



Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Mestrado em Engenharia Ambiental



**“PRODUÇÃO DE METANO E HIDROGÊNIO COM HIDROLISADOS
GERADOS NO TRATAMENTO OXIDATIVO DO BAGAÇO DE
CANA-DE-AÇÚCAR”**

Oscar Fernando Herrera Adarme

Ouro Preto, MG
2016



Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Mestrado em Engenharia Ambiental



Oscar Fernando Herrera Adarme

**“PRODUÇÃO DE METANO E HIDROGÊNIO COM HIDROLISADOS
GERADOS NO TRATAMENTO OXIDATIVO DO BAGAÇO DE
CANA-DE-AÇÚCAR”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título: Mestre em Engenharia Ambiental.

Área de Concentração: Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Francisco de Aquino

Ouro Preto, MG
2016

A221p

Adarme, Oscar Fernando Herrera.

Produção de metano e hidrogênio com hidrolisados gerados no tratamento oxidativo do bagaço de cana-de-açúcar [manuscrito] / Oscar Fernando Herrera Adarme. - 2016.

108f.: il.: color; grafs.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Francisco de Aquino.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Mestrado em Engenharia Ambiental.

Área de Concentração: Tecnologias Ambientais.

1. Ozonização. 2. Bagaço de cana. 3. Biomassa vegetal. 4. Digestão Anaeróbia .
I. Aquino, Sergio Francisco de. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III.
Titulo.

CDU: 664.113:66.094.



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



*Produção de metano e hidrogênio com hidrolisados gerados no tratamento oxidativo do bagaço de
cana-de-açúcar*

Autor: Oscar Fernando Herrera Adarme

Dissertação defendida e aprovada, em 16 de dezembro de 2015, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Professor Dr. Sérgio Francisco de Aquino- Orientador
Universidade Federal de Ouro Preto

Professora Drª. Ann Honor Munteer
Universidade Federal de Viçosa

Professor Dr. Leandro Vinicius Alves Gurgel
Universidade Federal de Ouro Preto

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| AGRADECIMENTOS | v |
| LISTA DE FIGURAS | vi |
| LISTA DE TABELAS | viii |
| LISTA DE ABREVIACÕES | ix |
| RESUMO | x |
| ABSTRACT | xi |
| 1. INTRODUÇÃO | 12 |
| 2. OBJETIVOS | 15 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 15 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 15 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 16 |
| 3.1. Resíduos lignocelulósicos- bagaço de cana-de-açúcar | 16 |
| 3.2. Técnicas de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica | 20 |
| 3.3. Tratamentos oxidativos da biomassa lignocelulósica | 25 |
| 3.3.1 Ozonização..... | 28 |
| 3.4. Digestão anaeróbia de biomassa lignocelulósica..... | 39 |
| 3.5. Conclusões da revisão da literatura | 43 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 44 |
| 4.1 Preparo do bagaço de cana-de-açúcar | 44 |
| 4.3 Medição do Carbono Orgânico Dissolvido (COD) | 48 |
| 4.4 Medição de ozônio..... | 49 |
| 4.4.1 Produção de ozônio..... | 49 |
| 4.4.2 Análise de ozônio dissolvido – Modificação do método padrão índigo..... | 49 |
| 4.4.3 Procedimento do método índigo modificado..... | 50 |
| 4.4.4 Procedimento para preparar curva padrão | 51 |
| 4.5 Ensaios de oxidação para o pré-tratamento do bagaço de cana de açúcar | 52 |

| | | |
|--------------|---|------------|
| 4.6 | Caracterização dos hidrolisados e identificação de subprodutos..... | 53 |
| 4.7 | Experimentos de produção de metano (CH₄) e hidrogênio (H₂) | 54 |
| 4.8 | Planejamento experimental e ferramentas para a modelagem | 56 |
| 4.9 | Análise cinética..... | 57 |
| 5. | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 58 |
| 5.1 | Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar | 58 |
| 5.2 | Análise da Fração Sólida..... | 58 |
| 5.2.1 | Remoção de Lignina | 58 |
| 5.2.2 | Remoção de hemicelulose..... | 63 |
| 5.3 | Análises dos hidrolisado | 66 |
| 5.3.1 | Análise do carbono orgânico dissolvido no hidrolisado | 67 |
| 5.3.2 | Análise do teor de lignina solúvel..... | 71 |
| 5.3.3 | Análise do teor de açúcar C5 e C6 | 74 |
| 5.3.4 | Análise dos hidrolisados por CG-EM | 77 |
| 5.4 | Produção de metano e hidrogênio a partir dos hidrolisados de bagaço de cana | 82 |
| 5.5 | Modelagem integrada da produção de metano e hidrogênio e das condições de | |
| | oxidação do bagaço de cana..... | 89 |
| 5.6 | Análise energética do processo | 94 |
| 6. | CONCLUSÕES | 98 |
| 7. | RECOMENDAÇÕES PARA PESQUISAS FUTURAS..... | 100 |
| 8. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 101 |

AGRADECIMENTOS

À organização de estados americanos (OEA) e ao grupo Coimbra de universidades brasileiras (GCUB) pela oportunidade de vir ao Brasil para fazer estudos pós-graduação.

Ao CNPq e à FAPEMIG pelo fomento possibilitando a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Ouro Preto, por possibilitar a realização do trabalho e pela bolsa de estudos.

Ao meu orientador professor Sérgio Francisco de Aquino pela oportunidade, paciência, confiança, ajuda e amizade. Ficarei grato para sempre.

Aos professores Leandro Vinícius Alves Gurgel e Bruno Eduardo Lobo Baêta pela ajuda, disposição e amizade para conversar e discutir assuntos tanto acadêmicos como pessoais.

À minha família, especialmente meus pais (Esperanza Adarme e Gustavo Hincapie), assim como Luisa, Diana, Valen e Luis G pelo incentivo e ajuda.

À Gabriella pela paciência, amizade e carinho.

Aos colegas e amigos do laboratório de química tecnológica e ambiental (LQTA) pela ajuda, apoio, incentivos e camaradagem.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estrutura esquemática da biomassa lignocelulósica. Os hexágonos na lignina representam as subunidades: álcool p-coumarílico (H), álcool coniferílico (G) e álcool sinapílico (S)..... | 17 |
| Figura 2. Descrição conceitual da aplicação dos POA para fracionamento da biomassa lignocelulósica..... | 27 |
| Figura 3. Resumo da sequência de processos na digestão anaeróbia de macromoléculas complexas. Os números referem-se às porcentagens de fluxo de elétrons em termos de DQO: Adaptado de (Chandra, Takeuchi et al. 2012)..... | 40 |
| Figura 4. Esquema experimental para ensaios de pré-tratamento oxidativo do BCA..... | 53 |
| Figura 5. Diagrama de Pareto para remoção da lignina | 61 |
| Figura 6. Gráfico da superfície ajustada para remoção de lignina em função da RSL e carga de O ₃ mantendo fixo o tempo (67,5 min) e o pH (11)..... | 62 |
| Figura 7. Gráfico da superfície ajustada para remoção de lignina em função do pH e carga de O ₃ mantendo fixo o tempo (67,5 min) e a RSL (0,0625 g mL ⁻¹)..... | 62 |
| Figura 8. Diagrama de Pareto para a remoção das hemiceluloses | 64 |
| Figura 9. Gráfico para a superfície ajustada da remoção de hemiceluloses em função do pH e carga de O ₃ mantendo fixo o tempo em 67,5 min e a RSL em 0,0625 | 66 |
| Figura 10. Diagrama de Pareto para carbono orgânico total..... | 69 |
| Figura 11. Gráfico para a superfície ajustada do COT em função do tempo e carga de O ₃ mantendo fixo o pH em 7 e a RSL em 0,0625 | 70 |
| Figura 12. Gráfico para a superfície ajustada do COT em função do pH e carga de O ₃ mantendo o tempo fixo no valor de 67,5 min e a RSL em 0,0625 g mL ⁻¹ | 70 |
| Figura 13. Diagrama de Pareto para a lignina solúvel no hidrolisado gerado pelo tratamento oxidativo do bagaço de cana. | 73 |
| Figura 14. Gráfico para a superfície ajustada da concentração de Lignina Solúvel em função do pH e carga de O ₃ mantendo fixo o tempo em 67,5 min e a RSL em 0,0625 g mL ⁻¹ | 73 |
| Figura 15. Gráfico para a superfície ajustada da concentração de Lignina Solúvel em função do tempo e carga de O ₃ fixando o pH em 7 e a RSL em 0,0625 g mL ⁻¹ | 74 |
| Figura 16. Diagrama de Pareto das análises de açúcares no hidrolisado obtido pelo tratamento oxidativo do bagaço de cana | 75 |
| Figura 17. Gráfico para a superfície ajustada da concentração de açúcares C ₅ -C ₆ em função do pH e carga de O ₃ mantendo a RSL fixa em 0,0625 g mL ⁻¹ e o tempo em 67,5 min | 77 |
| Figura 18. Cromatograma obtido no CG-EM com amostra do hidrolisado gerado na condição experimental 1 (O ₃ em meio alcalino)..... | 80 |

| | |
|---|----|
| Figura 19. Cromatograma obtido no CG-EM com amostra do hidrolisado gerado na condição experimental 8 (O ₃ em meio ácido)..... | 81 |
| Figura 20. Cromatograma obtido no CG-EM com amostra do hidrolisado gerado na condição experimental 9 (O ₃ em meio neutro)..... | 82 |
| Figura 21. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de metano a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 1 (O ₃ meio alcalino)..... | 85 |
| Figura 22. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de metano a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 7 (O ₃ meio ácido)..... | 85 |
| Figura 23. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de metano a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 11 (O ₃ meio neutro)..... | 85 |
| Figura 24. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de hidrogênio a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 1 (O ₃ meio alcalino)..... | 87 |
| Figura 25. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de hidrogênio a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 5 (O ₃ meio ácido)..... | 87 |
| Figura 26. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de hidrogênio a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 9 (O ₃ meio neutro)..... | 88 |
| Figura 27. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados da produção de metano | 90 |
| Figura 28. Gráfico de superfície da produção de metano em função da carga de O ₃ e pH mantendo fixo o tempo em 67,5 min e RSL em 0,0625 gmL ⁻¹ | 91 |
| Figura 29. Gráfico de superfície da produção de metano em função da carga de O ₃ e tempo de oxidação fixando o pH em 7 e a RSL em 0,0625 gmL ⁻¹ | 91 |
| Figura 30. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados da produção de hidrogênio..... | 93 |
| Figura 31. Gráfico de superfície da produção de H ₂ em função da carga de ozônio e pH para um tempo fixo de 67,5 min e RSL de 0,0625 gmL ⁻¹ | 93 |
| Figura 32. Gráfico de superfície da produção de H ₂ em função da carga de ozônio e tempo de oxidação em quanto o pH é fixado em 7 e RSL em 0,0625 gmL ⁻¹ | 94 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Composição química (% m/m, base seca) do bagaço de cana-de-açúcar oriundo do Brasil. Fonte: Adaptado de CANILHA et al.,(2012) | 19 |
| Tabela 2. Informações sobre as técnicas de pré-tratamento mais utilizadas para o uso de biomassa lignocelulósica em bioprocessos (início) | 21 |
| Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica (início)..... | 31 |
| Tabela 4. Produção de CH ₄ e H ₂ pela digestão anaeróbia de biomassa pré-tratada com POA | 42 |
| Tabela 5. Matriz de condições experimentais para definição das condições de oxidação do bagaço de cana para a produção de hidrolisados posteriormente submetidos à digestão anaeróbia. | 53 |
| Tabela 6. Resultados das porcentagens de remoção para lignina e hemiceluloses. | 59 |
| Tabela 7. Análise de variância para a remoção de lignina | 60 |
| Tabela 8. Análise de variância para a remoção de hemiceluloses..... | 65 |
| Tabela 9. Teores de açúcares, COT, Lignina solúvel e furfurais para cada condição experimental. | 67 |
| Tabela 10. Análise de variância para COT nos hidrolisados gerados no tratamento oxidativo do bagaço de cana. | 68 |
| Tabela 11. Análise de variância para lignina solúvel no hidrolisado gerado no pré-tratamento oxidativo do bagaço de cana. | 72 |
| Tabela 12. Análise de variância para os açúcares C ₅ -C ₆ no hidrolisado ou fração solúvel..... | 76 |
| Tabela 13. Estruturas dos compostos identificados nos hidrolisados por CG-EM. Sendo: experimento 1 meio alcalino, 8 meio ácido e 9 meio neutro (início)..... | 78 |
| Tabela 14. Produção normalizada de metano e hidrogênio a partir dos hidrolisados gerados nos ensaios de oxidação do bagaço de cana..... | 84 |
| Tabela 15. Comparação dos parâmetros do modelo de Gompertz para a produção de metano apresentada nas Figuras 21, 22 e 23..... | 86 |
| Tabela 16. Comparação dos parâmetros do modelo de Gompertz para a produção de hidrogênio apresentada nas Figuras 24, 25 e 26..... | 88 |
| Tabela 17. Análise de variância da produção normalizada de metano (Nm ³ CH ₄ /kgCOT) em função das variáveis de pré-tratamento do bagaço de cana. | 89 |
| Tabela 18. Análise de variância para produção normalizada de hidrogênio (Nm ³ H ₂ /kg COT) a partir dos hidrolisados gerados no tratamento oxidativo do bagaço de cana. | 92 |
| Tabela 19. Representação do balanço energético para cada condição experimental | 96 |

LISTA DE ABREVIACÕES

COD - Carbono Orgânico Dissolvido

BL - Biomassa lignocelulósica

POA – Processo oxidativo avançado

FF – 2-furfuraldeido

HMF – 5-hidroximetil-2-furfuraldeido

BCA – Bagaço de cana-de-açúcar

DA – Digestão anaeróbia

AF – açúcares fermentescíveis

BV – banda de valência

BC – banda de condução

NL – Normal litro (medido em CNPT)

DQO – Demanda química de oxigênio

DA-S - Digestão anaeróbia em fase sólida

DA-L - Digestão anaeróbia em fase líquida

LS – Lignina solúvel

RESUMO

Atualmente, a principal fonte de energia utilizada na grande maioria das atividades industriais é o petróleo e o gás natural, cujas quantidades e disponibilidade estão sujeitas a diferentes fatores como econômicos, ambientais e políticos. Neste sentido, o processamento de recursos renováveis, como a biomassa, é uma alternativa estratégica e sustentável para a produção de energia e combustíveis. Uma fonte de matéria prima renovável (biomassa) para conversão em biocombustível e biogás são os resíduos lignocelulósicos como o bagaço de cana. Tais materiais possuem, em suas composições, teores consideráveis de compostos poliméricos como celulose, hemiceluloses e lignina, os quais podem liberar compostos fermentescíveis para produção de energia mediante o uso de técnicas de pré-tratamento. Em geral os métodos de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas podem ser divididos em físicos, químicos e biológicos e seu objetivo principal é fracionar o material lignocelulósico. No presente estudo, foi avaliada a efetividade de utilização de ozônio, em diferentes valores de pH para permitir a oxidação molecular e radicalar, no pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar visando à obtenção de hidrolisados fermentescíveis para produção de biogás (CH_4 e H_2) mediante digestão anaeróbia. As variáveis estudadas no pré-tratamento foram pH, tempo de reação (min), carga de ozônio (mg/min) e razão solido-liquido - RSL (g/mL). Os resultados mostraram que é possível remover 45,2 % da lignina e 48,3 % de hemiceluloses usando ozônio (8 mg/min) em pH 11, por 15 min, na razão RSL de 0,075 g/mL. Os hidrolisados obtidos foram caracterizados em função do teor de açúcares, carbono orgânico total, lignina solúvel, furanos e alguns outros compostos presentes identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. A Avaliação do potencial bioquímico de metano (PBM) e hidrogênio (PBH) dos hidrolisados obtidos, mostrou que é possível produzir 2,6 Nm^3 CH_4 e 0,2 Nm^3 de H_2 por kg de COD nas melhores condições. Finalmente, foi realizada uma análise energética dos pré-tratamentos, mostrando um gasto significativamente alto relacionado à produção de ozônio. No entanto, ao se considerar o uso da fração sólida pré-tratada para produção de etanol 2G, o investimento energético no pré-tratamento é compensado, garantindo assim a viabilidade do processo integrado de produção de combustíveis de 1ª e 2ª geração.

Palavras chaves: ozonólise, bagaço de cana, pré-tratamento de biomassa, digestão anaeróbia.

ABSTRACT

Currently, the major sources of energy consumed by industrial activities include petroleum and natural gas, whose amounts and availability are both subject to economic, environmental and political factors. With this in mind, the use of renewable resources such as lignocellulosic biomass, serves as an alternative and sustainable strategy for the production of energy and fuels. Sugarcane bagasse can be considered as a good primary source of renewable energy for its conversion into biofuels and biogas. This agroindustrial material is rich in polymeric content such as cellulose, hemicellulose and lignin. After undergoing biomass pretreatments, these polymers may then liberate fermentable sugars for the production of energy. These pretreatments are generally divided into the following groups: physical, chemical and biological, all with the objective of fractionating lignocellulosic material. In the present study, the efficiency of ozone, in different pH values to assess molecular and radical oxidation, was evaluated for the pretreatment of sugarcane bagasse with the objective of obtaining fermentable hydrolysates for the production of biogas (CH_4 e H_2) via anaerobic digestion. The variables studied included pH, reaction time (min), ozone mass flow (mg/min), and solid-to-liquid ratio - SLR (g/mL). The results show that it is possible to remove 45.2% of lignin and 48.3% of hemicelluloses with the use of ozone (8 mg/min) at pH 11 for 15 min, employing a SLR of 0.075 g/mL. The hydrolysates obtained were characterized by the following contents: sugars, total organic carbon, soluble lignin, furans, and other components identified by gas chromatography and mass spectrometry. The evaluation of biochemical potential of methane (BPM) and hydrogen (BPH) of the resulting hydrolysates show that it was possible to produce 2.6 Nm^3 of CH_4 and 0.2 Nm^3 of H_2 per kg of TOC in the best conditions. Lastly, an energetic balance of the pretreatments were made, showing that significantly high energy is needed for ozone production. Therefore, considering the use of the pretreated solid fraction for the production of 2G ethanol, the energetic investment made in the pretreatment is compensated for, guaranteeing the viability of the integrated process for the production of 1G and 2G fuels.

