

Universidade Federal do Paraná
Setor Palotina Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis

**Produção de Biogás a partir da Vinhaça de Sorgo Sacarino com
Enriquecimento Nutricional**

Aluno: Pedro Oswaldo Morell
Orientador: Dile Pontarolo Stremel

PALOTINA - PR
Junho de 2015

Universidade Federal do Paraná
Setor Palotina Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis

Produção de Biogás a partir da Vinhaça de Sorgo Sacarino com Enriquecimento Nutricional

Aluno: Pedro Oswaldo Morell
Orientador: Dile Pontarolo Stremel

Relatório de estágio apresentado
como parte das exigências para a
conclusão do Curso Superior de
Tecnologia em Biocombustíveis.

PALOTINA - PR
Junho de 2015

Universidade Federal do Paraná
Setor Palotina
Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis

**Produção de Biogás a partir da Vinhaça de Sorgo Sacarino com
Enriquecimento Nutricional**

Aluno: Pedro Oswaldo Morell
Orientador: Dile Pontarolo Stremel

"O PRESENTE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO FOI
APRESENTADO E APROVADO PELA SEGUINTE BANCA
EXAMINADORA:"

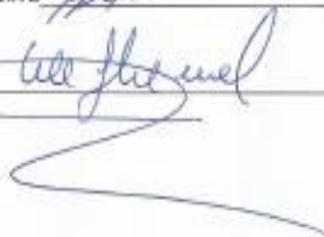
Membro 1: Wilson de Aguiar Beninca



Membro 2: Luis Fernando Gomes da Silva



Presidente: Dile Pontarolo Stremel



Sala 07 - Bloco II
02 de Junho de 2015

PALOTINA - PR

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Osmar e Marli, a minha namorada Viviane ao orientador Prof. Dile.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar a saúde e a capacidade de desenvolvimento deste trabalho.

À minha família e namorada, por me incentivar e apoiar na realização da graduação.

Ao Prof. Dr. Dile Pontarolo Stremel pela orientação, proporcionando o desenvolvimento da pesquisa.

A Universidade Federal do Paraná setor Palotina, por disponibilizar os laboratórios para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos técnicos do bloco multidisciplinar de química da Universidade Federal do Paraná setor Palotina, pela disposição e auxílio prestado.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para elaboração deste trabalho.

EPIGRAFE

“É o Senhor quem dá a sabedoria; a sabedoria e o entendimento vêm dele.”

Provérbios 2.6

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE SÍMBOLOS	ix
RESUMO	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	2
2.1. Objetivo Geral.....	2
2.2. Objetivos Específicos	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1. Vinhaça de Sorgo Sacarino	3
3.2. Tratamentos da Vinhaça.....	3
3.3. Biodigestão Anaeróbia e Enriquecimento Nutricional	4
3.4. Biodigestores Anaeróbios.....	6
3.5. O Biogás	7
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
4.1. Local do Experimento.....	10
4.2. A Vinhaça de Sorgo Sacarino	10
4.3. Inóculo	10
4.4. Caracterização Química da Vinhaça e Inóculo.....	10
4.5. Ensaio de Biodigestão Anaeróbia.....	11
4.6. Planejamento Experimental Fatorial Completo.....	13
4.7. Análise do Teor de Metano	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
5.1. Caracterização Química da Vinhaça e Inóculo.....	15
5.2. Produção de Biogás.....	16
6. CONCLUSÃO	18
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Condução dos ensaios utilizando reatores em estufa de banho d'água	11
Figura 2. Biorreator laboratorial construído para os ensaios de biodigestão anaeróbia.....	12
Figura 3. Esquema de estufa de banho d'água e reatores laboratoriais.....	12
Figura 4. Volume de Metano presente no Biogás gerado.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Especificações dos níveis das variáveis usadas no Planejamento Experimental Fatorial Completo $2^3 + 4$ pontos centrais.....	13
Tabela 2. Matriz do Planejamento Experimental Fatorial Completo $2^3 + 4$ pontos centrais.....	14
Tabela 3. Caracterização química da vinhaça e inóculo	15
Tabela 4. Volume acumulado de biogás produzido em ensaio utilizando Planejamento Experimental Fatorial Completo $2^3 + 4$ pontos centrais.....	16

LISTA DE SÍMBOLOS

K	Potássio
Ca	Cálcio
S	Enxofre
CH ₄	Metano
CO ₂	Dióxido de Carbono
O ₂	Gás Oxigênio
N ₂	Gás Nitrogênio
H ₂ O	Água
H ₂ S	Ácido Sulfídrico
NH ₄ ⁺	Amônia
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
P ₂ O ₅	Pentóxido de Fósforo
VS	Vinhaça de Sorgo Sacarino
MP	Fosfato Monobásico de Potássio
DP	Fosfato Dibásico de Potássio
UR	Uréia
DS	Dejeto Suíno
PC	Pontos Centrais
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
PET	Poli Tereftalato de Etila
Proálcool	Programa Nacional do Álcool

RESUMO

Neste trabalho empregou-se vinhaça proveniente da destilação da fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino, matéria prima semelhante à cana-de-açúcar, para avaliação do potencial metanogênico, por meio da biodigestão anaeróbica e enriquecimento nutricional. A vinhaça coletada e armazenada foi caracterizada quimicamente por meio da determinação dos teores de DQO, Amônia, Nitrito, Nitrato, Nitrogênio Total, Fósforo Total e Inorgânico, Sólidos Totais, Voláteis e Fixos. Foi aplicado o planejamento experimental fatorial completo $2^3 + 4$ pontos centrais, sendo avaliadas as variáveis uréia como fonte de nitrogênio, fosfato monobásico de potássio e fosfato dibásico de potássio como fontes de fósforo, o inóculo utilizado foi o efluente de suinocultura de terminação, obtendo-se assim 12 ensaios diferentes. Os ensaios foram conduzidos em reatores laboratoriais acoplados com seringas para monitoramento do volume de biogás produzido, os reatores foram acondicionados em estufa de banho d'água a 35 °C parcialmente submersos, com tempo de retenção hidráulica de 14 dias, sendo avaliado o volume de biogás produzido no período, por meio do deslocamento do embolo da seringa e a concentração de metano produzido foi avaliada com o auxílio do kit biogás desenvolvido pela Embrapa. Verificando-se a otimização da produção de biogás com a utilização de enriquecimento nutricional.

PALAVRAS-CHAVE: Vinhaça, Sorgo Sacarino, Biodigestão, Biogás.

1. INTRODUÇÃO

O etanol brasileiro é em sua maioria produzido a partir da biomassa de cana-de-açúcar, sendo em alguns casos substituída pelo sorgo sacarino, cultivado na entre safra, fonte renovável e de significativo seqüestro de carbono atmosférico. A produção de etanol no Brasil é fato marcante, pois além da frota veicular movida a etanol hidratado, existe também o consumo do etanol anidro no mercado interno na adição deste na gasolina e mercado externo (GRANATO e SILVA, 2002).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, tendo na safra de 2013-2014 produzido 653,519 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, dos quais foram gerados 27,543 milhões metros cúbicos de etanol. Os estados com maior produção são: São Paulo com 13,944 milhões metros cúbicos, Goiás com 3,879 milhões metros cúbicos, seguido de Minas Gerais com 2,657 milhões metros cúbicos, o estado do Paraná é o quinto maior produtor nacional de etanol com 1,488 milhões metros cúbicos (UNICA, 2015).

O sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), é uma gramínea de origem africana, considerada uma importante planta de interesse energético apresentando alta eficiência fotossintética e adaptação a condições adversas, sendo o cultivo integrado com a produção açucareira na entressafra da cana-de-açúcar, aumentando a quantidade de açúcar no colmo e diminuindo custos fixos na produção (QUEIROZ et al., 2013).

O sorgo sacarino vem se destacando em âmbito nacional e internacional pelo seu elevado potencial para produção de biocombustíveis, sendo o quinto cereal mais cultivado no planeta, ficando atrás apenas do trigo, arroz, milho e cevada, cultivada em inúmeras regiões do mundo (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).

A cultura apresenta vantagens como: rapidez no ciclo, cultura mecanizável, tolerância a seca e baixa fertilidade, utilização do bagaço como fonte de energia e contribuição para um balanço energético favorável (PARRELLA, 2010).

O processamento do sorgo sacarino para produção do etanol passa por diversas etapas sendo: o preparo da matéria prima, extração do caldo, tratamento do caldo, fermentação e destilação as principais etapas, muito semelhantes ao processamento da cana-de-açúcar. Sendo gerados diversos resíduos como o bagaço, cinzas, resíduos líquidos destacando-se a geração de vinhaça e emissões gasosas (VACCARI, 2005).

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial de produção de biogás em escala laboratorial, utilizando vinhaça de sorgo sacarino e enriquecimento nutricional para otimização da produção de biogás.

2.2. Objetivos Específicos

Caracterização da Vinhaça de Sorgo Sacarino e do Inóculo;

Montagem de reatores laboratoriais e estufa de banho d'água;

Avaliar a influência do enriquecimento nutricional por meio da adição de Uréia, Fosfato Monobásico de Potássio e Fosfato Dibásico de Potássio, na produção de biogás a partir da biodigestão da vinhaça de sorgo sacarino;

Análise do biogás gerado nos ensaios de biodigestão anaeróbia.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo serão abordados os principais temas relacionados à produção de biogás a partir da utilização de vinhaça de sorgo sacarino com enriquecimento nutricional.

3.1. Vinhaça de Sorgo Sacarino

Durante os processos de produção do etanol são gerados resíduos que quando não reutilizados podem causar impactos ambientais, entre esses resíduos esta a vinhaça que apresenta alto teor de matéria orgânica que, se tratada adequadamente, pode resultar em fonte potencial de energia (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007).

A vinhaça é um efluente altamente poluidor de cor marrom escuro, de natureza ácida, pH variando entre 3,7 e 5, é composta, em sua maioria, por 93% de água e 7% de sólidos, a fração sólida é constituída, principalmente, de compostos orgânicos e elementos minerais (MARQUES, 2006), tais como o potássio (K), o cálcio (Ca), o nitrogênio (N) e o enxofre (S) (LUDOVICE, 1997).

Sua força poluente, cerca de cem vezes a do esgoto doméstico, decorre da sua riqueza em matéria orgânica (BITTENCOURT et al., 1978). O lançamento da vinhaça de modo indiscriminado aos rios e corpos d'água pode poluir as reservas hídricas e, portanto causar sérios danos à biodiversidade e ecossistemas destes meios. A poluição dos cursos d'água é caracterizada pela introdução em sua massa líquida de qualquer elemento que lhe seja estranho. Mesmo que esse elemento se constitua de alguma riqueza, a água que o transporta estará poluída (DAMIANO, 2005).

Sendo assim, há a necessidade de um tratamento prévio para o seu descarte ao solo por meio da fertirrigação, a qual em excesso poderá percolar até os corpos d'água. Não obstante, em se tratando de uma "indústria de produto energético", a possibilidade de se converter a matéria orgânica da vinhaça em metano não deve ser desprezada, pois tal prática, além de minimizar os eventuais riscos de acidentes durante manuseio desse resíduo, facilita sua aplicação na lavoura na medida em que neutraliza o pH do efluente (VIANA, 2006).

