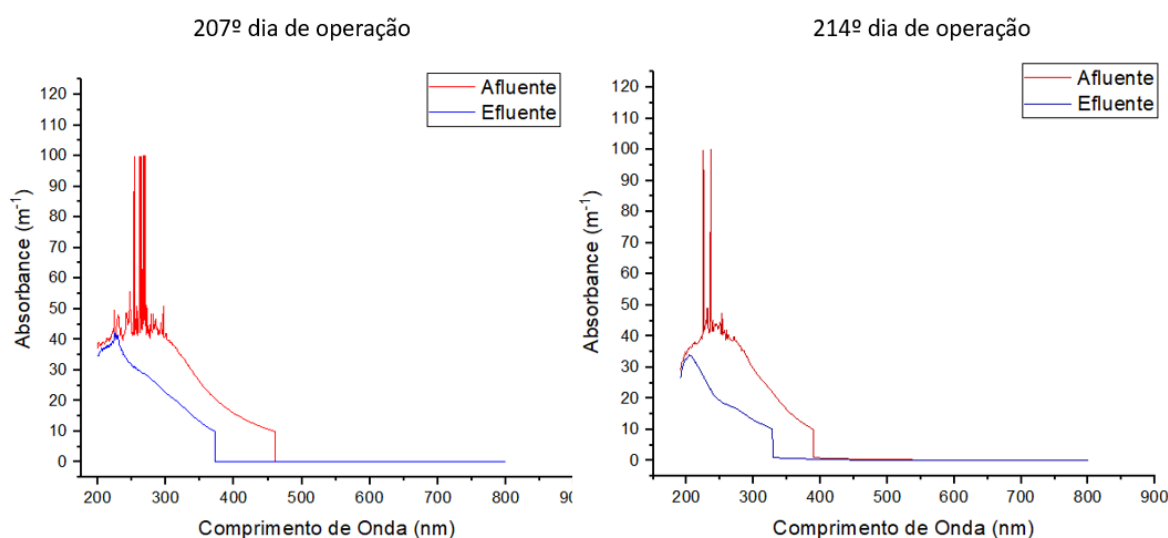
**Tabela 19 – Amostras do sistema de lodos ativados analisadas por espectroscopia UV-Vis e GC-MS**

| <b>Identificação da Amostra</b> | <b>Dia de operação</b> | <b>Fase de operação</b> | <b>Posição no sistema de tratamento aeróbio</b> | <b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b> |
|---------------------------------|------------------------|-------------------------|---|--------------------------------|
| <b>1</b>                        | 207                    | IId                     | Afluente  | 1046,8                         |
| <b>2</b>                        | 207                    | IId                     | Efluente  | 324,3                          |
| <b>3</b>                        | 214                    | IId                     | Afluente  | 1342,2                         |
| <b>4</b>                        | 214                    | IId                     | Efluente  | 377,6                          |
| <b>5</b>                        | 61                     | Ie                      | Efluente  | 190,0                          |

### 5.2.1. Cor – Absorção em UV-Vis

Conforme descrito no Item 3.1.2, a característica “cor marrom” dos efluentes da indústria sucroalcooleira é devida, principalmente, à presença de fenóis, melanoidinas e compostos derivados da lignina. Estes compostos causadores de cor absorvem a luz em regiões específicas dos espectros visível e ultravioleta, de forma que a análise em espectroscopia de UV-Vis permite compreender quais os compostos são os mais prováveis geradores de cor de um determinado efluente.

Neste sentido, foram realizadas análises de varredura em UV-Vis, nos comprimentos de onda entre 200 e 800 nm, para amostras retiradas na Fase IId de operação em afluentes e efluentes do sistema de lodos ativados. Os resultados obtidos para os dias 207 (amostras 1 e 2 – Tabela 19) e 214 (amostras 3 e 4 - Tabela 19) são apresentados na Figura 12.



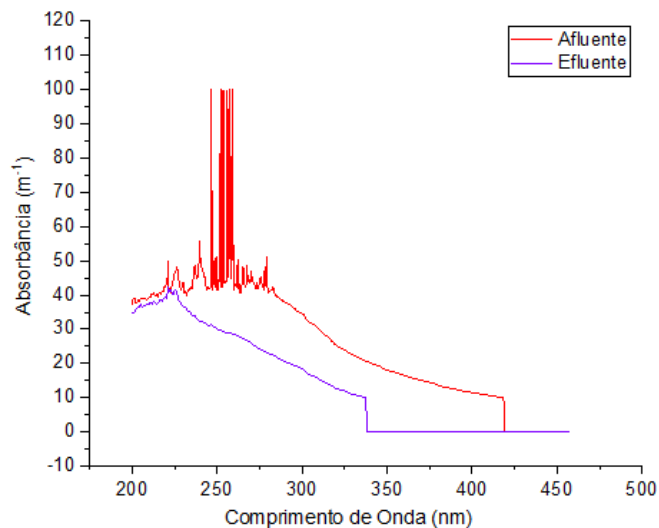
**Figura 12 - Espectros obtidos em varredura UV-VIS nos dias 207 (amostras 1 e 2) e 214 (amostras 3 e 4) de operação do sistema aeróbio**

Em uma primeira análise dos espectros apresentados, pode-se observar que os resultados apresentam tendência similar para os dois dias de operação, com melhor remoção de compostos que absorvem na região de 200 a 400 nm no 214º dia de operação. Vale recordar que a eficiência geral do sistema para remoção de DQO foi melhor neste dia quando comparado ao 207º dia, o que se reflete no resultado aqui apresentado.

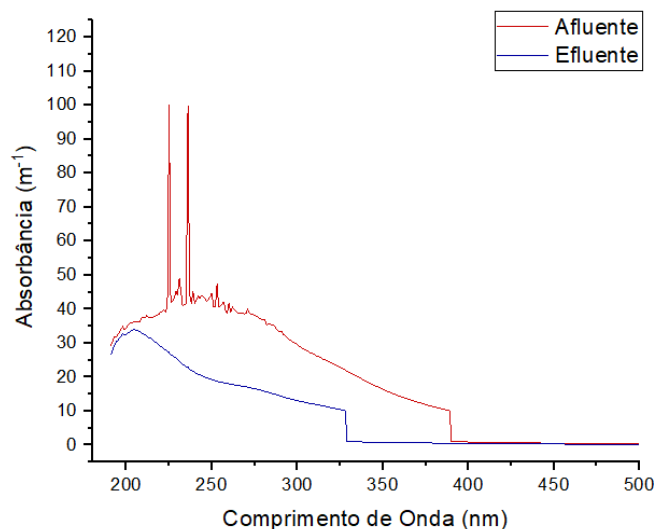
A faixa com maiores absorbâncias para os efluentes aqui avaliados encontra-se entre 200 e 450 nm. Análises que tratam especificamente da remoção de cor, na literatura relacionada, geralmente consideram a absorbância entre 400 e 475 nm, visto que as melanoidinas formadas

nos estágios mais avançados das reações de Maillard absorvem nesta faixa (CHAMORRO *et al.*, 2016; CHANDRA, R.; KUMAR; TRIPATHI, 2018b; LEE *et al.*, 2013; YU *et al.*, 2012). Sendo assim, pela análise da Figura 12, pode-se afirmar que estes compostos estão pouco presentes no efluente anaeróbio aqui estudado, ressaltando-se que não foi identificada absorbância significativa nesta faixa no afluente ao sistema de lodos ativados no dia 214 de operação (amostra 3). Quando presentes, estes compostos são removidos com boa eficiência no sistema aeróbio, como foi identificado pelas amostras do dia 207 (amostras 1 e 2).

Para possibilitar uma melhor avaliação, apresentam-se em seguida as Figuras 13 e 14, que retratam os mesmos espectros apresentados na Figura 12, porém com foco na faixa de 200 a 500 nm.



**Figura 13 - Espectro da varredura UV-VIS entre 200 e 500 nm para as amostras 1 e 2**



**Figura 14 - Espectro da varredura UV-VIS entre 200 e 500 nm para as amostras 3 e 4**

Observa-se que na faixa entre 200 e 230 nm as absorvâncias são muito similares para os espectros de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados, demonstrando que os compostos que absorvem nesta faixa não foram bem removidos durante o tratamento aeróbio. De acordo com Lee *et al.* (2013), a lignina e alguns de seus derivados absorvem a luz ultravioleta na faixa de 200 a 230 nm, de forma que se pode inferir que o sistema apresenta pouca capacidade de degradar este tipo de composto. Além disso, os ácidos carboxílicos – de cadeia curta ou longa – são comumente analisados na faixa de 210 nm. Conforme apresentado anteriormente, observou-se a presença de AGVs nos efluentes aeróbios, notadamente no dia 207 (Tabela 14), o que possivelmente influenciou no resultado apresentado nas Figuras 13 e 14. As análises em GC-MS ajudarão a esclarecer se existem no efluente aeróbio outros tipos de ácidos carboxílicos, além de possibilitarem a identificação de outros compostos que persistem ao tratamento aeróbio.

Lee *et al.* (2013) identificaram que o comprimento de onda de 225 nm é o que permite uma quantificação mais apurada da concentração de lignina em um determinado efluente. Além disso, os mesmos autores apontam que a faixa de 260 a 280 nm também é representativa de compostos derivados de lignina. O valor de 280 nm também é apontado por Chamorro *et al.* (2016) como indicativo da presença deste tipo de substância.

Nas análises realizadas, a absorvância média dos afluentes ao sistema para 225 nm foi de 86,8  $\text{m}^{-1}$ , comparado a 26,2  $\text{m}^{-1}$  para os efluentes. Similarmente, observou-se em 280 nm absorvância média de 37,2  $\text{m}^{-1}$  para os afluentes e 27,2  $\text{m}^{-1}$  para os efluentes, o que indica a degradação parcial dos compostos que absorvem nestes comprimentos de onda. Adicionalmente, ressalta-se que em 225 nm é observado um dos maiores picos da Figura 14. Já na Figura 13, os maiores picos são observados entre 250 e 280 nm, o que também se enquadra nos valores citados por Lee *et al.* (2013) para compostos derivados de lignina.

Contudo, outros compostos também absorvem nestas mesmas faixas do espectro, como é o caso do benzeno, que comumente apresenta uma banda intensa entre 250 e 275 nm (SOLOMONS, 2001). A absorvância em 254 nm é, inclusive, um dos principais indicadores da presença de compostos aromáticos e insaturados, amplamente analisada na literatura (CHAMORRO *et al.*, 2016; CHANDRA, R.; KUMAR; TRIPATHI, 2018a; RAMOS *et al.*, 2021; WEISHAAR *et al.*, 2003).

A Tabela 20 apresenta valores de absorvância a 254 nm encontrados para diferentes amostras obtidas ao longo do período de operação. Destacam-se os valores observados para as amostras correspondentes à Fase I de operação, consideravelmente menores que as demais, indicando uma melhor degradação de compostos aromáticos no sistema de tratamento biológico. Como não há dados de espectrofotometria UV-Vis para os afluentes ao sistema aeróbio nesta fase, não se pode afirmar se essa boa remoção se deu no sistema anaeróbio ou no sistema aeróbio. Contudo, vale ressaltar, novamente, que a concentração de fenóis e outros derivados de lignina foi maior na alimentação da Fase II de operação, o que pode também ter influenciado neste resultado.

**Tabela 20 - Absorbância a 254nm de diferentes amostras coletadas ao longo da operação do sistema de lodos ativados**

| <b>Dia</b> | <b>Posição no sistema</b> | <b>Absorbância a 254nm</b> |
|------------|---------------------------|----------------------------|
| <b>49</b>  | Efluente                  | 0,5                        |
| <b>61</b>  | Efluente                  | 0,8                        |
| <b>206</b> | Efluente                  | 39,3                       |
| <b>207</b> | Afluente                  | 42,0                       |
| <b>207</b> | Efluente                  | 3,1                        |
| <b>210</b> | Efluente                  | 27,1                       |
| <b>214</b> | Afluente                  | 40,5                       |
| <b>214</b> | Efluente                  | 18,7                       |
| <b>215</b> | Efluente                  | 35,4                       |

Além disso, nas amostras dos dias 207 e 214, correspondentes aos espectros já apresentados, é possível observar uma redução no valor da absorvância após o tratamento aeróbio, o que significa que os microrganismos foram capazes de realizar a degradação de parte dos compostos aromáticos presentes no afluente.

Considerando as referências apresentadas, identifica-se uma sobreposição entre a faixa correspondente a compostos derivados de lignina (260-280 nm) e compostos aromáticos (250-275 nm). Esta sobreposição é esperada, uma vez que os anéis aromáticos estão presentes nos principais monômeros formadores da lignina (Figura 2), ou seja, os derivados de lignina são, majoritariamente, compostos aromáticos. Como dito anteriormente, parte dos compostos na faixa de 250 a 280 nm são degradados, contudo há ainda persistência de alguns compostos, apesar de uma melhor remoção ter sido observada no espectro da Figura 14.



Não é possível precisar, com base apenas nestes resultados, se as substâncias não removidas correspondem a derivados de lignina ou a outros compostos aromáticos advindos, por exemplo, da lise celular e decaimento endógeno. Espera-se ser possível elucidar esta questão por meio da análise em GC-MS, que será apresentada nos itens seguintes.

Ainda em relação aos compostos aromáticos, vale ressaltar que o espectro apresentado na Figura 13 indica uma provável maior concentração deste tipo de composto no afluente ao sistema de lodos ativados, devido à maior presença e altura dos picos quando comparada à Figura 14. Conforme já discutido, os compostos fenólicos possuem características tóxicas e/ou inibidoras do metabolismo microbiano, podendo afetar o funcionamento do sistema biológico de tratamento. A identificação de uma maior quantidade de compostos fenólicos na amostra 1, pode, portanto, estar relacionada à menor eficiência observada nesta data para remoção de matéria orgânica pelos microrganismos aeróbios, devido à inibição causada pela maior concentração de fenóis no afluente. Segundo Inglezakis *et al.* (2017), concentrações de fenol superiores a  $70 \text{ mg.L}^{-1}$  são necessárias para causar inibição do crescimento da biomassa em sistemas de lodos ativados. Wosman *et al.* (2016), por sua vez, identificaram o maior potencial inibidor com concentração de fenol de  $180 \text{ mg.L}^{-1}$ , também em lodos ativados, resultando em redução de 47% na taxa de utilização de oxigênio no sistema.

Pela análise realizada em espectroscopia de UV-Vis, pode-se afirmar, portanto, que o sistema de tratamento aeróbio possui, no geral, melhor capacidade de remover substâncias que absorvem a luz em comprimentos de onda a partir de 250 nm, correspondendo a alguns compostos aromáticos, fenólicos e às melanoidinas. Substâncias presentes no efluente da indústria sucroalcooleira que absorvem o espectro da luz visível, a partir de 400 nm, foram removidas com boa eficiência, o que indica uma elevada remoção de cor do efluente no sistema de lodos ativados. Os compostos que demonstraram persistência ao tratamento aeróbio são aqueles que absorvem a luz na faixa de 200 a 230 nm, sendo provável que correspondam a substâncias derivadas da lignina ou a ácidos carboxílicos, de cadeia curta ou longa, que também absorvem a luz nesta faixa de comprimentos de onda.