Keywords: ozonolysis, sugarcane bagasse, biomass pretreatment, anaerobic digestion

1. INTRODUÇÃO

A biomassa foi considerada a principal fonte de energia até o século XIX, no entanto, seu uso foi diminuindo com o começo da revolução industrial e o ingresso dos combustíveis fósseis como fontes energéticas mais eficientes (ENERGIA, 2010). Atualmente, tais recursos fósseis denominados não renováveis apresentam diversos problemas, tanto econômicos como ambientais. Além disso, a quantidade e disponibilidade dos mesmos é uma incógnita, de forma que as reservas mundiais de petróleo necessitam de uma boa gestão para garantir sua duração. Nesse sentido, a biomassa surge novamente como uma alternativa para obtenção de energia e, para garantir que tal atividade seja sustentável é preciso pesquisar e desenvolver metodologias apropriadas, que além de garantir a produção de biocombustíveis permitam obter uma completa gestão ambiental, técnica e econômica de matérias primas e produtos similares.

O combustível de fonte renovável (biomassa) mais produzido é o etanol, o qual é usualmente obtido de culturas ricas em açúcares e amido tais como milho, beterraba ou cana-de-açúcar. Outras fontes de matérias-primas renováveis amplamente estudadas para a conversão em biocombustível e biogás são os resíduos lignocelulósicos. Por biomassa lignocelulósica (BL) entende-se o resíduo gerado em atividades agrícolas, silvícolas e nas indústrias agroalimentares. Como consequência, a produção de biocombustíveis líquidos ou gasosos e bioprodutos de valor agregado a partir de BL têm aspectos ambientais altamente favoráveis. (SÁNCHEZ; CARDONA, 2008)

Anualmente grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos são acumuladas no planeta em decorrência da produção agrícola ou agro-florestal e a destinação dada a esses materiais representa uma perda do potencial de produção energético, além de gerarem um passivo ambiental. Neste contexto, o Brasil assume uma posição destacada, pois é o terceiro maior exportador agrícola (OMC , 2010) e a quantidade de biorresíduos oriundos do setor agrícola no país é conseqüentemente alta. Para contextualizar, a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) estima que para o biênio 2015/2016 serão gerados aproximadamente 860 milhões de toneladas destes produtos. (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), 2015a, 2015b, 2015c).

A biomassa lignocelulósica representa uma fonte natural, barata e abundante que pode ser explorada para produção de biocombustíveis. As mesmas são compostas basicamente de compostos de características poliméricas como celulose (30 a 45%), hemiceluloses (25 a 30%) e lignina (25 a 30%). Os carboidratos da parede celular presentes na forma de celulose (glicose) e hemiceluloses (arabinose, galactose, glicose, xilose e manose) podem então ser convertidos em diferentes tipos de combustíveis (etanol, biogás entre outros). Por outro lado, as ligninas são macromoléculas complexas, constituídas basicamente por compostos fenólicos formando uma estrutura hidrofóbica de alta massa molar (SJÖSTRÖM, 1993), podendo ainda exibir toxicidade e recalcitrância a micro-organismos anaeróbios. Assim, a complexidade das interações dos três constituintes principais na parede celular é o principal desafio para recuperação dos carboidratos presentes (SUN; CHENG, 2002), pois a sua separação para posterior utilização aumenta os desafios tecnológicos devido à heterogeneidade da BL. Somase à essa dificuldade, a ausência de métodos de pré-tratamento aplicáveis para qualquer tipo de resíduo lignocelulósico agroindustrial.

Em geral os métodos de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas podem ser divididos em físicos, químicos e biológicos (ZHENG et al., 2014). Tais pré-tratamentos tem a finalidade de promover uma melhor separação dos três componentes principais da BL, facilitando as etapas posteriores da cadeia produtiva dos biocombustíveis e bioprodutos. Dentre as técnicas de pré-tratamento clássicas vale destacar os processos físico-químicos utilizando ácidos minerais concentrados e diluídos combinados ou não com temperaturas elevadas; e o processo conhecido como auto-hidrólise. Além dos processos clássicos, têm sido pesquisados novos processos físicos e técnicas híbridas (combinação de métodos químicos, físicos e biológicos), tais quais aqueles envolvendo radiação (ex: raios gama, feixes de elétrons e micro-ondas) e oxidantes fortes (ex: ozonização; peroxidação) para o pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos (TAHERZADEH; KARIMI, 2008).

Os processos oxidativos avançados (POA) podem ser considerados como parte das técnicas híbridas e caracterizam-se por transformar a grande maioria das moléculas orgânicas em dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos, por meio de reações de degradação que usam espécies transitórias oxidantes, principalmente radicais hidroxilas (TEXEIRA; FIGUEIREDO, 2004). Envolvendo o uso de diferentes tipos de agentes oxidantes como

ozônio, peróxido de hidrogênio, luz ultravioleta (UV) e suas combinações com sais de metais em transição (e.x. ferro), os POA podem ser considerados como tecnologias eficientes que poderiam favorecer a hidrólise e a quebra química dos complexos componentes da BL (Ex: lignina e hemiceluloses). Por isso é possível que os POA facilitem a solubilidade e degradação das hemiceluloses e a da lignina, assim como sua modificação estrutural.

Uma das principais vantagens do pré-tratamento com POA é que são comumente realizados em temperatura ambiente e, portanto, não levam à produção de compostos intermediários tóxicos como 2-furfuraldeído (FF) e 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (HMF), situação que acontece comumente com os pré-tratamentos ditos “convencionais”. Isso pode ser um benefício para aumentar a eficiência dos processos de produção de biogás usando processos anaeróbios, em que os micro-organismos sabidamente têm menor taxa de crescimento e são mais propensos aos efeitos tóxicos. No entanto, muitos POA são técnicas relativamente inexploradas na área de pré-tratamento de BL, abrindo a possibilidade de investigar a influência de diferentes fatores (operacionais, econômicos e ambientais) buscando aplicações em escala industrial.

Com base no exposto, a presente pesquisa avalia o uso de processos oxidativos empregando ozônio dissolvido em soluções aquosas de pH controlado para o pré-tratamento de um material lignocelulósico (bagaço de cana-de-açúcar) com vistas à posterior produção de biogás (metano e hidrogênio) a partir da fração líquida (hidrolisado) resultante.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a efetividade de dois processos oxidativos (ozonização molecular e radicalar) no pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar visando à obtenção de hidrolisados fermentescíveis para produção de biogás (CH_4 e H_2) mediante digestão anaeróbia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar as variáveis operacionais mais significativas nos processos oxidativos selecionados para o pré-tratamento do bagaço de cana com vistas à remoção e/ou solubilização de hemiceluloses e lignina.
- b) Avaliar o potencial e a cinética de produção de CH_4 e H_2 mediante a digestão anaeróbia dos hidrolisados obtidos nos processos oxidativos selecionados.
- c) Identificar os compostos presentes nos hidrolisados obtidos dos processos oxidativos desenvolvidos por técnicas de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.
- d) Analisar o balanço energético dos pré-tratamentos oxidativos assim como dos processos de digestão anaeróbia realizados para estabelecer a viabilidade energética da implementação destas técnicas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Resíduos lignocelulósicos- bagaço de cana-de-açúcar

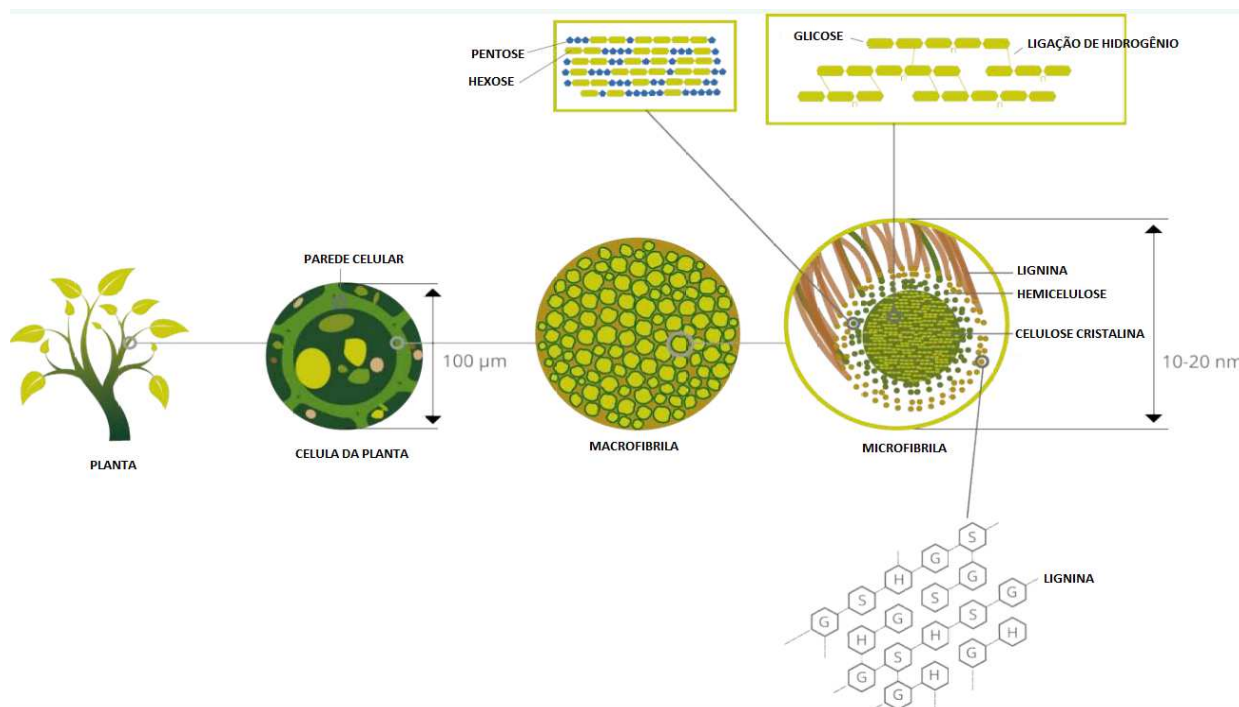
Os resíduos agroflorestais são gerados em setores produtivos agrícolas e podem ser considerados um problema ambiental principalmente pela elevada quantidade produzida (RUGGERI; TOMMASI, 2012). A maior parte da biomassa disponível em todo mundo é material lignocelulósico, que é constituído basicamente de três biopolímeros: celulose, lignina e hemiceluloses. Além destes, há uma pequena quantidade de outros materiais como, proteínas, minerais e metabólitos secundários.

Dentre os resíduos agrícolas gerados em alta quantidade, pode-se citar o bagaço de cana-de-açúcar (BCA) gerado no setor sucro-alcooleiro. Segundo dados da CONAB, no seu relatório de estimativa do acompanhamento da safra brasileira para o biênio 2015/2016, a previsão de produção de cana-de-açúcar no Brasil é de 654,6 milhões de toneladas, o que representa um aumento de 3,1 % em relação à safra 2014/2015 (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), 2015a). Estima-se que o bagaço de cana represente de 27 a 30 % da cana de açúcar processada, de forma que a quantidade de resíduos lignocelulósicos gerada na safra 2014/2015 é estimada na faixa de 176,7 a 196,3 milhões de toneladas.

As premissas anteriores apontam para o estabelecimento que uma elevada quantidade de resíduos lignocelulósicos seja produzida, e, portanto é necessário definir estratégias que busquem a geração de valor agregado a partir do uso deste tipo de resíduo. As biomassas lignocelulósicas, como o bagaço de cana-de-açúcar, são consideradas uma rica fonte de carboidratos e, por conseguinte, apresentam um grande potencial para serem utilizadas como matéria-prima para sua transformação em combustíveis, energia e produtos químicos de alto valor agregado. Em consequência, diferentes pesquisas têm mostrado a potencialidade do uso de tais resíduos para a produção de metano, hidrogênio, bioetanol e bioprodutos a partir da conversão microbiana dos carboidratos complexos contidos na forma de celuloses e hemiceluloses (BINDER; RAINES, 2009; BUNDHOO; MUDHOO; MOHEE, 2013; CANILHA et al., 2012; CARVALHEIRO; DUARTE; GÍRIO, 2008; MORONE; PANDEY, 2014; REN et al., 2009; SAHA, 2003; YU et al., 2011).

Para explorar com maior detalhe o uso da BL como matéria-prima para processos de produção de diferentes tipos de produtos (CH_4 , H_2 , combustíveis) é importante compreender melhor a sua estrutura química. A Figura 1 apresenta um esquema da biomassa lignocelulósica, onde é possível visualizar a estrutura de uma célula vegetal, a parede celular, as microfibrilas e macrofibrilas, bem como seus principais componentes: celulose, hemiceluloses (polioses) e lignina (STREFFER, 2014).

Figura 1. Estrutura esquemática da biomassa lignocelulósica. Os hexágonos na lignina representam as subunidades: álcool p-cumarílico (H), álcool coniferílico (G) e álcool sinapílico (S).



Fonte: Adaptado de (STREFFER, 2014).

Nos vegetais, de forma geral, a celulose é o componente mais abundante, seguido pelas hemiceluloses, que são responsáveis por unir as microfibrilas celulósicas em fibras e as interligarem com a lignina, criando uma rede complexa de ligações que provê força estrutural ao vegetal (VAN WYK, 2001). A lignina pode ser considerada como a “cola” celular, responsável por promover força compressiva ao tecido das plantas e às fibras individuais, e à parede celular resistência contra a deformação. Além disso, é responsável por unir as diferentes células vegetais e fornecer resistência à planta contra insetos e micro-organismos (RUBIN, 2008).

A celulose é um homopolímero linear composto por unidades de D- β -anidroglicopiranosose ligadas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4). Na estrutura da celulose, dois monômeros de glicose adjacentes são ligados pela eliminação de uma molécula de água e esta ligação dá origem a celobiose. Na molécula de celulose os grupos hidroxila possuem a mesma reatividade dos álcoois e, além disso, pode conter até 15.000 unidades de glicose (CAREY, 2001).

As hemiceluloses estão associadas às microfibrilas de celulose por ligações de hidrogênio, e são responsáveis por promoverem a união das microfibrilas de celulosas adjacentes. As hemiceluloses são heteropolissacarídeos com cadeias menores que as da celulose, porém com muitas ramificações. Os principais componentes são pentoses, hexoses e/ou ácidos urônicos (GÍRIO et al., 2010; OGATA, 2013). As hemiceluloses apresentam maior susceptibilidade a reações do que a celulose devido ao seu caráter amorfo, o que garante maior acessibilidade dos reagentes, facilitando principalmente reações de hidrólise (EBRINGEROVÁ; HEINZE, 2000).

Por sua vez, a lignina é definida como uma substância hidrofóbica, com estrutura tridimensional e amorfa, altamente ramificada (SJÖSTRÖM, 1993). O mecanismo de reação para a formação da lignina se dá a partir de uma reação de polimerização desidrogenativa dos álcoois *p*-coumarílico, coniferílico e sinapílico, dando origem às unidades de fenilpropano (WINDEISEN; WEGENER, 2012),(OGATA, 2013; SJÖSTRÖM, 1993).

O bagaço de cana-de-açúcar é um resíduo lignocelulósico fibroso gerado durante a operação de esmagamento dos colmos da cana-de-açúcar durante a moagem para extração do caldo da cana. A composição química do BCA, reportada por vários autores é mostrada na Tabela 1, o que o torna interessante como uma matéria-prima industrial de elevada importância econômica. Note-se que existem pequenas variações na composição química do BCA, as quais são explicadas em função da variedade da cana empregada, da localização geográfica dos locais de cultivo assim como pela metodologia usada na quantificação dos seus componentes principais.

A utilização e aproveitamento integral do BCA são convenientes tanto no ponto de vista econômico como ambiental. Atualmente grande parte do bagaço gerado nas usinas é

utilizada para satisfazer as demandas energéticas do processo de produção de açúcar e etanol mediante a produção de vapor pela combustão do bagaço em caldeiras na própria usina. No entanto, estudos realizados associados à experiência industrial do setor sucroalcooleiro, apontam que é possível suprir as necessidades energéticas com praticamente metade do bagaço gerado. Sendo assim, a outra metade poderia ser usada para produzir compostos com maior valor agregado, tais quais papel e celulose, etanol de 2ª geração e outros biocombustíveis (ORLANDO et al., 2002).

