

## **EFEITOS DE METAIS TRAÇO NA PRODUÇÃO DE METANO A PARTIR DE VINHAÇA**

**Beatriz Gardiman Arruda<sup>1\*</sup>, Adriana Ferreira Maluf Braga<sup>1</sup>, Rachel Biancalana Costa<sup>2</sup>, Marcelo Zaiat<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo

<sup>2</sup> Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

\*beatriz\_arruda@usp.br

### **Resumo**

Planejamento Fatorial Fracionado foi utilizado para determinar se os micronutrientes Co, Ni, Se, Cu, Fe e Mn afetam a produção de metano a partir de vinhaça acidificada de cana-de-açúcar. Os fatores foram analisados em dois níveis, isto é, sem adição e com adição de 0,3 mg.L<sup>-1</sup> para Co, Ni e Se, e 5,0 mg.L<sup>-1</sup> para Cu, Fe e Mn, em ensaio de Potencial Bioquímico de Metano. Os parâmetros produção máxima de metano e velocidade máxima de produção foram obtidos, respectivamente, ajustando a produção acumulada de metano ao longo do tempo à equação de Boltzmann e derivando os valores estimados em relação ao tempo. Os dois parâmetros foram utilizados como respostas para a análise de efeito dos fatores utilizando ANOVA. Os metais Co, Ni e Mn apresentaram efeito positivo estatisticamente significativo na produção de metano, Cu e Fe apresentaram efeito negativo estatisticamente significativo, e o efeito do Se não foi significativo.

**Palavras-Chave:** biogás, efluente agroindustrial, planejamento fatorial fracionado, micronutrientes.

### **Abstract**

Fractional Factorial Design was used to determine whether the micronutrients Co, Ni, Se, Cu, Fe and Mn affect the production of methane from acidified sugarcane vinasse. The factors were analysed in two levels, i.e., without addition and with addition of 0.3 mg.L<sup>-1</sup> for Co, Ni and Se, and 5.0 mg.L<sup>-1</sup> for Cu, Fe and Mn, in a Biochemical Methane Potential assay. The maximum production of methane and maximum speed of production parameters were taken by adjusting the accumulated production of methane along time to the Boltzmann equation and by deriving the estimated values related to time, respectively. Both parameters were used as responses to the analysis of effect of factors using ANOVA. The metals Co, Ni

and Mn showed positive effect statistically significant in the production of methane. Cu and Fe showed negative effect statistically significant and the effect of Se was not significant.

**Keywords:** biogas, agro industrial wastewater, fractional factorial design, micronutrients.

## 1 Introdução

O Brasil ocupa a segunda posição entre os maiores produtores de etanol, utilizando a cana-de-açúcar em suas destilarias (FUESS, 2017). Estima-se que, para cada litro de etanol, são produzidos 13 litros de vinhaça (MARQUES et al., 2013). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2020), a estimativa realizada em dezembro de 2019 para a produção de etanol total a partir da cana-de-açúcar na safra 2019/20 é de 33,84 bilhões de litros, resultando em 439,92 bilhões de litros de vinhaça. O atual destino da água residuária do processo, a vinhaça, é a fertirrigação, ou seja, o despejo direto no solo, apesar de seu elevado caráter poluente e alto potencial para recuperação de energia a partir de processos anaeróbios (FUESS, 2017).

Somada às vantagens energética e econômica, a digestão anaeróbia da vinhaça possui importante papel ambiental. A fertirrigação com vinhaça que passou pelo processo de biodigestão pode reduzir impactos ambientais devido à diminuição dos potenciais impactos de aquecimento global e de cargas poluentes (MORAES et al., 2014).

A fim de otimizar a produção de metano por meio da digestão anaeróbia, estudos indicam que metais traço apresentam um papel importante no processo. Segundo Braga et al. (2017), no caminho anaeróbio da digestão da matéria orgânica, são apontados Fe, Co, Ni e Se como cruciais entre os metais traço essenciais para os microrganismos anaeróbios. Outros, como Cu, Mn e Ba, apesar de apresentarem efeito sobre os processos de digestão anaeróbia, ainda não foi documentado seu papel nas reações enzimáticas (BRAGA et al., 2018).

