

Sílvia Miranda Prada, Márcia Guekezian e Maria Encarnación. V. Suárez-Iha\*

Instituto de Química - Universidade de São Paulo - CP 26.077 - 05599-970 - São Paulo - SP

Recebido em 25/2/97; aceito em 10/10/97

WHEN SULFATE IS PRESENT IN HIGH CONCENTRATIONS, IT ACTS AS AN INHIBITOR IN THE PRODUCTION OF METHANE (BIOGAS FORMATION) IN ANAEROBIC BIODIGESTION PROCESSES. In this way it is very important to know the sulfate concentration in vinasse samples before to make the biodigester design. A previous developed and indirect method (Anal. Chim. Acta. 1996, 329, 197), was used to determine sulfate in samples of vinasse, after previous treatments, done in order to eliminate organic matter with hydrogen peroxide 30% and concentrated nitric acid mixture (3:1), under heating. Interferent cationic ions were isolated by using ion exchange columns. The results obtained for some samples from Araraquara and Penápolis are here presented. The phosphate concentration was also determined.

**Keywords:** sulfato; vinasse; anaerobic biodigestion.

## INTRODUÇÃO

A utilização de álcool como combustível alternativo em veículos automotores, em substituição à gasolina, a partir da cana-de-açúcar<sup>1</sup>, acarretou um aumento na produção de certos resíduos, tais como o bagaço, a torta de filtro e principalmente o vinhoto\*, que é um efluente líquido gerado pelas destilarias ao efetuar a destilação do mosto fermentado, para recuperação do etanol.

Durante anos, diversos acidentes ecológicos ocorreram pelo descarregamento indiscriminado do vinhoto, principalmente em cursos d'água<sup>3</sup>. Assim, devido ao grande volume deste efluente industrial produzido pelas destilarias de álcool<sup>4</sup>, vários processos tem sido propostos<sup>5,6</sup>, quanto à possibilidade de redução de volume, eliminação do seu caráter poluente, e de conferir-lhe uma utilização nobre, pelo aproveitamento de suas potencialidades orgânicas e minerais. Entre tais processos, pode-se citar: a

fertirrigação com vinhoto *in natura*; concentração do vinhoto; fermentação aeróbica e a fermentação ou biodigestão anaeróbica.

Dependendo de alguns fatores tais como: qualidade da cana-de-açúcar, etapas de fermentação, sistema de destilação utilizado, condições industriais e do clima, obtém-se vinhoto de composição química diferente<sup>2,7</sup>. Na tabela 1 encontram-se as principais características dos vinhotos obtidos a partir da fermentação de mostos oriundos do processamento de cana-de-açúcar<sup>8</sup>.

Nos últimos anos, o processo que tem gerado maior interesse é a biodigestão anaeróbica, que quando comparada aos outros processos de aproveitamento do vinhoto, apresenta uma série de vantagens, tais como a redução drástica do seu poder poluidor, pois a maior parte da DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) é convertida a biogás, que apresenta grande importância econômica<sup>9</sup>; elevação do valor de pH, que passa a ser próximo de 7, solucionando o problema de corrosão; manutenção dos mesmos teores de NPK

**Tabela 1.** Características do vinhoto resultante de mostos de melaço, de caldo de cana e de mostos mistos de caldo e melaço<sup>8</sup>.

Parâmetro	Melaço	Caldo	Misto
pH	4,2 - 5,0	3,7 - 4,6	4,4 - 4,6
Temperatura	80 - 100	80 - 100	80 - 100
DBO (mg/L O <sub>2</sub> ) (1)	25.000	6.000 - 16.500	19.800
DQO (mg/L O <sub>2</sub> ) (2)	65.000	15.000 - 33.000	45.000
Sólidos totais (mg/L)	81.500	23.700	52.700
Sólidos voláteis (mg/L)	60.000	20.000	40.000
Sólidos fixos (mg/L)	21.500	3.700	12.700
Nitrogênio (mg/L N)	450 - 1.610	150 - 700	480 - 710
Fósforo (mg/L P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	100 - 290	10 - 210	9 - 200
Potássio (mg/L K <sub>2</sub> O)	3.740 - 7.830	1.200 - 2.100	3.340 - 4.600
Cálcio (mg/L CaO)	450 - 5.180	130 - 1.540	1.330 - 4.570
Magnésio (mg/L MgO)	420 - 1.520	200 - 490	580.700
Sulfato (mg/L SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	6.400	600 - 760	3.700 - 3.730
Carbono (mg/L C)	11.200 - 22.900	5.700 - 13.400	8.700 - 12.100
Relação C/N	16 - 16,27	19,7 - 21,07	16,4 - 16,43
Matéria orgânica (mg/L)	63.400	19.500	3.800
Subst. redutoras (mg/L)	9.500	7.900	8.300