3.2. Tratamentos da Vinhaça

Devido a essas características e por apresentar um custo relativamente baixo, a vinhaça pode ser utilizada para produção de ração animal, recuperação do potássio nela existente em teores razoáveis, produção de proteína unicelular, reciclagem para diluição do melaço, combustão, produção de levedura, uso na construção civil e atualmente esta sendo amplamente utilizada na fertirrigação de áreas de cultivo de

cana-de-açúcar, e biodigestão para produção de biogás (SZYMANSKI; BALBINOT; SCHIRMER, 2010).

A reciclagem da vinhaça para diluição do melaço é empregada para substituir o uso da água como diluente, sendo o aproveitamento da vinhaça para este fim limitado (LAIME et al., 2011).

A produção de levedura, a partir da vinhaça, é uma alternativa que permite reduzir a descarga de vinhaça, possuindo custos elevados nesta tecnologia, por meio da adição de sais de amônia e de magnésio para se obter o fermento seco, e a necessidade de evaporação da água da vinhaça, requerida neste processo. Para a fabricação de ração animal, utilizando vinhaça, é necessária a redução do nível de potássio, podendo ser empregada na fabricação de ração para bovinos, suínos e aves, em ruminantes, a ração não deve ultrapassar 10% da alimentação diária, em suínos de 2 a 3% (CORAZZA e SALLES FILHO, 2000).

A fertirrigação consiste na aplicação da vinhaça “in natura” ao solo, a vinhaça irriga e, ao mesmo tempo, fertiliza a lavoura, razão pela qual ela traz o duplo benefício da disposição da vinhaça e da economia de custos em insumos, diminuindo gastos com fertilizantes e, em consequência disso, tornou-se uma prática adotada por quase todas as indústrias sucroalcooleiras, sendo necessário considerar parâmetros ambientais como: tipo de solo, distância de cursos de água e percentual de sais presentes no solo (LAIME et al., 2011).

A biodigestão anaeróbia da vinhaça é uma tecnologia em que se produz o metano e o dióxido de carbono, apresenta redução significativa na DBO diminuindo o poder poluidor da vinhaça (GRANATO, 2003).

O processo de biodigestão anaeróbia é de grande interesse, pois apresenta diversas vantagens quando comparada aos outros processos de aproveitamento da vinhaça, tais como a redução da sua carga orgânica, por meio da conversão de parte da DBO em biogás, neutralização do pH aproximando-o de 7, solucionando o problema de corrosão, conservando os teores de NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio) da vinhaça in natura, mantendo o seu poder fertilizante (PRADA; GUEKEZIAN; SUAREZ, 1998).

3.3. Biodigestão Anaeróbia e Enriquecimento Nutricional

A biodigestão anaeróbia é considerada um tratamento de alta eficiência e baixo custo, possibilitando a diminuição do teor de matéria orgânica de efluentes enquanto produz biogás que é uma fonte energética (ANGELIDAKI e AHRING 1993).

Como alternativa tecnológica para reduzir o potencial poluidor da vinhaça quanto à matéria orgânica, destaca-se o processo anaeróbio pois além de promover o

tratamento e reciclagem dos dejetos, promove agregação de valor às atividades com a produção do biogás e do fertilizante, podendo ser revertidos ao sistema na economia de energia e fertilizantes (SANTOS; LUCAS JUNIOR; SILVA, 2007).

A biodigestão anaeróbica tem sido tradicionalmente utilizada na China e Índia (CÔTÉ; MASSE; QUESSY, 2006). Esta tecnologia tem sido muito aplicada em vários projetos e plantas industriais em plena execução na Europa, (SPIEGELEER, 1999). A biodigestão anaeróbia pode ser definida como uma complexa interação de microrganismos na ausência de oxigênio molecular, que degradam os diversos componentes orgânicos complexos como carboidratos, proteínas e lipídeos presentes no resíduo até a forma final de metano e dióxido de carbono, principalmente (CHERNICHARO, 1997).

i) A hidrólise promove a conversão do material orgânico particulado em compostos dissolvidos de menor peso molecular.

ii) Na acidogênese ocorre a absorção de compostos gerados na hidrólise através de bactérias fermentativas, resultando na formação de compostos orgânicos simples, estes produtos metabólicos são importantes substratos para as bactérias acetogênicas e para as arqueas metanogênicas. Os gêneros de bactérias acidogênicas comumente encontrados em reatores anaeróbios são *Clostridium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyribacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Desulfobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus* e *Escherichia*.

iii) Na acetogênese ocorre a conversão de compostos originados na acidogênese formando substratos para a produção de metano, tais como: acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Os gêneros de bactérias acetogênicas encontrados em biodigestores anaeróbios são *Syntrophobacter* e *Syntrophomonas*.

iv) Na metanogênese ocorre a formação do metano por meio de arqueas acetotróficas e arqueas hidrogenotróficas, sendo que as acetotróficas utilizam acetato, formando gás carbônico (CO₂) e metano (CH₄), são responsáveis por 60 a 70% de toda produção de metano. Pertencem a dois gêneros principais: *Methanosarcina* e *Methanosaeta*. As hidrogenotróficas utilizam o gás carbônico como fonte de carbono e acceptor final de elétrons, e o hidrogênio como fonte de energia, sendo que parte do gás carbônico reage com o hidrogênio para formação do metano (CHERNICHARO, 1997).

Os nutrientes contidos nos resíduos garantem a sobrevivência e reprodução dos microrganismos presentes durante a biodigestão anaeróbia, permitindo que ocorra a degradação da fração orgânica não estável e, portanto poluente, até a forma estável, o biofertilizante que pode ser usado com maior segurança como fertilizante de solos,

com reduzida quantidade de matéria orgânica, mas ainda com concentrações consideráveis de nutrientes, além de produzir o biogás (MADEJÓN, 2001).

Além do biogás tem-se o biofertilizante como produto deste processo. O mesmo apresenta compostos bioativos que resultam de compostos orgânicos de origem animal e vegetal após a biodigestão. Estes dois produtos permitem o aumento da produção agrícola, agregando valor às cadeias produtivas, organizando e garantindo uma fonte de energia renovável e de baixo custo (COSTA, 2012).

De modo geral, a biodigestão anaeróbia da vinhaça apresenta como vantagens o menor consumo de energia comparado a sistemas aeróbios, menor produção de lodo em virtude da menor produção de biomassa. Como desvantagem, o pH ácido da vinhaça que dificulta a biodigestão anaeróbia, possui o maior tempo de retenção comparado a sistemas aeróbios e produção de gases sulfurados com odor desagradável (CORTEZ et al., 2007).

A vinhaça após tratada deve ser utilizada com cautela, uma vez que pode contaminar águas subterrâneas e mananciais superficiais, devido à percolação ou arraste de elementos químicos como manganês, ferro, potássio, alumínio, cloreto, matéria orgânica, dentre outros (SZYMANSKI; BALBINOT; SCHIRMER, 2010).

Muitos pesquisadores consideram que os processos termofílicos têm maior eficiência na degradação de matéria orgânica em comparação com processos mesofílicos, podendo ser obtida maior produção de biogás (ZÁBRANSKÁ, 2002).

A composição dos resíduos utilizados na biodigestão afeta diretamente a produção de biogás, sendo que quanto maior a disponibilidade de sólidos voláteis, nitratos, fosfatos e sulfatos, têm-se elevadas produções de biogás. A produção de metano está diretamente relacionada com a DQO do resíduo, e a presença de nitrogênio na forma de proteínas é desejável, uma vez que a mineralização conduz à formação de amônia, que é útil no estabelecimento da alcalinidade (GRANATO, 2003).

Castro e Cortez (1998), estudaram diferentes temperaturas para analisar a produção de biogás e a degradação de sólidos totais e voláteis em biodigestores batelada em escala laboratorial, e concluíram que a temperatura mais adequada para a produção de biogás foi de 31 °C.

3.4. Biodigestores Anaeróbios

De forma geral os biodigestores são constituídos de uma câmara fechada onde ocorre a decomposição da matéria orgânica a qual é depositado em solução aquosa, formando o biogás que se acumula na parte superior da câmara (DEGANUTI et al., 2010). Os biodigestores proporcionam condições adequadas para a produção do

biogás, além de atuar no saneamento ambiental dos resíduos e geração de biofertilizantes (AZEVEDO, 2010).

Devido ao aumento do interesse na biodigestão anaeróbia de resíduos, diversos modelos de biodigestores foram propostos (SARAVANAN e SREEKRISHNAN, 2006). Sendo que estes podem ser divididos em biodigestores agrícolas e sanitários. No entanto, os biodigestores de uso sanitário podem ser utilizados nas agroindústrias para tratamento de resíduos agroindustriais, principalmente em indústrias de alimentos (FAISAL e UNNO, 2001). Dentre os biodigestores de modelos chinês, indiano e tubular, são os mais antigos no uso agrícola com sistema de abastecimento contínuo, sendo muito utilizados no Brasil (CERVI, 2009).

Novas configurações de reatores anaeróbios para conversão da matéria orgânica em biogás têm merecido a atenção dos pesquisadores com a intenção de aperfeiçoar o processo. Nesse contexto, devido à sua flexibilidade operacional (KENNEDY, 1991), e à possibilidade de aplicação a diversos tipos de águas residuárias, o reator anaeróbio operado em bateladas seqüenciais tem sido investigado com vários tipos de águas residuárias, tanto em condições de temperatura mesofílica (em torno de 35°C), como termofílica (55°C) (DÖLL e FORESTI, 2010).

Moura (2012) afirma que em meios muito ácidos a atividade enzimática das bactérias não ocorre e em meio altamente alcalino a fermentação produz anidrido sulfuroso e hidrogênio. Sendo assim assumindo-se que valores de pH próximos a neutralidade são os mais indicados na biodigestão.

A relação entre carbono e nitrogênio é um fator relevante nos processos de biodigestão, esta proporção deve ser a mais próxima do ideal entre 20:1 e 30:1, caso contrário, as bactérias não serão capazes de consumir todo carbono presente no meio e o desempenho do processo será baixo (SGORLON et al. 2011).

O tempo de retenção hidráulica é outro fator importante, sendo este o tempo necessário que o material permanece no biodigestor, o diferencial de tempo de entrada e saída dos diferentes materiais no biodigestor, como a água, sólidos e células (MOURA, 2012). Segundo Gomes e Cappi (2011), tempo de retenção hidráulica está diretamente relacionado com o teor de sólidos totais do substrato e se refere ao tempo necessário para que o material seja degradado dentro do biodigestor.

3.5. O Biogás

Registros históricos apontam que as civilizações desenvolvidas como a egípcia utilizavam a fermentação anaeróbia e obtinham biogás, o qual era empregado nas iluminações das pirâmides (SCHNEIDER, 2009). Em 1776 o químico Alessandro

Volta, obteve a primeira comprovação experimental na Itália, com a produção de metano por meio da decomposição de restos vegetais em ambientes confinados (COLDEBELLA et al., 2008).

O biogás é uma mistura gasosa, combustível, resultante da biodigestão anaeróbica da matéria orgânica. A proporção de cada gás na mistura depende de vários parâmetros, como o tipo do biodigestor e o substrato utilizado, sendo basicamente constituído de Metano (CH_4), Dióxido de Carbono (CO_2), Oxigênio (O_2), Nitrogênio (N_2), Água (H_2O) e Ácido Sulfídrico (H_2S). O biogás contém aproximadamente 36 a 50% de metano (CH_4) e de 15 a 60% de dióxido de carbono (CO_2) (STARR et al., 2012).