Por fim, pode-se concluir que a cor remanescente no efluente se deve majoritariamente à presença de compostos fenólicos em sua composição, visto que as melanoidinas parecem ter sido em maior parte degradadas ao longo do sistema de tratamento.

## 5.2.2. Análises em GC-MS

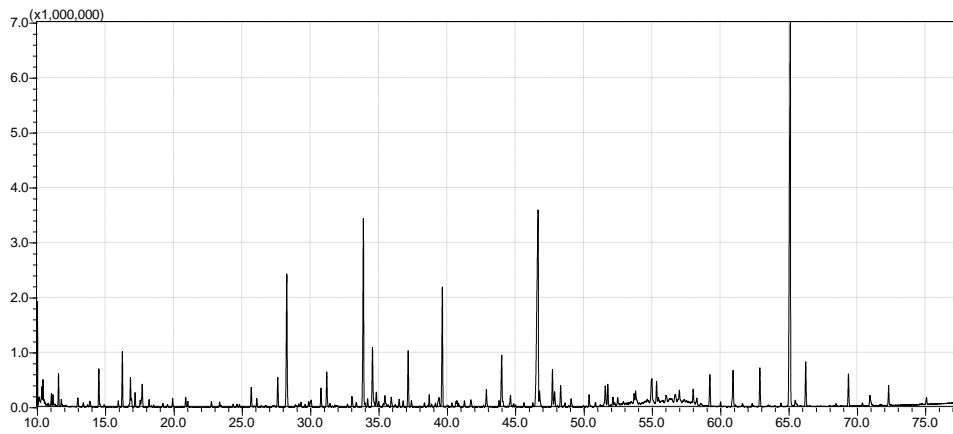
### 5.2.2.1. Composição do efluente final das Fases I e II de operação

Por meio da análise em GC-MS, é possível identificar as substâncias predominantes no efluente do sistema de pós-tratamento aeróbio, sendo estas representadas pelos maiores picos observados nos cromatogramas. A identificação da composição dos efluentes em diferentes períodos ajuda a entender a evolução do sistema de lodos ativados entre as fases de operação. Com este propósito, serão apresentados os resultados das análises em GC-MS de uma amostra de efluente obtida na Fase I (amostra 5 - Tabela 19), de maneira a compará-la com uma amostra de efluente retirada na Fase II (amostra 2). Os cromatogramas obtidos nestas análises são apresentados na Figura 15.

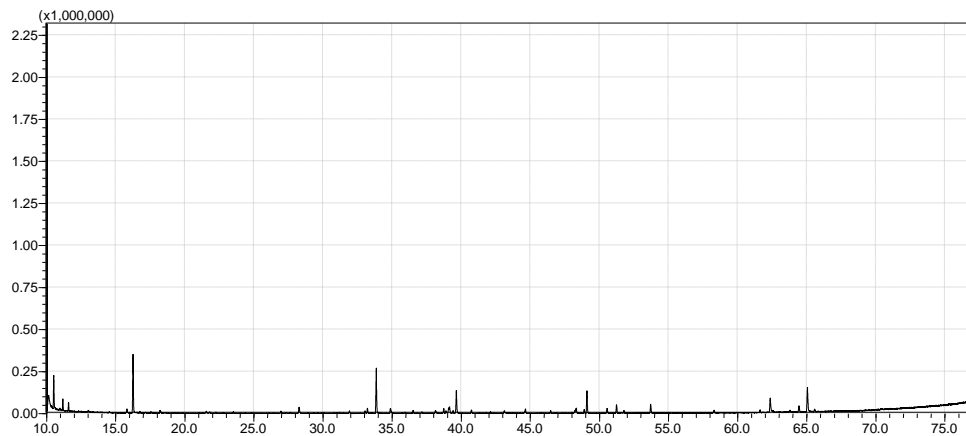
Fica claro, pelos cromatogramas apresentados, que a quantidade de picos na análise em GC-MS é muito superior para o efluente da Fase I de operação. Isto pode indicar que há uma maior diversidade de compostos no efluente desta Fase, apesar do menor valor de DQO observado ( $190,0 \text{ mg.L}^{-1}$  na amostra 5, comparado a  $324,3 \text{ mg.L}^{-1}$  na amostra 2).

Algumas hipóteses podem explicar este resultado. A primeira delas é a maior estabilidade do reator de lodos ativados e melhor adaptação dos microrganismos aeróbios após algum tempo de operação, que os torna mais capazes de remover algumas das substâncias que compõem o efluente anaeróbio.

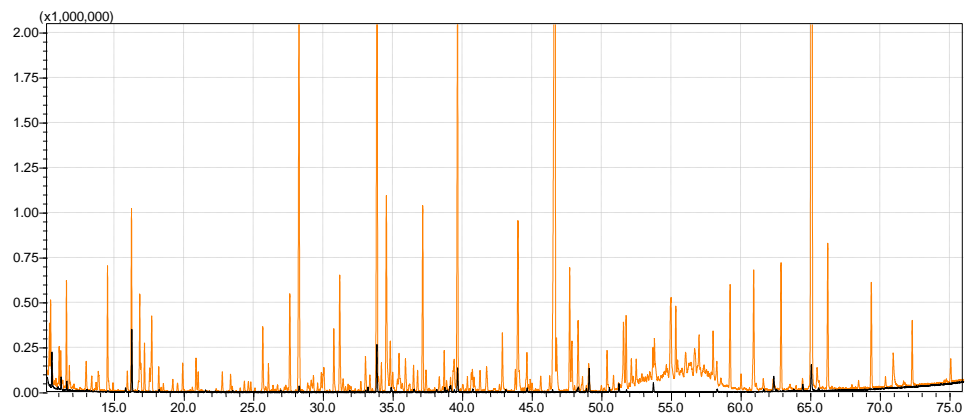
Outro fator que pode explicar a diferença observada entre os cromatogramas é a presença do reator anaeróbio acidogênico na Fase I do estudo. Como dito anteriormente, uma das funções do reator acidogênico é de otimizar a etapa da hidrólise, o que leva a uma maior diversidade de substâncias orgânicas no efluente anaeróbio, uma vez que os compostos orgânicos maiores são hidrolisados a um maior número de compostos menores, que nem sempre são degradados na segunda etapa do processo anaeróbio, destinado prioritariamente à produção de metano a partir de acetato (metanogênese acetoclástica) ou redução do gás carbônico pelo gás hidrogênio dissolvido (metanogênese hidrogenotrófica).



a)



b)



c)

**Figura 15 - Cromatogramas obtidos com amostras dos efluentes ao sistema aeróbio: a) Efluente ao TA na Fase I (amostra 5); b) Efluente ao TA na Fase II (amostra 2); c) Amostras 5 (amarelo) e 2 (preto) sobrepostas**

Para um melhor entendimento dos resultados apresentados nos cromatogramas, apresenta-se na Tabela 21 a identificação dos compostos, realizada por meio de comparação com os espectros disponibilizados na biblioteca do *National Institute of Standards and Technology (NIST) Mass Spectrometry Data Center*. Somente estão apresentados na tabela aqueles compostos em que foi observada similaridade superior a 80% entre o espectro obtido na análise e o disponibilizado na biblioteca do *NIST*.

Em relação às substâncias apresentadas na Tabela 21, é importante ressaltar que a presença de trimetilsilil em várias moléculas detectadas ocorre em função da utilização do derivatizante bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA), que substitui átomos de hidrogênio ativo nas moléculas de forma a viabilizar sua volatilização e análise no cromatógrafo gasoso. Sendo assim, os compostos originalmente presentes no efluente não apresentam este radical.

Observa-se, no efluente aeróbio da Fase I de operação (amostra 5), a presença de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), destacando-se os de menores cadeias carbônicas como os ácidos tetradecanóico, dodecanóico e decanóico, além dos ácidos octanodióico e nonadióico (azelaico) (Figura 16). Por sua vez, predominam no efluente aeróbio da Fase II (amostra 2) AGCL maiores, como os ácidos hexadecanóico, octadecanóico e octadecadienoico.

**Tabela 21 – Substâncias identificadas nos cromatogramas dos efluentes do sistema de lodos ativados nas Fases I e II**

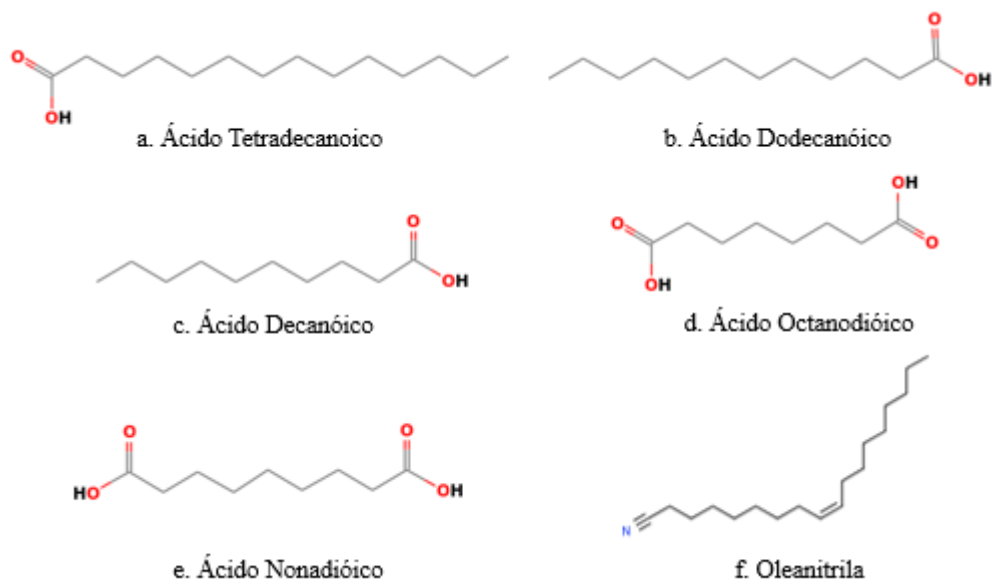
| Efluente aeróbio da Fase I (dia 61 - Amostra 5)                                  |             | Efluente aeróbio da Fase II (dia 207 - Amostra 2)  |             |
|--|-------------|--|-------------|
| Substância   | Intensidade | Substância   | Intensidade |
|  |             | Ácido pirimidinocarboxílico (3TMS) (Ácido orótico 3-TMS)   | 105.907     |
| Ácido Butanodióico bis(trimetilsilil) éster                                      | 397.340     |  |             |
| 3-metil-1-(trimetilsililoxi)-ciclohexeno,  | 514.295     |  |             |
| Dodecametilciclohexasiloxano   | 160.887     | Dodecametilciclohexasiloxano   | 227.558     |
| 1,2-Bis(trimetilsililoxi)ethane  | 249.218     |  |             |
| 1,2,3-Propanotriol, triacetato   | 248.207     | 2,4-bis[(trimetilsilil)oxi]-pirimidina   | 88.733      |
| Ácido Nonanoico, trimetilsilil ester   | 630.896     | Ácido Nonanoico, trimetilsilil ester   | 67.981      |
| Fenoxietanol   | 164.462     |  |             |
| Ácido Decanóico, trimetilsilil ester   | 91.728      |  |             |
| 1-Fenil-3-butenol  | 130.613     |  |             |
| Ácido Decanóico, trimetilsilil ester   | 711.891     |  |             |
| Ácido Málico, tris(trimetilsilil) ester  | 157.622     | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptamiltetrasiloxano-2'-siloxi-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametildiclopentasiloxane | 28.624      |
| Ácido Hexanodióico bis(trimetilsilil) éster (Ácido Adípico)                      | 1.027.201   | Ácido Hexanodióico bis(trimetilsilil) éster (Ácido Adípico)  | 351.641     |
| 3,8-Dioxa-2,9-disiladecano, 2,2,9,9-tetrametil-5,6-bis[[trimetilsilil]oxi]metil] | 536.995     |  |             |
| Ácido 2-Piperidinocarboxílico, 1-(trimetilsilil)-, trimetilsilil ester           | 178.001     |  |             |
| Ácido Butanóico, 4-[bis(trimetilsilil)amino]-, trimetilsilil ester               | 283.887     | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptamiltetrasiloxano-2'-siloxi-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametildiclopentasiloxane | 16.722      |
| Ácido Dodecanóico, trimetilsilil ester   | 120.459     |  |             |
| Ácido Octanodioico, bis(trimetilsilil) ester (ácido subérico)                    | 127.228     |  |             |
| Ácido Nonadióico , bis(trimetilsilil) ester (ácido azelaico)                     | 174.617     |  |             |
| Ácido Tetradecanóico , trimetilsilil ester                                       | 550.545     |  |             |
| Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, bis(2-metilpropil) ester (Diisobutil Ftalato)    | 2.466.718   | Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, bis(2-metilpropil) ester (Diisobutil Ftalato)                        | 37.402      |
| Mannose, 6-deoxy-2,3,4,5-tetrakis-O-(trimetilsilil)-                             | 155.049     |  |             |
| Ácido Pentadecanóico , trimetilsilil ester                                       | 367.691     |  |             |
| 1-Hexadecanol, O-TMS   | 653.674     |  |             |
| D-Xylose, tetrakis(trimetilsilil)  | 207.191     |  |             |
| Ácido Hexadecanóico, trimetilsilil éster   | 3.343.662   | Ácido Malônico, bis(2-trimetilsilil) éster   | 18.701      |
| N.I.   | 1.062.954   | Ácido Hexadecanóico, trimetilsilil éster   | 269.444     |