A utilização de matrizes de ensaios obtidas a partir de técnicas de Planejamento de Experimentos (do inglês *Design of Experiments – DOE*) permite que os efeitos dos múltiplos fatores sejam avaliados ao mesmo tempo, com reduzido número de ensaios. Ensaios com planejamento fatorial fracionado (PFF) analisam os fatores utilizando dois níveis (utilizando os valores máximo e mínimo) e permitem definir quais fatores exercem efeitos significativos

à resposta considerada (WANG; WAN, 2008).

Desse modo, analisou-se o efeito dos metais Co, Ni, Se, Cu, Fe e Mn, na produção de metano a partir da vinhaça, determinando quais poderiam ser suplementados visando o aumento da produção de metano através da aplicação de PFF em ensaios de potencial bioquímico de metano (PBM).

## 2 Metodologia

### 2.1. Características substrato e inóculo

O substrato utilizado nos ensaios foi vinhaça acidificada obtida do efluente de reator acidogênico de leito estruturado, e armazenado a  $-18^{\circ}\text{C}$ . Os ensaios foram realizados em dois blocos, a DQO da amostra bruta do primeiro bloco foi de  $22,81 \pm 0,21 \text{ g.L}^{-1}$  e a DQO da amostra bruta do segundo bloco foi de  $21,18 \pm 0,20 \text{ g.L}^{-1}$ . O inóculo utilizado nos ensaios foi coletado de um reator UASB tratando vinhaça em condições termofílicas na Usina São Martinho, Pradópolis/SP e possuía  $0,1994 \pm 0,0004 \text{ gSVT.g lodo}^{-1}$ . As análises de DQO e sólidos foram realizadas de acordo com APHA/AWWA/WEF (2012).

### 2.2. Estudo dos metais traço na vinhaça

Para análise do efeito dos metais traço Co, Ni, Se, Cu, Fe e Mn na produção de metano a partir da vinhaça, foi construída uma matriz experimental de concentrações, utilizando PFF, testadas em ensaios de PBM. A matriz foi construída de forma aleatória e adicionando uma réplica, para a realização dos PBM em duplicata. Os fatores foram analisados em dois níveis: nenhuma adição, além das concentrações já originalmente presentes na vinhaça e no lodo, e adição de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$  para Co, Ni e Se, e de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  para Cu, Fe e Mn (Tabela 1).

O Software Statistica 13.3® software (TIBCO Inc., Palo Alto, CA, EUA) foi utilizado para a construção da matriz de concentrações a serem adicionadas nos ensaios de PBM e para análise das respostas dos ensaios.

Tabela 1: Níveis dos fatores em cada PBM utilizando PFF.

Condições	Concentração dos Fatores (mg.L <sup>-1</sup> )					
	Co	Cu	Fe	Mn	Ni	Se
1	0,3	0	0	0	0	0,3
2	0	5	5	0	0	0,3
3	0	0	5	5	0	0
4	0	0	0	5	0,3	0,3
5	0,3	5	0	5	0	0
6	0,3	0	5	0	0,3	0
7	0	5	0	0	0,3	0
8	0,3	5	5	5	0,3	0,3

Fonte: O Autor (2020).