Tabela 1. Composição química (% m/m, base seca) do bagaço de cana-de-açúcar oriundo do Brasil. Fonte: Adaptado de CANILHA et al.,(2012)

| Referências | Componentes (%) | | | | |
|--|-----------------|---------------|---------|--------|------------|
| | Celulose | Hemiceluloses | Lignina | Cinzas | Extrativos |
| (JACKSON DE MORAES ROCHA et al., 2011) | 41,1 | 22,7 | 31,4 | 2,4 | 6,8 |
| (CANILHA et al., 2012) | 45,0 | 25,8 | 19,1 | 1,0 | 9,1 |
| (VALLEJOS et al., 2012) | 42,6 | 28,3 | 21,7 | 1,4 | 2,1 |
| (DA SILVA et al., 2010) | 38,8 | 26,0 | 32,4 | 2,8 | - |
| (BRIENZO; SIQUEIRA; MILAGRES, 2009) | 42,4 | 25,2 | 19,6 | 1,6 | - |
| (RABELO et al., 2011) | 38,4 | 23,2 | 25,0 | 1,5 | - |

A Tabela 1 mostra que o BCA é constituído principalmente por celulose, hemiceluloses e lignina. Considerando sua disponibilidade e baixo custo, o BCA representa uma fonte promissora de matéria-prima para produção de etanol, biogás (CH₄-H₂) e compostos químicos de alto valor agregado (BARTON, 1988; BINDER; RAINES, 2009; BOND; ALONSO; DUMESIC, 2014; CARVALHEIRO; DUARTE; GÍRIO, 2008; KUMAR; REETU; TEWARI, 2014; PENG et al., 2012).

A primeira etapa para realizar a transformação desse tipo de matéria-prima em compostos de maior valor agregado consiste no seu pré-tratamento (físico, químico ou biológico) cujo objetivo principal é fracionar o material lignocelulósico (BUNDHOO; MUDHOO; MOHEE, 2013; CHATURVEDI; VERMA, 2013; TAHERZADEH; KARIMI, 2008; VAN DYK; PLETSCHKE, 2012). Isso permitiria a remoção da lignina para posteriores

aplicações, favorecendo ainda a obtenção de açúcares fermentáveis (AF), de modo que as fases posteriores de processamento, como a hidrólise e fermentação, feitas quase sempre por enzimas e micro-organismos, sejam eficientes e efetivas (BENSAH; MENSAH, 2013).

3.2. Técnicas de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica

As etapas de pré-tratamento precisam ser utilizadas para viabilizar o uso de matérias-primas lignocelulósicas em processos que envolvam degradação biológica para a obtenção dos produtos desejados. Como já foi dito anteriormente, devido à complexidade da estrutura lignocelulósica, os tratamentos são geralmente severos (condições extremas) de acordo com sua natureza (físicos ou químicos). Consequentemente os processos de pré-tratamento representam um custo significativo no uso dos resíduos lignocelulósicos como matéria-prima para processos de produção de, por exemplo, bioetanol, biogás ou bioprodutos (ALVIRA et al., 2010). Por conseguinte a busca de um pré-tratamento que garanta alto desempenho nos bioprocessos passa a ser muito importante.

Algumas características sobre as técnicas de pré-tratamento consideradas mais aplicadas para biomassas lignocelulósicas estão sumarizadas na Tabela 2.

Tabela 2. Informações sobre as técnicas de pré-tratamento mais utilizadas para o uso de biomassa lignocelulósica em bioprocessos (início)

| Pré-tratamentos Físicos/Químicos | Observações | Referências |
|---|---|--|
| <i>Mecânico</i> | <p>Promove a redução do grau de polimerização. Pode ser utilizado antes de processos de hidrólise do material lignocelulósico visando o aumento de rendimento nas etapas de hidrólise.</p> <p>Reduz o tempo de residência em processos de digestão aumentando a taxa de digestão.</p> <p>Minimiza a produção de compostos inibidores.</p> <p>Apresenta uma alta demanda energética e na grande maioria das vezes precisa estar associado a outros pré-tratamentos para obter altos rendimentos.</p> | (Ramos 2003, Alvira, Tomas-Pejo et al. 2010) |
| <i>Térmico</i> | <p>Em determinadas condições pode promover a solubilização de hemiceluloses, bem como de parte da lignina.</p> <p>Caso não sejam otimizados podem produzir grande quantidade de compostos fenólicos.</p> <p>Condições severas de pré-tratamento podem provocar a condensação e precipitação de lignina solúvel, além de aumentar a produção de alguns produtos de degradação dos açúcares C5 e C6, tais como furfural (FF) e 5-hidroximetil-2-furfural (HMF).</p> <p>Temperaturas superiores a 250 °C devem ser evitadas para minimizar reações de pirólise</p> | (Brownell, Yu et al. 1985, Bobleter 1994) |
| <i>Vapor/Explosão a vapor</i> | <p>Podem ser usados para desconstrução da biomassa.</p> <p>Durante os pré-tratamentos a vapor parte das hemiceluloses são hidrolisadas e podem formar ácidos.</p> <p>Elevado risco de produção de compostos como FF, HMF e compostos fenólicos em altas quantidades.</p> <p>Requerem elevados valores de temperatura e pressão, o que culmina na necessidade da construção de reatores especiais que suportam tais condições extremas.</p> | (Brownell, Yu et al. 1985, Laser, Shulman et al. 2002) |
| <i>Auto-hidrólise ("liquid hot water"- LHW)</i> | <p>Apresenta um bom efeito quanto ao aumento da área superficial da biomassa lignocelulósica.</p> <p>Aumenta a degradabilidade da celulose por micro-organismos e enzimas</p> <p>Quando otimizado pode garantir elevados valores de extração de açúcares, e não resulta em grande solubilização de lignina</p> | (Bobleter 1994, Mosier, Wyman et al. 2005, Boussarsar, Roge et al. |

Quando controlado pode gerar um hidrolisado com menores concentrações de produtos inibidores se comparada as técnicas que utilizam baixos valores de pH, tais como os tratamentos ácidos catalisados.
O pH durante o processo é mantido entre 4 e 5, não sendo necessário a construção de reatores especiais.

2009, Diaz, Cara et al. 2010,
Yu, Zhuang et al. 2010)

Tabela 2. Informações sobre as técnicas de pré-tratamento mais utilizadas para o uso de biomassa lignocelulósica em bioprocessos (continuação)

| Pré-tratamentos Químicos | Observações | Referências |
|---------------------------------|--|---|
| <i>Ácido</i> | <p>A solubilização de hemiceluloses e precipitação de lignina solúvel é mais pronunciada durante o pré-tratamento utilizando ácido forte quando comparado ao pré-tratamento usando ácido diluído.</p> <p>A maior vantagem é a alta solubilização de hemiceluloses.</p> <p>Existe grande risco na formação de produtos de degradação voláteis.</p> <p>Em alguns casos a técnica usando ácido forte pode não ser atrativa para os bioprocessos, haja vista a acentuada formação de compostos inibidores e a elevada depreciação dos equipamentos.</p> <p>O pré-tratamento com ácido diluído é uma técnica promissora, uma vez que a depreciação dos equipamentos é menor e é possível minimizar as reações secundárias que dão origem aos compostos tóxicos.</p> | <p>(Cassini, Andrade et al. 2006, de Ávila and Guirardello 2008, Akpinar, Erdogan et al. 2010, Canilha, Santos et al. 2011)</p> |
| <i>Alcalino</i> | <p>As primeiras reações que ocorrem são as reações de solvatação e hidrólise de ligações éter e éster. Tal agente é capaz de atacar ligações existentes entre lignina e carboidratos.</p> <p>O rompimento das ligações cruzadas provoca um aumento na porosidade e área superficial.</p> <p>O pré-tratamento pode ser realizado em temperatura ambiente.</p> | <p>(Taherzadeh and Karimi 2008, Hendriks and Zeeman 2009, Lei, Liu et al. 2010, Zhang and Yang 2011)</p> |
| <i>Oxidativo</i> | <p>Usa agentes oxidantes como peróxido de hidrogênio, ozônio e ácido peracético, que em alguns casos podem provocar a perda de hemiceluloses e celulose.</p> <p>O uso do ácido peracético já demonstrou ser altamente seletivo à lignina e ineficiente na remoção de carboidratos.</p> | <p>(Teixeira, Linden et al. 1999, Kaparaju and Felby 2010, Lucas, Hanson et al. 2012, Ayeni, Hymore et al. 2013)</p> |

Tabela 2. Informações sobre as técnicas de pré-tratamento mais utilizadas para o uso de biomassa lignocelulósica em bioprocessos (continuação)

| Pré-tratamentos Combinados | Observações | Referências |
|---------------------------------------|---|---|
| <i>Térmico e ácido</i> | <p>O ácido externo catalisa a solubilização das hemiceluloses, além de diminuir a temperatura ótima de pré-tratamento, levando a uma melhoria da hidrólise enzimática do substrato.</p> <p>As modificações na estrutura da biomassa decorrentes da perda de hemiceluloses e lignina podem provocar uma reorientação cristalina da celulose.</p> <p>O processo pode gerar elevadas quantidades de furanos.</p> | (Ke, Laskar et al. 2012) |
| <i>Térmico e alcalino</i> | A combinação de pré-tratamentos em temperaturas de 100 a 150°C associados à adição de Ca(OH) ₂ já mostrou-se eficiente para a remoção de lignina em biomassas com baixos teores de lignina, entretanto, tal combinação mostrou-se não efetiva para biomassas com altos teores de lignina. | (Chang, Kaar et al. 2001) |
| <i>Térmico e oxidativo</i> | <p>O uso de ácido peracético associado ao tratamento a vapor é eficiente para remoção de açúcares na forma de polímeros.</p> <p>Grande quantidade de compostos fenólicos é formada, mas alguns deles são degradados a ácidos carboxílicos.</p> <p>A produção de FF e HMF é menor quando comparado aos tratamentos térmicos isolados.</p> | (Ando, Kakimoto et al. 1987, Hendriks and Zeeman 2009, Kaparaju and Felby 2010) |

3.3. Tratamentos oxidativos da biomassa lignocelulósica

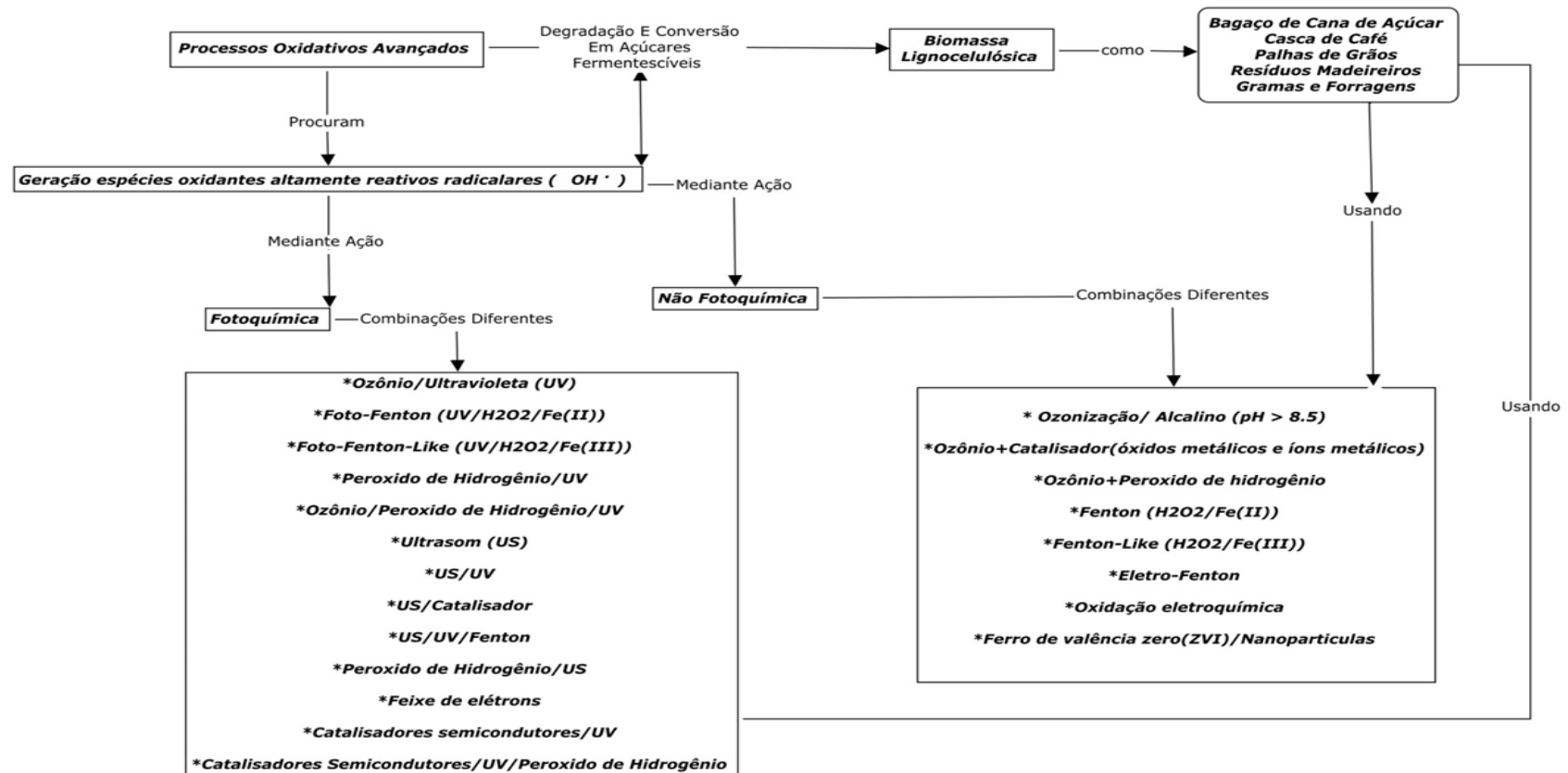
Processos oxidativos avançados (POA) são tecnologias com significativa importância em aplicações ambientais, tendo o termo POA sido estabelecido por Glaze *et. al.* (GLAZE; KANG; CHAPIN, 1987) que o definiu como processos envolvendo a geração de espécies oxidantes altamente reativas, denominadas radicais, capazes de atacar e degradar as substâncias orgânicas. Atualmente os POA são considerados processos de alta eficiência físico-química devido à sua viabilidade termodinâmica e à sua capacidade de produzir alterações profundas na estrutura química de moléculas orgânicas pela participação dos radicais formados (QUIROZ; BANDALA; MARTÍNEZ-HUITLE, 2011; TEXEIRA; FIGUEIREDO, 2004). Além disso, são processos mais limpos e não seletivos, podendo degradar inúmeros compostos presentes em matrizes complexas, e ser usados para destruir compostos orgânicos tanto em fase aquosa quanto em fase gasosa ou adsorvidos em matriz sólida (TEXEIRA; FIGUEIREDO, 2004).

As espécies transitórias oxidantes, principalmente radicais hidroxila ($\text{OH}\cdot$), tem alta capacidade de oxidação, embora alguns estudos sugerissem que, além de radicais hidroxilas, também podem ser geradas outras espécies oxidantes. Os radicais gerados são capazes de oxidar as moléculas orgânicas, principalmente por abstração de hidrogênio ou pela adição eletrofílica às ligações duplas para gerar radicais orgânicos ($\text{R}\cdot$). Tais radicais, por sua vez, podem reagir com o oxigênio formando radicais peróxidos e iniciar as reações em cadeia de degradação oxidativa, que pode levar à mineralização dos compostos orgânicos (QUIROZ; BANDALA; MARTÍNEZ-HUITLE, 2011).

A biomassa lignocelulósica tem características de recalcitrância, pois seus principais constituintes são polímeros ramificados e heteropolímeros amorfos (ácidos, álcoois aromáticos). Por isso, é fundamental o desenvolvimento e uso de tecnologias eficientes de pré-tratamento físico-químico como os POA, pois podem favorecer a hidrólise e a ruptura química de componentes complexos como a lignina. Além disso, os POA podem aumentar a solubilidade das hemiceluloses e da lignina, pelo seu fracionamento e modificação estrutural, sem gerar compostos intermediários tóxicos que possam afetar, por exemplo, as taxas de produção de biogás (CH_4 e H_2) em processos anaeróbios (ZHENG *et al.*, 2014) ou a produção de substâncias químicas de base biotecnológica (SANDERS *et al.*, 2012).

Os POA envolvem o uso de diferentes tipos de oxidantes como ozônio (O_3), peróxido de hidrogênio (H_2O_2); semicondutores como dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO); radiação ultravioleta (UV); podendo ainda empregar a combinação de alguns destes com sais de metais de transição, como o ferro. Embora menos usual, radicais hidroxila também podem ser gerados pela oxidação eletroquímica, radiólise, feixe de elétrons, ultrassom e plasma. Um esquema conceitual das diferentes técnicas oxidativas, suas combinações e a relação com a biomassa lignocelulósica é apresentado na Figura 2.

Figura 2. Descrição conceitual da aplicação dos POA para fracionamento da biomassa lignocelulósica



3.3.1 Ozonização

A ozonólise é uma das tecnologias que tem maior potencial de desenvolvimento na área de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica, pois tal processo tem sido usado como técnica de tratamento na indústria de papel e celulose na etapa de branqueamento (remoção de teores residuais de lignina) (SUMATHI; HUNG, 2004). Neste tipo de aplicação, a ozonização é feita em meio ácido (por exemplo, com ácido acético), garantindo a proteção das cadeias de celulose e a sua degradação. Além disso, usando condições ácidas a remoção da lignina pode ser mais rápida. (MBACHU; MANLEY, 1981a). Do mesmo modo, a ozonólise de polpa de papel leva a obtenção de uma ampla distribuição de produtos de degradação solúveis, que em conjunto com a tendência encontrada nas suas massas molares médias, sugerem um mecanismo aleatório gradual para a degradação da lignina pelo ozônio (MBACHU; MANLEY, 1981b).