Segundo Ozturk e Demirciyeva (2013) a composição do biogás é de 40 a 70% de metano, 30 a 60% de dióxido de carbono, e traços de Ácido Sulfídrico (H_2S). O metano é o gás de maior interesse na mistura, sendo que quanto maior seu percentual, maior será o poder calorífico do biogás.

O biogás pode ser utilizado na geração de energia, devido ao seu potencial combustível, e poder calorífico em torno de 5.000 a 7.000 kcal Nm^3 , entretanto pode chegar a 12.000 kcal Nm^3 caso o CO_2 seja retirado da mistura, seu poder calorífico depende diretamente do seu teor de metano (CORTEZ et al., 2007).

Devido a problemas ambientais e a aprovação do Protocolo de Kyoto, além da constante elevação do preço dos combustíveis, o biogás passa a ser considerada uma fonte de energia alternativa. O biogás representa um avanço importante no sentido da solução do problema da disponibilidade energética no meio rural e industrial, tanto no uso para aquecimento e geração de vapor, quanto para a geração de energia elétrica (CERVI, 2009).

O biogás pode ser empregado em diferentes propósitos, desde a geração de calor, uso em motores de combustão interna, até a geração de energia elétrica. Em uma usina sucroalcooleira existem diversas opções para a utilização do biogás, dentre elas, queima em caldeira para geração de vapor, utilização em turbinas a gás para geração de energia elétrica e substituição de combustíveis utilizados na agroindústria (GRANATO, 2003).

A utilização de processos anaeróbios é amplamente praticada no tratamento de resíduos, uma vez que os microrganismos anaeróbios degradam a matéria orgânica, gerando o biogás e biofertilizante como produtos finais (LIANHUA; DONG; YONGMING, 2010).

Segundo Souza; Pereira; Pavan, (2004) outra vantagem no aproveitamento do biogás é o fato do metano ser um gás que contribui para o efeito estufa mais

intensamente que o dióxido de carbono e sua queima para a geração de energia contribui sobremaneira para a redução de seu efeito como tal.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão abordados as principais metodologias utilizadas para a caracterização da vinhaça e inóculo, bem como a construção de biorreatores laboratoriais e estufa de banho d'água, além da utilização de planejamento experimental para a realização dos ensaios de biodigestão anaeróbia e análise de metano.

4.1. Local do Experimento

A caracterização química da vinhaça bem como os ensaios de biodigestão anaeróbia foram realizados no Laboratório de Química Orgânica e Laboratório de Cinética e Biorreatores da Universidade Federal do Paraná Setor Palotina.

4.2. A Vinhaça de Sorgo Sacarino

A vinhaça utilizada no presente estudo foi adquirida em uma usina de pequeno porte do Laboratório de Produção Biocombustíveis da Universidade Federal do Paraná Setor de Palotina, no período de safra 2013/2014, sendo imediatamente acondicionada em garrafas PET de dois litros e armazenada em freezer.

4.3. Inóculo

O inóculo utilizado na biodigestão anaeróbia da vinhaça foi efluente, coletado na saída do biodigestor, em propriedade de suinocultura de terminação do senhor Ari Zimmermann no município de Maripá PR.

4.4. Caracterização Química da Vinhaça e Inóculo

A caracterização química da vinhaça e do inóculo foi realizada por meio da determinação da DQO, amônia, nitrito, nitrato, nitrogênio total, fósforo total, fósforo inorgânico e teor de sólidos. A DQO mede o consumo de oxigênio ocorrido em função da oxidação química da matéria orgânica, foi determinada pelo método espectrofotométrico. O teor de amônia (NH_4^+) foi determinado de acordo com o método proposto por Koroleff (1976). O teor de nitrito (NO_2^-) foi determinado de acordo com o método proposto por Mackereth; Heron; Talling, (1978). O teor de nitrato (NO_3^-) foi determinado através do método de Valderrama (1981) que pressupõe a redução do nitrato a nitrito por meio de cádmio, sendo a técnica mais adequada, em termos de sensibilidade e rapidez. O teor de fósforo inorgânico foi determinado através do método colorimétrico do azul de molibdênio, de acordo com Lampert e Sommer (1997). Os teores de nitrogênio total (N_2) e fósforo total (P_2O_5) foram determinados simultaneamente de acordo com o método proposto por Valderrama (1981). A

determinação do teor de sólidos compreende a determinação de sólidos totais, sólidos fixos, sólidos voláteis de acordo com o método proposto por Wetzel e Likens (1991). Metodologias na íntegra em anexo A.

4.5. Ensaio de Biodigestão Anaeróbia

Os ensaios de biodigestão anaeróbia foram conduzidos em reatores laboratoriais e estufa de banho d'água a temperatura de 35 °C, sendo necessário a construção de reatores laboratoriais com volume de 120 mL, bem como a construção de estufa para incubação dos reatores conforme Figura 1.



Figura 1. Condução dos ensaios utilizando reatores em estufa de banho d'água

Os biorreatores laboratoriais foram construídos utilizando-se canos de policloreto de vinila (PVC) com diâmetro de 25 mm, comprimento de 30 cm, volume de 120 mL sendo reservado 20 mL do volume total para câmara de gás, hermeticamente fechados com capes de PVC perfurados em uma das extremidades, acoplado a seringas de 20 mL, cuja função foi medir o volume de biogás produzido, conforme Figura 2.



Figura 2. Biorreator laboratorial construído para os ensaios de biodigestão anaeróbia

A estufa foi construída com as seguintes dimensões, 50 cm de largura x 90 cm de comprimento x 30 cm de profundidade, sendo composta por termostato da marca IMIT com controle de temperatura de 0 a 120 °C em escada de 5 °C e comando *on – off* interligado com o aquecedor de água, circulador de água modelo moto bomba submersa da marca Sarlobetter com vazão de 540 L h⁻¹ para homogeneização do meio, termômetro com faixa de leitura de -10 a 100 °C com escala de 1 °C da marca Incoterm para verificação da temperatura do sistema, suporte para acomodação dos reatores, conforme Figura 3.

Os reatores foram imersos em água a temperatura de 35 °C, temperatura esta mantida por aquecedores ligados à termostatos, os circuladores de água que garantem a homogeneidade da temperatura.

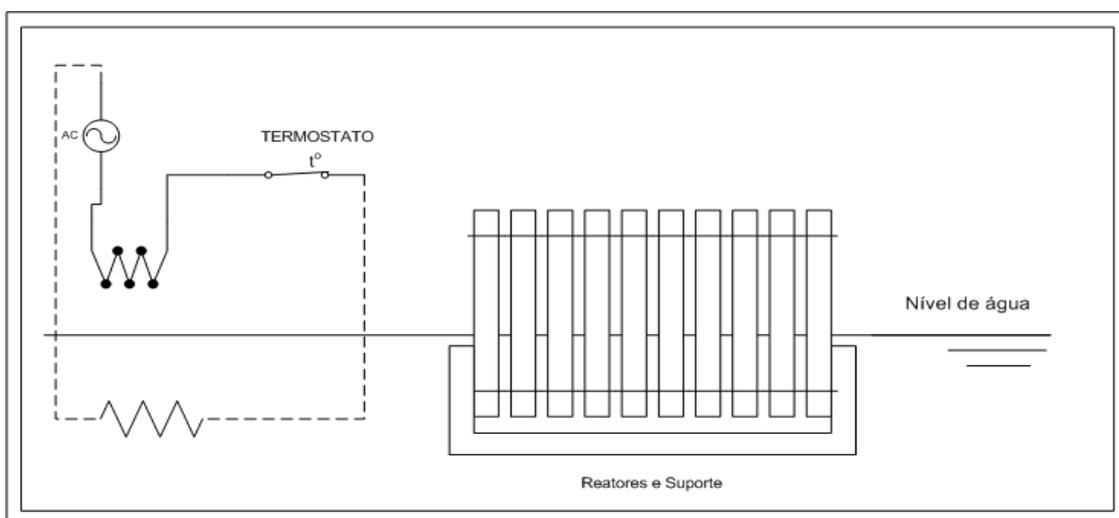


Figura 2. Esquema de estufa de banho d'água e reatores laboratoriais

4.6. Planejamento Experimental Fatorial Completo

Para avaliação da produção de biogás a partir da vinhaça utilizando-se Fatorial Completo $2^3 + 4$ pontos centrais (PC) conforme Tabela 1.

Utilizou-se as variáveis como fonte de fósforo utilizou-se Fosfato Monobásico de Potássio (MP) a partir de solução 20 g L^{-1} , nas proporções de 5 e 10 mL da respectiva solução, ou seja, 0,1 g e 0,2 g e o Fosfato Dibásico de Potássio (DP) a partir de solução 2 g L^{-1} , nas proporções de 5 e 10 mL da respectiva solução, ou seja, 0,01 g e 0,02 g, como fonte de nitrogênio utilizou-se Uréia (UR) a partir de solução $3,5 \text{ g L}^{-1}$, nas proporções de 5 e 10 mL da respectiva solução, ou seja, 0,0175 g e 0,035 g.

A vinhaça de sorgo sacarino foi utilizada na proporção de 25 mL e o inóculo foi utilizado na proporção de 10 mL, o volume total adicionada aos reatores foi de 100 mL, completando-se o volume restante com água, conforme Tabela 1, objetivando a variável resposta volume de biogás.

Xavier; Lucas Junior, (2010) afirmaram que a presença de inóculo favorece o processo de biodigestão, contribuindo para a melhoria nos teores de metano na composição do biogás.

O volume de biogás foi avaliado diariamente durante 14 dias observando o deslocamento do êmbolo da seringa, sendo a seringa retirada quando cheia e o biogás analisado e posteriormente descartado, a seringa foi então novamente acoplada ao biorreator para continuar a medição do biogás.

Tabela 1. Especificações dos níveis das variáveis usadas no Planejamento Experimental Fatorial Completo $2^3 + 4$ pontos centrais

Variável	Níveis		
	-1	0	+1
Fosfato Monobásico de Potássio (mL)	5	7,5	10
Fosfato Dibásico de Potássio (mL)	5	7,5	10
Uréia (mL)	5	7,5	10

Obteve-se 12 combinações diferentes, sendo os reatores identificados de S1 a S12 conforme Tabela 2.

Tabela 2. Matriz do Planejamento Experimental Fatorial Completo $2^3 + 4$ pontos centrais

Ensaio	Fosfato Monobásico de Potássio	Fosfato Dibásico de Potássio	Uréia
S1	-1 (5 mL)	-1 (5 mL)	-1 (5 mL)
S2	+1(10 mL)	-1 (5 mL)	-1 (5 mL)
S3	-1 (5 mL)	+1(10 mL)	-1 (5 mL)
S4	+1(10 mL)	+1(10 mL)	-1 (5 mL)
S5	-1 (5 mL)	-1 (5 mL)	+1 (10 mL)
S6	+1(10 mL)	-1 (5 mL)	+1(10 mL)
S7	-1 (5 mL)	+1(10 mL)	+1(10 mL)
S8	+1(10 mL)	+1(10 mL)	+1(10 mL)
S9	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)
S10	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)
S11	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)
S12	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)	0 (7,5 mL)

4.7. Análise do Teor de Metano

O teor de metano foi determinado por meio da utilização do Kit de Análise de Biogás desenvolvido em parceria entre EMBRAPA aves e suínos e ALFAKIT LTDA, o qual é comercializado visando atender as necessidades das propriedades rurais que operam biodigestores, este disposto em patente de tecnologia P.I. 0706174-9 INPI, a análise foi realizada seguindo as orientações do manual de análises.