### 2.3. Teste de potencial bioquímico de metano (PBM)

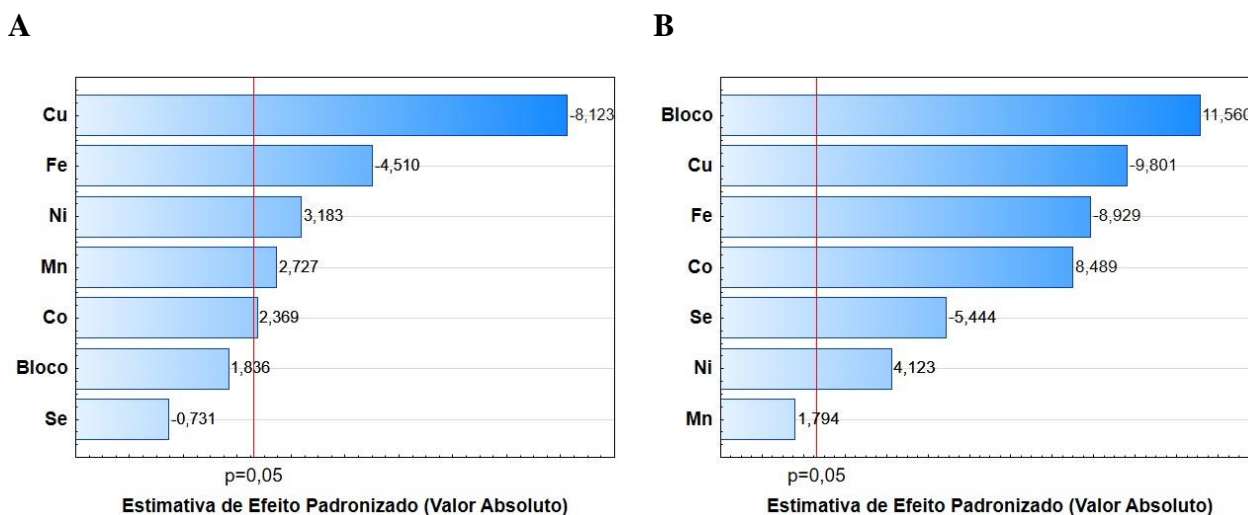
Cada condição foi testada em duplicata, sendo o total de 16 bateladas em frascos de borosilicato com 100 mL de volume reacional e 200 mL de headspace, mantidos em câmara com agitação de 100 rpm em temperatura termofílica (55°C). O inóculo foi centrifugado por 10 minutos a 6000 rpm. A relação biomassa/substrato (gSVT.gDQO<sup>-1</sup>) foi de 0,3 (KIYUNA; FUESS; ZAIAT, 2017). Também foi adicionado em cada batelada bicarbonato de sódio, como agente tamponante do meio, a partir da relação bicarbonato/substrato (gNaHCO<sub>3</sub>.gDQO<sup>-1</sup>) de 0,5. O pH inicial das garrafas foi medido com fita indicadora (pH 0-14, modelo 921 10, Macherey-Nagel, Alemanha) e ficou entre 7,0 e 8,0. Ademais, as garrafas foram purgadas por 5 minutos com nitrogênio para garantir anaerobiose.

Os reatores em batelada foram operados até que se estabilizasse a produção de metano. As condições que apresentaram discrepância entre as réplicas foram repetidas e analisadas como um segundo bloco de ensaio. As pressões das garrafas foram medidas diariamente com um transdutor de pressão modelo TPR-18, acoplado a uma interface BS 2200 (Desin Instruments, Espanha). As frações molares de CH<sub>4</sub> foram obtidas em cromatógrafo gasoso GC-2010 Shimadzu (Toquio, Japão) equipado com detector de condutividade térmica (ADORNO et al. 2014). Para a determinação dos parâmetros cinéticos produção máxima de metano (P) e velocidade de reação (R<sub>m</sub>), foi utilizado o software Origin 8.0 software (OriginLab®, Northampton, MA, USA).

### 3 Resultados e Discussão

O pH final das garrafas de PBM apresentou média de  $8,0 \pm 0,1$ , sendo um pH adequado para a produção de metano, que deve se manter próximo ao neutro (DE FREITAS BUENO, 2010). O gráfico de Pareto (Figura 1) mostra que os metais Cu e Fe tiveram efeito negativo para a resposta Rm. Em contrapartida, Ni, Mn e Co apresentaram resultados positivos quando adicionados. O único dos fatores que não teve efeito estatisticamente significativo sobre a velocidade da produção de metano foi a adição de Se. Para a resposta P de produção máxima de metano, Cu, Fe e Se foram significativos com influência negativa, enquanto Co e Ni foram significativos positivos (Figura 1). Entretanto, diferentemente dos resultados referentes à resposta Rm, o Mn apresentou-se não significativo.

Figura 1: Gráfico de Pareto com o efeito dos fatores sobre as respostas (A) Rm, e (B) P.



Fonte: O Autor (2020).