**Continuação da Tabela 21 – Substâncias identificadas nos cromatogramas dos efluentes do sistema de lodos ativados nas Fases I e II**

| Efluente aeróbio da Fase I (dia 61 - Amostra 5)  |             | Efluente aeróbio da Fase II (dia 207 - Amostra 2)   |             |
|--|-------------|---|-------------|
| Substância   | Intensidade | Substância  | Intensidade |
| Oleanitrila  | 300.308     |   |             |
| Diisocianato de difenil metano   | 221.142     |   |             |
| 1-Octadecanol trimetilsilil éter   | 1.051.651   | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptametiltetrasiloxano-2'-siloxi)-<br>2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametilciclopentasiloxane | 20.451      |
| Ácido 2-Propenóico , 3-(4-metoxifenil)-, 2-etilhexil ester                                       | 165.801     |   |             |
|  |             | Ácido 9,12-Octadecadienóico (Z,Z)-, trimetilsilil ester   | 22.067      |
|  |             | Ácido 9,12-Octadecadienóico (Z,Z)-, trimetilsilil ester   | 29.991      |
| Ácido Octadecanóico , trimetilsilil ester  | 2.172.201   | Ácido Octadecanóico , trimetilsilil ester   | 138.872     |
| Ácido Benzóico , undecanol ester   | 128.990     |   |             |
| Ácido Hexanodióico , bis(2-etilhexil) ester  | 150.728     |   |             |
| Trifenil fosfato   | 953.929     |   |             |
| N.I.   | 3.591.340   | 1,1,1,3,5,7,7,7-Octametil-3,5-bis(trimetilsilóxi)tetrasiloxano  | 27.383      |
| Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, mono(2-etilhexil) ester (2-etilhexil ester ftalato)              | 705.884     |   |             |
| Hexadecanol-Ácido Ciclopentano Carboxílico TMS<br>(Cyclopentanecarboxylic acid, hexadecyl ester) | 295.677     |   |             |
| Hexadecametilheptasiloxano   | 398.287     |   |             |
| Ácido Hexadecanóico , 2,3-bis[(trimetilsilil)óxi]propil ester                                    | 162.011     | Ácido Hexadecanóico , 2,3-bis[(trimetilsilil)óxi]propil ester   | 134.585     |
| Hexadecametilheptasiloxano   | 250.188     |   |             |
| Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico , bis(7-metiloctil) ester (Diisonoil ftalato)                     | 203.092     |   |             |
| Ácido Octadecanóico , 2,3-bis[(trimetilsilil) óxi]propil ester                                   | 266.255     | Ácido Octadecanóico , 2,3-bis[(trimetilsilil)óxi]propil ester   | 56.102      |
| Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, diisodecil ester (Diisodecil ftalato)                            | 258.942     |   |             |
| Hexadecametilheptasiloxano   | 350.333     |   |             |
| N.I.   | 661.203     | Ciclopenteno, 3,3-dimetil-4-metileno-1,2-bis(trimetilsililoximetil)   | 89.163      |
| N.I. <sup>(1)</sup>  | 678.266     | Estigmasterol trimetilsilil éter  | 48.088      |
| 1,2-Bis(trimetilsilil)benzeno <sup>(2)</sup>   | 7.021.422   | 1,2-Bis(trimetilsilil)benzeno <sup>(2)</sup>  | 151.832     |
| Bis[di(trimetilsiloxi)fenilsiloxi]trimetilsiloxifenilsiloxano                                    | 419.783     |   |             |
| Bis[di(trimetilsiloxi)fenilsiloxi]trimetilsiloxifenilsiloxano                                    | 185.901     |   |             |

<sup>(1)</sup>N.I. – Não identificado

<sup>(2)</sup> Similaridade inferior a 80% - se repete em todas as amostras analisadas



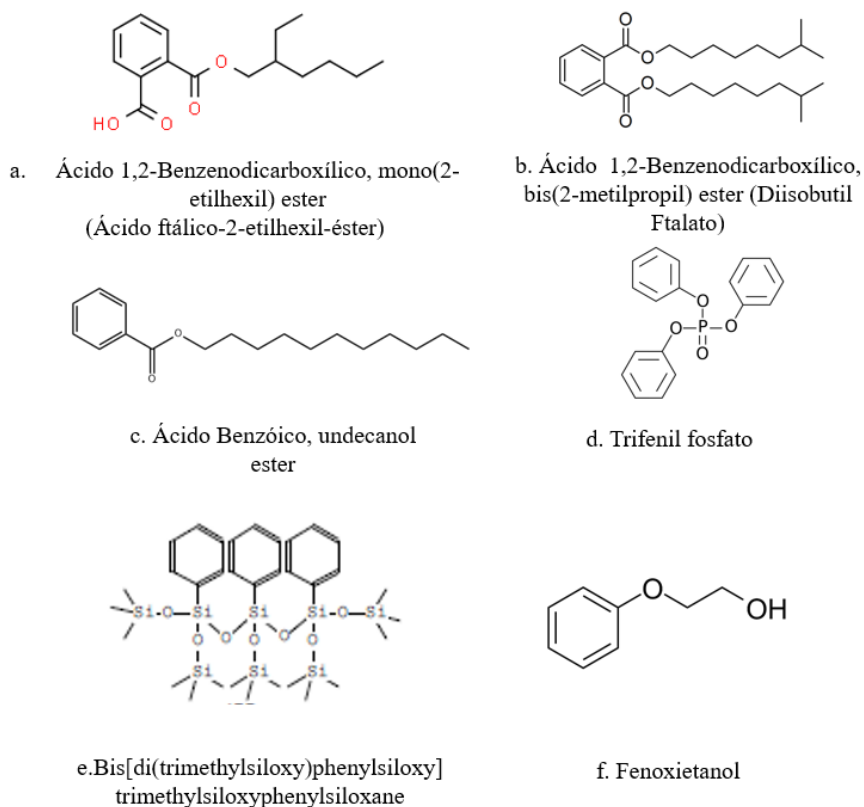
**Figura 16 - Ácidos graxos de cadeia longa identificados no efluente aeróbio na Fase I (Fonte: adaptado de NCBI, 2021)**

Além disso, destacam-se as elevadas intensidades dos picos correspondentes a estes compostos, superiores às encontradas na amostra 1 (cuja composição será apresentada no item seguinte), que representa o afluente ao sistema aeróbio na Fase II. Este resultado corrobora com a hipótese de que as diferenças observadas nas amostras do efluente aeróbio na Fase I (amostra 5) e Fase II (amostra 2) estão relacionadas à retirada do reator acidogênico do sistema anaeróbio na Fase II, visto que a formação de AGCL se dá por meio da hidrólise de lipídeos, etapa esta que é otimizada quando o sistema anaeróbio é operado em dois estágios (ZIELS *et al.*, 2016).

Cabe citar aqui o principal mecanismo de degradação de ácidos graxos de cadeia carbônica longa em células aeróbias, que é a rota metabólica chamada de  $\beta$ -oxidação. Neste mecanismo, duplas de carbono são removidas do ácido graxo em cada ciclo na forma de acetyl-CoA, que por sua vez adentra o ciclo de Krebs, produzindo energia para a célula (Kumari, 2018). Sendo assim, a cada ciclo da  $\beta$ -oxidação são gerados um acetato e um hidrogênio. Paralelamente, um ácido hexadecanoico é degradado a tetradecanoico após um ciclo, dodecanoico após dois ciclos, e assim por diante.

Sendo assim, destaca-se a capacidade dos microrganismos aeróbios em degradar totalmente os AGCL na Fase II, não tendo sido identificados na amostra de efluente aeróbio da Fase II nenhum dos AGCL intermediários que foram observados na amostra de efluente da Fase I (amostra 5).

Adicionalmente, pode-se ressaltar na amostra 5 a maior presença de compostos fenólicos e outras substâncias aromáticas, como os derivados do ácido ftálico Diisobutil Ftalato; 2-etilhexil ester Ftalato; Diisononil ftalato; Diisodecil ftalato, alguns destes também identificados nas amostras da Fase II, além dos compostos: Ácido Benzóico, Undecanol ester; Fenoxietanol; Bis[di(trimetilsiloxi)fenilsiloxi]trimetilsiloxifenilsiloxano; Trifenil fosfato; Diisocianato de difenil metano e 1-fenil-3-buteno (Figura 17).



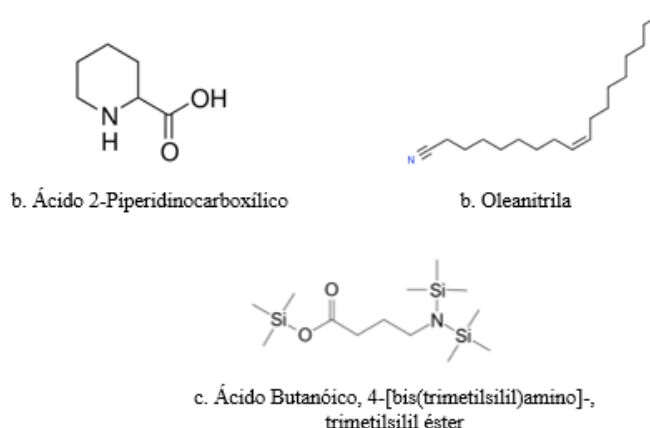
**Figura 17 - Compostos aromáticos identificados na amostra de efluente aeróbio da Fase I (Fonte: adaptado de NCBI, 2021)**

Por fim, identificam-se na amostra 5 compostos com grupamentos amina e nitrila não observados na amostra 2, como o Ácido 2-Piperidinocarboxílico, 1-(trimetilsilil)-, trimetilsilil ester; a Oleanitrila e o Ácido Butanóico, 4-[bis(trimetilsilil)amino]-, trimetilsilil ester (Figura 18). A presença destas substâncias pode ser resultado da degradação de melanoidinas, visto que estas são formadas por meio da condensação de açúcares e aminoácidos (KUMAR E CHANDRA, 2020).

A comparação dos resultados obtidos para as amostras 2 (efluente aeróbio, Fase II) e 5 (efluente aeróbio, Fase I) demonstra uma evolução do sistema aeróbio na Fase II, principalmente devido à menor presença de ácidos graxos de cadeia longa e esteroides observada na amostra desta Fase. Vale ressaltar que para a manutenção da carga orgânica



aplicada (COA) na Fase II utilizou-se maior concentração de vinhaça e hidrolisado hemicelulósico na alimentação do reator anaeróbio, ou seja, maiores concentrações de compostos fenólicos, lipídeos e esteroides foram inseridas no sistema nesta Fase.



**Figura 18 - Compostos com grupamentos amina ou nitrila identificados na amostra de efluente aeróbio da Fase I (Fonte: adaptado de NCBI, 2021)**

Com os resultados da caracterização dos efluentes, percebe-se que é possível que os AGCL tenham influência na DQO remanescente da Fase I, visto que são as substâncias predominantes. A Tabela 22 apresenta o valor de DQO equivalente exercida por estes compostos, indicando que esta contribuição pode, de fato, ser relevante. Ressalta-se que os valores elevados de DQO equivalente obtidos se devem ao baixo conteúdo de oxigênio nas moléculas, aliado ao grande comprimento das cadeias carbônicas que as formam. Entretanto, não foi possível quantificar as concentrações de AGCL no efluente, visto que as restrições de acesso ao laboratório impostas pela pandemia de Covid-19 impossibilitaram a construção de curvas de calibração para estes e outros compostos detectados pelo GC-MS. Assim, não se pode precisar sua contribuição para a concentração de DQO do efluente.

**Tabela 22 - DQO equivalente exercida por ácidos graxos de cadeia longa**

| Ácido Graxo            | DQO equivalente<br>(mgDQO.mgÁcidoGraxo <sup>-1</sup> ) |
|------------------------|--|
| Ácido Octadecadienóico | 2,86   |
| Ácido Octadecanóico    | 2,93   |
| Ácido Hexadecanóico    | 2,87   |
| Ácido Nonanóico        | 2,53   |

Em relação à degradação de compostos aromáticos no efluente em ambas as fases, é interessante analisar as razões entre as absorvâncias a 260 nm e 400 nm (índice E2/E4) e 465 nm e 665 nm (índice E4/E6), obtidas nas análises de espectrofotometria em UV-Vis, que são indicadoras das características dos compostos aromáticos no efluente. Os valores médios

obtidos para os índices E2/E4 e E4/E6 nas amostras de efluente ao TA nas Fases I e II, são apresentados na Tabela 23.

**Tabela 23 - Índices médios E2/E4 e E4/E6 de amostras de efluente aeróbio das Fases I e II de operação**

| Índice | Fase I    | Fase II    |
|--------|-----------|------------|
| E2/E4  | 4,3 ± 0,1 | 42,5 ± 1,3 |
| E4/E6  | 4,0 ± 1,3 | 6,0 ± 1,8  |

Como descrito no item 3.1.2, o aumento na razão E2/E4 indica a degradação de substâncias húmicas fenólicas a compostos aromáticos mais simples. Observa-se um aumento significativo deste índice na Fase II quando comparada à Fase I, resultado que corrobora com o obtido na análise cromatográfica, uma vez que os compostos aromáticos identificados na amostra 2 são, de fato, mais simples que aqueles observados na amostra 5. Não foram identificadas na amostra 2, por exemplo, substâncias que contenham mais de um anel aromático em sua estrutura, enquanto mais de uma substância deste tipo foi observada na amostra 5. Estes resultados podem estar relacionados à capacidade dos microrganismos aeróbios em se aclimatarem aos compostos fenólicos, já discutida no Item 5.1.6, degradando-os parcialmente.

Já o aumento observado na razão E4/E6 é um indicativo da predominância de substâncias alifáticas no efluente, em detrimento de substâncias aromáticas. De fato, como mostrado no item 5.1, predominam no efluente da Fase II os AGVs e AGCL, que são substâncias alifáticas. Sendo assim, este resultado não significa necessariamente que há menor concentração de compostos aromáticos no efluente da Fase II, mas que, proporcionalmente, estas estão mais presentes no efluente da Fase I. Assim, a DQO do efluente da Fase II é composta majoritariamente por AGVs, enquanto na Fase I há pouca presença destes compostos.

Com base nos resultados aqui obtidos, o efluente final da Fase II indica possuir menor presença de compostos potencialmente tóxicos quando comparada àquela obtida no início da operação do sistema aeróbio. Contudo, são indicados estudos posteriores, utilizando outros métodos de extração e solventes, além de quantificação das concentrações de compostos de interesse, para uma conclusão mais exata acerca do potencial poluidor do efluente final deste sistema de tratamento em suas condições consideradas ótimas.