O método promove a lavagem do biogás em solução alcalina, o kit é composto por uma seringa de vidro conectado por meio de um suporte a outra seringa plástica contendo a solução alcalina, apresentando 2,5% de precisão, uma vez que segundo o fabricante o kit foi calibrado através de cromatografias.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão abordados os principais resultados dos ensaios de biodigestão anaeróbia da vinhaça de sorgo sacarino com enriquecimento nutricional por meio da aplicação de planejamento experimental fatorial completo.

5.1. Caracterização Química da Vinhaça e Inóculo

A vinhaça de sorgo sacarino utilizada no presente estudos possui DQO de 87.747 mg L⁻¹, enquanto que a vinhaça de cana-de-açúcar apresenta 27.224 mg L⁻¹. De acordo com Freire e Cortez (2000), a vinhaça apresenta elevadas taxas de DQO 10.000 a 210.000 mg L⁻¹.

A vinhaça é rica em nutrientes, segundo Glória e Orlando Filho (1984), a vinhaça possui quantidades significativas de elementos químicos essenciais às plantas apresentando 460 mg L⁻¹ de nitrogênio e 240 mg L⁻¹ de fósforo, enquanto que UENO et al., (2013), caracterizaram a vinhaça e obtiveram valores de nitrogênio total 2.380 mg L⁻¹, e fósforo 127,3 mg L⁻¹, a vinhaça de sorgo sacarino utilizada nos ensaios apresenta nitrogênio total de 1.897 mg L⁻¹ e fósforo total 2.341 mg L⁻¹, enquanto que a vinhaça de cana-de-açúcar apresenta nitrogênio total 6.537 mg L⁻¹ e fósforo total 19.567 mg L⁻¹. A caracterização química da vinhaça e inóculo esta expressa na Tabela 3.

Tabela 3. Caracterização química da vinhaça e inóculo

Determinações	Sorgo sacarino	Cana-de-Açúcar	Inóculo
DQO	87.747 (mg L ⁻¹)	27.224 (mg L ⁻¹)	32.657 (mg L ⁻¹)
Amônia	800 (mg L ⁻¹)	4.387 (mg L ⁻¹)	6.828 (mg L ⁻¹)
Nitrato	951 (mg L ⁻¹)	1.264,9 (mg L ⁻¹)	10.718 (mg L ⁻¹)
Nitrito	146 (mg L ⁻¹)	393,6 (mg L ⁻¹)	3.286 (mg L ⁻¹)
Nitrogênio Total	1.897 (mg L ⁻¹)	6.537 (mg L ⁻¹)	20.832 (mg L ⁻¹)
Fósforo Total	2.341 (mg L ⁻¹)	19.567 (mg L ⁻¹)	43.340 (mg L ⁻¹)
Fósforo Inorgânico	1.498 (mg L ⁻¹)	15.135 (mg L ⁻¹)	36.504 (mg L ⁻¹)
Sólidos Totais	74,68 (g L ⁻¹)	15 (g L ⁻¹)	78,93 (g L ⁻¹)
Sólidos Fixos	8,37 (g L ⁻¹)	3 (g L ⁻¹)	6,40 (g L ⁻¹)
Sólidos Voláteis	66,3 (g L ⁻¹)	12 (g L ⁻¹)	72,53 (g L ⁻¹)

De acordo com Cabello; Scognamiglio; Terán, (2009), a composição da vinhaça pode variar em relação ao tipo de solo, método de colheita, processo de produção. Segundo Oliveira (2012), a composição química da vinhaça pode variar dentro de largos limites, sendo influenciada por diversos fatores, em que pode ser destacada a natureza e composição da matéria-prima.

5.2. Produção de Biogás

O volume acumulado de biogás produzido durante o período de incubação foi avaliado por meio do deslocamento do embolo da seringa e quando se obteve a capacidade máxima da seringa o biogás foi analisado e descartado, acoplado-se a seringa novamente ao biorreator laboratorial para a medição do volume de biogás produzido, sendo os valores de biogás gerado bem como a concentração de metano expressos na Tabela 4.

Tabela 4. Volume acumulado de biogás produzido em ensaio utilizando Planejamento Experimental Fatorial Completo $2^3 + 4$ pontos centrais

Ensaio	Biogás	Metano
S1	140 (mL)	33 (%)
S2	290 (mL)	68 (%)
S3	246 (mL)	58 (%)
S4	214 (mL)	50 (%)
S5	274 (mL)	64 (%)
S6	163 (mL)	38 (%)
S7	159 (mL)	37 (%)
S8	177 (mL)	41 (%)
S9	145 (mL)	34 (%)
S10	143 (mL)	34 (%)
S11	169 (mL)	39 (%)
S12	162 (mL)	37 (%)

Observando-se que os volumes acumulados de biogás produzido durante o período de incubação variou entre os volumes de 140 mL e 290 mL de biogás, sendo os ensaios S1, composto por 5 mL de MP, 5 mL de DP e 5 mL de UR e o ensaio S2, composto por 10 mL de MP, 5 mL de DP e 5 mL de UR, respectivamente. Enquanto que a concentração de metano variou entre 33% dos ensaios S1 e 68% do ensaio S2.

Convertendo-se a porcentagem de metano em volume proporcional de metano no biogás, obtêm-se os valores expressos na Figura 4, sendo que o volume de metano variou entre 47mL e 196 mL dos ensaios S1 e S2 respectivamente.

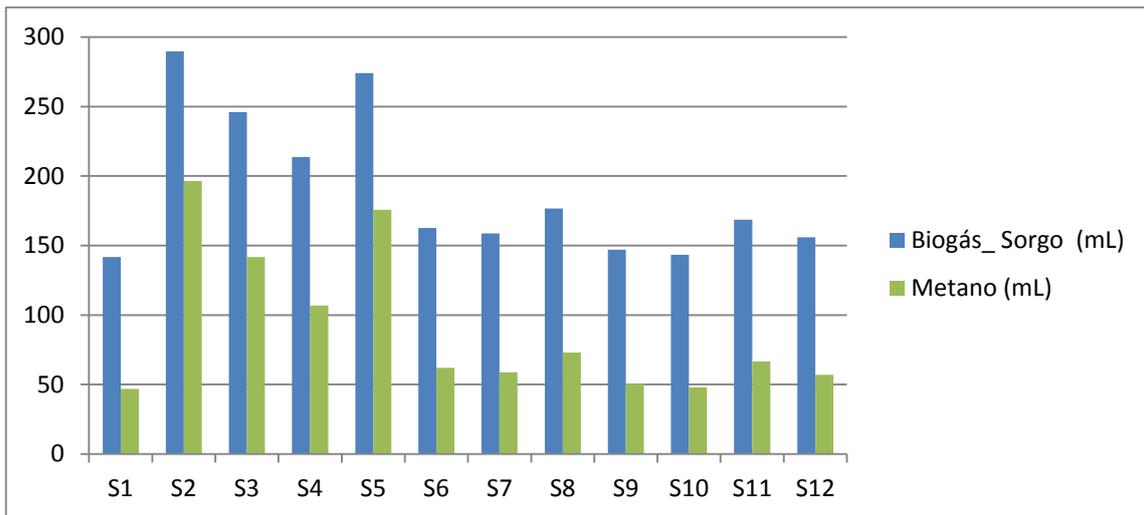


Figura 4. Volume de Metano presente no Biogás gerado.

A partir dos resultados obtidos é possível observar que o aumento da concentração de Fosfato Monobásico de Potássio otimizou o volume de biogás gerado, bem como, a concentração de metano, o que aumenta o poder calorífico do biogás produzido.

UENO et al., (2013), observaram a produção de 19 mL de biogás acumulados em experimento ao longo de 5 dias, utilizando apenas mistura de lodo e vinhaça na proporção de 20 mL de inóculo de lodo anaeróbio de indústria de gelatinas e 100 mL de vinhaça. Ainda observaram que tratamentos utilizando vinhaça, sem a adição de microrganismos do lodo, obtiveram produção de biogás em nível desprezível, comprovando a necessidade da utilização de uma fonte de microrganismos.

A composição do biogás produzido com vinhaça, observado por UENO et al., (2013) variou entre 37,03 e 2,21 % de metano, concluíram que a adição fracionada de vinhaça, favoreceu o volume de biogás gerado na biodigestão anaeróbia, assim como no teor de metano presente no biogás.

6. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a vinhaça de sorgo sacarino obtida em uma usina de pequeno porte no Laboratório de Produção de Biocombustíveis da Universidade Federal do Paraná setor Palotina, oriunda da produção de etanol, é um substrato viável tecnicamente para a produção de biogás, apresentando grande potencial de produção de biogás em escala laboratorial, possibilitando o aproveitamento energético da vinhaça em escala industrial.

A biodigestão da vinhaça, utilizando o enriquecimento nutricional por meio da adição de Uréia, Fosfato Monobásico de Potássio e Fosfato Dibásico de Potássio, otimizou a biodigestão. Sendo que o Fosfato Monobásico de Potássio apresentou maior significância na otimização, proporcionando elevadas taxas de metano no biogás produzido.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELIDAKI, I; AHRING, B. K. **Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia.** Appl. Microbiol Biotechnol, v.4, p.38-56. 1993

AZEVEDO, F. G. **Estudo das condições ambientais para produção de Biogás a partir de glicerol co-produto do Biodiesel.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) -Universidade Federal de Pernambuco – Campus de Recife – PE – Área de Concentração Engenharia Química, Recife, PE, 2010

BITTENCOURT, V. C; et al., **Composição da Vinhaça.** Brasil Açucareiro, v.92, n.4, p.25-35, 1978

CABELLO, P. E; SCOGNAMIGLIO, F. P; TERÁN, F. J. C. **Tratamento de Vinhaça em Reator Anaeróbio de leito fluidizado.** Engenharia ambiental, Presidente Prudente – SP, v.6, n.1, p.321-338, 2009

CASTRO, L. R; CORTEZ, L. A. B. **Influência da temperatura no desempenho de biodigestores com esterco bovino.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.2, n.1, p.97-102, 1998

CERVI, R. G. **Avaliação econômica do aproveitamento do biogás e biofertilizante produzido por biodigestão anaeróbia: Estudo de caso em unidade biointegrada.**Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas da Unesp –Campus de Botucatu – SP – Área de Concentração em Energia na Agricultura, Botucatu, SP,2009

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios.** Belo Horizonte. Departamento de Engenharia sanitária e Ambiental – DESA, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, v. 5. 2ª Ed. 380 p. 1997

COLDEBELLA, A; et al., **Viabilidade da Geração de Energia elétrica através de um motor gerador utilizando biogás da suinocultura.**Informe Gepec – Vol. 12, nº2, jul./dez. 2008

CORAZZA, R. I; SALLES FILHO, S. **Opções produtivas mais limpas: uma perspectiva evolucionista a partir de um estudo de trajetória tecnológica na agroindústria canavieira.** Núcleo PGT – USP. São Paulo. Anais. São Paulo: XXI Simpósio de Gestão da Inovação da Tecnológica, p.89-102, 2000

CORTEZ, L. A. B; et al., de. **Biodigestão de efluentes**. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. S. (Coord.). Biomassa para energia. Campinas: Editora da UNICAMP. cap. 15, p. 493-529, 2007

COSTA, L. V. C. **Produção de Biogás Utilizando Cama de Frango Diluída em Água e em Biofertilizante de Dejetos de Suínos**. Tese (Doutorado Programa de Pós-Graduação em Energia na Agricultura), Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp. Botucatu – SP. 90f. 2012

COTÉ, C; MASSE, D.I; QUESSY, S. **Reduction of indicator and pathogenic microorganisms by psychrophilic anaerobic digestion in swine slurries**. Bioresource Technology, Oxford, v.97, n.1, p.686-691, 2006

DAMIANO, E. S. G. **Tratamento da vinhaça em reator anaeróbio de leiteo fluidificado**. Dissertação (Mestrado). EESC-USP, São Carlos. 98 p. 2005

DEGANUTTI, R.; et al., **Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em AnSBBR operado a 55 e 35°C**, Engenharia Sanitária Ambiental. v. 15 n. 3 p. 275-282, 2010

DÖLL, M. M. R; FORESTI, E. **Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em AnSBBR operado a 55 e 35°C**, Engenharia Sanitária Ambiental. v. 15 n. 3 p. 275-282, 2010

FAISAL, M; UNNO, H. **Kinetic analysis of palm oil Mill waste water treatment by a modified anaerobic baffed reactor**. Biochemical Engineering Journal, v. 9, p 25-31, 2001

FORNASIERI FILHO, D; FORNASIERI, J. L. **Manual da cultura do sorgo**. Jaboticabal: Funep, 2009.