(1) DBO = Demanda Bioquímica de oxigênio

(2) DQO = Demanda Química de oxigênio

\* Dependendo da região do Brasil, o vinhoto pode receber diferentes nomes, tais como: vinhaça, vinhote, caldas, restilo, tiborna, caxixi ou garapão<sup>2</sup>.

(sódio, fosfato e potássio) do vinhoto *in natura*, conservando o seu poder fertilizante e eliminando o seu odor desagradável, a atração de moscas e outros agentes causadores de doenças.

A biodigestão anaeróbica é vista como um processo composto de dois estágios de formação: ácido e o de metano, distintos um do outro, mas mutuamente dependentes<sup>10</sup>. No estágio de formação ácido um amplo grupo de bactérias ataca compostos orgânicos complexos, transformando-os em formas mais simples.

Já no estágio da formação do metano, que também pode ser dividido em duas etapas<sup>11</sup>, tem-se na primeira a produção de acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> a partir de ácidos graxos gerados no primeiro estágio (formação ácido). Na segunda etapa as bactérias metanogênicas utilizam os produtos dos dois estágios (formação ácido e do metano), principalmente acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> para produzir CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>.

Comparando-se os dois estágios da biodigestão anaeróbica, as bactérias do primeiro estágio não são muito sensíveis e se multiplicam nas mais variadas condições. Já as bactérias metanogênicas são muito sensíveis, e é fundamental o estabelecimento de condições propícias às suas atividades vitais<sup>12-14</sup>, sendo que um dos principais fatores que deve ser controlado são os inibidores.

O sulfato, presente em elevadas concentrações principalmente em vinhotos obtidos a partir de mostos de melaço, destaca-se como o principal inibidor na biodigestão do vinhoto. Esta inibição no crescimento dos microorganismos ocorre devido à formação de sulfetos solúveis produzidos por certas bactérias a partir do sulfato<sup>14</sup>, conseqüentemente retardando a produção de metano. Uma outra explicação é que as bactérias redutoras de sulfato aparentemente são capazes de retirar o H<sub>2</sub> disponível no meio, com uma velocidade maior do que as bactérias metanogênicas<sup>11</sup>.

Assim, torna-se importante o controle analítico prévio das concentrações de sulfato existentes no vinhoto, a fim de se obter uma alta eficiência dos projetos de biodigestores. Os métodos existentes na literatura referem-se à determinação geral de sulfato, ou seja, não específicos para sulfato em vinhoto. Os principais métodos que poderiam ser, devido a suas características, aplicados a amostras de sulfato, encontram-se citados por Prada et al.<sup>15</sup> em artigo que inclui também as principais vantagens e desvantagens dos mesmos.

No presente trabalho, então, desenvolveu-se uma metodologia para determinação de sulfato em vinhoto, a partir de um método proposto anteriormente<sup>15</sup>. Assim, estabeleceram-se as condições ótimas para a análise de amostras reais, com um prévio tratamento das mesmas para eliminação da matéria orgânica e íons interferentes através de colunas de troca iônica. Várias amostras de vinhoto foram analisadas e os resultados são apresentados. Finalmente, para efeito de comparação dos resultados, aplicou-se também o método clássico gravimétrico de determinação de sulfato.