Outro uso industrial do ozônio envolve a remoção e/ou modificação química da lignina. O ozônio gasoso é usado para atacar e, subsequentemente, degradar a estrutura aromática da lignina. (PURI, 1983) Portanto, o ataque de material lignocelulósico com ozônio gera produtos que incluem ácidos e açúcares além de materiais fibrosos ricos em celulose. Os ataques com ozônio são específicos para a lignina e hemiceluloses, com pouca preferência para a celulose (ZHENG et al., 2014), sendo capazes de romper a associação entre os vários componentes de modo a produzir um substrato com uma melhor reatividade para processos posteriores de hidrólise enzimática. No entanto, nos produtos da degradação da lignina é possível encontrar uma variedade de compostos aromáticos e poli-aromáticos que dependendo do mecanismo de reação podem ser convertidos em ácidos carboxílicos gerando algum tipo de inibição em processos posteriores de digestão anaeróbia (DA) ou fermentação. (TRAVAINI et al., 2015a)

A ozonização tem sido usada com diferentes tipos de biomassa para melhorar sua biodegradabilidade, destacando-se a palha de trigo, aveia, cevada, arroz, bagaço de cana, gramas e serragem de diferentes espécies de árvores. As variáveis operacionais mais importantes são o tamanho da partícula, a umidade da amostra, a concentração de O₃ e o tempo da reação. Outras variáveis incluem as configurações de fluxo e os tipos de reatores, por exemplo, leito fixo, leito rotatório, reator contínuo de mistura completa e batelada. No entanto, precisam-se estudos de otimização das variáveis, configurações e tipos reatores, pois uns dos grandes problemas reportados na literatura são os altos custos associados ao consumo

de ozônio por unidade mássica de biomassa processada (TRAVAINI et al., 2015a). Uma característica importante reportada para a ozonização é a não geração de FF e HMF, considerados tóxicos para os processos de DA, assim como os diferentes tipos de ácidos orgânicos comuns nos processos de auto-hidrólise. (JÖNSSON; ALRIKSSON; NILVEBRANT, 2013; SOUZA-CORRÊA et al., 2013; TRAVAINI et al., 2013; WU; UPRETI; EIN-MOZAFFARI, 2013).

Além da ozonólise e do uso de O_3 em meio alcalino, outros POA como fotólise (UV) e fotocatalise heterogênea (UV+semicondutores) oferecem muitas possibilidades como técnicas de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica (COLMENARES et al., 2009). Os semicondutores que atuam como foto-catalisadores possuem duas regiões energéticas: a região de energia mais baixa (banda de valência (BV)), onde os elétrons não possuem movimento livre e a região de energia mais alta (a banda de condução (BC)), onde os elétrons são livres para se moverem através do cristal, produzindo condutividade elétrica similar aos metais. Entre essas duas regiões existe a “band-gap”, sendo a sua energia àquela mínima necessária para excitar o elétron e promovê-lo da BV para a BC. (CANDAL; BILMES; BLESÁ, 2001; TEXEIRA; FIGUEIREDO, 2004). A fotocatalise tem sido extensivamente estudada para mineralizar uma vasta gama de substratos orgânicos incluindo fenóis, amidas, aromáticos, corantes e pesticidas; tendo como vantagens o uso à temperatura ambiente e pressões normais, e a baixa produção de subprodutos nocivos. (KANSAL; SINGH; SUD, 2008).

A degradação fotocatalítica de lignina foi estudada pela primeira vez por Kobayakawa *et al.* (KOBAYAKAWA et al., 1989), mostrando que é possível alcançar a sua completa mineralização. Outros investigadores demonstraram que os processos fotocatalíticos são aplicáveis para a degradação da lignina durante o tratamento de águas residuais decorrentes do processo de polpação (SUMATHI; HUNG, 2004). No entanto, quando se utiliza uma reação fotocatalítica com radiação UV, alguns problemas como a turbidez do meio, incrustação e desativação do catalisador, não são resolvidos, o que diminui a eficiência da degradação fotocatalítica.

Os POA fotocatalíticos sofrem a influência de vários fatores como, por exemplo, a concentração da molécula orgânica objeto de degradação; a presença e concentração de oxidantes auxiliares (H_2O_2 , O_3); a dopagem e a forma cristalina dos semicondutores; forma de uso do catalisador; características da fonte luminosa; da geometria e dos parâmetros

hidrodinâmicos do reator; condições operacionais (temperatura, pH, presença de ânions), dentre outros fatores (durabilidade, eficiência, custo). O uso de tais técnicas como pré-tratamento de biomassa lignocelulósica em escala real é limitado pela falta de entendimento com relação às variáveis que mais influenciam o processo.

Outro tipo de POA de interesse para a degradação e transformação da biomassa lignocelulósica é o processo Fenton (NEYENS; BAEYENS, 2003). A reação de Fenton envolve a utilização de um oxidante (normalmente H_2O_2) e um catalisador (geralmente de Fe (II)) e tem sido utilizada para a degradação de materiais orgânicos, incluindo lignina. Além disso, algumas pesquisas têm estudado o acoplamento da reação de Fenton com outros tipos de radiação e/ou catalisador; ou seja, foto-Fenton (UV + Fenton), sono-Fenton (US + Fenton), sono-foto-Fenton (US + UV + Fenton), fotocatalítico-Fenton (UV / TiO_2 + Fenton) e Sono-fotocatalítico-Fenton (US + UV / TiO_2 + Fenton), para a degradação eficiente de diferentes resíduos perigosos (MICHALSKA et al., 2012; NINOMIYA et al., 2013).

Os pré-tratamentos de oxidação com peróxidos são comuns para melhorar a conversão biológica de biomassa lignocelulósica a bioetanol. Os oxidantes normalmente citados incluem peróxido de hidrogênio, ácido peracético, dimetildioxirano e peroximonosulfato. O peróxido mais utilizado é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e poucos estudos foram encontrados na aplicação de outros peróxidos para o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica com vistas à posterior produção de biogás (ZHENG et al., 2014).

Diferentes técnicas de oxidação avançada têm sido propostas para tratamento de diversos tipos de biomassas, uma vez que não existe uma tecnologia que possa ser definida como a mais efetiva e eficiente do ponto de vista técnico, econômico e ambiental devido às características peculiares de cada biomassa. A combinação de duas ou mais técnicas de oxidação avançada tem sido a tendência comum, com intuito de usar as vantagens de cada método para uma obtenção de melhores resultados.

A Tabela 3 apresenta de forma resumida as possibilidades e condições do uso das técnicas de oxidação avançada como pré-tratamento de diversas biomassas lignocelulósicas.

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica (início).

| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|----------------------------------|--|----------------------|----------------------|--|--|--|
| Ozônio | Deslignificação e melhoria da biodegradabilidade | Palha de trigo | Metano e Hidrogênio | <ul style="list-style-type: none"> -Suspensão de 5% (m/v) de palha -Umidade: 45 a 50% -Mistura ozônio/ar: 0,63 a 12 NL/min -pH: 7 ou 9 -Concentração de ozônio: 9,5 mg/l; 0,6 a 1 % m/m e 1,65 a 6,58 mg O₃g⁻¹min⁻¹ -Tempo de operação: 60 a 1440 min -Massa de amostra: 5 g -Temperatura: ambiente | <ul style="list-style-type: none"> -Remoção de lignina: 40 a 64 % -Aumento de açúcares fermentáveis: 115 a 266 % -Aumento da produção de H₂: 107 a 158 % -Aumento de produção de metano: 45 % | (Blinder, Pelloni et al. 1980, Heiske, Schultz-Jensen et al. 2013, Wu, Upreti et al. 2013) |

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas (continuação).

| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|----------------------------------|---|--|----------------------|---|--|--|
| Ozônio | Deslignificação; Melhoria da hidrólise enzimática; Produção de açúcares fermentáveis. | Gramíneas 'Energy Grasses' (<i>Miscanthus giganteus</i> , <i>Miscanthus sinensis</i> , <i>Saccharum arundinaceum</i> e <i>Saccharum ravennae</i> ,) e Grama | Metano e hidrolisado | -Reator de leito fixo Tamanho de partícula: 0,354 a 2 mm Massa: 3-5 g de biomassa seca -Concentração de O ₃ : 40 a 58 mg/L e 5,3% m/m -Umidade: 30 a 90% -Fluxo: 0,2 a 0,25 L/min -Dois tipos de fluxo (reverso e unidirecional) Tempo de reação: 10 a 120 min | 60% de remoção de lignina Boa recuperação de açúcares fermentáveis (48.5%) Não foi possível identificar os componentes que inibiram a hidrólise enzimática | (Panneerselvam, Sharma-Shivappa et al. 2013, Yu, Bule et al. 2014) |

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas (continuação).

| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|----------------------------------|--|--|--|---|--|--|
| Ozônio | Deslignificação e melhoria da biodegradabilidade e da hidrólise enzimática | Bagaço de cana-de-açúcar; Palha de trigo; Madeira de Eucalipto <i>regnans</i> ; Lascas de <i>Pinheiro radiata</i> | -Insumo para alimentação de ruminantes - Liberação de açúcares fermentáveis | -Concentração de substrato: 30 a 40 % -Umidade: 10 a 80 % m/m -Tamanho de partícula: 0,08 a 5 mm -Fluxo: 0.3 a 1 L /min -Concentração de Ozônio: 16,7 a 10.000 mg O ₃ /L -Tempo de reação: 30 a 360 min -Temperatura: ambiente -Massa de biomassa seca: 20 a 35 g | -90% de melhoria da biodegradabilidade -Deslignificação: 60 a 80 % -Remoção de hemiceluloses: ≈30 % -65 % da celulose convertida em glucose -52,44 % de aumento em açúcares fermentáveis | (Puri 1983, Souza-Correa, Oliveira et al. 2013, Souza-Correa, Ridenti et al. 2013, Travaini, Otero et al. 2013, Eqra, Ajabshirchi et al. 2014) |

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas (continuação).

| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|----------------------------------|--|--|--|---|--|---------------------------|
| Ozônio | Deslignificação e melhoria da biodegradabilidade | Serragem de álamo e lignina de 99 % pureza | Insumo para alimentação de ruminantes. | <p>-Reator batelada</p> <p>-Tamanho de partícula: 0.5 a 1 mm</p> <p>-Fluxo: 1 L/min</p> <p>-Solução em água destilada ou em 45 % de ácido acético</p> <p>-Concentração de substrato: 50 g/L</p> <p>-Concentração de ozônio: 35 a 65 mg/L</p> <p>-Tempo de contato: 180 min</p> <p>Reator de leito fixo</p> <p>-Tamanho de partícula 1-2 mm</p> <p>-Relação Líquido/Sólido 30 a 75 %</p> <p>-Massa de material seco: 10 g</p> <p>-Tempo de operação: 360 min</p> | <p>Reator Batelada</p> <p>-Diminuição do pH de 7 até 3</p> <p>-7 mol de ozônio consumido por unidade de lignina(C9)</p> <p>-Eficiência de remoção de Lignina: 66%</p> <p>Reator leito fixo</p> <p>-3 mol de ozônio consumido por unidade de lignina reator batelada</p> <p>-Eficiência de remoção inferior ao reator em batelada</p> | (Vidal and Molinier 1988) |

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas (continuação).

| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|---|--|--|---|---|---|---|
| Ozônio | Produção de compostos oxiaromáticos e análise de produtos de oxidação | Ligninas do processo organosolvólítico e frações da auto-hidrólise de talo de milho e madeira de álamo | Compostos oxiaromáticos (ácidos orgânicos e aldeídos) | Reator semi-batelada de leito fixo -Tamanho de partícula: 0,2 a 0,5 mm -Conc. O ₃ : 30 a 40 mg/L -Fluxo: 10 a 45 L/h -Tempo: 5 a 120 min | -Tempos de reação: 1 a 8 minutos -Máximo rendimento de aldeídos aromáticos -Umidade ótima: 60% -Deslignificação de 49 a 59,2 % | (Quesada, Rubio et al. 1999) |
| Ozônio/UV/H₂O₂ | Investigar a influência do pré-tratamento para a produção de açúcares fermentáveis; Analisar as variáveis de processo e estudar a reação de deslignificação ao longo do leito. | Palha de grãos de trigo, centeio, aveia e cevada. | Etanol | Reator de leito fixo -Umidade: 20 a 40 % p/p -Fluxo O ₃ : 60 a 90 L/h -Concentração de O ₃ : 2,7 a 3,0 % p/p (≈57 a 64 mg/L) -Tempo de contato: 150 min -Tamanho de partícula: 0,1 a 5 mm | -Consumo de 0,10 a 0,12 g O ₃ /g massa seca -Tempo ótimo de ozonização: 120 min -Perdas de celulose não significativas -Ausência de HMF -Diminuição da lignina ácida insolúvel (45 %) -Aumento da lignina ácida solúvel (57 %) -Aumento das concentrações de açúcares liberados pela palha de trigo (40% de glicose e 34% de xilose) | (Garcia-Cubero, Gonzalez-Benito et al. 2009, Garcia-Cubero, Coca et al. 2010, Garcia-Cubero, Palacin et al. 2012) |

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas (continuação).

| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|---|---|--|---|--|--|---|
| Ozônio/UV/H₂O₂ | Degradação da lignina presente em soluções aquosas | Soluções de lignina obtidas de licor negro de uma indústria de papel (pinho) | Tratamento de efluentes ricos em lignina | -Concentração de lignina 500 a 1000 mg/L -POA usados: O ₃ , O ₃ +UV, O ₃ +UV+H ₂ O ₂ pH: 9 a 10 -Potência lâmpada UV:15W -Dose de H ₂ O ₂ : 2 ml/L solução -Doses de O ₃ : 0,1 a 3,71 mg O ₃ /mg DQO | Degradação de lignina: 40 a 96,6 % 1 mg O ₃ /mg DQO removeu 80% da lignina e 35% da DQO | (Michniewicz, Stufka-Olczyk et al. 2012) |
| Fotocatálise e Fotólise | Degradação de lignina em processo de branqueamento de polpa; Despolimerização da lignina | Eucalipto <i>grandis</i> ; Licor negro da indústria do papel; Palha de arroz | Degradação das estruturas fenólicas e obtenção de compostos de alto valor agregado (aldeídos, ácidos orgânicos) | -Relação TiO ₂ /lignina: 1/50 -pH: 3 a 11 -Relação H ₂ O ₂ /lignina: 1/1 m/m -T: 20 a 50 °C -Potencia lâmpada UV: 125 a 400 W -Fotorreator cilíndrico -Tempo de contato: 30 a 480 min -ZnO ouTiO ₂ : 0,5 a 2 g/L Agentes oxidantes: NaOCl, H ₂ O ₂ | -Degradação de lignina na faixa de 4 a 80 % -80% de remoção na DQO -Produção de diferentes ácidos orgânicos, aldeídos e cetonas. | (Machado, Furuyama et al. 2000, Ksib, Amor et al. 2003, Kansal, Singh et al. 2008, Niu, Chen et al. 2009, Kamwilaisak and Wright 2012, Lu, Wei et al. 2014) |

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas (continuação).

| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|----------------------------------|---|--------------------------|----------------------|---|--|---|
| Fenton | Degradação de lignina e obtenção de hidrolisado rico em açúcares fermentáveis | Bagaço de cana-de-açúcar | Biogás e hidrolisado | -Tempo de contato: 120 a 180 min -pH: 1 a 4 -lâmpada UV: 16 a 28 W - Relação $[Fe^{+2}]/[H_2O_2]$: 1/15, 1/25 e 1/100 -Tamanho de partícula: 0,1 a 2 mm $[Fe^{+2}]$: 1 a 15 g/L $[H_2O_2]$: 5 a 40 g/L Biomassa: 5 a 10 g T: 25 a 35 °C TiO_2 : 2 g/L Concentração de lignina: \approx 500 mg/L Ultrassom: 24 KHz | -Aumento da produção de metano em 75 % -Deslignificação de 30,3 a 62,3 % -Aumento de açúcares fermentáveis em 212 % -Verificação da não influência do Fe(III) na produção de biogás -Remoção de 98 % dos fenóis totais | (Oliveira, Chandel et al. 2013, Kato, Elia et al. 2014) |

Tabela 3. Uso de POA como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas (final).