FREIRE, W. J; CORTEZ, L. A. B, **Vinhaça de cana-de-açúcar**, Editora, Agropecuária, Campinas, 203p. 2000

GLÓRIA, N; ORLANDO FILHO, J. **Aplicação de vinhaça: Um resumo e discussões sobre o que foi pesquisado**. Revista de Alcool e Açúcar, v.1, p.32-39, 1984

GOMES, F. O; de C; CAPPI, N. **Redução de Sólidos de Dejetos de Poedeiras em Biodigestores Operados com Diferentes Tempos de Retenção Hidráulica**. In: Periódicos UEM. Anais... Encontro de Iniciação Científica, v.1, n.1. 2011

GRANATO, E. F; SILVA, C. L.. **Geração de energia elétrica a partir do resíduo vinhaça**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial da Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2002

GRANATO, E. F. **Geração de energia através da biodigestão anaeróbia de vinhaça**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial) – Universidade Estadual Paulista, Bauru. 2003

KENNEDY, K. J. **Performance of anaerobic sludge blanket sequencing batch reactors**. Research Journal of Water Pollution Control Federation, v. 63, p. 75-83, 1991.

KOROLEFF, F. **Determination of nutrients**. pg. 117-181. In: Grasshoff, K. (ed.) Methods of seawater analysis. Verlag Chemie Weinheim, 1976.

LAIME, E. M. O; et al., **Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão**. Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas, v.5, n.3, 2011.

LAMPERT, W; SOMMER, U. **Limnoecology: the ecology of lakes and streams**. New York: Oxford University Press, 382 p. 1997.

LIANHUA, L; DONG, L; YONGMING, S. **Effect of temperature and solid concentration on anaerobic digestion of rice straw in South China**. International Journal of Hydrogen Energy, v.35, p.7261-7266, 2010

LUDOVICE, M. T. **Estudo do Efeito Poluente da Vinhaça Infiltrada em Canal Condutor de Terra Sobre o Lençol Freático**, Campinas, FEC-Unicamp, p.5-6, Dissertação de Mestrado, 1996

MACKERETH, J. F. H; HERON, J; TALLING, J. F. **Water analysis: some revised methods for limnologists**. Freshwater Biological Association, n. 36, 121 p., 1978

MADEJÓN, E. **Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain)**. Agriculture, Ecosystems & Environment, v. 84, n. 1, p. 55-65, 2001

MARQUES, M. O. **Aspectos técnicos e legais da produção, transporte e aplicação de vinhaça**. In: SEGATO, S.V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. Atualização em produção de cana-de-açúcar. Piracicaba: p.369-375, Editorial 2006

MOURA, J. P. de. **Estudo de casos das rotas tecnológicas para produção de biogás e da influência da composição química de dejetos de matrizes suínas na qualidade do biogás gerada por biodigestor**. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica), Universidade Federal de Pernambuco. 122f. 2012

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

OZTURK, B; DEMIRCIYEVA, F. **Comparison of biogas upgrading performances of different mixed matrix membranes**. Chemical Engineering Journal, v.222, p.209–217. 2013

PARRELLA, R. A. C. **Desempenho de cultivares de sorgo sacarino em diferentes ambientes visando à produção de etanol**. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Resumos, 2010

PRADA, S. M; GUEKEZIAN, M; SUAREZ-IHA, M. E. V. **Metodologia Analítica Para a Determinação de Sulfato em Vinhoto**. Quím.Nova, vol.21, nº 3, p.249-252, maio/jun.1998

QUEIROZ, T. R.; et al., **Análise da viabilidade econômica e as potencialidades de produção de biocombustível a partir do sorgo sacarino (Sorghum bicolor L. Moench)**. GDS – Gestão da Sustentabilidade. XXIV ENANGRAD, Resumos. Florianópolis, SC. 2013.

SALOMON, K. R. **Avaliação técnico-econômica e ambiental da utilização do biogás proveniente da biodigestão da vinhaça em tecnologias para geração de eletricidade**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Itajubá – 2007.

SANTOS, T. M. B; LUCAS JÚNIOR, J; SILVA, F. M. **Avaliação do desempenho de um aquecedor para aves adaptado para utilizar biogás como combustível**. Engenharia Agrícola, Jaboticabal, v.27, n.3, p.658-664, 2007.

SARAVANAN, V; SREEKRISHNAN, T.R. **Modelling anaerobic biofilm reactors - A review**. Journal of Environmental Management, v. 81, p-1-18, 2006.

SCHENEIDER, M. E. **O Egito Antigo. Que história é essa?** Editora Saraiva. 2009.

SGORLON, J G; RIZK, M. C; BERGAMASCO, R; TAVARES, C. R. G. **Avaliação da DQO e da Relação C/N Obtidas no Tratamento Anaeróbio de Resíduos Fruti-hortícolas**. Acta Scientiarum Technology, v.33, n.4, p.421-424. 2011.

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

SOUZA, S. N. M. DE; PEREIRA, W. C; PAVAN, A. A. **Custo da eletricidade gerada em conjunto motor gerador utilizando biogás da suinocultura.** Acta Scientiarum Technology, v.26, p.127-133, 2004

SPIEGELEER, E. **The power of organic wastes;** CADDET Renewable Energy Newsletter, p. 4-6.1999

STARR, K; et al., **Life cycle assessment of biogas up grading technologies.** Waste Management, v.32, p.991-999, 2012

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

UENO, C. R. J; et al., **Influência da adição fracionada de vinhaça na produção de biogás.** Revista brasileira de Biociências, v.11, n.1, p.115-118, 2013

UNICA. Tabelas Safra 2013/14. <http://www.unicadata.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4&acao=visualizar&idTabela=1610&safra=2013%2F2014&estado=RS%2CSC%2CPR%2CSP%2CRJ%2CMG%2CES%2CMS%2CMT%2CGO%2CDF%2CBA%2CSE%2CAL%2CPE%2CPB%2CRN%2CCE%2CPI%2CMA%2CTO%2CPA%2CAP%2CRO%2CAM%2CAC%2CRR> Acesso em 17/05/2015

VACCARI, G. **Overview of the environmental problems in beet sugar processing: possible solutions.** Journal of Cleaner Production, v. 13, n. 5, p. 499-507, 2005

VALDERRAMA, J.C. **The simultaneous analysis of total nitrogen and phosphorus in natural waters.** Mar. Chem., v.10, p.109-122,1981

VIANA, A. B. **Tratamento anaeróbio da vinhaça em reator UASB operado em temperatura na faixa termofílica (55° C) e submetido ao aumento progressivo de carga orgânica.** Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 88 p. 2006

WETZEL, R. G; LIKENS, G. E. **Limnological Analyses.** New York: Springer Velage. 391p. 1991

XAVIER, C. A. N; DE LUCAS JÚNIOR, J. **Parâmetros de dimensionamento para biodigestores batelada operados com dejetos de vacas leiteiras com e sem uso de inóculo.** Engenharia Agrícola, 30(2): 212-223, 2010.

ZÁBRANSKÁ, J. **The contribution of thermophilic anaerobic digestion to stable operation of wastewater sludge treatment.** Water Science and Technology, v. 46, n. 4-5, p. 447-453, 2002

ANEXO A

Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) pelo Método Colorimétrico ou Refluxo Fechado

É um sistema de medida usado para contaminação aquática, que consiste em usar ácido sulfúrico e cromo para analisar o máximo consumo de oxigênio na amostra.

Para amostras de origem específica, a demanda química de oxigênio pode ser relacionada empiricamente com demanda orgânica de carbono ou matéria orgânica. O teste é útil para monitorar e controlar correlações anteriormente estabelecidas.

O método de refluxo de dicromato é preferido aos processos usando outros oxidantes. A oxidação da maioria dos compostos orgânicos é 95 a 100% do valor teórico.

Materiais:

a) Tubos Digestores: Preferivelmente use tubos de cultura de borosilicato de 16 x 100 mm, 20 x 150 mm ou 25x 150 mm, com tampa em TFE de parafuso enrugado. Alternativamente, use ampolas de borosilicato de capacidade 19 a 20 mm de diâmetro.

b) Bloco Aquecedor ou Estufa, para operar a 150 ± 2 °C.

Nota: danos severos de muitos tubos de cultura fechados da digestão em estufa introduzem uma fonte potencial de contaminação e aumentam a probabilidade de vazamentos. Use uma estufa para digestão de tubos de cultura apenas quando ela estiver sendo determinada por 02 horas de exposição a 150 °C, assim não danificará as tampas.

c) Espectrofotômetro para uso a 600 nanômetros (nm) com entrada para um adaptador para ampola ou tubos de 16, 20 ou 25 mm.

Reagentes:

a) Solução Padrão de Biftalato de Potássio Padrão (KHP): Amasse (esmague) levemente e depois seque o biftalato de potássio à peso constante à 120° C. Dissolva 425 mg em água destilada e dilua para 1000 mL. O KHP tem uma DQO de 1.176 mg de O₂/mg e esta solução tem uma DQO teórica de 500 µg de O₂/mL. Esta solução é estável quando refrigerada por mais de três meses na ausência de crescimento biológico visível.

b) Ácido Sulfúrico Reagente: Adicione Ag₂SO₄ em grau reagente ou técnico, ou como cristais ou em pó ao H₂SO₄ concentrado, à taxa de 5,5g de Ag₂SO₄/kg de H₂SO₄ (geralmente utiliza-se 10,12g de Ag₂SO₄ para cada litro de H₂SO₄). Deixe ficar 01 ou 02 dias para dissolver o Ag₂SO₄ (normalmente 01 dia é suficiente).

c) Solução Digestora: Adicione à cerca de 500 mL de água destilada 10,216 g de $K_2Cr_2O_7$, grau padrão primário, previamente seco à 103 °C por 2h, 167 mL de H_2SO_4 . Dissolva, resfrie à temperatura ambiente, e dilua para 1000 mL.