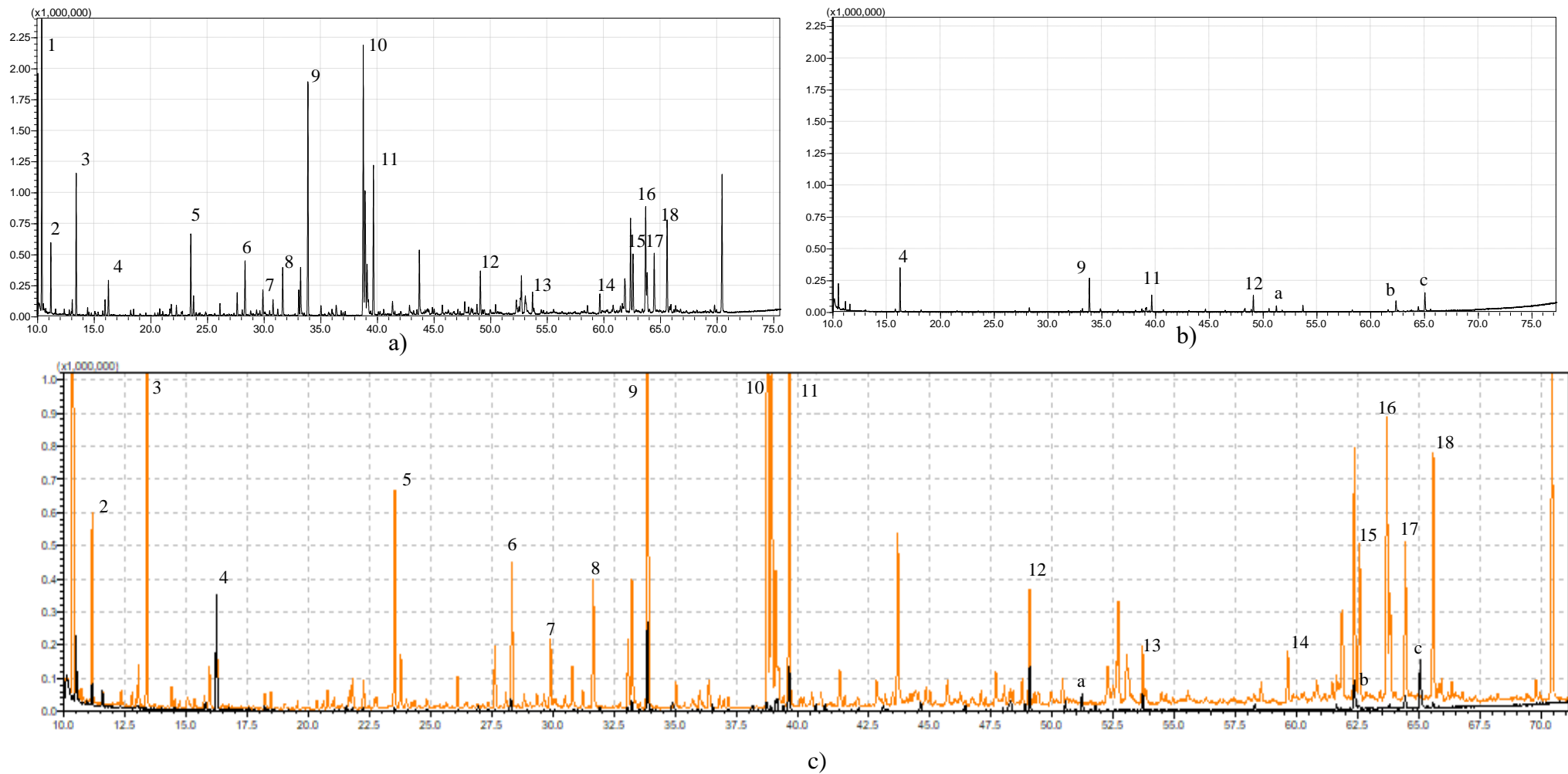
### 5.2.2.2. Efeito do tratamento aeróbio na composição química do efluente

A caracterização dos afluentes e efluentes do sistema por meio de GC-MS também ajuda a entender as transformações por que passa o efluente em razão do metabolismo dos microrganismos aeróbios, permitindo a identificação de quais compostos foram majoritariamente removidos e quais resistiram ao tratamento biológico. Além disso, o aparecimento de picos nos cromatogramas relativos aos efluentes do sistema que inexistiam nos cromatogramas dos afluentes indicam a formação e acúmulo de produtos microbianos solúveis (SMP).

Com base nos resultados discutidos no item 5.1 deste trabalho, conclui-se que a Fase IId foi aquela cujas condições de operação são consideradas ótimas, uma vez que apresenta o menor TDH entre os testados na Fase II e independe da suplementação com carbono e diluição, realizadas na Fase I. Ademais, nesta fase foi observada boa eficiência de remoção de DQO, de  $62 \pm 9\%$ , e a menor concentração média de DQO efluente da Fase II, com  $404 \pm 92 \text{ mg.L}^{-1}$ . Para caracterizar o efeito do pós-tratamento aeróbio nas melhores condições do sistema, portanto, serão apresentados os resultados das análises em GC-MS das amostras de afluente (amostra 1) e efluente (amostra 2) ao sistema no 207º dia de operação, que corresponde à segunda melhor eficiência obtida na Fase IId, de 69%. Os resultados para a análise do afluente, efluente e a sobreposição dos dois cromatogramas são apresentados na Figura 19.

A análise cromatográfica demonstra remoção completa da maioria dos compostos identificados no afluente ao sistema aeróbio. Observa-se a persistência das substâncias identificadas nos picos 9, 11, 12, 13 e 15, aumento da concentração da substância correspondente ao pico 4 e formação de SMP por meio dos picos indicados como “a” e “b”.

A identificação dos compostos é então realizada por meio de comparação dos espectros de cada pico com aqueles disponibilizados na biblioteca do *NIST*. A Tabela 24 apresenta os resultados obtidos para a identificação das substâncias correspondentes à Figura 19. Avaliando-se as intensidades dos picos no afluente e efluente ao sistema, é possível observar se houve remoção completa, parcial, ou formação da substância após o pós-tratamento aeróbio.



**Figura 19 - Cromatogramas obtidos com amostras do 207º dia de operação: a) afluente ao sistema aeróbio (amostra 1) b) efluente ao sistema aeróbio (amostra 2) c) sobreposição do espectro do afluente (amarelo) e efluente (preto) ao sistema de lodos ativados**

**Tabela 24 - Substâncias identificadas nos cromatogramas do afluente e efluente ao sistema aeróbio no 207º dia de operação**

| Pico      | Substância  | Intensidade – Afluente (Amostra 1) | Intensidade – Efluente (Amostra 2) |
|-----------|---|------------------------------------|------------------------------------|
|           | Ácido pirimidinocarboxílico (3TMS) (Ácido orótico 3TMS)   | 104.617                            | 105.907                            |
| <b>1</b>  | Ácido butanodióico, bis(trimetilsilil) ester  | 5.537.694                          |                                    |
|           | Dodecametilciclohexasiloxano  | 104.617                            | 227.558                            |
|           | 2,4-bis[(trimetilsilil)oxi]pirimidina   | 599.623                            | 88.733                             |
|           | Ácido nonanóico, trimetilsilil ester  | 62.661                             | 67.981                             |
|           | 3-Metil-5-ona-3- ácido hexenóico, O,O"- bis(trimetilsilil)  | 1.157.733                          |                                    |
|           | N,N-dimetilpentadecano amina,   | 135.073                            |                                    |
|           | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptametiltetrasiloxano-2'-siloxi)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametildiclopentasiloxano |                                    | 28.624                             |
| <b>4</b>  | Ácido hexadienóico, bis(trimetilsilil) ester (ácido adípico)  | 291.506                            | 351.641                            |
|           | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptametiltetrasiloxano-2'-siloxi)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametildiclopentasiloxano |                                    | 16.722                             |
| <b>5</b>  | N.I.  | 671.433                            |                                    |
| <b>6</b>  | Ácido adípico, bis-(2,2,6,6-tetrametil,-4-piperidil) amida  | 461.610                            |                                    |
|           | Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico bis(2-metilpropil) ester (Diisobutil ftalato)                            |                                    | 37.402                             |
| <b>7</b>  | Ácido pentadecanóico trimetilsilil ester  | 212.446                            |                                    |
| <b>8</b>  | Xilitol, trimetilsilil éter   | 388.172                            |                                    |
|           | Ácido undecilênico, trimetilsilil ester   | 217.691                            |                                    |
|           | Ácido malônico, bis(2-trimetilsilil)etil ester  |                                    | 18.701                             |
| <b>9</b>  | Ácido hexadecanóico, trimetilsilil ester  | 1.797.331                          | 269.444                            |
|           | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptametiltetrasiloxano-2'-siloxi)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametildiclopentasiloxane |                                    | 20.451                             |
| <b>10</b> | Ácido 9,12-Octadecadienóico (Z,Z)-, trimetilsilil ester   | 2.070.191                          | 22.067                             |
|           | Ácido 9,12-Octadecadienóico (Z,Z)-, trimetilsilil ester   | 1.025.599                          | 29.991                             |
| <b>11</b> | Ácido octadecanóico, trimetilsilil ester  | 1.190.202                          | 138.872                            |
|           | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptametiltetrasiloxano-2'-siloxi)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametildiclopentasiloxane |                                    | 24.038                             |
|           | N.I.  | 541.379                            |                                    |
|           | 2',4',4',6',6',8',8'-Heptametiltetrasiloxano-2'-siloxi)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametildiclopentasiloxane |                                    | 27.383                             |
| <b>12</b> | Ácido Hexadecanóico, 2,3-bis[(trimetilsilil)oxi]propil ester  | 380.078                            | 134.585                            |
| <b>a</b>  | N.I.  |                                    | 52.763                             |
| <b>13</b> | Ácido Octadecanóico, 2,3-bis[(trimetilsilil)oxi]propil ester  | 192.820                            | 56.102                             |
| <b>14</b> | Colestan-3-ol, (3β,5α)  | 179.842                            |                                    |
| <b>15</b> | Trimetilsilil éter de glicerol  | 743.424                            |                                    |
| <b>b</b>  | 3,3-dimetil-4-metileno-1,2-bis(trimetilsiloximetil)-ciclopenteno  |                                    | 89.163                             |
| <b>16</b> | Metil-3α-hidroxi-5β.-colestanoato, trimetilsilil ester  | 887.225                            |                                    |
| <b>17</b> | Trimetilsilil éter de Estigmasterol   | 515.513                            | 48.088                             |
| <b>c</b>  | 1,2-Bis(trimetilsilil)benzene   |                                    | 151.832                            |
| <b>18</b> | Trimetilsilil eter de Colesterol  | 792.262                            |                                    |

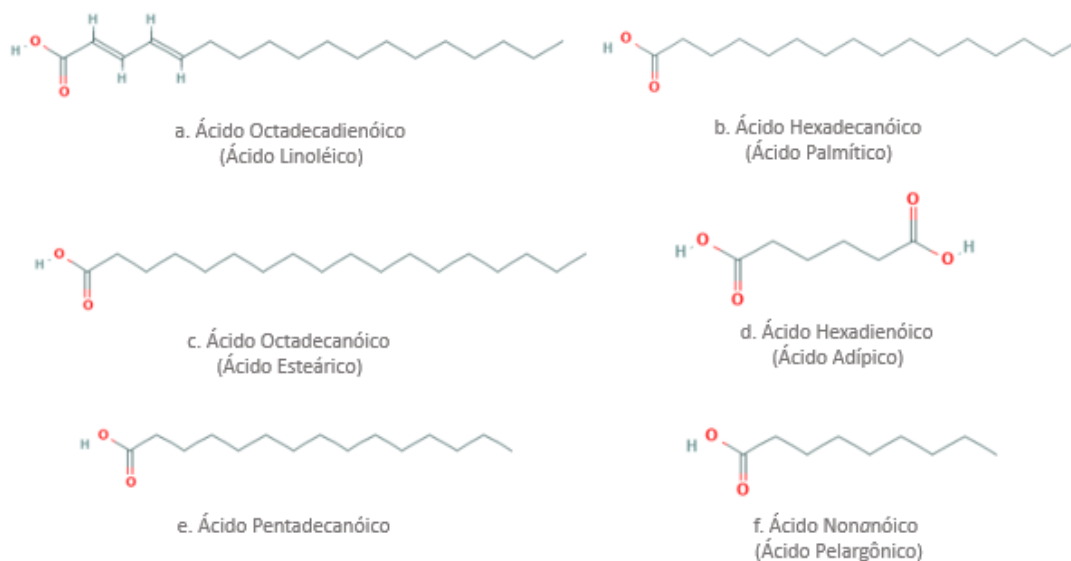
Comparando-se a Figura 19 com a Tabela 24 é possível perceber que não foi possível identificar as substâncias que representam grande parte dos picos do cromatograma do afluente ao sistema de lodos ativados. Entretanto, conseguiu-se identificar a maior parte das substâncias persistentes ao tratamento, que são aquelas de maior importância para os objetivos deste estudo.

Analisando as informações apresentadas na Figura 19 e na Tabela 24, destacam-se primeiramente as diferenças encontradas entre a amostra 1 (afluente TA na Fase II) e a amostra 5 (efluente TA na Fase I), discutida no item anterior. Observa-se que a variedade de substâncias e intensidade dos picos correspondentes a AGCL e compostos fenólicos é superior na amostra 5, o que demonstra que a modificação na estrutura do sistema anaeróbio entre as Fases I e II pode ter influenciado na composição do efluente final. Isto porque foi identificada uma série de compostos na amostra 5, correspondente a uma amostra de efluente final da Fase I, que não estavam presentes na amostra 1, que representa um afluente ao sistema aeróbio da Fase II de operação.

O resultado obtido demonstra que as substâncias com maior resistência ao tratamento aeróbio foram os AGCL e alguns compostos aromáticos, corroborando com o que foi identificado nas análises de UV-Vis.

O pico de maior intensidade observado na Figura 19 corresponde ao ácido butanodióico ou succínico, que foi completamente removido durante a etapa aeróbia. Este resultado é compatível com a análise realizada em cromatografia líquida (HPLC), que detectou a presença de ácido succínico na amostra de entrada do reator neste mesmo dia, a qual não foi detectada na amostra da saída do decantador secundário. Vale citar que estas amostras foram analisadas em HPLC com diluição de 10 vezes, o que não permitiu a quantificação do ácido succínico na amostra de afluente, indicando que sua concentração era inferior a  $200 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Dentre as demais substâncias identificadas nas amostras 1 e 2, predominam os lipídeos, na forma de ácidos graxos e esteroides, e alguns compostos fenólicos. Os picos de maior intensidade e que mais aparecem nos cromatogramas são relativos aos ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), predominando no efluente aqueles apresentados na Figura 20.



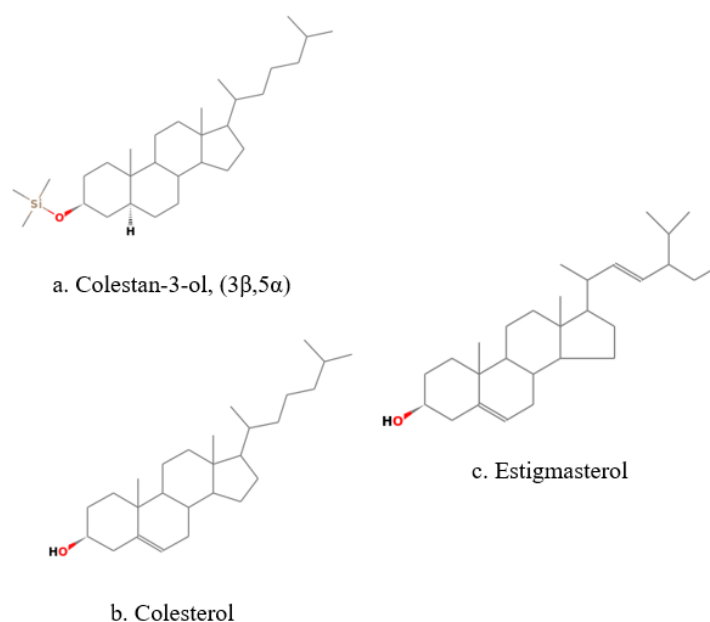
**Figura 20 - Ácidos graxos identificados nas amostras de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados (Fonte: adaptado de NCBI, 2021)**

Pela intensidade dos picos do cromatograma, observa-se que ocorreu remoção significativa destes compostos durante o pós-tratamento aeróbio. Contudo, houve persistência do ácido nonanóico e de certas concentrações dos ácidos hexadecanóico, octadecanóico e octadecadienóico. Dentre estes, os picos de maior intensidade nos afluentes correspondem ao ácido hexadecanóico, seguido do ácido octadecanóico. A permanência destas substâncias no efluente se deve, provavelmente, a suas características inibidoras do metabolismo dos microrganismos, como será discutido no Item 5.2.2.3.