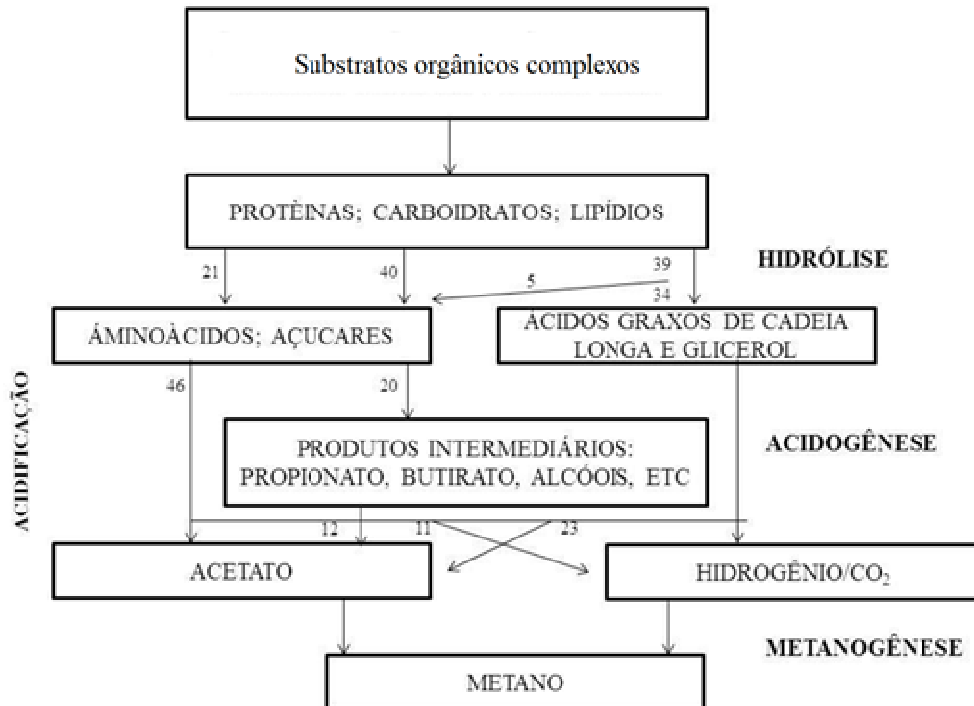
| Técnica de Pré-tratamento | Objetivo principal | Matéria-prima | Produto final | Condições do processo de Pré-tratamento | Resultados mais significativos | Referências |
|-----------------------------------|---|--|--------------------------|--|--|---|
| Outras técnicas oxidativas | Deslignificação da biomassa e produção de hidrolisado com alto teor de açúcares fermentescíveis | Madeira de álamo; Bagaço de cana-de-açúcar | Açúcares fermentescíveis | Tempos de reação: 3 h a 7 d Diferentes metais como catalisadores: Fe, Cu, Co, Zn, Mn, Cu Uso de H ₂ O ₂ como agente oxidante: 0.5 a 2.2 mol/L Eletrodos: anodo (placa de Ti/IrO ₂ -Pt); catodo (placa de Ti). Umidade: 50% Radiação feixe elétrons: 10-300 kGy | Aumento dos açúcares na faixa de 40-80 %; Deslignificação significativa: >60% | (LI et al., 2013; LUCAS et al., 2012; RIBEIRO, 2013; XU et al., 2014) |

Observando a compilação de trabalhos apresentados na Tabela 3 é possível concluir que o uso de POA como técnica de pré-tratamento de BL com vistas à produção de biogás apresenta inúmeras oportunidades de pesquisa. Além disso, os trabalhos encontrados para o bagaço de cana-de-açúcar tiveram como alvo a produção de CH_4 a partir da mistura da fração sólida e líquida gerada após o pré-tratamento e não com o hidrolisado (fração líquida) gerado. Estas considerações abrem a possibilidade de realização de estudos que avaliem o uso de POA para o pré-tratamento de bagaço de cana com vistas a garantir altas eficiências de produção de metano e hidrogênio durante a digestão anaeróbia dos hidrolisados obtidos. Assim mesmo, estudos de otimização são essenciais para avaliar a viabilidade técnica e econômica de aplicação do pré-tratamento com POA em escala real.

3.4. Digestão anaeróbia de biomassa lignocelulósica

O biogás é uma mistura gasosa combustível, composta principalmente por metano, gás carbônico, além de gás sulfídrico, nitrogênio, água e amônia (em menores proporções), produzido na decomposição da matéria orgânica pela ação de micro-organismos, na ausência de oxigênio e em condições adequadas de temperatura, umidade e acidez (COELHO et al., 2006). Um processo de produção de biogás destacado é a digestão anaeróbia. Este processo é considerado “limpo” para produção de energia renovável, uma vez que é possível realizar a conversão microbiana da matéria orgânica em gases com potencial energético, tais como, metano (CH_4) e hidrogênio (H_2). A forma mais usual de produção de CH_4 é por via bioquímica utilizando micro-organismos anaeróbios, e tal processo ocorre na ausência de oxigênio, podendo ser dividido em quatro etapas: i) hidrólise, ii) acidogênese, iii) acetogênese e iv) metanogênese. As etapas mencionadas são realizadas por diferentes tipos de micro-organismos (bactérias e arqueas) que trabalham em condições de relação sintrófica. A Figura 3 mostra de forma simplificada as quatro etapas do processo de digestão anaeróbia, bem como a porcentagem de fluxo de elétrons em termos de demanda química de oxigênio (DQO).

Figura 3. Resumo da sequência de processos na digestão anaeróbia de macromoléculas complexas. Os números referem-se às porcentagens de fluxo de elétrons em termos de DQO: Adaptado de (Chandra, Takeuchi et al. 2012)



Geralmente os substratos mais utilizados para produção de biogás incluem efluentes domésticos e efluentes/resíduos industriais gerados em diferentes processos. Além dos substratos citados anteriormente o uso de resíduos lignocelulósicos vem demonstrando grande potencial para uso em processos de produção de biogás. A possibilidade de produzir biogás de diferentes substratos é uma das principais vantagens da digestão anaeróbia frente a outros processos como a produção de etanol (ZHENG et al., 2014)

Alguns autores como Zheng, Zhao *et al* (2014) afirmam que em termos da relação energia produzida/energia consumida (28 MJ/MJ) a digestão anaeróbia é o método mais eficiente para produção de bioenergia a partir de biomassa, superando os processos termoquímicos e de produção de etanol celulósico. Além disso, após enriquecimento o biogás a base de CH₄ pode substituir o gás natural na alimentação de motores automotivos ou em motores de combustão interna utilizados para geração de energia. Desta forma o CH₄ pode substituir combustíveis produzidos a partir da refinaria de petróleo.

Quando se trata de digestão anaeróbia de biomassa lignocelulósica a etapa de hidrólise é normalmente considerada a etapa limitante do processo biológico. Isto ocorre em decorrência da ineficiência da ação das exoenzimas excretadas na etapa de hidrólise sobre a complexa estrutura encontrada nos substratos lignocelulósicos. Desta forma, para garantir viabilidade na produção de CH_4 ou H_2 a partir de materiais lignocelulósicos a avaliação de diferentes técnicas de pré-tratamento da biomassa faz-se necessária, tanto utilizando a biomassa na digestão anaeróbia em fase sólida (DA-S), como na digestão anaeróbia em fase líquida (DA-L) em que se usa o hidrolisado obtido no pré-tratamento da biomassa (Cirne, Lehtomäki et al. 2007).

A Tabela 4 compila a breve revisão da literatura feita sobre os estudos que envolvem a produção de CH_4 e H_2 pela digestão anaeróbia de diferentes biomassas lignocelulósicas pré-tratadas por POA. Vale destacar que não foram encontrados estudos envolvendo o uso de POA como técnicas de pré-tratamento da biomassa visando à produção de hidrogênio pela digestão anaeróbia do hidrolisado obtido.

Tabela 4. Produção de CH₄ e H₂ pela digestão anaeróbia de biomassa pré-tratada com POA

| Tipo de Tratamento | Matéria Prima | Condições do Pré-tratamento | Produto | Resultados | Referências |
|---|---|--|-----------------|--|---|
| Oxidação úmida (<i>wet oxidation</i>) | <ul style="list-style-type: none"> Resíduos agrícolas: palha de trigo, bioresíduos digeridos, palha de milho, palha de centeio de inverno, bagaço de palha de oleaginosa, palha de fava Madeira dura: salgueiro Gramíneas: <i>Miscanthus</i> Resíduos sólidos urbanos: resíduos de jornal e de jardim | <p>T: 180 a 220°C pO₂: 0 a 1.2 MPa H₂O₂ pode ser adicionado t: poucos minutos</p> | CH ₄ | <p>34 a 136% de aumento no rendimento de metano</p> | <p>(Fox and Noike 2004, Petersson, Thomsen et al. 2007, Uellendahl, Wang et al. 2008, Wang 2010)</p> |
| Oxidação com peróxidos | <ul style="list-style-type: none"> Resíduos agrícolas: palha de arroz, talos de girassol, sorgo Resíduos sólidos urbanos: fração orgânica do resíduo e resíduos de papel Gramíneas: <i>Miscanthus</i> | <p>Produtos químicos incluem H₂O₂ com doses de 1 a 4% (g/g de matéria seca) e NaOH (1 a 2%) que tem sido utilizado em conjunto com o H₂O₂ para aumentar o rendimento do metano. T: 25 a 220°C t: de poucos minutos até 7 dias.</p> | CH ₄ | <p>33 a 120% de aumento no rendimento de metano.</p> | <p>(Teghammar, Yngvesson et al. 2010, Michalska, Miazek et al. 2012, Monlau, Barakat et al. 2012, Song, Yang et al. 2012)</p> |

3.5. Conclusões da revisão da literatura

A revisão da literatura mostra que a biomassa lignocelulósica pode ser usada como fonte de açúcares fermentescíveis para a produção de metano e hidrogênio mediante digestão anaeróbia desde que possa ser submetida a técnicas de pré-tratamento, para garantir e facilitar a viabilidade tanto técnica como econômica da integração dos biocombustíveis de 1^a e 2^a geração.

Dentre as técnicas de pré-tratamento usadas, destacam-se os processos físico-químicos que utilizam ácidos minerais diluídos ou concentrados combinados ou não com temperaturas elevadas; e os processos conhecidos como auto-hidrólise, no entanto o gasto energético, a produção de compostos inibitórios, a adição de insumos químicos, o uso de reatores especiais diminuem a possibilidade de serem técnicas definitivas para ser implementadas em escala industrial.

Uma técnica pouco usada e promissória envolve o uso de agentes oxidantes fortes, como ozônio, para garantir que os componentes fundamentais da biomassa lignocelulósica como é a lignina e hemiceluloses sejam solubilizados e/ou transformados em açúcares ou compostos fermentescíveis para ser aproveitados em processos de digestão anaeróbia de produção de biogás (CH_4 e H_2) (TRAVAINI et al., 2015b; ZHENG et al., 2014).

Pelo exposto, o presente trabalho contribuirá para o avanço do conhecimento na área de biorefinaria lignocelulósica uma vez que pretende-se verificar a efetividade dos POA como etapas de pré-tratamento da biomassa, tendo como foco a obtenção de um hidrolisado, completamente caracterizado, capaz de ser utilizado para produção de CH_4 e H_2 por digestão anaeróbia.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo descreve os procedimentos usados para caracterização da biomassa (bagaço de cana-de-açúcar), as principais técnicas analíticas usadas na determinação dos compostos de interesse, os procedimentos experimentais dos processos oxidativos que foram desenvolvidos e as ferramentas de planejamento experimental e modelagens usadas no desenvolvimento do presente trabalho.

4.1 Preparo do bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana de açúcar usado, pertencente à safra 2012/2013, foi cedido pela Usina Jatiboca Açúcar e Álcool, situada em Ponte Nova, Minas Gerais, Brasil. O bagaço de cana-de-açúcar coletado foi submetido a um processo de lavagem com água destilada a 70°C por um período de 1 hora sob agitação mecânica constante. Esse procedimento busca a remoção dos açúcares residuais do processo de moagem da cana-de-açúcar feito pela usina (GURGEL, 2010). Após deste procedimento o bagaço de cana-de-açúcar foi secado, moído (moinho micro de facas, Marconi, modelo MA048), peneirado (Mesh 10 (1,7 mm)) e armazenado em ambiente com temperatura inferior a 0°C.

4.2 Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar

4.2.1 Determinação do teor de umidade

A determinação dos teores de umidade das amostras foi realizada em triplicata usando uma balança OHAUS modelo MB200. Aproximadamente 1 g de amostra foi pesada na balança termogravimétrica. O equipamento aqueceu a amostra até 120°C e foi mantida nessa temperatura para garantir uma variação do teor de umidade menor a 0,1% (GURGEL, 2010). O teor de umidade foi calculado por meio da Equação (1)

$$U(\%) = \frac{m_{total} - m_{seca}}{m_{total}} \times 100\% \quad (1)$$

Sendo U a umidade da amostra (%), m_{seca} é a massa seca (g) e m_{total} é a massa total (g) utilizada no teste.

4.2.2 Determinação do teor de inorgânicos

O teor de inorgânicos da amostra foi determinado segundo a Norma TAPPI T211 om-02. Os cadinhos e suas respectivas tampas foram calcinados em mufla a 550 °C por 4 horas e depois resfriados à temperatura ambiente em dessecador, pesados e tarados. Cerca de 1 g de amostra (40-60 mesh) livre de umidade foi pesada em um cadinho previamente tarado. Esse procedimento foi realizado em triplicata. Os cadinhos foram aquecidos a 100 °C e nessa temperatura permaneceram por 1 hora. Após esse tempo a temperatura foi aumentada gradualmente de 50 em 50°C a cada 40 minutos (rampa de 1.25°C min⁻¹) a fim de carbonizar a amostra suavemente. Os cadinhos foram mantidos a 525 °C por 4 horas e resfriados a temperatura ambiente em dessecador (GURGEL, 2010). O teor de inorgânicos foi determinado gravimetricamente e calculado usando a Equação (2).

$$\text{Inorgânicos}(\%) = \frac{m_f}{m_i} \times 100\% \quad (2)$$

Sendo m_f a massa final (g) após a calcinação e m_i a massa inicial (g) de amostra livre de umidade.

4.2.3 Determinação do teor de lignina

4.2.3.1 Teor de lignina insolúvel pelo método Klason

O teor de lignina Klason da amostra foi determinado segundo a Norma TAPPI T222 om-02. Pesou-se aprox. 0,7133 g (base seca) de bagaço de cana-de-açúcar previamente moído (20 mesh) e transferiu-se para um tubo autoclavável de 500 mL contendo 10,7 mL de solução de ácido sulfúrico 72% ($d = 1,64 \text{ g mL}^{-1}$). A mistura bagaço/ácido permaneceu sobre agitação em chapa magnética por um período de 2 horas. Após o término da chamada fase de condensação iniciou-se a etapa de hidrólise. Durante esta etapa o ácido foi diluído a uma concentração de 3% (m v^{-1}) adicionando aos tubos autoclaváveis 400 mL de água destilada e deionizada.

Posteriormente os tubos foram levados a uma autoclave previamente aquecida a uma temperatura de 121 °C e pressão de 1 atm, onde permaneceram por 1 hora. Passado a etapa de hidrólise iniciou-se a etapa de filtração. Nesta etapa a solução foi filtrada em funil de placa

sinterizada do tipo ASTM 10-15M previamente calcinado a 550 °C por 2 horas. O funil foi pesado e armazenado em dessecador antes de começar a filtração. O material insolúvel foi seco em estufa a 80 °C por cerca de 4 horas e resfriado em dessecador até peso constante. Após esta etapa o cadinho foi pesado, colocado em mufla e aquecido com uma taxa de 2 °C min⁻¹ até alcançar 525°C, em que foi mantido por um período de 2 horas. Posteriormente os cadinhos foram retirados e levados ao dessecador para esfriamento controlado para logo após serem pesados. Nesta etapa, considerou-se que toda a matéria orgânica insolúvel condensada era lignina (GURGEL, 2010; MARABEZI, 2009). O teor de lignina insolúvel foi determinado gravimetricamente e calculado segundo a Equação (3).

$$Lignina(\%) = \frac{m_f}{m_i} \times 100\% \quad (3)$$

Sendo m_f a massa de lignina (g) residual e m_i a massa inicial(g) de amostra livre de umidade.

4.2.3.2 Teor de lignina solúvel

Para determinação da lignina solúvel foi utilizado o filtrado obtido durante a determinação da lignina insolúvel pelo método Klason. A quantificação da lignina solúvel foi feita através da medida de absorvância em 215 nm e 280 nm seguindo metodologia adaptada por MARABEZI, (2009). As concentrações de lignina solúvel foram calculadas utilizando a Equação (4).

$$C\left(\frac{g}{L}\right) = \frac{4,53 \times Abs@215 - Abs@280}{300} \quad (4)$$

A Equação (4) é resultante da solução simultânea das Equações (5) e (6):

$$Abs@280 = 0,68C_D + 18C_L \quad (5)$$

$$Abs@214 = 0,15C_D + 70C_L \quad (6)$$

Sendo:

Abs@280 = valores de absorvância da solução a 280 nm

Abs@215 = valores de absorvância da solução a 215 nm

C_D = concentração de carboidratos (g L^{-1})

C_L = concentração de lignina solúvel (g L^{-1})

Os valores 0,68 e 0,15 são respectivamente as absortividades molares dos carboidratos em 280 nm e 215 nm, respectivamente, e os valores 18 e 70 são absortividades molares da lignina solúvel em 280 e 215 nm, respectivamente.

4.2.4 Determinação do teor de celulose e polioses

Os teores de celulose e polioses foram determinados por análise cromatográfica dos componentes da solução resultante (hidrolisado) do método de determinação do teor de lignina Klason para o bagaço de cana de açúcar. Essa determinação foi realizada por meio da detecção dos seguintes compostos no hidrolisado: celobiose, glicose, xilose, arabinose, ácido fórmico, ácido acético, 2-furfuraldeído (FF) e 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (HMF).

A análise dos açúcares foi realizada em um cromatógrafo de fase líquida de alta eficiência (CLAE), equipado com um sistema binário de bombas (modelo LC-30AD Shimadzu®), amostrador automático (modelo SIL 30AC - Shimadzu®), detector de índice de refração (RID-6A SHIMADZU), pré-coluna C18 e coluna Aminex HPX 87H (300 x 7.8 mm BIO-RAD). A fase móvel foi composta de ácido sulfúrico 5 mmol L^{-1} e o fluxo no qual a fase foi bombeada para o sistema foi de 0,6 mL min^{-1} . A temperatura do forno (CTO-10A SHIMADZU) na qual a coluna foi mantida era de 55 °C.

As condições cromatográficas para determinação dos ácidos orgânicos como o fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico, assim como FF e HMF, foram iguais às condições para determinação dos açúcares. A única mudança foi em relação à detecção dos compostos. Para tais compostos a detecção foi feita com auxílio de um detector UV-Vis (SPD-10AV SHIMADZU) operado em canal duplo, sendo o comprimento de onda de 210 nm, no caso de determinação dos ácidos, e de 284 nm para análise do FF e HMF.