Procedimento:

a) Tratamento das Amostras: Preparação da Curva de Calibração: Prepare pelo menos cinco padrões de solução de biftalato de potássio com DQO's equivalentes entre 20 a 500 mg de O_2/L , meça um volume suficiente de amostra e reagentes para o tubo ou ampola de acordo com a tabela abaixo. Prepare, digira e resfrie as amostras, e os padrões para a curva de calibração. Digerir em estufa a 150 °C por 02 horas.

b) Preparação: Coloque a amostra no tubo e adicione a solução digestora conforme a tabela. Cuidadosamente despeje o ácido sulfúrico reagente pela parede para a parte inferior do tubo. Aperte bem as tampas dos tubos e inverta cada um deles várias vezes para misturar completamente. Para evitar a interferência principalmente de cloretos utiliza-se sulfato de mercúrio $HgSO_4$, coloque em cada tubo, um cristal do sal.

c) Medidas da Redução do Dicromato: Inverta várias vezes as amostras, o branco e os padrões resfriados e deixe os sólidos decantarem antes de medir a absorbância em 600 nm. Leia a absorbância e compare com a curva de calibração.

Tubos de Cultura (16 x 100 mm)	Volume da amostra	Água destilada (mL)	Solução Digestora (mL)	Solução de Ácido sulfúrico (mL)	Volume total (mL)
Amostra	2,5	0,0	1,5	3,5	7,5
Branco	0,0	2,5	1,5	3,5	7,5

Padrões com a Solução de Biftalato

Padrões (mg de O_2/L)	Volume da Solução de Biftalato (mL)	Água Destilada (mL)	Solução Digestora (mL)	Ácido Sulfúrico (mL)
500	2,5	0,0	1,5	3,5
400	2,0	0,5	1,5	3,5
300	1,5	1,0	1,5	3,5
100	0,5	2,0	1,5	3,5
20	0,1	2,4	1,5	3,5

Determinação de amônio (NH₄⁺)

Forma importante, porém, encontrada em baixas quantidades para o abastecimento dos organismos; é o produto final da decomposição da matéria orgânica por meio de bactérias heterotróficas (Schäfer, 1988; Esteves, 1998).

Em limnologia as referências às concentrações de amônia incluem NH₃ (íon amônia) e NH₄⁺ (íon amônio). A concentração do íon amônio é mais baixa na camada em que o fitoplâncton está presente. Sua absorção é energeticamente mais viável. Não havendo necessidade de redução deste íon como ocorre com o nitrato (Wetzel, 1981; Odum, 1988; Schäfer, 1988; Paranhos, 1996).

O pH e a temperatura interferem nas proporções de NH₃ e NH₄⁺ (Jørgensen, 1993; Baumgarten, 1996; Lampert & Sommer, 1997). Segundo Esteves (1988), em pH básico (superior a 8,5, de acordo com Carmouze, 1994) o íon amônio (NH₄⁺) se transforma em amônia (NH₃) que dependendo da concentração pode ser tóxica aos peixes. A forma NH₃ prevalece quando o pH é superior a 10.

Em meios anóxicos e em locais próximos a efluentes urbanos, as concentrações de amônia são elevadas, sendo esse parâmetro um bom traçador de contaminação orgânica (Baumgarten, 1996).

Descrição do princípio do método, de acordo com Koroleff (1976):

A amônia é produzida pela desaminação dos compostos orgânicos que contém nitrogênio, pela hidrólise da uréia e pela redução do nitrato em condições de anaerobiose.

No método em questão a amônia reage com o fenol e hipoclorito de sódio em uma solução alcalina (pH entre 8 e 11,5, em valores superiores a amônia é oxidada a nitrito) para formar uma solução de cor azul. A reação é catalizada pelo nitroprussiato de sódio. O citrato é adicionado para dar mais estabilidade à solução de hipoclorito. A absorbância resultante é proporcional à amônia presente e é medida espectrofotometricamente a 630nm. Uma vez formada, a cor azul de indofenol é estável por cerca de 30 horas desde que o frasco esteja vedado.

Reagentes para determinação do teor de amônio:

a) Solução estoque de cloreto de amônia (NH₄Cl): 140 µg/mL: Tomar 0,2675 g de NH₄Cl (seco em estufa por 1 hora a 100 °C), após dissolver em 500 mL de água destilada. * Segundo Koroleff (1976) e Paranhos (1996), a esta solução deve ser adicionada 01 gota de clorofórmio para que se mantenha estável por 01 mês, se armazenada em um frasco de vidro âmbar com tampa esmerilhada e mantida sob refrigeração.

a) Solução de citrato-trissódico ($C_6H_5.Na_3O_7.2H_2O$): Dissolver 240 g em 500 mL e adicionar 20 mL da solução de NaOH (0,5 N) - Ferver para a remoção da amônia, até um volume inferior a 500 mL e diluir para 500 mL. Estocar em frasco de vidro com tampa de plástico. Esta solução é estável.

b) Fenol (C_6H_5OH): Dissolver 19 g de fenol e 0,2 g de nitroprussiato de sódio dihidratado ($Na_2Fe(CN)_5NO.2H_2O$) e diluir para 500 mL de água livre de amônia. Estocar em frasco de vidro sob refrigeração. Esta solução é estável por meses.

c) Solução de hidróxido de sódio 0,5 N: Dissolver 10 g de NaOH em água livre de amônia, diluir para 500mL litro. Armazenar a solução em frasco de polietileno.

d) Solução de hipoclorito de sódio: Diluir 5 mL da solução de hipoclorito de sódio em 95 mL da solução de NaOH 0,5 N. Preparar diariamente, no entanto, segundo Koroleff (1976), esta solução é estável por algumas semanas. Na falta de uma solução de hipoclorito PA pode ser utilizado produto comercial, vendido em supermercado.

Procedimento com as amostras:

a) Colocar 35 mL da amostra de água em tubos de ensaio;

b) Adicionar 1,0 mL da solução de citrato-trissódico, agitar;

c) Adicionar 1,0 mL da solução de fenol, agitar;

d) Adicionar 1,0 mL da solução de hipocloreto/NaOH, agitar (Solução de hipoclorito de sódio: Diluir 5 mL da solução de hipoclorito de sódio em 95 mL da solução de NaOH 0,5 N. Preparar diariamente, no entanto, segundo Koroleff (1976), esta solução é estável por algumas semanas. Na falta de uma solução de hipoclorídrico PA pode ser utilizado produto comercial, vendido em supermercado).

e) Deixar as amostras em repouso e no escuro por 3 horas;

f) Ler a absorbância a 630 nm.

Confecção da curva de calibração:

Diluições previstas na confecção da curva de calibração para determinação das concentrações de amônio.

	Vol da solução estoque (mL) (140 μ g/l)	Volume para diluição (L)	Concentração esperada (μ gN-NH ₄ ⁺ /l)
Branco	0,0	0,0	0,0
01	0,1	1,0	14
02	0,25	1,0	35
03	0,50	1,0	70
04	0,50	0,5	140
05	0,50	0,25	280
06	1,00	0,25	560
07	2,00	0,25	1120

Determinação de Nitrito (NO_2^-)

O nitrito é uma fase intermediária entre a amônia e o nitrato e, pode ser absorvido na falta destes dois últimos (Schäfer, 1988; Esteves, 1998).

O nitrito é encontrado em baixas concentrações em ambientes oxigenados, valores mais elevados, podem ser registrados em zonas de transição entre condições óxica e anóxica, por exemplo, nos períodos de reoxigenação de um hipolímnio anóxico, na interface água sedimento ou nas águas intersticiais do sedimento superficial (Carmouze, 1994).

Em lagos poluídos as concentrações de nitrito podem assumir valores significativos (Esteves, 1988).

Descrição do método em rotina no laboratório, de acordo com Mackereth *et al.* (1978):

Em geral os métodos pressupõem a reação do nitrito com uma amina aromática (sulfanilamida) levando à formação de um composto diazônicos seguido pela ligação com uma segunda amina aromática (Koroleff, 1976).

O princípio do método de Mackereth *et al.* (1978), pressupõe que, em meio fortemente ácido, HNO_2 reage com a sulfanilamida para formar um composto diazônico. Este composto reage então com o bicloridrato para formar um composto de coloração rósea, no qual será medida a absorbância por leitura em espectrofotômetro a 543nm.

Reagentes para determinação dos teores de nitrito:

a) Solução padrão estoque de nitrito de potássio (KNO_2) – 700 $\mu\text{g N-NO}_2 / \text{mL}$: Dissolver 1,064 g de KNO_2 (seco em estufa por 1 hora a 105 $^\circ\text{C}$), em água destilada. Adicionar 01 mL de NaOH (5N) e diluir até 250 mL. Estocar em frasco escuro e em geladeira. Esta solução padrão deve ser diluída, para a obtenção de uma concentração final de 0,7 $\mu\text{g/L}$ (01 mL a 01 L, preparar a diluição diariamente).

b) Solução de NaOH – 5 N: Dissolver 50 g de NaOH a 250 mL de água destilada.

c) Solução de cloreto de amônio (NH_4Cl) 2,6%: Diluir 26 g de NH_4Cl em 01 L de água destilada.

d) Solução de Bórax (borato de sódio- $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)– 2,1%: Diluir 21 g de Bórax em 01 L de água destilada.

e) Cloreto de mercúrio (HgCl_2): Diluir a 01L de água destilada 10 g de HgCl_2 .

f) Solução de sulfanilamida ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$): Esta solução é preparada a partir da dissolução de 05 g de sulfanilamida em 50 mL de ácido clorídrico concentrado. O volume é completado a 500 mL de água destilada e a solução é estocada em frasco âmbar em geladeira.

g) Solução de bicloridrato-N-(1-Naftil)-etilenodiamina ($C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$): Dissolver 0,5 g deste produto em 500 mL de água destilada e estocar em frasco âmbar. Guardar em geladeira.

Procedimento com as amostras:

Colocar 25 mL da amostra de água em tubos de ensaio;

Adicionar 0,5 mL da solução de sulfanilamida;

Adicionar 0,5 mL da solução de bicloridrato-N-(1-Naftil)-etilenodiamina;

Agitar e ler a absorbância contra o menor branco em 543 nm. A leitura deverá ser efetuada 10 minutos após a adição dos reagentes, apresentando estabilidade na cor por até de 01 hora.

Confecção da curva de calibração:

Para preparar as diluições da curva padrão, inicialmente deve-se diluir a solução padrão estoque (700 $\mu g/mL$): (solução (a)) 0,5 mL da solução padrão estoque a 0,5 litro de água deionizada, com concentração final de 0,7 $\mu g/l$.

Diluir os volumes da solução (a) abaixo especificados e proceder como descrito no item procedimento com as amostras.

No espectrofotômetro Micronal ler a absorbância em cubeta de 50 mm de passo óptico.

Como critério analítico, na leitura do branco contra água destilada, será utilizado o branco com menor absorbância.