Destaca-se, também, o ácido hexadienóico (ácido adípico), para o qual percebeu-se aumento na intensidade do pico, e, portanto, aumento em sua concentração no efluente após o pós-tratamento. Comercialmente, o ácido adípico é produzido a partir do benzeno (RAJ *et al.*, 2018), mas sua formação pode ocorrer também a partir da oxidação e consequente quebra do anel do ciclohexano (HWANG, 2014). A produção de ácido adípico a partir de açúcares de 6 carbonos (RAJ *et al.*, 2018) e 5 carbonos (CHOE *et al.*, 2021) também já foi demonstrada na literatura, na presença de catalisadores. É provável, portanto, que o aumento observado seja resultado da transformação de compostos presentes no afluente, como açúcares e fenóis, ou pela degradação parcial de algum composto similar, como o Ácido adípico, bis-(2,2,6,6-tetrametil,-4-piperidil) amida, identificado no pico 6.

Em relação aos esteroides, na amostra 1 foram identificados compostos como colesteróis e estigmasteróis com picos de intensidade significativa, alguns dos quais estão representados na Figura 21. Já na amostra 2 (efluente) observa-se apenas pequena concentração de

estigmasterol, com remoção dos demais compostos identificados. A presença deste tipo de composto no efluente final é relevante, pois eles agem comumente como reguladores biológicos (ou disruptores endócrinos) (SOLOMONS, 2002), sendo sua remoção no sistema de tratamento importante do ponto de vista do potencial do efluente de gerar de efeitos negativos para saúde humana e ambiental. A origem destes compostos no efluente sucroalcooleiro será melhor abordada no item 5.2.2.3.

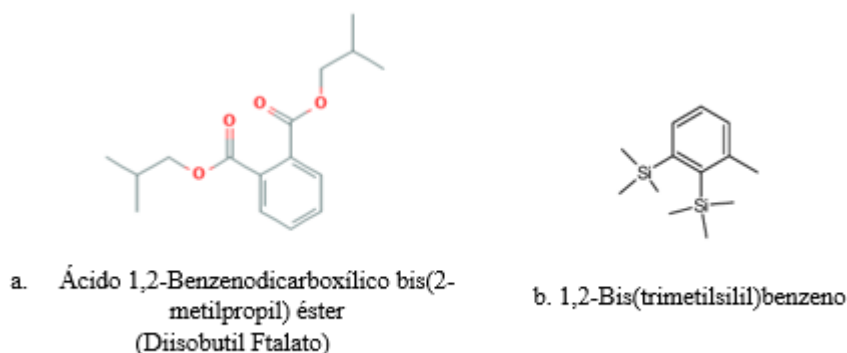


**Figura 21 - Esteroides identificados nas amostras de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados (Fonte: adaptado de NCBI, 2021)**

Além disso, identificou-se nas amostras a presença dos aromáticos Ácido benzenodicarboxílico, bis(2-metilpropil) éster) (Diisobutil Ftalato) e 1,2-Bis(trimetilsilil)benzeno (Figura 22), provavelmente derivados de fenóis ou ligninas. Observa-se que ambos os compostos não estavam presente na amostra 1 (afluente ao sistema aeróbio), sendo caracterizados como SMP e possivelmente produzidos no efluente a partir da degradação parcial de outros compostos aromáticos mais complexos.

A amostra 1 foi uma das que apresentou maior concentração de fenóis totais na análise quantitativa, como foi mostrado na Tabela 18. Contudo, em grande parte estes compostos não foram identificados por meio da análise em GC-MS, seja por terem apresentado baixa similaridade na comparação dos espectros com a biblioteca do *NIST*; por terem ocorrido picos sobrepostos no cromatograma, dificultando sua identificação; ou por não terem sido extraídos por meio da metodologia utilizada neste estudo.





**Figura 22 – Compostos aromáticos identificados nas amostras de afluentes e efluentes ao sistema de lodos ativados (Fonte: adaptado de NCBI, 2021)**

Os resultados aqui descritos estão em grande parte em acordo com os observados por Chandra, Kumar e Tripathi (2018), que analisaram melanoidinas extraídas de melão de cana-de-açúcar, antes e após o tratamento com bactérias aeróbias em sistema de batelada. Estes autores observaram a permanência dos ácidos hexadecanóico e octadecanóico e de ftalatos após 3 dias de tratamento aeróbio, e sua completa remoção após 7 dias de tratamento. Além disso, foi observada completa metabolização dos esteroides presentes na amostra após 3 dias de tratamento, o que corrobora com os resultados aqui encontrados.

Yadav e Chandra (2012) e Gonza *et al.* (2000) também reportaram a presença de ácido hexadecanóico e ácido ftálico nas amostras de efluente da produção de etanol de cana de açúcar, assim como outros ácidos graxos e compostos fenólicos.

Os picos “a”, “b” e “c” caracterizam-se como produtos microbianos solúveis (SMP) do metabolismo aeróbio, uma vez que são identificados apenas na amostra do efluente ao sistema de tratamento de lodos ativados. O ácido adípico (pico 4), para o qual foi observado aumento na concentração após o tratamento aeróbio, também pode ser considerado um SMP.

Não foi possível identificar a substância apontada no pico “a”, visto que a similaridade do espectro obtido com aqueles disponíveis na biblioteca do *NIST* foi inferior a 80%. Contudo, os espectros de maior similaridade indicam de que se trata de um ácido graxo de cadeia longa, provavelmente produto de degradação parcial daqueles observados na amostra 1 (afluente).

Já o pico “c” foi identificado como 1,2-Bis(trimetilsilil)benzeno, um composto aromático com um único anel. Na maioria das amostras analisadas em GC-MS, este pico foi observado como sendo SMP. Este, também, provavelmente foi formado a partir da degradação de outro

composto fenólico. Assim, pode-se dizer que estes SMP se caracterizam como UAP (utilization associated products), formados a partir do metabolismo de substratos.

Além destes, outros picos de menor intensidade foram identificados apenas na amostra 2, caracterizando-se como SMP. Todos eles demonstraram similaridade com a substância 2-(2',4',4',6',6',8',8'-Heptametiltetrasiloxano-2'-siloxi)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonametilciclopentasiloxano.

### **5.2.2.3. Identificação de compostos de interesse no efluente final**

A caracterização química do efluente final do sistema de tratamento permite uma melhor avaliação do potencial poluidor que ele exerce ao ser lançado no ambiente. Foi possível identificar, nos itens anteriores, que as principais substâncias que compõem o efluente do sistema de tratamento, em sua melhor condição de operação, dividem-se entre quatro principais grupos: ácidos graxos voláteis (AGV); ácidos graxos de cadeia longa (AGCL); esteroides e compostos fenólicos.

Os AGVs são compostos orgânicos com 2 a 5 carbonos, formados na digestão anaeróbia na etapa de acidogênese, para posteriormente serem convertidos a acetato (o tipo mais simples de AGV), que por sua vez é convertido em metano e hidrogênio. São compostos biodegradáveis e de baixa toxicidade, que geralmente se acumulam nos efluentes anaeróbios devido à ocorrência de choque de carga no reator e/ou à presença de compostos inibidores no substrato da digestão anaeróbia. Sendo assim, quando presentes no ambiente são comumente degradados por microrganismos, aeróbios ou anaeróbios.

O principal fator de atenção para sua presença nos efluentes do sistema de tratamento é o consumo de oxigênio para sua degradação aeróbia quando lançados em corpos hídricos, que causa depleção de oxigênio dissolvido (OD) nestes sistemas, podendo levar à morte de peixes e outros organismos aquáticos. Com base nas informações das concentrações de AGV no efluente aeróbio apresentadas na Tabela 14 e considerando-se que a DQO equivalente do ácido propiônico é de 1,51 mg.L<sup>-1</sup> e do ácido isobutírico é de 1,81 mg.L<sup>-1</sup>, estima-se que a DQO exercida pelos AGVs no efluente final do sistema pode ser de cerca de 400 mg.L<sup>-1</sup>. Para fins de comparação, este valor é similar à DBO de esgoto doméstico bruto (von Sperling, 2005), o que demonstra a importância de se buscar otimizar a degradação completa destes compostos no sistema de tratamento dos efluentes.

Também foi detectada no efluente do sistema a presença do ácido hexadienóico (ou adípico), um composto com 6 carbonos em sua estrutura. É um composto amplamente utilizado na indústria para produção de plástico, principalmente nylon, sendo sintetizado a partir do benzeno (SOLOMONS, 2002). É considerado como sendo biodegradável, contudo, observou-se um aumento de sua concentração neste estudo após o tratamento aeróbio, indicando que ele é gerado no sistema como subproduto da degradação de algum outro composto (UAP), provavelmente o Ácido adípico, bis-(2,2,6,6-tetrametil,-4-piperidil) amida.

O ácido adípico é considerado como sendo levemente tóxico a peixes e microalgas, porém normalmente é facilmente degradado em sistemas aquáticos por microrganismos aeróbios. Além disso, também é degradado por microrganismos presentes no solo, apresentando elevada mobilidade neste tipo de ambiente (NCBI, 2021).

Os AGCL, por sua vez, possuem cadeias carbônicas com no mínimo 12 carbonos, podendo ser saturados, monoinsaturados ou poli-insaturados. São compostos com características hidrofóbicas devido ao tamanho de suas cadeias carbônicas, sendo que são menos solúveis quanto maior a quantidade de carbonos na molécula. Além disso, os compostos saturados são usualmente mais hidrofóbicos que os insaturados (ELSAMADONY *et al.*, 2021).

Em sistemas anaeróbios, glicerol e AGCL são formados por meio da hidrólise de óleos e gorduras. O glicerol é então oxidado, formando AGVs, enquanto os AGCL passam pela  $\beta$ -oxidação, conforme explicado no Item 5.2.2.1, gerando acetato e hidrogênio a cada ciclo de oxidação. Por este motivo, a degradação dos AGCL é considerada como parte da etapa acetogênica da digestão anaeróbia, enquanto a oxidação de glicerol faz parte da acidogênese (ZIELS *et al.*, 2016). No entanto, a  $\beta$ -oxidação de AGCL necessita de condições termodinâmicas específicas para acontecer nos sistemas anaeróbios, não ocorrendo espontaneamente. Desta forma, a sintrofia com os microrganismos acetoclásticos e hidrogenotróficos é essencial para garantir a degradação completa de AGCL nos reatores anaeróbios, uma vez que o consumo de acetato e hidrogênio favorece sua formação devido ao deslocamento do equilíbrio do sistema (ELSAMADONY *et al.*, 2021; ZIELS *et al.*, 2016).

Além de exigirem condições específicas para sua degradação anaeróbia, os AGCL são considerados compostos inibidores de microrganismos em sistemas de tratamento (SIDDIQUE; WAHID, 2018). O principal motivo para esta inibição é que eles se aderem à superfície da biomassa, impedindo o transporte de substrato para o interior da célula e

prejudicando suas funções metabólicas e de proteção, podendo levar a situações de instabilidade ou falha dos reatores (SALAM *et al.*, 2012).

Este problema é reduzido em se tratando de compostos insaturados, visto que por serem mais solúveis, têm melhor capacidade de serem transportados para o interior das células. Contudo, é comum que os AGCL insaturados sejam degradados a compostos saturados. Por exemplo, o ácido oleico (C18:1) é degradado a ácido palmítico -ou hexadecanóico - (C16:0), que por sua vez é pouco solúvel à temperatura ambiente e se adsorve à parede celular dos microrganismos (ELSAMADONY *et al.*, 2021), causando inibição de suas funções e persistindo, muitas vezes, ao tratamento biológico.

Em sistemas aeróbios, os AGCL são degradados com maior facilidade, uma vez que o ambiente é propício a reações de oxidação. É necessário apenas que seja induzida nos microrganismos a produção de enzimas capazes de iniciarem a  $\beta$ -oxidação, o que ocorre após um período de aclimação dos microrganismos (CAMPBELL; MORGAN-KISS; CRONAN, 2003).

Entretanto, vale ressaltar que a capacidade dos AGCL de adsorverem à parede celular dos microrganismos causa também inibição em sistemas aeróbios (SALAM *et al.*, 2012). Adicionalmente, quando aderidos às células aeróbias, podem reduzir a densidade dos flocos em sistemas de lodos ativados, dificultando a decantação, o que prejudica a qualidade do efluente final e leva a uma menor relação A/M no tanque de aeração. Esta pode ter sido, inclusive, uma das razões para a baixa concentração de sólidos no lodo de retorno observada neste estudo.

No presente estudo, observou-se uma melhor remoção de AGCL do efluente anaeróbio na Fase II, após mais de 200 dias de operação do sistema aeróbio, o que indica que a aclimação ao efluente e estabilização do reator de lodos ativados foram importantes para viabilizar a completa degradação deste tipo de composto. Contudo, ainda foi observada a persistência de uma fração dos AGCL inicialmente presentes no efluente, destacando-se os AGCL saturados e de maiores cadeias carbônicas, como o hexadecanóico (C16:0) e o octadecanóico (C18:0), além do ácido linoleico (C18:2), um AGCL poli-insaturado. Observou-se também que o sistema aeróbio não foi capaz de degradar o ácido nonanóico, que manteve concentração similar àquela observada no afluente a este sistema.

A toxicidade de AGCL a organismos aquáticos, como peixes, algas e animais bentônicos já foi demonstrada em estudos anteriores. Salam *et al.* (2012) demonstraram efeitos da

toxicidade de óleos vegetais por meio da avaliação de bioluminescência da bactéria marinha *Vibrio fischeri*, indicando como principais constituintes causadores de toxicidade o ácido oleico (C18:1), ácido hexadecanóico (C16:0), ácido linoleico (C18:2) e ácido octadecanóico (C18:0). Kamaya, Kurogi e Suzuki (2003) observaram a toxicidade de AGCL em microalgas da espécie *Selenastrum capricornutum*. Neste estudo, o componente de maior toxicidade identificado foi o ácido oleico, com IC<sub>50</sub> igual a 0,058 mg.L<sup>-1</sup>, em 72 horas de exposição. A toxicidade observada neste estudo para os ácidos hexa e octadecanóico foi consideravelmente menor, sendo o IC<sub>50</sub> igual a 3,87 mg.L<sup>-1</sup> e 11,72 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, também em 72 horas de exposição.