Após as análises cromatográficas, as massas de celobiose e glicose foram convertidas em quantidade de glucanas; as massas de xilose e arabinose em xilanas e arabinanas respectivamente; e a massa de ácido acético convertida em grupos acetil. Além disso, os teores de HMF e FF foram convertidos em quantidade de glucanas e xilanas multiplicando-se

a quantidade de HMF e FF pelos fatores de hidrólise 1,286 e 1,375, respectivamente. A conversão dos componentes do hidrolisado em celulose e hemiceluloses foi feita de acordo com a Equação (7) e a Equação (8), respectivamente.

$$\%Celulose = \frac{[(0,95C_{Celobiose}) + (0,9C_{Glicose}) + (3,52C_{ÁcidoFórmico}) + (1,29C_{HMF})] \times (V_{H_2SO_4+H_2O})}{m_i} \times 100\% \quad (7)$$

$$\%Polioses = \frac{[(0,88C_{Xilose}) + (0,88C_{Arabinose}) + (1,375C_{Furfural})] \times (V_{H_2SO_4+H_2O})}{m_i} \times 100\% \quad (8)$$

4.2.5 Balanço de massa

O balanço de massa para os componentes do bagaço de cana-de-açúcar foi calculado utilizando a Equação (9).

$$\%Balanço \text{ de Massa} = C + P + L + I \quad (9)$$

Sendo C o teor de celulose (%), P o teor de poliose (hemiceluloses) (%), L o teor de lignina (solúvel + insolúvel) (%) e I o teor de inorgânicos (%).

4.3 Medição do Carbono Orgânico Dissolvido (COD)

As análises de carbono orgânico dissolvido (COD) foram realizadas no instrumento TOC-L CSH /CSN da SHIMADZU. A determinação foi feita por método indireto, isto é, o Carbono Total (CT) foi medido a partir da conversão (oxidação catalítica a 720°C) de todo o carbono presente na amostra a CO₂. O carbono inorgânico (CI) foi medido após purga do gás CO₂ por tratamento ácido sendo o valor de carbono orgânico total obtido pela diferença entre o CT e o CI. O limite de detecção do método é de 0,2 mg COD/L e a faixa de linearidade é de 0,2 a 500 mg/L.

4.4 Medição de ozônio

4.4.1 Produção de ozônio

O ozônio gasoso foi obtido usando um gerador de ozônio de descarga elétrica modelo O&L3.0RM fornecido e calibrado pela empresa Ozone & Life, com capacidade de produção de 3 g O₃/h, usando como gás de alimentação oxigênio de pureza 99,99%. O equipamento permite regular a concentração de ozônio produzida com um dosador de frequência e com um regulador da vazão de oxigênio adaptável no cilindro (0 até 2 Lmin⁻¹), gerando assim concentrações na faixa de 3 até 54 mg O₃ L⁻¹.

4.4.2 Análise de ozônio dissolvido – Modificação do método padrão índigo

A concentração de ozônio em meio aquoso pode ser determinada utilizando a reação de descoloração do índigo trissulfonato de potássio (Potassium Indigotrisulfonate (C₁₆H₇K₃N₂O₁₁S₃)) com ozônio. A concentração de ozônio é proporcional à perda de cor e pode ser medida por espectrofotometria em comprimento de onda de 600 nm. A molécula de índigo contém uma dupla ligação carbono – carbono que pode reagir diretamente com ozônio, sob elevada taxa de reação (BADER; HOIGNÉ; HOIGNI, 1981).

No método padrão reportado na literatura (APHA, 2005) um mol de ozônio reage e descolora um mol de índigo trissulfonato de potássio em solução aquosa em pH inferior a 4, sendo que BADER; HOIGNÉ; HOIGNI, (1981) relatam um fator de sensibilidade ou coeficiente de absorção aparente para este reagente de 20.000 M⁻¹cm⁻¹. Este valor baseia-se numa absorvidade molar do ozônio em fase aquosa de 2.900 M⁻¹cm⁻¹.

Em conformidade com anterior premissa, propõe-se uma modificação do método original com base em estudos feitos por BADER; HOIGNÉ; HOIGNI, (1981) que sugerem que o índigo trissulfonato de potássio pode ser substituído por índigo Carmim (Sodium Indigodisulfonate, C₁₆H₈N₂Na₂O₈S₂), em vista da não disponibilidade comercial do reagente padrão. Portanto, é preciso fazer uma curva de calibração usando um padrão de concentração para o ozônio dissolvido e desse jeito calcular o fator de correção para a absorvidade molar de ozônio, pois este tipo de reagente é diferente do reagente usado no método padrão (APHA, 2005). Embora o índigo Carmim tenha características químicas semelhantes ao índigo

trifulfonato, a reação poderia ter variações estequiométricas que não garantem uma proporcionalidade de 1: 1 (GORDON; BUBNIS, 2002).

A construção da curva padrão para a determinação de ozônio dissolvido foi feita por meio de leituras espectrofotométricas a 260 nm de acordo com a Equação (10) (RECKHOW, 2012).

$$C_{O_3} \left(\frac{mg}{L} \right) = 14,589 \times Abs @ 260 \quad (10)$$

A equação (10) baseia-se em uma absorvidade molar de $3.290 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e não em $2900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, como foi definido antes, com objetivo de fazer a correção pelo comprimento de onda usado nas leituras (HART; SEHESTED; HOLCMAN, 1983).

É necessário destacar que muitos solutos, como ácidos e açúcares, presentes nas amostras irão interferir neste comprimento de onda e, portanto, este método direto só pode ser usado como referência para a preparação da curva padrão que será usada para desenvolver o método de índigo modificado, e não para medir diretamente a concentração de ozônio nas amostras de hidrolisado. O procedimento detalhado segue descrito no item 4.4.3 (reagentes, método de índigo modificado e curva padrão) e é uma adaptação baseada em RECKHOW, (2012)

4.4.3 Procedimento do método índigo modificado

1. Prepara-se um branco da solução de índigo carmim (1 mM) padrão em um balão volumétrico de 50 mL, misturando-se 2 mL dessa solução e aferindo para 50 mL com solução tampão fosfato. Mede-se a absorbância da amostra em um espectrofotômetro em comprimento de onda de 610 nm (máxima absorbância para o índigo carmim), sendo este valor definido como Abs_i .
2. Para a análise da amostra que contém ozônio dissolvido adiciona-se 8 mL de amostra, 2 mL da solução de índigo carmim padrão e afere-se o volume de um balão de 50 ml com solução tampão de fosfato.
3. Finalmente, mede-se a absorbância da amostra em $\lambda=610 \text{ nm}$ e define-se este valor como Abs_f . A concentração de ozônio é então calculada com a Equação (11) (BADER, 1982)(APHA, 2005)

$$C_{O_3} \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{V_t (Abs_i - Abs_f)}{f V_s L} \quad (11)$$

Onde:

Vt: Volume total (50 mL (0,050 L))

Vs: Volume amostra (8 mL (0,008 L))

L: Comprimento do caminho óptico da cubeta (10 mm = 1 cm)

f: fator de sensibilidade pela correção da absortividade molar do ozônio, estimado em 0,437 (L mg⁻¹cm⁻¹).

4.4.4 Procedimento para preparar curva padrão

1. Preparam-se várias soluções diluídas, na faixa de 0,6 a 9 mg O₃/L, do padrão de ozônio usando água deionizada acidificada. As concentrações dessas amostras, tal qual a da solução saturada de ozônio, é medida com espectrofotômetro em $\lambda = 260\text{nm}$, sendo o valor da concentração calculado pela Equação (10).
2. Constrói-se um gráfico de correlação colocando no eixo x a concentração das amostras obtidas pelo método direto, e no eixo y as absorbâncias obtidas pelo método de índigo carmim modificado. O ajuste é definido pela Equação (12) e o coeficiente angular dessa linha multiplicado pelo fator $V_t.V_s^{-1}$ dá o produto $f.L$, ou seja a multiplicação do fator de sensibilidade e o comprimento do caminho óptico da cubeta. Finalmente calcula-se o fator f de correção para o uso do método do índigo carmim modificado em análises de amostras de interesse.

$$Abs_f = Abs_i - fL \frac{V_t}{V_s} CO_3 \quad (12)$$

4.5 Ensaios de oxidação para o pré-tratamento do bagaço de cana de açúcar

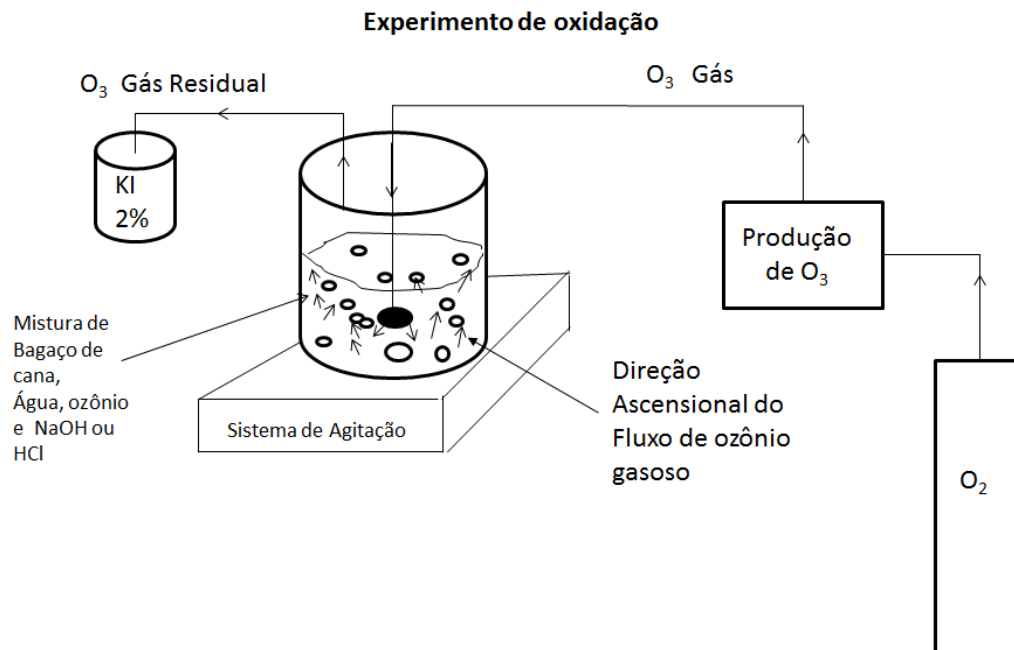
Foram realizados 11 experimentos de oxidação usando ozônio gasoso como oxidante de acordo com planejamento experimental fatorial fraccionado definido no item 4.8. A ideia fundamental foi estabelecer a influência do pH, a carga de ozônio (mg O₃/min), a razão solido-liquido (g/mL) e o tempo de reação (min) nos processos de remoção de lignina e hemiceluloses, assim como na produção de hidrolisados susceptíveis à posterior degradação anaeróbia para produção de biogás (CH₄ e H₂).

A fração sólida resultante do experimento (bagaço após ataque oxidativo molecular (O₃ dissolvido) ou radicalar (OH•)) foi analisada para avaliar as remoções de hemiceluloses, lignina. O hidrolisado também foi caracterizado para se obter os teores de açúcares, ácidos e identificação de outros compostos produtos das reações químicas.

Uma amostra do bagaço de cana-de-açúcar, preparada conforme descrito no item 4.1, foi submetida a ensaios de oxidação usando reator fabricado em vidro de mistura completa (100 mm altura, 79.8 mm diametro interno, 81.8 mm diametro externo) com volume útil de 500 cm³, que operaram em modo semi-contínuo, isto é, com alimentação contínua de ozônio gasoso e alimentação única (batelada) de bagaço. Os experimentos foram realizados em duplicata. O conteúdo de água do bagaço foi contabilizado somente nos balanços de massa e, em todos os experimentos, a massa de bagaço de cana utilizada foi de 10 g (base seca). O esquema experimental está ilustrado na Figura 4.

As condições de operação, tempo de contato, carga do ozônio gasoso, pH, e razão sólido-liquido, foram definidas em função da revisão da literatura e variadas em diferentes níveis de acordo com planejamento experimental fatorial fracionado descrito no item 4.8 e definido na Tabela 5. O ozônio gasoso em excesso (residual) era borbulhado em uma solução de KI (2 g/L) para convertê-lo em O₂ antes do seu lançamento no ambiente.

As variáveis de resposta, medidas em duplicata, para o planejamento experimental em todos os pré-tratamentos foram: % remoção de lignina; % remoção de celulose; % remoção de hemiceluloses; carbono orgânico dissolvido (COD) (mgL⁻¹); concentração de furanos (g/L⁻¹), concentração de açúcares C₅-C₆ (g/L⁻¹) e potencial de produção de metano ou hidrogênio (Nm³kg COD⁻¹).

Figura 4. Esquema experimental para ensaios de pré-tratamento oxidativo do BCA**Tabela 5.** Matriz de condições experimentais para definição das condições de oxidação do bagaço de cana para a produção de hidrolisados posteriormente submetidos à digestão anaeróbia.

| Experimento | Carga O_3 (mg/min) | RSL ¹ (g/mL) | Tempo (min) | pH |
|-------------|-------------------------|----------------------------|----------------|----|
| 1 | 8 | 0,075 | 15 | 11 |
| 2 | 17,5 | 0,075 | 120 | 11 |
| 3 | 17,5 | 0,05 | 120 | 3 |
| 4 | 12,75 | 0,0625 | 67,5 | 7 |
| 5 | 17,5 | 0,075 | 15 | 3 |
| 6 | 8 | 0,05 | 120 | 11 |
| 7 | 8 | 0,05 | 15 | 3 |
| 8 | 8 | 0,075 | 120 | 3 |
| 9 | 12,75 | 0,0625 | 67,5 | 7 |
| 10 | 17,5 | 0,05 | 15 | 11 |
| 11 | 12,75 | 0,0625 | 67,5 | 7 |

¹RSL = razão sólido-líquido

4.6 Caracterização dos hidrolisados e identificação de subprodutos

A caracterização química inicial dos hidrolisados obtidos nos pré-tratamentos com POA foi feita de acordo com o item 4.2.4, ao passo que a identificação de outros compostos,

como sub-produtos fenólicos gerados na etapa de pré-tratamento, foi feita por métodos de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Tais estudos foram desenvolvidos no Laboratório Multiusuário de Caracterização Molecular e Espectrometria de Massas (LCMEM) da UFOP no equipamento GCMS-QP2010 plus, Shimadzu®.

Para analisar as amostras por CG-EM, inicialmente estas eram congeladas e posteriormente liofilizadas por 24 horas usando uma temperatura de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressão de vácuo de $50\text{ }\mu\text{m}$ de Hg. As amostras resultantes foram dissolvidas em piridina, solvente capaz de solubilizar compostos de diferentes polaridades, e colocadas em banho de ultrassom por 60 minutos.

A análise das amostras por CG-EM foi precedida da derivatização dos compostos presentes, visando a sua transformação em outros menos polares, mais voláteis e estáveis termicamente (SANSON, 2012). O composto usado no processo de derivatização foi a N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA), de forma que $25\text{ }\mu\text{L}$ de amostra dissolvida em piridina eram misturados com $75\text{ }\mu\text{L}$ de BSTFA 1% e apenas $10\text{ }\mu\text{L}$ dessa solução era injetada no CG-EM. O tempo da corrida do método foi definido em 60 minutos. Finalmente, as temperaturas do injetor e da interface foram 280°C , voltagem do detector foi definido em $0,98\text{ kV}$ e a temperatura da fonte de ionização $250\text{ }^{\circ}\text{C}$. A coluna usada foi a ZB-5HT ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,10\text{ }\mu\text{m}$) com Hélio como gás de arraste em fluxo de $1,46\text{ mL/min}$ (SANSON, 2012).

Finalmente, os compostos presentes nas soluções foram identificados por meio de comparação dos espectros obtidos com a biblioteca do *National Institute of Standards and Technology* (NIST Mass Spectral Library®, versão 2.0 d) do equipamento usando como critério uma similaridade mínima de 85 %.

4.7 Experimentos de produção de metano (CH_4) e hidrogênio (H_2)

Os experimentos para produção de biogás CH_4 ou H_2 foram feitos em frascos de vidro âmbar de 15 mL , onde 10 mL correspondiam ao volume útil de líquido e 5 mL ao *headspace*. Os frascos eram preenchidos com o hidrolisado do pré-tratamento, solução nutriente e inóculo, de forma a se manter uma relação Alimento/Microrganismo de $0,4\text{ g COD/g SSV}$ (CHERNICHARO, 1997) quando se tratou da produção de metano e de $1,825\text{ g COD/g SSV}$ (LAZARO, 2012) no caso da produção de hidrogênio.

Após a inoculação os frascos eram purgados com N_2 gasoso durante 2 min e fechados hermeticamente com tampa de borracha e lacre de alumínio. Este procedimento era feito em duplicata para cada tipo de hidrolisado, sendo os frascos mantidos sob agitação contínua (170 rpm) em uma mesa de agitação orbital (SOLAB) com controle de temperatura. A temperatura de trabalho para produção de metano foi definida em 35 °C e o pH na faixa de 6,9 a 7,2; enquanto que para a produção de hidrogênio foi de 37 °C e pH na faixa de 5,2 a 5,7.

Os microrganismos utilizados como inóculo para os testes de produção de CH_4 eram provenientes de um lodo anaeróbico de reator UASB alimentado com esgoto sanitário e operado em escala de demonstração no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) UFMG-COPASA, localizado na Estação de tratamento de Esgoto (ETE) Arrudas, na cidade de Belo Horizonte, MG. O inóculo foi previamente submetido a uma etapa de aclimatação, que consistiu em deixar o lodo sem alimentação por 7 dias para induzir o metabolismo endógeno.

Para os testes de produção de hidrogênio foi desenvolvido um procedimento de preparo do inóculo que consistiu em uma mistura de estrume de vaca e lodo anaeróbico. O estrume de vaca foi fornecido por uma fazenda localizada em Conselheiro Lafaiete, Minas Gerais, ao passo que o lodo utilizado era proveniente do mesmo reator UASB citado no parágrafo anterior. Para o preparo do inóculo, 300 g de estrume de vaca, pesados em balança analítica (Shimadzu, modelo Unibloc AUX 220), foram misturados com água destilada, perfazendo um volume de 400 mL de suspensão. A essa suspensão foram adicionados 400 mL de lodo anaeróbico e 200 mL de uma solução contendo micro e macro nutrientes, totalizando um volume de 1L. Posteriormente, essa mistura foi submetida a uma etapa de tratamento térmico.