## EXPERIMENTAL

### Reagentes e Soluções

Todos os reagentes foram de Grau-Analítico (Merck). A Resina de Troca Iônica Amberlite IR-120 (PLUS) fortemente ácida (aldrich), foi ativada com ácido clorídrico 4 M, durante 1 hora sob agitação, e lavada com água deionizada até teste negativo para cloreto. As soluções de nitrato de chumbo, EDTA (Na<sub>2</sub>C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.2H<sub>2</sub>O) e a solução de sulfato de magnésio hepta-hidratado foram preparadas pela dissolução de seus sais em água, sendo que a solução de EDTA foi padronizada conforme a literatura<sup>16</sup>, e a solução de magnésio a partir da solução padronizada de EDTA<sup>17</sup>. A mistura de indicadores Negro de Eriocromo T e Vermelho de Metila foi obtida pela homogeneização de ambos na proporção de 5:1, respectivamente, em presença de NaCl. A solução tampão pH 10 foi preparada a partir de soluções de cloreto de amônio e hidróxido de amônio.

### Pré-Tratamento das Amostras de Vinhoto

Previamente ao tratamento das amostras de vinhoto para

eliminar a matéria orgânica, realizou-se um teste qualitativo<sup>18</sup> para verificar a possível redução de íons SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> a S<sup>2-</sup> pela ação das bactérias durante o armazenamento das amostras<sup>19</sup>. Para isso colocou-se em um tubo de ensaio, 3 mL de solução de vinhoto, acidificando com solução de HCl concentrado. Em outro tubo, adicionou-se 3 mL de solução de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 0,1 mol/L e montou-se um sistema em "U". Aqueceu-se do lado da solução de vinhoto, pois caso houvesse íons S<sup>2-</sup>, este seria volatilizado na forma de H<sub>2</sub>S, o qual precipitaria na forma de PbS, no tubo contendo a solução de nitrato de chumbo. Após um certo tempo de aquecimento, não se verificou a formação de precipitado.

### Eliminação da Matéria Orgânica

Em um béquer de 250 mL, trata-se uma alíquota de 25,00 mL de vinhoto, sob aquecimento em bico de Bunsen, com peróxido de hidrogênio 30 % e ácido nítrico concentrado, na proporção de 3:1, respectivamente, dependendo da concentração de matéria orgânica existente na amostra, e mais 25 mL de água destilada. Ferve-se a solução até redução de volume próximo a 5 mL e adiciona-se 25 mL de água destilada e caso a matéria orgânica não tenha sido totalmente destruída, faz-se nova adição de peróxido de hidrogênio e ácido nítrico. Evapora-se a solução novamente até próximo a 5 mL. Após isso, a amostra deve estar incolor e totalmente mineralizada.

### Eliminação dos Interferentes catiônicos

Para eliminação dos interferentes catiônicos, fez-se uso de colunas de troca iônica. As mesmas foram montadas com o auxílio de buretas de 50 mL, ocupando-se 40 mL com resina de troca catiônica fortemente ácida Amberlite IR-120 (PLUS) devidamente ativada e umedecida.

Ajusta-se o tempo de eluição em 0,5 mL/minuto e passa-se, então, a amostra pré-tratada pela coluna de troca iônica. A seguir, lava-se a resina com água destilada até que a solução eluída apresente pH próximo à neutralidade. Reduzir o volume da solução eluída até 75 mL, em chapa de aquecimento, e até aproximadamente 25 mL em banho maria.

### Procedimento

Inicialmente, faz-se testes para verificar a presença de íons PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, pelo método do fosfato de amônio e magnésio<sup>20</sup>, pois o fosfato é um forte interferente no método utilizado e deve ser previamente eliminado. Após isso, segue-se procedimento já publicado com detalhes respectivos<sup>15</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o intuito de determinar sulfato em vinhoto, coletou-se duas amostras de vinhoto. A primeira amostra proveniente de mosto misto foi coletada na Usina Zanin na Região de Araraquara - SP. A segunda amostra coletada foi da Usina Campestre, na cidade de Penápolis-SP, também proveniente de mosto misto. As amostras foram coletadas em frascos de polietileno de 2 litros cada, e mantidas em geladeira (4-5°C) para evitar a redução de íons SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> a S<sup>2-</sup>, pela presença de certas bactérias existentes na matéria orgânica do vinhoto<sup>19</sup>.

Várias alíquotas de 25,00 mL de vinhoto das duas procedências foram tratadas para a eliminação da matéria orgânica, eliminação dos interferentes catiônicos e, também, foram feitos testes para verificar a presença de fosfato, como descrito anteriormente. A princípio, os testes foram negativos para todas as amostras, entretanto, após algumas horas verificou-se a presença de pequenos cristais na superfície das soluções das amostras de vinhoto de Araraquara.