É possível observar o recorrente aparecimento na literatura dos AGCL de 16 e 18 carbonos como compostos tóxicos ou inibidores do metabolismo dos organismos, o que faz com que sejam frequentemente os compostos mais persistentes aos tratamentos biológicos. Estes resultados corroboram com o observado no presente estudo, mesmo após o período de adaptação dos microrganismos. Chama atenção, adicionalmente, a ausência do ácido oleico no efluente final da Fase II do sistema de tratamento, o que pode ter ocorrido em razão de uma melhor conversão do mesmo a ácido palmítico, que, como citado anteriormente, apresenta geralmente maior persistência ao tratamento.

Pode-se dizer, portanto, que os principais efeitos causados pelo lançamento de AGCL no ambiente são: a toxicidade à biota aquática; inibição de microrganismos degradadores de matéria orgânica; DQO equivalente elevada (Tabela 22). Para avaliar a relevância destes efeitos, entretanto, deve ser considerada sua concentração nos efluentes, visto que em pequenas concentrações os AGCL não causam desequilíbrio da qualidade ambiental, sendo inclusive metabólitos de ocorrência comum na maior parte dos seres vivos.

No caso de efeitos à saúde humana, estes compostos são considerados de baixo risco em se tratando do despejo de efluentes, uma vez que são encontrados em concentrações superiores em alimentos, cosméticos e outros produtos amplamente utilizados no dia a dia.

Em relação aos esteroides, sua presença no efluente demanda atenção em razão das funções de regulação biológica apresentadas por alguns destes compostos. No presente estudo, destaca-se a presença, na amostra de afluente ao sistema de lodos ativados, dos compostos colesterol e estigmasterol. De acordo com a análise em GC-MS, o colesterol foi completamente removido durante o tratamento, restando apenas alguma concentração de estigmasterol.

O estigmasterol é reconhecido como sendo um dos principais fitosteróis, que são substâncias que existem naturalmente no meio ambiente, uma vez que sua ocorrência mais comum se dá nos tecidos de plantas. Os fitosteróis mais abundantes na natureza são o  $\beta$ -sitosterol e o estigmasterol (HARTMANN, 1998). Ambos possuem estrutura similar à do colesterol, são solúveis em água em quaisquer valores de pH e foram identificados em estudos anteriores em efluentes da produção de etanol de melaço de cana de açúcar (CHANDRA, R.; KUMAR; TRIPATHI, 2018b).

Por sua similaridade com a estrutura do colesterol, os fitosteróis têm sido relacionados a alterações endócrinas observadas em populações de peixes (MELLANEN *et al.*, 1996). Além disso, estudos anteriores demonstraram que no ambiente, pela ação de microrganismos aeróbios ou anaeróbios, o estigmasterol e o  $\beta$ -sitosterol podem ser convertidos em hormônios andrógenos, como *5- $\beta$ -androstan-3,17-dione* e *androstan-4-en-3,17-dion*, potencialmente interferindo nas funções hormonais de organismos aquáticos (TAYLOR *et al.* 1981 apud CHANDRA, KUMAR E TRIPATHI, 2018).

Outros possíveis metabólitos do estigmasterol, encontrados em efluente da indústria de papel e celulose, são o propionato de testosterona e o *stigmast-4-en-3-ano*, sendo o primeiro um reconhecido indutor de desenvolvimento sexual masculino, enquanto o segundo é considerado um agente hipoglicêmico em alguns organismos (CHAMORRO *et al.*, 2016).

Xavier *et al.* (2002) observaram, em testes de toxicidade aguda, que o composto estigmasterol demonstrou maior toxicidade a *Daphnia magna* e *Daphnia obtusa* quando comparado ao  $\beta$ -sitosterol. Contudo, os mesmos autores não observaram efeitos de toxicidade crônica em estudos com as mesmas espécies indicadoras e efluentes da indústria de papel e celulose, que possuem estes fitosteróis em sua composição (XAVIER, C.; CHAMORRO; VIDAL, 2005). Este resultado é positivo, uma vez que a maior parte dos esteróis é removida no tratamento aeróbio, de modo que o efluente do sistema dificilmente apresentaria concentração suficiente para causar toxicidade aguda na biota aquática.

A remoção significativa de fitosteróis em sistemas de tratamento aeróbio de efluente da indústria de papel e celulose é reconhecida na literatura (XAVIER, CLAUDIA R *et al.*, 2009). Similarmente, a remoção deste tipo de composto no presente estudo foi observada em todas as amostras analisadas em GC-MS. É importante, no entanto, se atentar aos esteroides que persistiram ao tratamento, sendo detectados nas amostras de efluente do sistema, uma vez que estes contaminantes podem resultar em efeitos negativos para os organismos presentes na

água ou no solo mesmo em baixas concentrações, devido às suas propriedades reguladoras de funções biológicas.

Em efluentes da agroindústria, relacionados ao processamento de substratos lignocelulósicos, é comum a presença de compostos fenólicos e/ou aromáticos, derivados da degradação parcial da lignina. Estes compostos são considerados tóxicos ou inibidores, porém também são utilizados como fonte de carbono, geralmente após um período de aclimação, sendo degradados pelos microrganismos presentes no ambiente ou nos sistemas de tratamento (INGLEZAKIS *et al.*, 2017).

Neste estudo, apesar de a análise por GC-MS ter indicado baixa presença e diversidade de compostos fenólicos nos efluentes do sistema na fase de operação considerada ótima (Fase IId), as análises quantitativas indicaram concentrações de fenóis totais no entorno de  $0,2 \text{ g.L}^{-1}$  nesta mesma fase. Pode-se concluir, desta forma, que a maior parte dos compostos fenólicos não foi identificada nas análises de GC-MS. Havendo, no entanto, evidências de sua presença no efluente, é importante descrever brevemente o motivo pelo qual os compostos fenólicos e/ou aromáticos são considerados de interesse ambiental e para a saúde humana.

Muita atenção é dada à presença de compostos fenólicos ou outros derivados do benzeno em efluentes, e estudos avaliando a toxicidade dos fenóis têm sido realizados há décadas. Por exemplo, Babich e Davis (1981) apresentaram diversos estudos de toxicidade de fenóis, demonstrando uma série de efeitos adversos e até letais do composto na biota aquática, em concentrações a partir de  $6,5 \text{ mg.L}^{-1}$  ( $\text{LC}_{50}$  para 48h de exposição da espécie *Limnophilus stigma*). Efeitos crônicos apresentados neste estudo envolvem a redução de fecundidade, diminuição no tamanho e peso de peixes.

Em relação à saúde humana, o principal fator de risco ligado aos compostos aromáticos é que grande parte destes compostos, inclusive o próprio benzeno, são considerados carcinogênicos após longa exposição (SOLOMONS, 2001). Também neste sentido os compostos aromáticos têm sido estudados a décadas, como em Babich e Davis (1981) e Stich (1991).

A toxicidade dos fenóis está relacionada às suas características hidrofóbicas, que interferem na solubilidade dos compostos em relação às células, e à formação de radicais livres (RAMOS *et al.*, 2021). Por suas características tóxicas e carcinogênicas, em grande parte das legislações relacionadas ao lançamento de efluentes no mundo existem limites para as concentrações de fenóis e benzenos. No Brasil, a Resolução CONAMA nº 430/2011 define limites para fenóis totais, benzeno, etilbenzeno, tolueno e xileno (CONAMA, 2011).

Nas análises de GC-MS realizadas, destacam-se também os ftalatos, derivados dos ácidos benzenodicarboxílicos, que foram identificados na maior parte das amostras analisadas. São compostos presentes em uma série de produtos utilizados no dia a dia, como plástico PVC, cabos elétricos, materiais de construção, embalagens de alimentos e cosméticos (SAILLENFAIT; LAUDET-HESBERT, 2005). Os ftalatos já foram identificados em diversos estudos como SMP gerados em reatores anaeróbios, inclusive para o tratamento de efluentes da produção de etanol, sendo essa uma possível explicação para sua presença nos efluentes aqui estudados (AQUINO; STUCKEY; ROAD, 2002; KUNACHEVA; STUCKEY, 2014; YADAV; CHANDRA, 2012).

Dentre estes, o *Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, bis(2-metilpropil) éster*, também chamado de Diisobutil ftalato, apresentou persistência ao tratamento, sendo observado nas amostras de efluente ao sistema aeróbio. Este composto possui baixa toxicidade aguda por ingestão, inalação ou absorção, e não causa irritações na pele. Comumente, é metabolizado com sucesso no corpo humano, não se acumulando nos tecidos. Contudo, já foi relacionado a características de disruptores endócrinos, com efeito anti-androgênico, tendo seu uso sido restringido pela União Europeia em razão destas características (RUNKEL *et al.*, 2022; SAILLENFAIT; LAUDET-HESBERT, 2005). Além disso, há indícios de que os ftalatos possuam ação mutagênica (KUNACHEVA; STUCKEY, 2014).

Pode-se citar também o di(2-etilhexil) ftalato, cuja concentração em águas utilizadas para abastecimento público foi limitada a  $8 \mu\text{g.L}^{-1}$  pela Portaria nº 88/2021 do Ministério da Saúde, que define o padrão de potabilidade da água, em razão de sua potencial característica como disruptor endócrino. Este composto apresentou similaridade com alguns compostos identificados na amostra de efluente aeróbio da Fase I, porém não foi observado nas amostras da Fase II.

Apesar de suas características tóxicas, inibidoras e carcinogênicas, os fenóis e outros compostos aromáticos são substâncias abundantes na natureza, estando presentes naturalmente no ambiente, como na lignina, nos hormônios e aminoácidos, além de serem componentes de diversos produtos e alimentos com que lidamos no dia a dia. Desta forma, é comum sua presença em corpos hídricos, no solo e no ar, sendo importante manter o controle de suas concentrações para evitar a ocorrência de os efeitos negativos ao ambiente e à saúde humana.



Considerando o exposto, é possível concluir que o efluente final do sistema de tratamento aqui avaliado apresenta substâncias com características tóxicas, inibidoras e disruptoras endócrinas, que podem representar algum risco ao ambiente. No entanto, é necessário levar em conta as concentrações em que estas substâncias estão presentes no efluente, o que exige análises posteriores.

Pelas reduções observadas nos picos dos cromatogramas, comparando-se as amostras 1 e 2, observa-se que estas substâncias foram majoritariamente removidas durante o tratamento, e alterações nos parâmetros de operação do sistema podem levar a sua remoção total. Estudos posteriores neste sentido também são recomendados.

Maior atenção deve ser dada aos compostos identificados como potenciais disruptores endócrinos, como o estigmasterol e o diisobutil ftalato, pois mesmo em baixas concentrações eles apresentam potencial de causar desequilíbrio ambiental, afetando principalmente a biota do local de lançamento e podendo afetar ainda a saúde humana. Vale citar que os ácidos hexadecanóico e octadecanóico também são listados pela Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA) como potenciais disruptores endócrinos (USEPA, 2012).

## 6. CONCLUSÃO

A operação do sistema de lodos ativados em escala de bancada, realizada neste estudo, demonstrou a boa capacidade deste tipo de processo em funcionar como um pós-tratamento à digestão anaeróbia de efluentes da indústria sucroalcooleira. O sistema mostrou-se capaz de absorver as variações de carga orgânica observadas no efluente anaeróbio, resultando em um efluente final com concentração de DQO estável ao longo do período de operação. Pode-se dizer, portanto, que o sistema de lodos ativados é indicado para o pós-tratamento dos efluentes aqui estudados.

Levando-se em conta os parâmetros operacionais, as condições de alimentação do sistema e a eficiência de remoção de matéria orgânica obtida, conclui-se que as condições ótimas de operação do processo de lodos ativados são as utilizadas na Fase II. Nesta fase, em que o sistema foi operado em TDH de 12 horas, a eficiência média do tratamento em lodos ativados foi de  $62 \pm 9\%$ , sendo importante mencionar que não foi adicionada glicose à solução de alimentação.

A adição de glicose mostrou-se necessária na fase inicial do sistema, sendo fundamental para estimular o metabolismo dos microrganismos aeróbios até que estes se adaptassem às características do efluente anaeróbio. Após cerca de 60 dias de operação, observou-se que as reduções da concentração de glicose na alimentação não resultaram em perda da eficiência de remoção de matéria orgânica, demonstrando a estabilização do sistema e aclimação dos microrganismos ao efluente.

Apesar de os valores de eficiência obtidos estarem em acordo com os observados na literatura para pós-tratamento de efluentes com características similares, observou-se ainda concentrações significativas de AGVs, principalmente ácido propiônico e ácido isobutírico, em algumas amostras do efluente final, que contribuem consideravelmente para a DQO remanescente nestes efluentes. Sendo os AGVs substâncias biodegradáveis e, portanto, passíveis de serem removidas pelos microrganismos aeróbios, estes resultados indicam que há margem para a melhoria da eficiência do sistema.

Para isto, uma alternativa seria aumentar a concentração de SSVTA, uma vez que os valores observados foram, no geral, baixos quando comparados à média para sistemas de lodos ativados, que segundo von Sperling (2005) vão de de  $1,5 \text{ g.L}^{-1}$  a  $3,0 \text{ g.L}^{-1}$ . A concentração média de SSVTA na Fase I foi de  $1,0 \text{ g.L}^{-1}$  e, na Fase II,  $1,5 \text{ g.L}^{-1}$ . Para aumentar a

concentração de biomassa no TA, sugere-se aumentar a taxa de recirculação de lodo, melhorar as condições de floculação e decantação e/ou acrescentar um meio suporte no reator.

Considerando-se os padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos vigentes no Brasil, determinados pela Resolução CONAMA nº 430/2011, os efluentes tratados obtidos em ambas as fases de operação atendem ao padrão para matéria orgânica e compostos inorgânicos no geral, incluindo o nitrogênio amoniacal (máximo de 20 mg.L<sup>-1</sup>) (CONAMA, 2011). No entanto, este resultado não significa que o lançamento deste efluente em cursos d'água é seguro, uma vez que as concentrações de AGV observadas apresentam ainda potencial de provocar consumo de OD na água, e, por conseguinte, afetar o equilíbrio ambiental e toda a biota aquática. Ademais, os valores obtidos na Fase II não atendem ao padrão de lançamento estabelecido para a DQO no estado de Minas Gerais, que é de 180 mg.L<sup>-1</sup> segundo a Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 01/2008 (COPAM/CERH, 2008).

Além disso, as concentrações de fenóis totais obtidas nos efluentes finais, no entorno de 200 mg.L<sup>-1</sup>, são muito superiores ao limite estabelecido na Resolução CONAMA, que é de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH) (CONAMA, 2011).