O tratamento térmico do inóculo, que visou a inativação dos microrganismos metanogênicos e a esporulação dos microrganismos produtores de hidrogênio, consistiu no aquecimento da biomassa em banho termostaticado (Novatecnica, modelo NT 260), a 90 °C, por 10 min. Posteriormente, o inóculo foi resfriado à temperatura ambiente e utilizado nos ensaios de produção de hidrogênio (LAZARO et al., 2012).

A fração de CH_4 ou H_2 presentes no biogás produzido em cada frasco foi determinada inicialmente de 3 em 3 horas, e após o sistema entrar na fase de produção exponencial, uma

vez cada 24 horas até a finalização do teste, determinado a partir do momento em que a produção acumulada de CH_4 ou H_2 era constante. As amostras de biogás eram tomadas usando uma seringa de vidro esmerilhado e injetadas em um cromatógrafo de fase gasosa acoplado a um detector de condutividade térmica (CG-DCT), conforme metodologia estabelecida por (JUNG et al., 2012). Os valores da concentração dos gases foram corrigidos para condições normais de temperatura e pressão (CNTP) (1 atm., 273 K) usando a teoria de gases ideais.

A frequência das medidas de concentração de biogás nos testes de produção para CH_4 e H_2 teve por objetivo permitir a modelagem da cinética de produção dos biocombustíveis de interesse (metano ou hidrogênio) mediante digestão anaeróbia dos hidrolisados de bagaço de cana pré-tratados oxidativamente com ozônio.

4.8 Planejamento experimental e ferramentas para a modelagem

O estudo de novos e diferentes tipos de sistemas que visam à transformação química e física de biomassa lignocelulósica, mediante processos oxidativos, para obter produtos de maior valor comercial como, por exemplo, biogás ou etanol, precisa de ferramentas estatísticas e matemáticas que permitam entender e obter informação significativa.

Inicialmente, para a definição da influência das variáveis operacionais no tipo de POA que produz as maiores remoções de hemiceluloses e lignina, assim como a maior quantidade de metano ou hidrogênio, utilizou-se da teoria de Planejamento Fatorial de Experimentos. A Tabela 5 mostra o planejamento fatorial fraccionado de resolução IV, que empregou 4 variáveis em 2 níveis e triplicata no ponto central com intenção de definir curvaturas próprias nas variáveis de resposta. Posteriormente, cada variável resposta foi estudada mediante análises de variância, diagramas de pareto e superfícies de resposta com intuito de achar um modelo que permitisse escolher as melhores condições experimentais para cumprir o objetivo principal do trabalho de pesquisa.

4.9 Análise cinética

A análise cinética e modelagem da produção de biogás foram feitas usando o modelo de Gompertz- modificado (ZWIETERING et al., 1990) definido pela Equação (13):

$$P(\text{mmol}) = P_o \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m e}{P_o} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (13)$$

Sendo P_o o potencial de máxima produção de metano ou hidrogênio (mmol); R_m a taxa máxima de produção do gás (mmol/dia), λ o *lag time* ou tempo de adaptação (dia) e e a constante de Euler com valor de 2,71828.

Este modelo tem sido amplamente usado por diversos autores ((NASCIMBENI, 2013),(SAYAR et al., 2014),(KAFLE; KIM, 2013)) e mostrou ser uma ferramenta adequada para estudar o potencial de produção de metano ou hidrogênio a partir de diferentes substratos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar

A caracterização química do bagaço da cana de açúcar bruto foi realizada em base seca (% em peso) e apresentou os seguintes resultados médios: 42,2% de celulose, 25,8% de poliose (hemiceluloses), 25,5% de lignina, 2,2% de extrativos e 1,5% de cinzas. A composição química está de acordo com a caracterização do bagaço de cana-de-açúcar feita por outros autores como (VALLEJOS *et al.*, 2012) e (CANILHA *et al.*, 2012). Tais autores encontraram valores médios de 42,6% de celulose, 28,3% de hemiceluloses, 21,7% de lignina, 2,1% de extrativos e 1,45% de cinzas.

5.2 Análise da Fração Sólida

5.2.1 Remoção de Lignina

Os dados de remoção da lignina total (solúvel e insolúvel) para os experimentos desenvolvidos são mostrados na Tabela 6, em que se observa maior remoção durante o experimento 1, que empregou uma carga de ozônio de 8 O₃ mg/min, assim como um pH de 11. Nessas condições houve predominância da geração de radicais livres, características típicas de um processo oxidativo avançado como é reportado por Glaze *et. al.* (1987). Destaca-se que para o tempo de reação de 15 minutos o resultado da deslignificação (45,19 %) é significativo quando comparado com valores reportados por autores como Souza-Corrêa *et al* (2013) e Travaini *et. al.* (2013), que usaram tempos elevados, 1 até 4 horas, e obtiveram eficiências de deslignificação de bagaço de cana entre 50 e 67% . Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam que o POA usado precisou menores tempos de contato para promover a deslignificação quando comparado aos processos de oxidação molecular que empregaram ozônio gasoso em médio aquoso neutro.

Outra observação digna de nota refere-se ao fato de o experimento 1 ter usado menor quantidade de água (RSL: 0,075 g mL⁻¹) quando comparada com os outros experimentos, mostrando possivelmente que o ozônio gasoso reagiu mais rapidamente com a água de pH elevado. A liberação de íons hidroxila provavelmente favoreceu o ataque específico de componentes da biomassa e resultou em maior deslignificação.

Diferentes estudos têm demonstrado a capacidade do ozônio como pré-tratamento para remoção de lignina em BL. O ozônio pode reagir de duas maneiras diferentes, direto e indireto. Estas duas vias de reação podem levar a produtos de oxidação diferentes e são controlados por diferentes tipos de cinética (TRAVAINI et al., 2015a). Neste sentido, as remoções de lignina ilustrados na Tabela 6 não exibem um comportamento específico com tendência definida devido à variedade de condições do processo, isto é, quando são usados tempos de reação maiores (120 minutos) não há aumento na remoção de lignina. Desta forma, é possível que o tratamento com ozônio produza lignina com grupos funcionais reativos e, portanto, origine reações de condensação (KOBAYASHI et al., 2005; RAGNAR et al., 1999).

Tabela 6. Resultados das porcentagens de remoção para lignina e hemiceluloses.

| Experimento | Remoção de Lignina (%) | Remoção de Hemiceluloses (%) |
|--------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 45,19 | 48,28 |
| 2 | 22,70 | 40,59 |
| 3 | 20,96 | 37,23 |
| 4 | 29,65 | 41,31 |
| 5 | 21,88 | 43,97 |
| 6 | 21,30 | 38,50 |
| 7 | 15,72 | 24,54 |
| 8 | 32,41 | 31,45 |
| 9 | 27,72 | 37,99 |
| 10 | 16,56 | 30,81 |
| 11 | 32,88 | 44,54 |

Visando definir com base estatística a influência das variáveis experimentais nos resultados de remoção da lignina apresentados anteriormente, foi feito um diagrama de Pareto que define os efeitos que mais afetam a variável de resposta. O diagrama é mostrado na Figura 5, confirmando a hipótese que existe uma relação intrínseca entre o teor de água, a carga de ozônio usada e o pH do sistema. No diagrama percebe-se que o efeito padronizado com a maior influência é a RSL seguida da interação O₃/pH e carga de

ozônio, fato confirmado pelos *p-valores* inferiores a 0,05 na análise de variância (ANOVA) realizada e apresentada na Tabela 7.

Tabela 7. Análise de variância para a remoção de lignina

| Fonte | GL | SQ | MQ | F-Calc | <i>p</i> -valor |
|--|----|--------|--------|--------|-----------------|
| Regressão | 8 | 729,54 | 91,19 | 13,41 | 0,071 |
| Linear | 4 | 443,83 | 110,95 | 16,32 | 0,059 |
| Carga O₃(mg/min) | 1 | 132,17 | 132,17 | 19,44 | 0,048 |
| RSL (g/mL) | 1 | 283,81 | 283,81 | 41,74 | 0,023 |
| Tempo (min) | 1 | 0,486 | 0,486 | 0,07 | 0,814 |
| pH | 1 | 27,35 | 27,35 | 4,02 | 0,183 |
| Interações 2a ordem | 3 | 219,90 | 73,30 | 10,78 | 0,086 |
| Carga O₃ (mg/min)*RSL(g/mL) | 1 | 140,43 | 140,43 | 20,65 | 0,045 |
| Carga O₃ (mg/min)*Tempo(min) | 1 | 19,30 | 19,30 | 2,84 | 0,234 |
| Carga O₃ (mg/min)*pH | 1 | 60,16 | 60,16 | 8,85 | 0,097 |
| Curvatura | 1 | 65,80 | 65,80 | 9,68 | 0,090 |
| Erro | 2 | 13,59 | 6,79 | | |
| Total | 10 | 743,14 | | | |

A análise de variância baseia-se na decomposição da variação total da remoção de lignina em partes que podem ser atribuídas aos tratamentos ou variáveis que influenciam o processo, bem como ao erro experimental. Dessa forma, é possível construir um modelo que permita avaliar a remoção da lignina de acordo com a ANOVA e que possa ser usado para fazer previsões da variável de resposta. O modelo construído é apresentado na equação (14).

$$\begin{aligned} \% \text{ Remoção Lignina} = & -61,0 + 4,14 \text{ Carga O}_3 + 1376 \text{ RSL} \\ & - 70,6 \text{ Carga O}_3 * \text{RSL} - 0,1443 \text{ Carga O}_3^2 \end{aligned} \quad (14)$$

É importante destacar que o coeficiente de determinação R^2 para o modelo é 89,2%, mostrando que essa porcentagem de remoção da lignina pode ser explicada pelas variáveis apresentadas na equação do modelo. Os gráficos de superfície resposta construídos pelo

modelo são apresentados nas Figuras 6 e 7. As superfícies das Figuras mostram que para atingir remoções significativas de lignina é preciso usar elevados valores de RSL (pouca adição de água) e valores de pH superiores a 8, mantendo a carga de ozônio baixa. Uma hipótese que explica este comportamento do sistema é atribuído ao esquema de reações do processo oxidativo como é reportado por Domènech et al (2001) , pois o ozônio pode reagir diretamente com um substrato orgânico através de uma reação lenta e seletiva (molecular) em pH ácido, ou uma reação de radicais favorecida em meio alcalino (rápida e não-seletivo) (DOMÈNECH; JARDIM; LITTER, 2001). Sendo assim, os radicais livres formados constituem um poderoso agente oxidante podendo ser efetivo na degradação de compostos recalcitrantes como a lignina (ASSALIN; DÚRAN, 2007).

Figura 5. Diagrama de Pareto para remoção da lignina

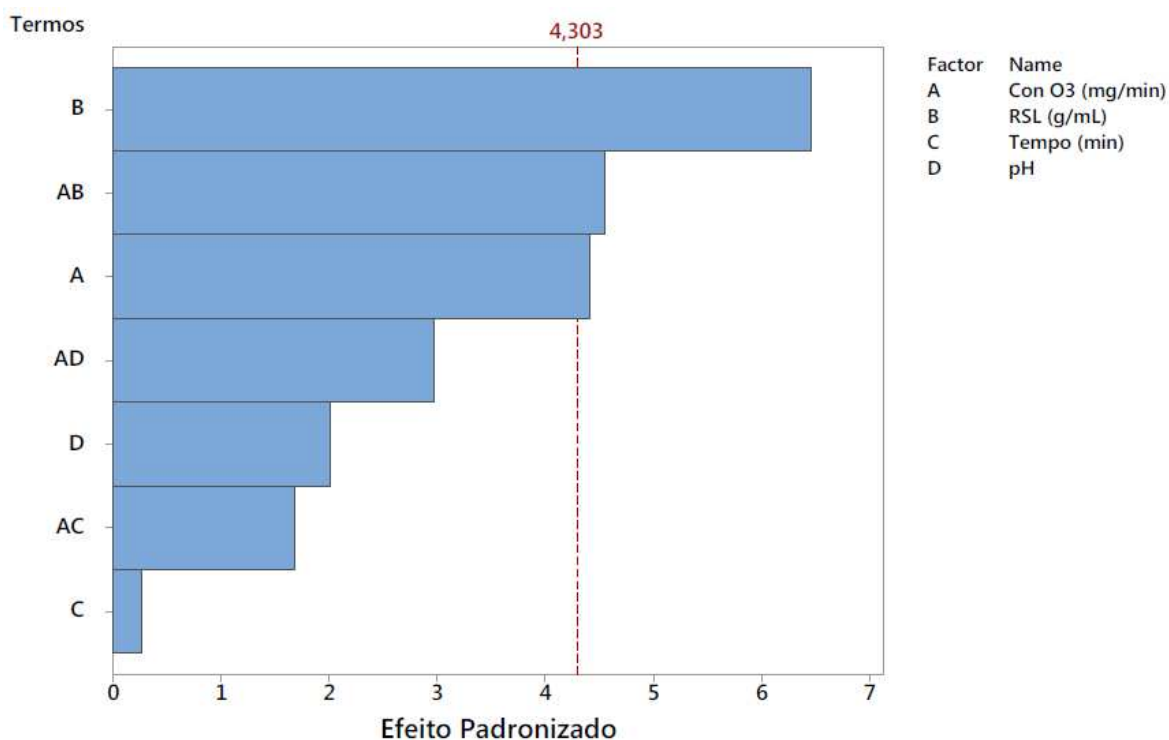


Figura 6. Gráfico da superfície ajustada para remoção de lignina em função da RSL e carga de O₃ mantendo fixo o tempo (67,5 min) e o pH (11)

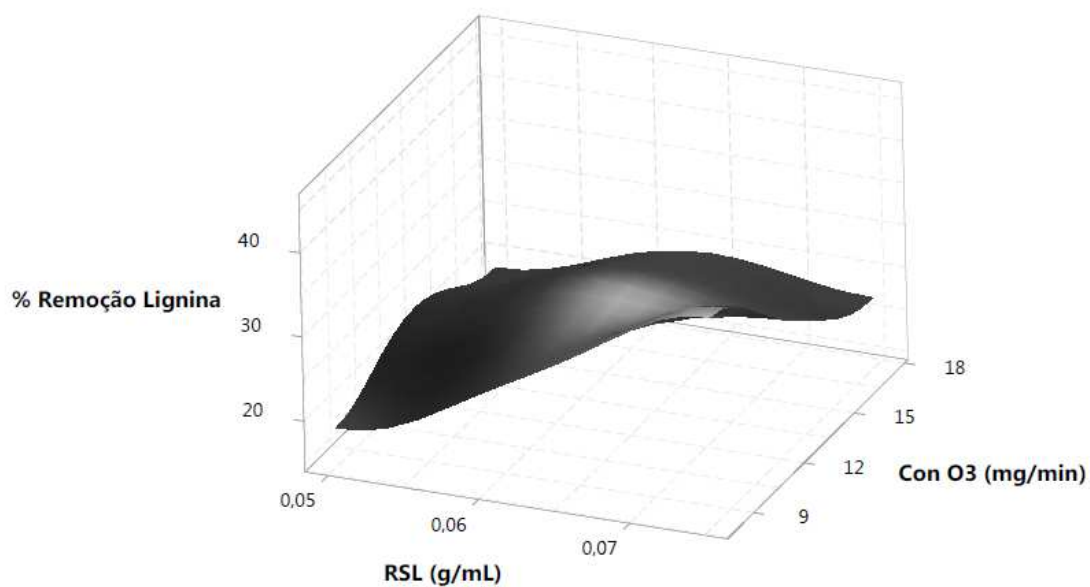
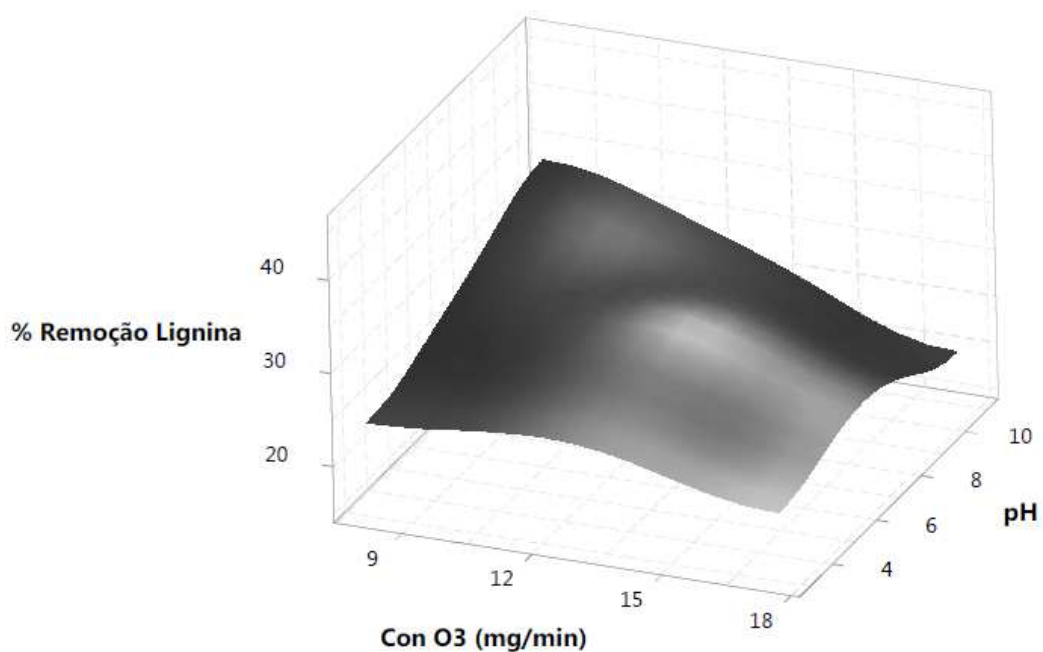


Figura 7. Gráfico da superfície ajustada para remoção de lignina em função do pH e carga de O₃ mantendo fixo o tempo (67,5 min) e a RSL (0,0625 g mL⁻¹)



5.2.2 Remoção de hemicelulose

A remoção de hemiceluloses para os experimentos desenvolvidos é mostrado na Tabela 6, em que se observa que a maior remoção foi para o experimento 1 o qual usou uma carga de ozônio de 8 O₃ mg/min e pH = 11 assim como tempo de reação de 15 min e RSL de 0,075 gL⁻¹, caracterizando a oxidação como um processo oxidativo avançado. Destaca-se que para o tempo de reação de 15 minutos o resultado da remoção das hemiceluloses (48,3 %) é significativo comparado com valores reportados por autores como Souza-Corrêa *et al* (2013) e Garcia-Cubero *et al* (2009), que usaram tempos de contato superiores (2,5 a 4 horas) e obtiveram porcentagens de remoção de hemiceluloses entre 35% e 67% para bagaço de cana e palha de trigo, respectivamente.