Solução (a) (mL) (0,7mgN- NO_2^- /mL)	Volume para diluição (L)	Concentração esperada ($\mu gN-NO_2/L$)
Branco	-	-
0,2	0,20	0,7
0,5	0,25	1,4
1,0	0,25	2,8
3,0	0,25	5,6
4,0	0,25	11,2
7,0	0,25	19,6
14,0	0,25	39,2

Determinação do teor de nitrato (NO_3^-) de acordo com Mackereth *et al.* (1978)

O nitrato é a última fase da oxidação do nitrogênio num processo denominado nitrificação. É a principal fonte de nitrogênio para as plantas e juntamente com os íons NH_4^+ , fosfato e carbono é considerado um nutriente elementar do metabolismo de um ecossistema aquático (SCHÄFER, 1984; ESTEVES, 1998).

No processo fotossintético, o nitrato deve passar, obrigatoriamente, à forma de amônio dentro da célula, que é a forma diretamente assimilável pelo organismo (KOROLEFF, 1976; CARMOUZE, 1994).

Princípio do método:

Das espécies orgânicas nitrogenadas envolvidas nos ciclos biogeoquímicos, o nitrato é a mais difícil de ser medida, embora existam diversos métodos de determinação (CARMOUZE, 1994).

O procedimento padrão, no método espectrofotométrico, consiste em reduzir o nitrato a nitrito e formar um complexo colorido entre o nitrito e um reagente orgânico adequado (CARMOUZE, 1994).

No laboratório, o método espectrofotométrico em rotina baseia-se em Mackereth et al. (1978). Este método pressupõe a redução do nitrato a nitrito por meio de cádmio, sendo a técnica mais adequada, de acordo com Carmouze (1994), em termos de sensibilidade e rapidez.

O nitrato é um composto nitrogenado que apresenta alto grau de oxidação. Durante a estocagem das amostras pode ocorrer oxidação bacteriana, onde a amônia será convertida em nitrito e posteriormente em nitrato. A adição de um tampão de cloreto de amônia evita esta oxidação (GRASSHOFF, 1976). A filtração é um outro meio de reduzir este risco (CARMOUZE, 1994).

Reagentes para determinação do teor de nitrato:

- a) Solução padrão estoque de nitrato de potássio (KNO_3) – 100 $\mu\text{g N} - \text{NO}_3^- / \text{mL}$: Diluir 0,3564 g de KNO_3 (seco em estufa por 01 hora a 105 °C) em 500 mL de água destilada.
- b) Solução de cloreto de amônio (NH_4Cl) 2,6%: Diluir 26 g de NH_4Cl em 1L de água destilada.
- c) Solução de Bórax (borato de sódio- $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)– 2,1%: Diluir 10,5 g de Bórax em 500 mL de água destilada.
- d) Cloreto de mercúrio (HgCl_2): Diluir a 1L de água destilada 10 g de HgCl_2 .
- e) Solução de sulfanilamida ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$): Esta solução é preparada a partir da dissolução de 5g de sulfanilamida em 50 mL de ácido clorídrico concentrado. O volume é completado a 500 mL de água destilada e a solução é estocada em frasco âmbar em geladeira.
- f) Solução de bicloridrato-N-(1-Naftil)-etilenodiamina ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$): Dissolver 0,5 g deste produto em 500 mL de água destilada e estocar em frasco âmbar. Guardar em geladeira.

Procedimento com as amostras para determinação do teor de nitrato:

- a) Adicionar 10 mL da amostra de água filtrada;
- b) Pesar 0,6 g de cádmio amalgamado (Ver manuseio do cádmio);
- c) Para confeccionar o branco adicionar 10 mL de água deionizada;
- d) Adicionar 03 mL da solução de cloreto de amônio 2,6%;

- e) Adicionar 01 mL da solução de bórax 2,1%;
- f) Deixar as amostras em mesa agitadora por 20 minutos;
- g) Posteriormente, transferir 07 mL da solução para tubos de ensaio;
- h) Adicionar 01 mL da solução de sulfanilamida, agitar;
- i) Aguardar 05 minutos, adicionar 01 mL da solução de bicloridrato e agitar;
- j) No período compreendido entre 10 e 120 minutos após a adição dos reagentes, Medir em absorbância de 543 nm contra o menor branco.

Manuseio do cádmio:

a) Reamalgamação: Lavar o cádmio granulado por três vezes com a solução de cloreto de mercúrio 01%; Na última lavagem, ao abrigo da luz, o cádmio permanecerá em repouso na solução por 03 minutos; Posteriormente, lavar o cádmio mais três vezes com uma solução de cloreto de amônio preparada na hora (modo de preparar: adicione 10 mL da solução estoque de cloreto de amônio 2,6% completando o volume a 25 mL com água deionizada).

b) Descartando a amostra após a leitura: Com o emprego de água deionizada remover todo conteúdo dos frascos empregados na agitação, filtrar em filtro de papel.

c) Armazenamento do cádmio: Transferir o cádmio retido no papel de filtro para um béquer; Lavar por três vezes com a solução de cloreto de mercúrio 1% (HgCl_2 1%); Lavar com água deionizada até eliminar a turbidez; Posteriormente, lavar três vezes com a solução de cloreto de amônio (NH_4Cl) (preparada na hora: diluir 12 mL da solução estoque de NH_4Cl 2,6% em 50 mL de água deionizada) e após a última lavagem deixar imerso na solução até o novo momento de uso.

Confecção da curva de calibração:

Diluir os volumes da solução padrão estoque (KNO_3 , 100 $\mu\text{g N-NO}_3^-/\text{mL}$) abaixo especificados em água deionizada e proceder como descrito no item procedimento com as amostras.

Vol. da solução estoque (mL) (100 $\mu\text{gNO}_3^-/\text{mL}$)	Volume para diluição (L)	Concentração esperada ($\mu\text{gNO}_3^-/\text{L}$)
(****)	0,05	01
(***)	0,05	05
(**)	0,05	10
(*)	0,05	20
0,2	0,4	50
0,2	0,2	100 ^(a)
0,4	0,20	200
0,4	0,100	400

(a) – concentração utilizada para a confecção das concentrações 01, 05 e 10 $\mu\text{gNO}_3^-/\text{L}$.

(*) – diluir 10 mL da solução (a) completar a 50 mL de água deionizada (concentração final: 20 μg);

(**) – diluir 5 mL da solução (a) completar a 50 mL de água deionizada (concentração final: 10 µg);

(***) – diluir 2,5 mL da solução (a) completar a 50 mL de água deionizada (concentração final: 5 µg);

(****) - diluir 0,5 mL da solução (a) completar a 50 mL de água deionizada (concentração final: 1 µg);

Determinação simultânea dos teores de nitrogênio e fósforo total, de acordo com Valderrama (1981)

Determinar os teores de nitrogênio e fósforo totais, seguindo os procedimentos em rotina no laboratório com os métodos empregados nas determinações dos teores de nitrato (como nitrogênio) e ortofosfato (como fósforo), nos cálculos emprega-se as respectivas curvas conforme o protocolo.

Procedimento com as amostras para determinação simultânea dos teores de fósforo e nitrogênio total:

a) Reagente oxidante (OR): adicionar 25 g de persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$) e 15 g de ácido bórico (H_3BO_3), dissolvidos em 175 mL de NaOH 1M, completar a 500mL de água destilada. Estocar a solução em frasco âmbar, em temperatura ambiente e protegida da luz solar direta. Esta solução é estável por 6 a 9 meses.

b) Solução de hidróxido de sódio 1M: dissolver 20 g de NaOH a 500mL de água destilada.

c) Colocar 45 mL da amostra de água bruta (não filtrada) e 06 mL do reagente oxidante (OR); Autoclavar a 120 °C por 50 minutos, esfriar.

Para confeccionar o branco usa-se água deionizada.

Observações: O (OR) reagente oxidante poderá ser adicionado à amostra imediatamente após a coleta e a análise efetuada num prazo máximo de 90 dias.

Nitrogênio Total:

Combinado com outros elementos está presente nas proteínas, na atmosfera, na chuva, no solo. Sendo um dos elementos indispensáveis à vida, os animais retiram-no de outros animais ou vegetais que sejam capazes de assimilar compostos nitrogenados inorgânicos originários diretamente do solo. Melhorar eficientemente o uso do nitrogênio, combinado com a digestão anaeróbia dos dejetos de animais para geração de biogás, são as ações mais viáveis para a mitigação do efeito do óxido nitroso (OENEMA et al., 2005).

Confecção da curva de calibração para nitrogênio total:

Diluir os volumes da solução padrão estoque (KNO_3 , $100 \mu\text{g N-NO}_3^-/\text{mL}$) abaixo especificados em água deionizada e proceder como descrito no item procedimento com as amostras.

Solução estoque (mL) ($100\mu\text{gNO}_3^-/\text{mL}$)	Volume para diluição (L)	Concentração esperada ($\mu\text{gNO}_3^-/\text{L}$)
(****)	1,0	01
(***)	1,0	05
(**)	1,0	10
0,2	1,0	20
0,2	0,4	50
0,5	0,5	100 ^(*) (a)
0,5	0,25	200
1,0	0,25	400

(a)(*) – concentração utilizada para a confecção das concentrações 01 , 05 e 10 $\mu\text{gNO}_3/\text{L}$.

(**) – diluir 10 mL da solução(a) a 100 mL de água deionizada (concentração final: $5\mu\text{g}$);

(***) – diluir 05 mL da solução (a) a 100 mL de água deionizada (concentração final: $5\mu\text{g}$);

(****) - diluir 01 mL da solução (a) a 100 mL de água deionizada (concentração final: $1 \mu\text{g}$);

Fósforo total:

O fósforo é um dos fatores fundamentais à vida, fazendo parte da estrutura de proteínas, carboidratos, DNA e RNA (ácidos nucleicos) e ATP (adenosina trifosfato) (Vallentyne, 1978; Esteves, 1998; Smil, 2000).

Este elemento apresenta também ampla importância econômica, sendo utilizado na fabricação de detergentes, fertilizantes, agentes anticorrosivos, materiais a prova de fogo, agentes químicos em alguns tipos de depuradores de água, inseticidas, aditivos de gasolina, entre outras aplicações (Vallentyne, 1978).

O fósforo é considerado também elemento limitante para o crescimento vegetal nos ecossistemas aquáticos (Margalef, 1983; Lampert & Sommer, 1997), sendo que o aporte excessivo e crescente deste nutriente, juntamente com o nitrogênio é considerado um dos principais fatores causadores da eutrofização (Henderson-Sellers & Markland, 1987).

Quanto às fontes deste elemento, elas podem ser naturais , quando são provenientes, por exemplo, das rochas que formam a bacia de drenagem, do material

particulado presente na atmosfera e da decomposição de organismos de origem alóctone (Esteves, 1998; Guerreschi & Fonseca, 2000).

As fontes artificiais deste nutriente são: o material particulado de origem industrial contido na atmosfera e os esgotos industriais e domésticos (Esteves, 1998). Neste último, a concentração de fósforo vem aumentando consideravelmente, devido ao uso de detergentes sintéticos contendo polifosfatos, o que tem contribuindo de maneira significativa no processo de eutrofização artificial (Henderson-Sellers & Markland, 1987; Paranhos, 1996). Os fosfatos empregados como fertilizantes chegam aos corpos d'água por lixiviação (Paranhos, 1996).

Toda forma de fósforo presente em águas naturais, encontra-se sob a forma de fosfato, o qual está presente sob diversas formas, segundo Esteves (1998): Fosfato particulado; Fosfato orgânico dissolvido; Fosfato inorgânico dissolvido ou ortofosfato ou fosfato reativo; Fosfato total dissolvido e Fosfato total.