Não existem, na legislação brasileira, padrões para o lançamento de efluentes no solo, sendo este o destino mais comum da vinhaça produzida na indústria sucroalcooleira do Brasil. As normativas estaduais que tratam da destinação de vinhaça no solo utilizam como limitante a concentração de potássio, sendo a carga máxima a ser lançada no solo dependente da sua Capacidade de Troca Catiônica (CTC).

Entretanto, o pós-tratamento em lodos ativados aqui avaliado demonstra capacidade de reduzir os efeitos negativos da disposição de vinhaça no solo apresentados por Fuess, Rodrigues e Garcia (2017). Destaca-se também a importância da remoção observada de esteroides no efluente, visto que estes compostos, caso atinjam o lençol freático, representam potencial risco às populações eventualmente abastecidas com esta água subterrânea. Ademais, cabe citar a diretriz estabelecida pela OMS em seu documento "*Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater*", que propõe o valor de 400 mg.L<sup>-1</sup> de DQO para o lançamento no solo, valor este que se encontra próximo aos valores obtidos na Fase II do presente estudo (OMS, 2011).

No geral, os resultados para a eficiência de remoção de matéria orgânica obtidos na Fase I foram melhores que os observados na Fase II. Entretanto, a caracterização química dos

efluentes nas duas fases demonstrou que a aclimatação dos microrganismos aeróbios ao efluente e a estabilização do sistema de lodos ativados obtida na Fase II resultaram em menor presença de compostos complexos, recalcitrantes e potencialmente tóxicos no efluente desta fase.

Foi identificada, no efluente da Fase I, elevada variedade de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), compostos aromáticos e fenólicos complexos. Já na Fase II, os únicos AGCL identificados no efluente foram os ácidos hexadecanóico, octadecanóico e octadecadienóico, além da presença de ácido adípico (hexanodióico), provavelmente gerado como subproduto da degradação de açúcares e fenóis. Dentre os compostos aromáticos, identificou-se a persistência de ftalatos e a presença de benzeno, provavelmente derivada da degradação parcial de compostos de lignina.

As análises de varredura em UV-Vis demonstram a ocorrência da degradação, no tanque de aeração, de compostos fenólicos e ácidos húmicos, sendo ela total ou de forma parcial, por conversão a compostos aromáticos mais simples. Também foi possível observar a remoção de melanoidinas no sistema aeróbio, assim como sua ausência em algumas amostras do efluente anaeróbio. Adicionalmente, foi identificada a persistência no efluente de substâncias que absorvem a radiação nos comprimentos de onda de 200 a 230 nm.

Observaram-se também diversos compostos caracterizados como esteroides nas amostras de afluentes ao sistema aeróbio. No entanto, o sistema de lodos ativados demonstrou uma boa capacidade de degradar estes compostos, tendo sido identificada apenas pequena persistência do composto denominado estigmasterol nos efluentes aeróbios. Cabe ressaltar que o inóculo utilizado neste estudo foi proveniente de um sistema de tratamento de indústria de papel e celulose, na qual é comum encontrar este tipo de composto, principalmente os fitosteróis, que possuem sua origem nos tecidos da madeira.

O sistema de lodos ativados operado apresentou, portanto, boa eficiência de remoção de matéria orgânica, redução nas concentrações de nutrientes, capacidade de degradar compostos de interesse, como os esteroides e melanoidinas, e de reduzir a presença de compostos tóxicos e inibidores, como alguns fenóis. Demonstrou também a importância de se instalar um sistema de pós-tratamento para polimento do efluente anaeróbio, que ainda possui elevada carga orgânica e diversos compostos de características potencialmente poluidoras, além de apresentar significativa variação na qualidade do efluente final.

A obtenção de um tratamento viável e eficiente para os efluentes da indústria sucroalcooleira, principalmente da produção de etanol de primeira e segunda geração, é um passo importante para que o setor continue crescendo, com maior segurança ambiental e melhor aproveitamento de todos os seus insumos e subprodutos. Neste sentido, o sistema combinado anaeróbio-aeróbio apresenta grande potencial, uma vez que o reator anaeróbio reduz a necessidade energética do tratamento, a quantidade de lodo gerado e possibilita a produção de biogás, enquanto o sistema aeróbio, mais robusto, garante a qualidade do efluente final.

## **7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

A eficiência do sistema de lodos ativados para o pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio alimentado com águas residuárias da indústria sucroalcooleira foi demonstrada neste estudo. Entretanto, alguns desafios persistem, e oportunidades foram encontradas. Citam-se, algumas destas:

- Otimizar as condições de operação para obter maior concentração de biomassa no tanque de aeração (SSVTA) e verificar se isto resultaria em uma melhora na eficiência do sistema;
- Otimizar as condições de degradação aeróbia de fenóis no sistema de pós-tratamento;
- Quantificar as concentrações de AGCL, esteroides e ftalatos no efluente final, de forma a avaliar o real potencial poluidor do efluente.
- Avaliar possíveis efeitos – positivos ou negativos - do descarte no solo das substâncias aqui identificadas
- Identificar outras substâncias de interesse no efluente final, por meio da utilização de outras técnicas de extração e caracterização;
- Avaliar o potencial de produção de metano com a degradação anaeróbia do lodo gerado no sistema de lodos ativados;
- Avaliar outros tipos de pós-tratamento aeróbio para os efluentes estudados, como os reatores de alta taxa com microalgas, de forma a realizar a integração da biorrefinaria de primeira, segunda e terceira geração.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBARELLI, J.Q. “*Produção De Açúcar E Etanol De Primeira E Segunda Geração: Simulação, Integração Energética e Análise Econômica*” 244 p. UNICAMP, 2013.

ADARME, O. F. H. *Biogas Production By Anaerobic Co- Digestion Using Byproducts Of First- And Second-Generation Bioethanol Production Process*. 2020. 145 f. UFOP, 2020. Disponível em: <<https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/13224>>.

ADARME, O. F. H. *et al.* Use of anaerobic co-digestion as an alternative to add value to sugarcane biorefinery wastes. *Bioresource Technology*, v. 287, n. Março, p. 121443, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121443>>.

ALMEIDA, J. R. M. *et al.* Metabolic effects of furaldehydes and impacts on biotechnological processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 82, n. 4, p. 625–638, 2009.

APHA, A. P. H. A. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington D: American Public Health Association, 2005.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de Ácidos Graxos Voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 10, n. 2, p. 152–161, 2005.

AQUINO, S. F.; STUCKEY, D. C. Integrated model of the production of soluble microbial products (SMP) and extracellular polymeric substances (EPS) in anaerobic chemostats during transient conditions. *Biochemical Engineering Journal*, v. 38, n. 2, p. 138–146, 2008.

AQUINO, S. F.; STUCKEY, D. C. Soluble microbial products formation in anaerobic chemostats in the presence of toxic compounds. *Water Research*, v. 38, n. 2, p. 255–266, 2004.

AQUINO, S. F.; STUCKEY, D. C.; ROAD, P. C. Characterization of soluble microbial products (SMP) in effluents from anaerobic reactors. *Water Science and Technology*, v. 45, n. 10, p. 127–132, 2002.

BABICH, H.; DAVIS, D. L. Phenol: A review of environmental and health risks. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 1, n. 1, p. 90–109, 1981.

BAÊTA, B. E. L. *Aproveitamento energético a partir da digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico gerado pelo pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar*

*considerando o contexto da biorrefinaria*. 2016. 0–156 f. UFOP, 2016. Disponível em: <<https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/7124>>.

BAÊTA, B. E. L.; LIMA, D. R. S.; FILHO, J. G. B.; *et al.* Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysates by two-stage anaerobic digestion process. *Bioresource Technology*, v. 218, p. 436–446, 2016.

BAÊTA, B. E. L.; LIMA, D. R. S.; ADARME, O. F. H.; *et al.* Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolyzates in a biorefinery concept. *Bioresource Technology*, v. 200, p. 137–146, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.003>>.

BITTON, G. *Wastewater Microbiology*. 3. ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd, 2005. v. 3.

BLONSKAJA, V.; MENERT, A.; VILU, R. Use of two-stage anaerobic treatment for distillery waste. *Advances in Environmental Research*, v. 7, n. 3, p. 671–678, 2003. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1093019102000382>>. Acesso em: 14 nov. 2019.

CAMPBELL, J. W.; MORGAN-KISS, R. M.; CRONAN, J. E. A new *Escherichia coli* metabolic competency: Growth on fatty acids by a novel anaerobic  $\beta$ -oxidation pathway. *Molecular Microbiology*, v. 47, n. 3, p. 793–805, 2003.

CARRILHO, E. N. V. M.; LABUTO, G.; KAMOGAWA, M. Y. Destination of Vinasse, a Residue From Alcohol Industry: Resource Recovery and Prevention of Pollution. *Environmental Materials and Waste: Resource Recovery and Pollution Prevention*, p. 21–43, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803837-6.00002-0>>.

CETESB. Norma P4.231. Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola. 3ed. 15pp. São Paulo, 2015. Disponível em: <[https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2013/11/P4.231\\_Vinha%C3%A7a\\_-Crit%C3%A9rios-e-procedimentos-para-aplica%C3%A7%C3%A3o-no-solo-agr%C3%ADcola-3%C2%AA-Ed-2%C2%AA-VERS%C3%83O.pdf](https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2013/11/P4.231_Vinha%C3%A7a_-Crit%C3%A9rios-e-procedimentos-para-aplica%C3%A7%C3%A3o-no-solo-agr%C3%ADcola-3%C2%AA-Ed-2%C2%AA-VERS%C3%83O.pdf)> Acesso em 15 de março de 2021.

CHAMORRO, S. *et al.* Removal of stigmasterol from Kraft mill effluent by aerobic biological treatment with steroidal metabolite detection. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 51, n. 12, p. 1012–1017, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10934529.2016.1198190>>.



CHANDRA, R.; KUMAR, V.; TRIPATHI, S. Evaluation of molasses-melanoidin decolourisation by potential bacterial consortium discharged in distillery effluent. *3 Biotech*, v. 8, n. 4, 2018a.

CHANDRA, R.; KUMAR, V.; TRIPATHI, S. Evaluation of molasses-melanoidin decolourisation by potential bacterial consortium discharged in distillery effluent. *3 Biotech*, v. 8, n. 4, p. 187, 2018b.

CHANDRA, RAM; BHARAGAVA, R. N.; RAI, V. Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses based distillery effluent and its degradation. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 11, p. 4648–4660, 2008.

CHOE, B. *et al.* Integrated strategy for coproducing bioethanol and adipic acid from lignocellulosic biomass. *Journal of Cleaner Production*, v. 311, p. 127849, 2021.

COLLING KLEIN, B.; BONOMI, A.; MACIEL FILHO, R. Integration of microalgae production with industrial biofuel facilities: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 82, p. 1376–1392, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.04.063>>.

CONAB. *Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-açúcar. Observa*. Brasília: [s.n.], 2021. Disponível em: <[https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar/item/download/37136\\_b3e7df44d7d5e801238498af6b39d254](https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar/item/download/37136_b3e7df44d7d5e801238498af6b39d254)>.

CONAMA. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências*. Brasília, 17 de março de 2005.

CONAMA. Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011. *Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA*. Brasília, 13 de maio de 2011.

COOPER, J. *et al.* Treatment and resource recovery options for first and second generation bioethanol spentwash – A review. *Chemosphere*, v. 241, p. 124975, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124975>>.

COPAM/CERH. Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG de 05 de maio de 2008. *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu*

enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Belo Horizonte, 05 de maio de 2008.

COSTA, F. J. C. B. *et al.* Utilization of vinasse effluents from an anaerobic reactor. *Water Science and Technology*, v. 18, n. 12, p. 135–141, 1986.

CRAVEIRO, A. M.; SOARES, H. M.; SCHMIDELL, W. Technical aspects and cost estimations for anaerobic systems treating vinasse and brewery/soft drink wastewaters. *Water Science and Technology*, v. 18, n. 12, p. 123–134, 1986.

DEL RÍO, J. C. *et al.* Lipophilic phytochemicals from sugarcane bagasse and straw. *Industrial Crops and Products*, v. 77, p. 992–1000, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.064>>.

DIONISI, D. *Biological Wastewater Treatment Processes - Mass and Heat Balances*. [S.l.]: Taylor & Francis, 2017.

ELSAMADONY, M. *et al.* Advances towards understanding long chain fatty acids-induced inhibition and overcoming strategies for efficient anaerobic digestion process. *Water Research*, v. 190, p. 116732, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116732>>.

EVANGELISTA, A. *et al.* Improving the energy balance of ethanol industry with methane production from vinasse and molasses in two-stage anaerobic reactors. *Journal of Cleaner Production*, v. 238, p. 117577, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.052>>.

FERNANDES FILHO, F. E.; ARAUJO, G. J. F. DE. Normativos federais e estaduais reguladores da destinação da vinhaça no Brasil: uma proposta de nova abordagem. *Revista de Administração, Contabilidade e Economia da Fundace*, v. 7, n. 3, 2016.

FERRAZ, A. D. N. *et al.* Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. *Ant o. Renewable Energy*, v. 89, p. 245–252, 2016.

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. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.02.003>>.

FUESS, L. T.; RODRIGUES, I. J.; GARCIA, M. L. Fertirrigation with sugarcane vinasse:

Foreseeing potential impacts on soil and water resources through vinasse characterization. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, v. 52, n. 11, p. 1063–1072, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1338892>>.

GEBREEYESSUS, G. D.; MEKONEN, A.; ALEMAYEHU, E. A review on progresses and performances in distillery stillage management. *Journal of Cleaner Production*, v. 232, p. 295–307, 2019.

GHOSH, M. *et al.* Enrichment and identification of bacteria capable of reducing chemical oxygen demand of anaerobically treated molasses spent wash. *Journal of Applied Microbiology*, v. 96, n. 6, p. 1278–1286, 2004.

GHOSH, M.; GANGULI, A.; TRIPATHI, A. K. Treatment of anaerobically digested distillery spentwash in a two-stage bioreactor using *Pseudomonas putida* and *Aeromonas sp.* *Process Biochemistry*, v. 37, n. 8, p. 857–862, 2002.

GONZA, T. *et al.* Pyrolysis / gas chromatography / mass spectrometry monitoring of fungal-biotreated distillery wastewater using *Trametes sp.* I-62. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, v. 14, p. 1417–1424, 2000.

HARTMANN, M. A. Plant sterols and the membrane environment. *Trends in Plant Science*, v. 3, n. 5, p. 170–175, 1 maio 1998.

HENRIKSSON, G. Lignin. In: CO., W. DE G. G. & (Org.). *Wood chemistry and wood biotechnology*. Berlim: Göran Gellerstedt, Monica Ek, Gunnar Henriksson, 2009. p. 121–146.

HOARAU, J. *et al.* Sugarcane vinasse processing: Toward a status shift from waste to valuable resource. A review. *Journal of Water Process Engineering*, v. 24, p. 11–25, 1 ago. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214714418300163>>. Acesso em: 19 ago. 2019.