A condição 2 (Tabela 1), com adição de Se, Cu e Fe, reiterou estes resultados, visto que a sulfetogênese prevaleceu, e a metanogênese foi inibida. Glass e Orphan (2012) apontam que Cu não é utilizado na metanogênese, embora participe das rotas metabólicas de outros processos, enquanto Fe, Co e Ni estão presentes nas enzimas necessárias à metanogênese. Braga et al. (2017) afirmam que Fe pode ser considerado um macronutriente porque ele é necessário para os microrganismos anaeróbios em concentrações mais elevadas do que a dos

outros metais traço. Entretanto, Takashima, Shimada e Speece (2011) ressaltam que o Fe é mais necessário nas etapas iniciais da conversão anaeróbia, como na acidogênese e na acetogênese a partir da glicose, do que na metanogênese a partir do acetato. Em relação ao Se, Zhang et al. (2015) o apontam como fator limitante para a estabilização da produção de metano, sendo sua deficiência relacionada ao acúmulo de ácidos acético e propiônico na digestão anaeróbia. Por fim, o Mn tem importante papel nos sistemas de digestão anaeróbia, segundo Braga et al. (2017), por ser um metal muito disponível devido à sua característica de se reduzir à sua forma mais solúvel sob condições anaeróbias que, juntamente com o Fe, pode contribuir para a dureza da água e a diminuição da pressão em todo o sistema.

## 4 Conclusão

Todas as variáveis independentes se mostraram significativas para pelo menos uma das respostas consideradas da produção de metano, P e Rm, havendo três metais com influência positiva (Co, Ni e Mn) e três com influência negativa (Se, Cu e Fe). Assim, a suplementação de Co, Ni e Mn na digestão anaeróbia da vinhaça em duas fases pode melhorar a produção de metano, otimizando assim o aproveitamento energético desse rejeito.

## Referências

ADORNO, M. A. T. et al. Development and validation of a method (GC/TCD) to determine N<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>S in biogas. **XI Latin American Workshop and Symposium on Anaerobic Digestion (DAAL)**. La Habana: 2014.

APHA/AWWA/WEF. (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **Standard Methods**, 541. doi: ISBN9780875532356.

BRAGA, A. F. M.; PEREIRA, M. B. O. C.; ZAIAT, M.; SILVA, G. H. R.; FERMOSO, F. G. Screening of trace metal supplementation for black water anaerobic digestion. **Environmental technology**, v. 39, n. 14, p. 1776-1785, 2018.

BRAGA, A. F. M.; ZAIAT, M.; SILVA, G. H. R.; FERMOSO, F. G. Metal fractionation in sludge from sewage UASB treatment. **Journal of environmental management**, v. 193, p. 98-107, 2017.

CONAB. (2020). Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>>. Acesso



em: 15 mar. 2020.

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

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

GLASS, Jennifer; ORPHAN, Victoria J. Trace metal requirements for microbial enzymes involved in the production and consumption of methane and nitrous oxide. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 61, 2012.

KIYUNA, L. S. M.; FUESS, L. T.; ZAIAT, M. Unraveling the influence of the COD/sulfate ratio on organic matter removal and methane production from the biodigestion of sugarcane vinasse. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 103-112, 2017.

MARQUES, S. S. I., NASCIMENTO, I. A., DE ALMEIDA, P. F., & CHINALIA, F. A. Growth of *Chlorella vulgaris* on sugarcane vinasse: the effect of anaerobic digestion pretreatment. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 171, n. 8, p. 1933-1943, 2013.

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

TAKASHIMA, Masanobu; SHIMADA, Kohji; SPEECE, Richard E. Minimum requirements for trace metals (iron, nickel, cobalt, and zinc) in thermophilic and mesophilic methane fermentation from glucose. **Water environment research**, v. 83, n. 4, p. 339-346, 2011.

WANG, J.; WAN, W. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p. 235-244, 2009.

ZHANG, W., WU, S., GUO, J., ZHOU, J., & DONG, R.. Performance and kinetic evaluation of semi-continuously fed anaerobic digesters treating food waste: role of trace elements. **Bioresource technology**, v. 178, p. 297-305, 2015.