Pelo fato de a concentração de fosfato existente nas amostras de vinhoto ser muito baixa, não foi possível a sua separação pelo

**Tabela 2.** Determinação da concentração de sulfato em alíquotas de 25,00 mL de amostras de vinhoto de mostos mistos, provenientes de Araraquara e Penápolis, pelos métodos indireto e gravimétrico.

Araraquara		Penápolis	
Método indireto	Método Gravimétrico	Método indireto	Método Gravimétrico
Concentração de $\text{SO}_4^{2-}$ / (mM)	Concentração de $\text{SO}_4^{2-}$ / (mM)	Concentração de $\text{SO}_4^{2-}$ / (mM)	Concentração de $\text{SO}_4^{2-}$ / (mM)
25,32	24,10	9,015	9,069
25,34	24,03	8,995	8,932
25,28	23,98	9,034	8,982
25,30	24,08	9,046	8,878
25,31	23,98	9,023	9,032
25,31 ± 0,04	24,03 ± 0,07	9,023 ± 0,036	8,979 ± 0,095

método do fosfato de amônio e magnésio. Foram, então, feitas as determinações de sulfato para as várias alíquotas tratadas de cada amostra de vinhoto, pelo método indireto e pelo método gravimétrico, considerado como de referência<sup>19</sup>, para efeito de comparação. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 2.

Deve-se ressaltar, que não foi necessário o ajuste do valor de pH da solução eluída, antes da precipitação do sulfato na forma de sulfato de chumbo. Pois mesmo em valores de pH mais baixos, como no caso das soluções eluídas das amostras de vinhoto de Araraquara e Penápolis, que apresentaram valores de pH em torno de 0,9 e 1,1, respectivamente, as diferenças dos valores encontrados não são significativas<sup>21</sup>.

Comparando-se os resultados obtidos na tabela 2, verifica-se que para a amostra de vinhoto proveniente de Araraquara, há uma diferença de 5,1% entre os métodos indireto e gravimétrico. Já para a amostra de vinhoto de Penápolis, a diferença encontrada foi de apenas 0,5%. Nota-se, entretanto, que em ambas as amostras de vinhoto a concentração de sulfato encontrada foi maior utilizando o método indireto.

Através do Teste  $F^{22}$ , que considera a razão das variâncias, ou seja, dos quadrados dos desvios padrão, foi possível verificar se o método indireto tem precisão maior do que o método padrão. Para as cinco determinações realizadas por cada método, para as amostras de vinhoto de Araraquara, tem-se 4 graus de liberdade, e um valor de  $F_{4,4}$  calculado igual a 3,06. Já para as análises de sulfato das amostras de vinhoto de Penápolis, tem-se, também, 4 graus de liberdade e um valor de  $F_{4,4} = 6,96$ . Comparando-se com o valor crítico de  $F_{4,4} = 9,605$ , para 95 % de confiança, verifica-se que o valor calculado é menor que o tabelado, indicando, então, que não há diferenças significativas entre os dois métodos, para as duas amostras de vinhoto analisadas.

Foram feitas, também, determinações de fosfato pelo método padrão espectrofotométrico do cloreto estano<sup>23</sup>, já que as concentrações de fosfato existentes nas amostras de vinhoto não são detectáveis pelo método titulométrico do fosfato de amônio e magnésio. Fez-se, então, cinco determinações de fosfato para cada amostra de vinhoto após os tratamentos já citados. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 3.