HU, Q.; FAN, L.; GAO, D. Pilot-scale investigation on the treatment of cellulosic ethanol biorefinery wastewater. *Chemical Engineering Journal*, v. 309, p. 409–416, 2017.

HUANG, G. *et al.* Effects of glucose and phenol on soluble microbial products (SMP) in sequencing batch reactor systems. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 62, n. 2, p. 104–108, 2008.

INGLEZAKIS, V. J. *et al.* Investigating the inhibitory effect of cyanide, phenol and 4-nitrophenol on the activated sludge process employed for the treatment of petroleum wastewater. *Journal of Environmental Management*, v. 203, p. 825–830, 2017.

KAMAYA, Y.; KUROGI, Y.; SUZUKI, K. Acute toxicity of fatty acids to the freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*. *Environmental Toxicology*, v. 18, n. 5, p. 289–294, 2003.

KANIMOZHI, R.; VASUDEVAN, N. Effect of organic loading rate on the performance of aerobic SBR treating anaerobically digested distillery wastewater. *Clean Technologies and Environmental Policy*, v. 16, n. 3, p. 467–476, 2014.

KAUSHIK, A. *et al.* Fractionation of sugarcane molasses distillery wastewater and evaluation of antioxidant and antimicrobial characteristics. *Industrial Crops and Products*, v. 118, n. February, p. 73–80, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.040>>.

KHARDENAVIS, A. A.; KAPLEY, A.; PUROHIT, H. J. Phenol-mediated improved performance of active biomass for treatment of distillery wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 62, n. 1, p. 38–45, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830507001618?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 ago. 2019.

KUMAR, P.; CHANDRA, R. Decolourisation and detoxification of synthetic molasses melanoidins by individual and mixed cultures of *Bacillus* spp. *Bioresource Technology*, v. 97, n. 16, p. 2096–2102, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852405004852?via%3Dihub>>. Acesso em: 24 out. 2019.

KUMAR, V.; CHANDRA, R. Bioremediation of Melanoidins Containing Distillery Waste for Environmental Safety. *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*. Singapore: Springer, 2020. v. II. p. 495–529.

KUNACHEVA, C.; STUCKEY, D. C. Analytical methods for soluble microbial products (SMP) and extracellular polymers (ECP) in wastewater treatment systems: A review. *Water Research*, v. 61, p. 1–18, 2014.

LEE, R. A. *et al.* UV-Vis as quantification tool for solubilized lignin following a single-shot steam process. *Bioresource Technology*, v. 144, p. 658–663, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.045>>.

LIMA, D. R. S. *Avaliação de rotas tecnológicas para o aproveitamento energético do bagaço de cana-de-açúcar*. 2018. 1367–1368 f. UFOP, 2018. Disponível em: <<https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/10073>>.

LÓPEZ, I.; BORZACCONI, L. Modelling of an EGSB treating sugarcane vinasse using first-order variable kinetics. *Water Science and Technology*, v. 64, n. 10, p. 2080–2088, 2011.

LU, M. *et al.* The NMR and spectral study on the structure of molecular size-fractionated lignite humic acid. *Resources, Environment and Sustainability*. v.2 p.1000004, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.resenv.2020.100004>>

MATO GROSSO DO SUL. Lei nº 4661 de 28 de abril de 2015. *Dispõe sobre o armazenamento, distribuição e aplicação da vinhaça gerada pelas atividades sucroalcooleiras, e dá outras providências*. Campo Grande, 28 de abril de 2015.

MARA, D.; HORAN, N. *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. London, UK: Elsevier, 2003.

MARIANO, A. P. *et al.* Utilization of pentoses from sugarcane biomass: Techno-economics of biogas vs. butanol production. *Bioresource Technology*, v. 142, p. 390–399, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413008122>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

MELLANEN, P. *et al.* Wood-derived estrogens: Studies in vitro with breast cancer cell lines and in vivo in trout. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 136, n. 2, p. 381–388, 1996.

METCALF, Leonard; EDDY, Harrison P.; TCHOBANOGLOUS, Georg. **Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse**. New York: McGraw-Hill, 1991.

MINAS GERAIS. Lei Ordinária nº 9.367 de 11 de dezembro de 1986. *Dispõe sobre a destinação e tratamento de águas residuais e resíduos sólidos provenientes de indústrias de açúcar, álcool e aguardente no estado de Minas Gerais*. Belo Horizonte, 11 de dezembro de 1986.

MOHANA, S.; DESAI, C.; MADAMWAR, D. Biodegradation and decolourization of anaerobically treated distillery spent wash by a novel bacterial consortium. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 2, p. 333–339, 1 jan. 2007.

MOHSIN, G. F. *et al.* Structural characterization of melanoidin formed from D-glucose and L-alanine at different temperatures applying FTIR, NMR, EPR, and MALDI-ToF-MS. *Food*

*Chemistry*, v. 245, n. November 2017, p. 761–767, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.115>>.

MONLAU, F. *et al.* Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, v. 32, n. 5, p. 934–951, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.04.007>>.

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. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.023>>.

NCBI - NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Adipic Acid Toxicity. Bethesda, 2021. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Adipic-acid>>. Acesso em 12 de julho de 2021.

NOVACANA. Raízen irá investir em nova planta de etanol de segunda geração. Disponível em: <<https://www.novacana.com/n/etanol/2-geracao-celulose/raizen-investir-nova-planta-etanol-segunda-geracao-250621>> Acesso em 20 de julho de 2021.

OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. v. 4, 2011. Disponível em: <[https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/gsuweg4/en/](https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/gsuweg4/en/)> Acesso em junho de 2021.

ORHON, D.; GERMIRLI BABUNA, F.; KARAHAN ÖZGÜN, Ö. *Industrial Wastewater Treatment by Activated Sludge*. [S.l: s.n.], 2009.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, v. 74, n. 1, p. 25–33, 1 ago. 2000.

PANT, D.; ADHOLEYA, A. Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 12, p. 2321–2334, 2007. Disponível em: <[doi:10.1016/j.biortech.2006.09.027](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.027)>.

PARSAEE, M.; KIANI DEH KIANI, M.; KARIMI, K. A review of biogas production from sugarcane vinasse. *Biomass and Bioenergy*, v. 122, p. 117–125, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.034>>.

PARSAEE, M.; KIANI, M.; KARIMI, K. A review of biogas production from sugarcane vinasse. *Biomass and Bioenergy*, v. 122, p. 117–125, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953419300431>>. Acesso em: 19 ago. 2019.

PATTRA, S. *et al.* Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum*. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 33, n. 19, p. 5256–5265, 2008.

PEACOCK, M. *et al.* UV-visible absorbance spectroscopy as a proxy for peatland dissolved organic carbon (DOC) quantity and quality: considerations on wavelength and absorbance degradation. *Environmental Science Processes and Impacts*. v. 16. P 1445, 2014

PEÑA, M. *et al.* Chemical oxidation of wastewater from molasses fermentation with ozone. *Chemosphere*, v. 51, n. 9, p. 893–900, 2003. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653503001590?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 out. 2019.

PRASAD, R. K. Color removal from distillery spent wash through coagulation using *Moringa oleifera* seeds: Use of optimum response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials*, v. 165, n. 1–3, p. 804–811, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389408015598?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 out. 2019.

RAÍZEN. Nossos Negócios. 2020. Disponível em: <<https://www.raizen.com.br/nossos-negocios/etanol>>. Acesso em 20 de julho de 2021.

RAJ, K. *et al.* Biocatalytic production of adipic acid from glucose using engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering Communications*, v. 6, n. November 2017, p. 28–32, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meteno.2018.02.001>>.

RAJANI, V. Microbial Degradation of Phenol- A Review. *Journal of Water Pollution & Purification Research*, v. 4, n. 1, p. 46–54, 2017. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/316666855>>.

RAMOS, R. L. *et al.* Phenolic compounds seasonal occurrence and risk assessment in surface and treated waters in Minas Gerais—Brazil. *Environmental Pollution*, v. 268, p. 115782,

2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115782>>.

RIBEIRO, F. R. *et al.* Anaerobic digestion of hemicellulose hydrolysate produced after hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse in UASB reactor. *Science of the Total Environment*, v. 584–585, p. 1108–1113, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.170>>.

RUNKEL, A. A. *et al.* Exposure of men and lactating women to environmental phenols, phthalates, and DINCH. *Chemosphere*, v. 286, p. 131858, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131858>>.

SAILLENFAIT, A. M.; LAUDET-HESBERT, A. Phtalates. *EMC - Toxicologie-Pathologie*, v. 2, n. 1, p. 1–13, 2005.

SALAM, D. A. *et al.* Assessment of Aquatic Toxicity and Oxygen Depletion during Aerobic Biodegradation of Vegetable Oil: Effect of Oil Loading and Mixing Regime. *Environmental Science & Technology*, v. 46, p. 2352–2359, 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/sharingguidelines>>.

SANSON, A. L. *Estudo da Extração e Desenvolvimento de Metodologia para Determinação Simultânea de Microcontaminantes Orgânicos em Água Superficial por GC-MS e Métodos Quimiométricos*. 2012. 151 f. UFOP, 2012.

SANTANA, H. *et al.* Microalgae cultivation in sugarcane vinasse: Selection, growth and biochemical characterization. *Bioresource Technology*, v. 228, p. 133–140, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.075>>.

SATYAWALI, Y.; BALAKRISHNAN, M. Wastewater treatment in molasses-based alcohol distilleries for COD and color removal: A review. *Journal of Environmental Management*, v. 86, n. 3, p. 481–497, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479706004245?via%3Dihub>>.

Acesso em: 30 set. 2019.

SHAN, L. *et al.* Characterization of persistent colors and decolorization of effluent from biologically treated cellulosic ethanol production wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, n. 10, p. 10215–10222, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-6220-5>>.

SHAN, L. *et al.* Microbial community analysis in a combined anaerobic and aerobic digestion



system for treatment of cellulosic ethanol production wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 22, n. 22, p. 17789–17798, 2015. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/279966402%0AMicrobial>>.

SIDDIQUE, M. N. I.; WAHID, Z. A. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. *Journal of Cleaner Production*, v. 194, p. 359–371, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652618314951>>. Acesso em: 15 out. 2019.

SIRIANUNTAPIBOON, S.; PHOTHILANGKA, P.; OHMOMO, S. Decolorization of molasses wastewater by a strain No.BP103 of acetogenic bacteria. *Bioresource Technology*, v. 92, n. 1, p. 31–39, 2004.

SOLOMONS, T.W.G. Química Orgânica 1. 7. ed. v.1. LTC editora. Rio de Janeiro, 2001.

SOLOMONS, T.W.G. Química Orgânica 1. 7. ed. v.2. LTC editora. Rio de Janeiro, 2002.

SRIDEVI, V. *et al.* Metabolic pathways for the biodegradation of phenol. *Int J Eng Sci Adv Technol*, v. 2, n. 3, p. 695–705, 2012.

STICH, H. F. The beneficial and hazardous effects of simple phenolic compounds. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, v. 259, n. 3–4, p. 307–324, 1991.

TELEMAN, A. Hemicelulloses and Pectins. In: CO., W. DE G. G. & (Org.). *Wood chemistry and wood biotechnology*. Berlim: Göran Gellerstedt, Monica Ek, Gunnar Henriksson, 2009. p. 101–120.

USEPA. *Endocrine Disruptor Screening Program - Universe of Chemicals*. . [S.l.: s.n.], 2012. Disponível em: <[https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-07/documents/edsp\\_chemical\\_universe\\_and\\_general\\_validations\\_white\\_paper\\_11\\_12.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-07/documents/edsp_chemical_universe_and_general_validations_white_paper_11_12.pdf)>.

VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Lodos Ativados. 2. ed. Belo Horizonte, Editora UFMG, 2002. 428 p.

VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3. ed. Belo Horizonte, Editora UFMG. XXpp. 2005.

WEISHAAR, J. L. *et al.* Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science and*

*Technology*, v. 37, n. 20, p. 4702–4708, 2003.

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. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953400000179>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

WOSMAN, A. *et al.* Effect of operational strategies on activated sludge's acclimation to phenol, subsequent aerobic granulation, and accumulation of polyhydroxyalkanoates. *Journal of Hazardous Materials*, v. 317, p. 221–228, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.074>>.

WU, C. *et al.* The effect of toxic carbon source on the reaction of activated sludge in the batch reactor. *Chemosphere*, v. 194, p. 784–792, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.075>>.

WU, C.; ZHOU, Y.; SONG, J. The activated sludge metabolic characteristics changing sole carbon source from readily biodegradable acetate to toxic phenol. *Water Science and Technology*, p. 2324–2331, 2016. Disponível em: <<http://iwaponline.com/wst/article-pdf/73/10/2324/461125/wst073102324.pdf>>.

XAVIER, C.; CHAMORRO, S.; VIDAL, G. Chronic effects of kraft mill effluents and endocrine active chemicals on *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 75, n. 4, p. 670–676, 2005.

XAVIER, C. R. *et al.* Effects of phytosterols contained in pulp mill effluent on *D. magna* and *D. obtusa*. n. 1, p. 1–10, 2002.

XAVIER, CLAUDIA R *et al.* Activated sludge versus aerated lagoon treatment of kraft mill effluents containing  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol Activated sludge versus aerated lagoon treatment of kraft mill effluents containing  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol. v. 4529, 2009.

YADAV, S.; CHANDRA, R. Biodegradation of organic compounds of molasses melanoidin (MM) from biomethanated distillery spent wash (BMDS) during the decolourisation by a potential bacterial consortium. *Biodegradation*, v. 23, n. 4, p. 609–620, 2012.

YU, X. *et al.* Correspondence analysis of antioxidant activity and UV-Vis absorbance of Maillard reaction products as related to reactants. *LWT - Food Science and Technology*, v. 46,

n. 1, p. 1–9, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.010>>.

ZANUNCIO, A. J. V.; COLODETTE, E. J. L. Teores De Lignina E Ácidos Urônicos Na Madeira E Polpa Celulósica de Eucalipto. *Revista Árvore*, v. v.35, n. n.2, p. 341–347, 2011.

ZENG, J. *et al.* Isolation and structural characterization of sugarcane bagasse lignin after dilute phosphoric acid plus steam explosion pretreatment and its effect on cellulose hydrolysis. *Bioresource Technology*, v. 154, p. 274–281, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.072>>.

ZIELS, R. M. *et al.* Microbial community adaptation influences long-chain fatty acid conversion during anaerobic codigestion of fats, oils, and grease with municipal sludge. *Water Research*, v. 103, p. 372–382, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.07.043>>.

ZITOMER, D. H.; SPEECE, R. E. Sequential environments for enhanced biotransformation of aqueous contaminants. *Environmental Science and Technology*, v. 27, n. 2, p. 226–244, 1993.