Em geral os fosfatos tendem a ser solúveis em água, exceto quando se combinam com íons geoquimicamente abundantes, como o cálcio, ferro, alumínio, entre outros e são então precipitados (Vallentyne, 1978; Lampert & Sommer, 1997). Segundo Esteves (1998), em muitos casos o fosfato precipitado não volta ao ambiente límnic.

O fosfato inorgânico dissolvido (ortofosfato), apesar de representar apenas uma fração insignificante quando comparado com outras formas ativas dentro do ciclo do fosfato (Schäfer, 1988), é de grande importância uma vez que é a única forma de fósforo que pode ser assimilada pelos produtores primários (Lampert & Sommer, 1997; Esteves, 1998; Guerreschi & Fonseca, 2000)

Em lagos tropicais, devido à alta temperatura, o metabolismo dos organismos aumenta consideravelmente, fazendo com que o ortofosfato seja rapidamente assimilado e incorporado na sua biomassa. Este é um dos principais motivos pelo qual, nestes lagos, a concentração de ortofosfato seja muito baixa; geralmente abaixo do limite inferior de detecção da maioria dos métodos analíticos atualmente disponíveis. Vale ressaltar que este padrão pode não ser observado em ambientes eutrofizados artificialmente (Esteves, 1998).

Confecção da curva de calibração para fósforo total

Solução estoque (40µgP-PO ₄ ⁺³ /mL)	(mL)	Volume para diluição (L)	Concentração Esperada (µgP/L)
0,2		1,0	08
0,2		0,5	16
0,4		0,5	32
0,4		0,25	64
0,8		0,25	128
0,6		0,100	240
1,0		0,100	400
2,0		0,100	800

Determinação do teor de fosfato inorgânico dissolvido (ortofosfato)

Existem descritos na literatura vários métodos utilizados na determinação do teor de fósforo na forma de fosfato inorgânico dissolvido, o método recomendado neste trabalho é o descrito em Strickland & Parsons (1965).

A determinação da concentração de uma substância por espectrofotometria é baseada na transformação química dessa substância num complexo colorido (Carmouze, 1994). O espectrofotômetro mede a transmitância de um feixe de luz num determinado comprimento de onda após atravessar a solução numa cubeta de quartzo ou vidro. Com a relação da transmitância e concentração da solução, por intermédio de uma série de diluições obtidas a partir de solução padrão, pode-se determinar de maneira satisfatória uma curva relacionando a concentração com a absorbância.

Para determinar a concentração de fósforo na amostra, são relacionadas concentrações conhecidas, confeccionadas com a solução padrão, e suas respectivas absorbâncias determinadas em espectrofotômetro, por meio de uma equação linear simples ($y = a + bx$).

Por intermédio de pipetas analíticas de alta precisão, diluir em água destilada e deionizada diferentes alíquotas da solução padrão estoque. Essas soluções diluídas devem ser preparadas no momento da determinação da curva padrão.

Reagentes:

a) Solução padrão estoque de fosfato monobásico de potássio (KH₂PO₄ - 40 µg de P-PO₄⁻³/mL): Dissolver 0,1757 g de fosfato monobásico de potássio (seco a 110°C e esfriado em dessecador) a 1L de água destilada, armazenar em frasco de vidro âmbar na geladeira.

b) Ácido clorídrico 1 N: Diluir 34 mL de HCl P.A. (12 N, 37,2%, densidade de 1,18 g/cm³) a 400mL de água destilada.

c) Molibdato de amônio ((NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O): Dissolver 6 g. de molibdato de amônio em 200 mL de água destilada, estocar em frasco de plástico e no escuro. Essa solução poderá ser utilizada enquanto permanecer clara.

d) Ácido sulfúrico (H₂SO₄): Dissolver 56 mL de ácido sulfúrico P.A. (36 N, 96~97%, densidade de 1,18 g/cm³) em 360 mL de água destilada. Guardar em frasco âmbar fora da geladeira.

e) Ácido ascórbico (C₆H₈O₆): Diariamente, dissolver 0,54 g de ácido ascórbico P.A. em 10 mL de água destilada.

f) Tartarato de antimônio e potássio (K(SbO)C₆H₆O₆): Dissolver 0,136 g de tartarato de antimônio e potássio P.A. em 100 mL de água destilada e estocar em frasco de vidro. Essa solução poderá ser utilizada enquanto permanecer clara.

Confecção da curva de calibração:

Solução estoque (mL) (40µgP-PO ₄ ⁺³ /mL)	Volume para diluição (L)	Concentração esperada (µgP/L)
0,02	0,100	8
0,04	0,100	16
0,08	0,100	32
0,16	0,100	64
0,32	0,100	128
0,64	0,100	256
1,28	0,100	512
2,56	0,100	1024

Confecção do reagente misto:

Adicionar, nos volumes sugeridos, os reagentes listados na tabela abaixo.

Reagente	Volume	Volume	Volume	Volume
Molibdato	25 mL	20 mL	10 mL	5 mL
H ₂ SO ₄	62,5 mL	50 mL	25 mL	12,5 mL
Ácido Ascórbico (*)	25 mL	20 mL	10 mL	5 mL
Tartarato	12,5 mL	10 mL	5 mL	2,5 mL
Volume final	125 mL	100 mL	50 mL	25 mL
Nº de amostras analisadas	75	55	25	12

(*) Preparação do ácido ascórbico (C₆H₈O₆): diariamente dissolver 1,35 g de ácido ascórbico em 25 mL de água destilada.

Procedimento com as amostras (para cubeta de 10 mm de passo óptico):

- Colocar 10 mL da amostra de água filtrada em tubos de ensaio;
- Adicionar 1,0 mL do reagente misto, agitar;
- Após 20 minutos ler a absorvância contra o menor branco a 882 nm.

Determinação de sólidos

O teor de sólidos dissolvidos representa a quantidade de substâncias dissolvida na água, que alteram suas propriedades físicas e químicas da água.

Em águas naturais a presença dos íons sódio, cloreto, magnésio, potássio, sulfatos, etc. e devida a dissolução de minerais. A concentração de sólidos dissolvidos deve ser menor que 500 mg/ L em água para abastecimento público, pois em concentrações de sólidos dissolvidos superiores a 2000 mg/ L, esta apresenta efeito laxativo.

A classificação dos sólidos pode ser química ou física. Fisicamente eles são classificados segundo suas dimensões sólidos dissolvidos possuem dimensões inferiores a 2.0 um e os em suspensão, dimensões superiores a esta.

Do ponto de vista químico os sólidos são classificados em voláteis e fixos. Sólidos voláteis são os que se volatilizam as temperaturas inferiores a 550C, sejam estas substâncias orgânica ou sais minerais que evaporam a esta temperatura. Os sólidos fixos são aqueles que permanecem após a completa evaporação da água, geralmente os sais.

De acordo com Wetzel & Likens (1991), a água doce pode se tornar imprópria para o uso doméstico e industrial quando há grande quantidade de material particulado e dissolvido. Um método para avaliar o total de resíduos (orgânico e inorgânico) consiste na evaporação de toda a água e na pesagem dos resíduos os dados possuem valor limitado, pois, não há análise qualitativa do material.

É importante dizer que a temperatura na qual o material vai ser seco deve ser regulada entre 105 e 180°C, pois a volatilização de certos componentes pode ocorrer em baixas temperaturas (American Public Health Association *et al.*, 1988 *apud* Wetzel e Likens, 1991).

O excesso de sólidos dissolvidos na água pode causar alterações no sabor e problemas de corrosão. Já os sólidos em suspensão, provocam a turbidez da água gerando problemas estéticos e prejudicando a atividade fotossintética.

a) Resíduo total (sólidos totais – ST)

b) Material que permanece na cápsula após evaporação parcial da amostra e posterior em estufa a temperatura escolhida até massa constante.

c) Resíduo filtrável (sólidos dissolvidos – SD)

d) Porção do resíduo total que passa por filtro de porosidade de 1,2 um.

e) Resíduo não filtrável (sólidos suspensos – SS)

f) Porção do resíduo total retida no filtro de porosidade de 1,2um.

g) Resíduo fixo (sólidos fixos – SF)

h) Porção do resíduo total, filtrável ou não filtrável que resta após a calcinação a (550 ± 50) C por 1 h.

i) Resíduo volátil (sólidos voláteis – SV)

j) Porção do resíduo total, filtrável ou não filtrável, que se perde na calcinação da amostra a (550 ± 50) C por 1 h. (NBR 1066; Abr 1989).

Métodos:

a) Método Gravimétrico – águas e efluentes domésticos e industriais (10 a 200 mg L) (NBR 10664 Abr 1989).

b) Método Gravimétrico Modificado – lodos e sedimentos em geral (NBR 10664 Abr 1989).

Objetivo

Determinar o teor de sólidos totais, fixos, voláteis e sedimentáveis em amostras de água para abastecimento público, e águas em geral, através do método gravimétrico.

Materiais		Reagentes
02 cápsulas de porcelana	1 dessecador	Água destilada
1 cadinho de Gooch	1 mufla (550 C)	
1 béquer de 100 mL	1 estufa (103 - 105 C)	
1 proveta de 100 mL	1 banho Maria	
1 kitassato de 500 mL	1 balança analítica (precisão de 0,1 mg)	
1 bomba de vácuo	1 pinça metálica	
Papel de filtro de fibra de vidro		

Determinação de sólidos totais (ST)

a) Aferir uma cápsula de porcelana deixando em mufla a (550 ± 50) C por 1 hora, seguida por esfriamento em dessecador e pesagem com precisão de 0,1 mg.

b) Transferir para a cápsula 100 mL da amostra medidos em proveta e evaporar em banho Maria ate a secura.

c) Observar que a amostra medida não contenha partículas flutuantes ou submersas e que esteja em volume suficiente para fornecer entre 25 e 250 mg de resíduo.

d) Após evaporação da amostra , secar a cápsula com resíduo em estufa a 103 ± 105 C durante 1 hora.

e) Esfriar em dessecador a temperatura ambiente e pesar em seguida.

f) Pesar com precisão de 0,1 mg.

Determinação de sólidos fixos – SF

a) Submeter os sólidos totais obtidos conforme procedimento 1, a calcinação em mufla a (550 ± 50) °C por 1 hora.

b) Esfriar em dessecador e pesar com precisão de 0,1 mg

Determinação de sólidos voláteis - SV

a) Efetuar a diferença dos valores obtidos de sólidos totais e de sólidos fixos, o valor encontrado implica no teor e sólidos voláteis.

Expressão dos Resultados:

a) Determinação de sólidos totais – ST

$$ST = \frac{(m_2 - m_1)1000}{V}$$

Onde:

ST = sólidos totais (mg/L)

M₂ = massa de cápsula com resíduo total (mg)

M₁ = massa da cápsula vazia (mg)

V = volume da amostra (mL)

b) Determinação de sólidos fixos – SF

$$SF = \frac{(m_3 - m_1)1000}{V}$$

Onde:

SF = sólidos fixos (mg/L)

M₃ = massa da cápsula com resíduo fixo (mg)

M₁ = massa da cápsula vazia (mg)

V = volume da amostra (mL)

c) Determinação de sólidos Voláteis – SV

$$SV = ST - SF$$

Onde:

SV = sólidos voláteis (mg/L)

ST = sólidos totais (mg/L)

SF = sólidos fixos (mg/L)