**Tabela 3.** Determinação da concentração de fosfato em amostras de vinhoto pelo método padrão do cloreto estano.

Araraquara	Penápolis
Concentração de $\text{PO}_4^{3-}$ / (mM)	Concentração de $\text{PO}_4^{3-}$ / (mM)
4,068	2,174
4,057	2,107
4,047	2,165
4,075	2,157
4,072	2,141
4,064 ± 0,014	2,149 ± 0,033

Finalmente, pode-se comparar as concentrações tanto de íons  $\text{SO}_4^{2-}$  quanto de íons  $\text{PO}_4^{3-}$ , presentes em ambas as amostras de vinhoto coletadas, com os valores da literatura (Tabela 1), já que as mesmas foram obtidas a partir de mostos mistos, cuja diferença é a região de origem no Estado de São Paulo. Convertendo-se mM em mg/L, tem-se, da tabela 2, que as concentrações de sulfato médias das amostras de Araraquara e Penápolis são  $\approx 2500$  e  $900$  mg/L, respectivamente. Estes valores são distintos dos valores encontrados na tabela 1 e isto pode se dever à qualidade da cana-de-açúcar; às etapas de fermentação; aos sistemas de destilação utilizados, assim como outros fatores industriais. Deve-se considerar, também, o clima e a composição do solo de cada região<sup>(7)</sup>. Quanto ao teor de fósforo tem-se que as amostras, Araraquara e Penápolis, apresentaram valores de  $120$  e  $68$  mg/L, respectivamente. Estes enquadram-se perfeitamente na faixa citada na tabela 1, entretanto, as explicações acima, dadas para o sulfato, são também aplicadas ao fosfato.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior); CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- Craveiro, A. M.; Schmidell W.; *Revista Politécnica* **1985**, 11.
- Anais do Seminário Internacional Sobre Tratamento de Vinhoto - INT; Rio de Janeiro, **1976**, 1-2.
- Sheehan, G. J.; Greenfield, D. F.; *Water Research* **1980**, *14*, 257.
- Tauk, S. M.; *Ciência Hoje* **1989**, *9*, 68.
- "Tratamento de Vinhoto"; Anais do 2º Encontro Nacional, CNI - Confederação Nacional da Indústria, 1982.
- "Redução do Volume de Vinhaça Através de Processos Novos de Fermentação, Destilação e outros", CETESB - Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental, São Paulo, 1984.
- Pontin, J. A.; *Tese de Doutorado*; Universidade de São Paulo; São Paulo, 1996.
- "Onde Colocar Todo o Vinhoto do Proálcool"; *Química e Derivados* **1981**, *16*, 44.
- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - Projeto Biogás; Universidade Estadual Paulista; p 10.
- Golueke, C. G.; *Biogas and Alcohol Fuels Production - Proceedings of a Seminar on Biomass Energy for City, Farm and Industry*; Edited by The Staff of Compost Science/Land Utilization; J. G. Press, Los Angeles, 1980; p 8.

11. Shuler, M. L.; *Utilization and Recycle of Agricultural Wastes and Residues*; C. R. C. Press Inc., Boca Raton-Florida, 1980; p 136.
12. Gascoine, J. A.; Hughes, W. L.; *Biological Degradation of Cellulose*; Butterworths, London, 1960; p 264.
13. Mandels, M.; Reese, E. T.; *Annu. Rev. Phytopathol.* **1965**, 3, 85.
14. Camargo, C. A.; *Conservação de Energia na Indústria do Açúcar e do Alcool: Manual de Recomendações*, IPT - Instituto de Pesquisas Tecnológicas; São Paulo, 1990; p 693.
15. Prada, S. M.; Guekezian, M.; Suárez-Iha, M. E. V.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 329, 197.
16. Prada, S. M.; Moussalli, C. H. R.; Moya, H. D.; Suárez-Iha, M.E.V.; *Analisis* **1997**, 25, 65.
17. Flaschka, H. A.; *Complexometric Titrations*, Pergamon Press, London, 1959; p 75.
18. Wismer, K. R.; *Qualitative Analysis with Ionic Equilibrium*; MacMillan Publishing Co.; New York, 1991; p 264.
19. Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E.; Trussell, R.R.; *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*; American Public Health Association, 17<sup>a</sup> ed., 1989; p 4-204.
20. Saint-Chamant, F.; Vigier, R.; *Bull. Soc. Chim. France* **1954**, 180.
21. Prada, S. M.; *Dissertação de Mestrado*; Universidade de São Paulo; São Paulo, 1995.
22. Miller, J. C.; Miller, J. N.; *Estatística Para Química Analítica*, Addison-Wesley, Delaware, 2<sup>a</sup> ed., 1993; p 33.
23. Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E.; Trussell, R. R.; *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*; American Public Health Association, 17<sup>a</sup> ed., 1989; p 4-173.