Os resultados apresentados neste trabalho mostram o POA usado necessita de menores tempos de contato para atacar e solubilizar as hemiceluloses quando comparado aos processos moleculares que usam ozônio gasoso (GARCÍA-CUBERO *et al.*, 2009). Além disso, o experimento 1 usou a maior RSL (0,075 gL⁻¹) que significa menor quantidade de água adicionada quando é comparada aos outros experimentos, indicando que o ozônio gasoso reagiu rapidamente com a água em pH elevado liberando íons hidroxila que levaram à maior degradação das hemiceluloses.

Os resultados apresentados na Tabela 6 para os experimentos 5 e 11 mostram remoções também significativas (≈44%), mas com tempos de reação muito maiores (> 15 min) e sem influência significativa do pH (< 11). Deve-se destacar que as remoções de hemiceluloses no bagaço de cana ocasionam aumento nos compostos presentes no hidrolisado e a geração de diferentes subprodutos derivados da reação entre ozônio e biomassa. Os principais compostos que podem aparecer como subprodutos das reações químicas das hemiceluloses nos pré-tratamentos clássicos (auto-hidrólise) são os furfurais e diferentes xilo-oligômeros (CARVALHEIRO; DUARTE; GÍRIO, 2008). Por outro lado nas reações usando ozônio podem-se encontrar ácidos orgânicos assim como hemi-orto-ésteres (TRAVAINI *et al.*, 2015b).

De acordo com o planejamento estatístico definido, foi realizada uma análise de variância e construído um diagrama de Pareto com o objetivo de verificar a influência das variáveis experimentais nos resultados de remoção das hemiceluloses. O diagrama de

Pareto é mostrado na Figura 8 confirmando a ideia que existe uma relação intrínseca entre a carga de ozônio usada e o pH do sistema. No diagrama apresentado, o efeito padronizado que mostrou maior influência foi a interação O₃/ pH, fato confirmado pelos *p-valores* inferiores a 0,05 (ANOVA) mostrados na Tabela 8.

A partir da Tabela 6 é importante notar a relação entre as remoções de lignina e hemiceluloses porque quando o teor de lignina diminui, a solubilização de hemiceluloses pode aumentar em virtude de que ambos os compostos são solubilizados em um complexo de lignina-hemiceluloses (MUSSATTO, 2016). Este comportamento foi relatado por alguns autores como (GARCÍA-CUBERO et al., 2009) e (LI et al., 2015).

Figura 8. Diagrama de Pareto para a remoção das hemiceluloses

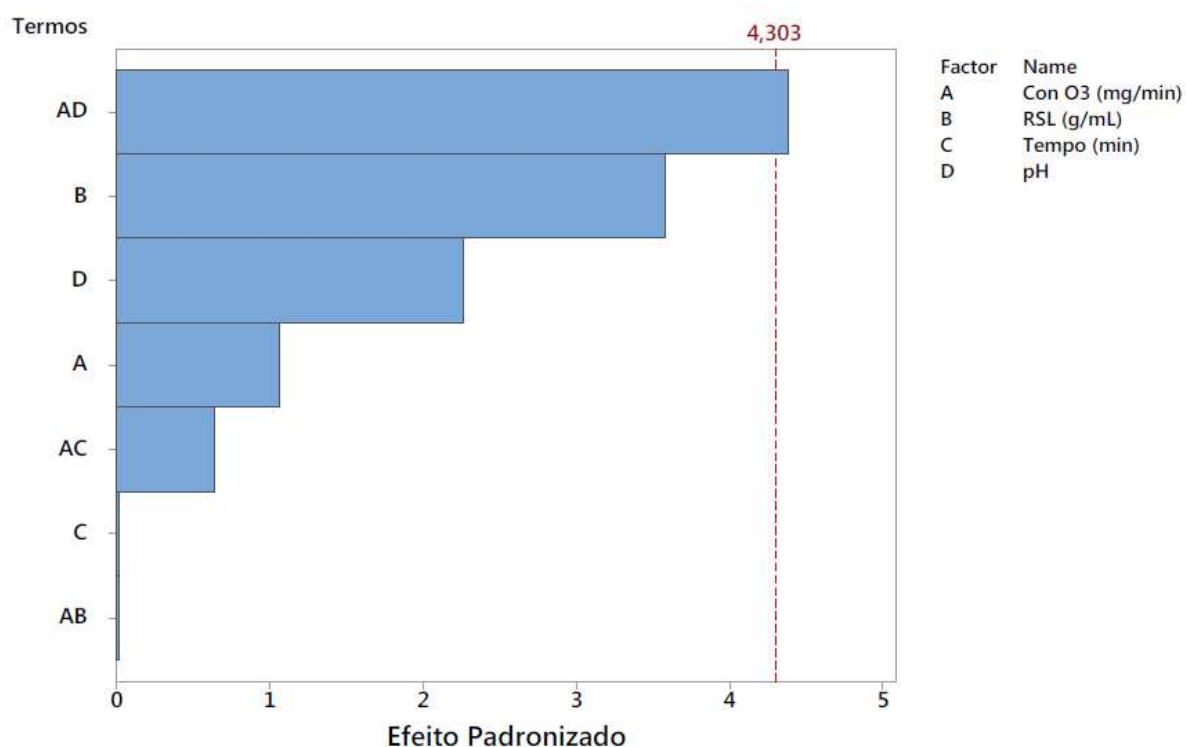


Tabela 8. Análise de variância para a remoção de hemiceluloses

| Fonte | GL | SQ | MQ | F-Calc | <i>p-valor</i> |
|--|----|--------|--------|--------|----------------|
| Regressão | 8 | 456,77 | 57,09 | 5,32 | 0,168 |
| Linear | 4 | 205,05 | 51,26 | 4,78 | 0,181 |
| Carga O₃(mg/min) | 1 | 12,11 | 12,11 | 1,13 | 0,399 |
| RSL (g/mL) | 1 | 137,86 | 137,86 | 12,85 | 0,070 |
| Tempo (min) | 1 | 0,004 | 0,004 | 0,00 | 0,986 |
| pH | 1 | 55,07 | 55,07 | 5,13 | 0,152 |
| Interações 2a ordem | 3 | 210,22 | 70,07 | 6,53 | 0,136 |
| Carga O₃ (mg/min)*RSL(g/mL) | 1 | 0,004 | 0,004 | 0,00 | 0,986 |
| Carga O₃ (mg/min)*Tempo(min) | 1 | 4,36 | 4,36 | 0,41 | 0,589 |
| Carga O₃ (mg/min)*pH | 1 | 205,85 | 205,85 | 19,18 | 0,048 |
| Curvatura | 1 | 41,50 | 41,50 | 3,87 | 0,188 |
| Erro | 2 | 21,46 | 10,73 | | |
| Total | 10 | 478,24 | | | |

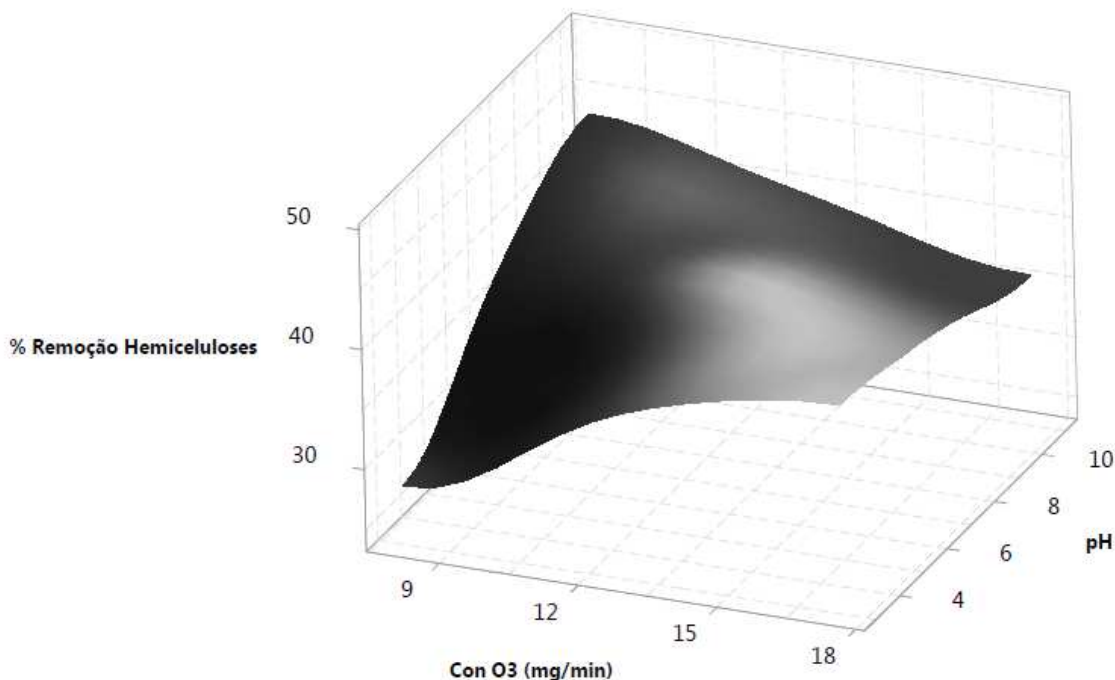
A análise de variância para a remoção das hemiceluloses permitiu construir um modelo (Equação 15) de avaliação da sua remoção de acordo com as variáveis de predição significativas (interação O₃/pH), que pode então ser usado para estimar a variável resposta em função dos dados de entrada.

$$\% \text{ Remo Hemicelulo} = -13,3 + 1,95 \text{ Carga O}_3 + 4,060 \text{ pH} - 0,2670 \text{ Carga O}_3 * \text{pH} + 0,00296 \text{ Carga O}_3^2$$

(15)

O modelo do sistema foi ajustado com um coeficiente de determinação (R²) de 91,51%, que se mostra satisfatório. O gráfico correspondente a esta superfície é apresentado na Figura 9, que confirma que para valores de pH superiores a 9 e cargas de ozônio na faixa de 8 a 12 mg O₃/min eficiências de remoção de hemiceluloses superiores a 35% podem ser atingidas.

Figura 9. Gráfico para a superfície ajustada da remoção de hemiceluloses em função do pH e carga de O₃ mantendo fixo o tempo em 67,5 min e a RSL em 0,0625



Finalmente e de acordo com os dados apresentados para as remoções de hemiceluloses e lignina, é possível que com a condição 1 (pH > 9, carga de O₃ > 8 mg/min) de pré-tratamento, sejam atingidos elevados graus de solubilização de hemiceluloses e lignina o que permite obter hidrolisados de fácil biodegradação para posterior produção de biogás via digestão anaeróbia assim como uma fração sólida pronta para processos de hidrólise enzimática e produção de etanol 2G.

5.3 Análises dos hidrolisado

O planejamento experimental realizado adotou como variáveis dependentes no hidrolisado os teores de açúcares (C₅-C₆, mg), carbono orgânico total (mg COT/L), furanos (HMF + FF, mg) e lignina solúvel (LS, mg), conforme mostra a Tabela 9.

Tabela 9. Teores de açúcares, COT, Lignina solúvel e furfurais para cada condição experimental.

| Experimento | C5-C6 (mg) | COT (mg/L) | Lignina Solúvel (mg) | FF+HMF (mg) |
|-------------|------------|------------|----------------------|-------------|
| 1 | 2,19 | 218,2 | 1,28 | 0,20 |
| 2 | 4,29 | 1020 | 1,34 | 0,24 |
| 3 | 0,73 | 452,75 | 1,72 | 0,00 |
| 4 | 1,43 | 1030 | 1,28 | 0,94 |
| 5 | 0,96 | 154,38 | 1,32 | 0,71 |
| 6 | 1,81 | 687,5 | 0,89 | 0,00 |
| 7 | 2,38 | 174,3 | 1,23 | 0,00 |
| 8 | 3,15 | 1445 | 1,39 | 2,12 |
| 9 | 1,53 | 1242 | 1,17 | 0,00 |
| 10 | 5,08 | 434,25 | 1,02 | 0,00 |
| 11 | 1,22 | 1169,75 | 1,23 | 0,00 |

5.3.1 Análise do carbono orgânico dissolvido no hidrolisado

De acordo com os dados apresentados na Tabela 9, os experimentos 4, 8, 9 e 11 produziram os maiores teores de COD, indicando que sob elevados valores de doses de ozônio e tempos de reação (120 min), é possível liberar mais COD para a fase líquida. Uma diferença importante nesses experimentos é o teor de água adicionada, e os dados mostram que menores quantidades de água (experimento 8) levaram à produção de hidrolisados com mais COD. Sistemas com maior quantidade de água permitem um maior ataque do ozônio nos compostos já dissolvidos da biomassa na fase aquosa produzindo a uma mineralização parcial do hidrolisado (QUESADA; RUBIO; GÓMEZ, 1999). Esta hipótese é baseada no fato de que o ozônio gasoso pode reagir com a água e outros compostos presentes para produzir excesso de radical hidroxila, o que em tese aumentaria a degradação dos compostos que estão sendo solubilizados pela reação entre o ozônio e a biomassa.

Tabela 10. Análise de variância para COT nos hidrolisados gerados no tratamento oxidativo do bagaço de cana.

| Fonte | GL | SQ | MQ | F-Calc | p-valor |
|---|-----------|-----------|-----------|---------------|----------------|
| Regressão | 8 | 2186211 | 273276 | 23,65 | 0,041 |
| Linear | 4 | 1038018 | 259505 | 22,45 | 0,043 |
| Carga O₃(mg/min) | 1 | 26874 | 26874 | 2,33 | 0,267 |
| RSL (g/mL) | 1 | 148192 | 148192 | 12,82 | 0,070 |
| Tempo (min) | 1 | 860721 | 860721 | 74,48 | 0,013 |
| pH | 1 | 2230 | 2230 | 0,19 | 0,703 |
| Interações 2a ordem | 3 | 429052 | 143017 | 12,37 | 0,076 |
| Carga O₃ (mg/min)*RSL(g/mL) | 1 | 33034 | 33034 | 2,86 | 0,233 |
| CargaO₃(mg/min)*Tempo(min) | 1 | 91555 | 91555 | 7,92 | 0,106 |
| Carga O₃ (mg/min)*pH | 1 | 304463 | 304463 | 26,34 | 0,036 |
| Curvatura | 1 | 719141 | 719141 | 62,22 | 0,016 |
| Erro | 2 | 23114 | 11557 | | |
| Total | 10 | 2209326 | | | |

Os resultados da análise estatística dos pré-tratamentos oxidativos para o COD são mostrados na Figura 10 (diagrama de Pareto) e Tabela 10 (ANOVA). Como poder ser visto no diagrama de Pareto, os efeitos significativos na variável COD são o tempo de reação e a interação da dose de ozônio com o pH, confirmando que para fortes interações pH/O₃ com tempos elevados de reação é possível liberar significativas quantidades de carbono orgânico dissolvido na fase aquosa. A ANOVA confirmou, por meio do p-valor 0,013, o efeito significativo do tempo sobre esta variável de resposta.

De acordo com a análise de variância e os dados experimentais, foi possível construir um modelo com coeficiente de ajuste R² de 95,95% que permitiu descrever, com boa precisão, os valores da variável resposta. O modelo é definido pela equação 16 e a superfície associada é apresentada nas Figuras 11 e 12, confirmando que o uso de tempos maiores a 50-80 minutos, pH de 5 a 7 e cargas de ozônio superiores a 13 mg O₃/min garantem a obtenção dos maiores teores de COT na fração solúvel.

$$\begin{aligned} \text{COT (mg/L)} = & -718 + 12,5 \text{ Carga O}_3 + 11,72 \text{ Tempo} - 126,7 \text{ pH} \\ & + 10,27 \text{ Carga O}_3 * \text{pH} - 0,429 \text{ Tempo} * \text{Carga O}_3^2 \\ & (16) \end{aligned}$$

Finalmente, note-se que a análise de COD indica a presença de todos os compostos que tem carbono, sejam eles biodegradáveis, recalcitrantes ou tóxicos. Dessa forma, uma maior quantidade de COD no hidrolisado não significa necessariamente maior produção de biogás. De acordo com isso, ensaios de caracterização específica (CG-MS) do hidrolisado e de produção de biogás (BMP e BHP) são necessários.

Figura 10. Diagrama de Pareto para carbono orgânico total

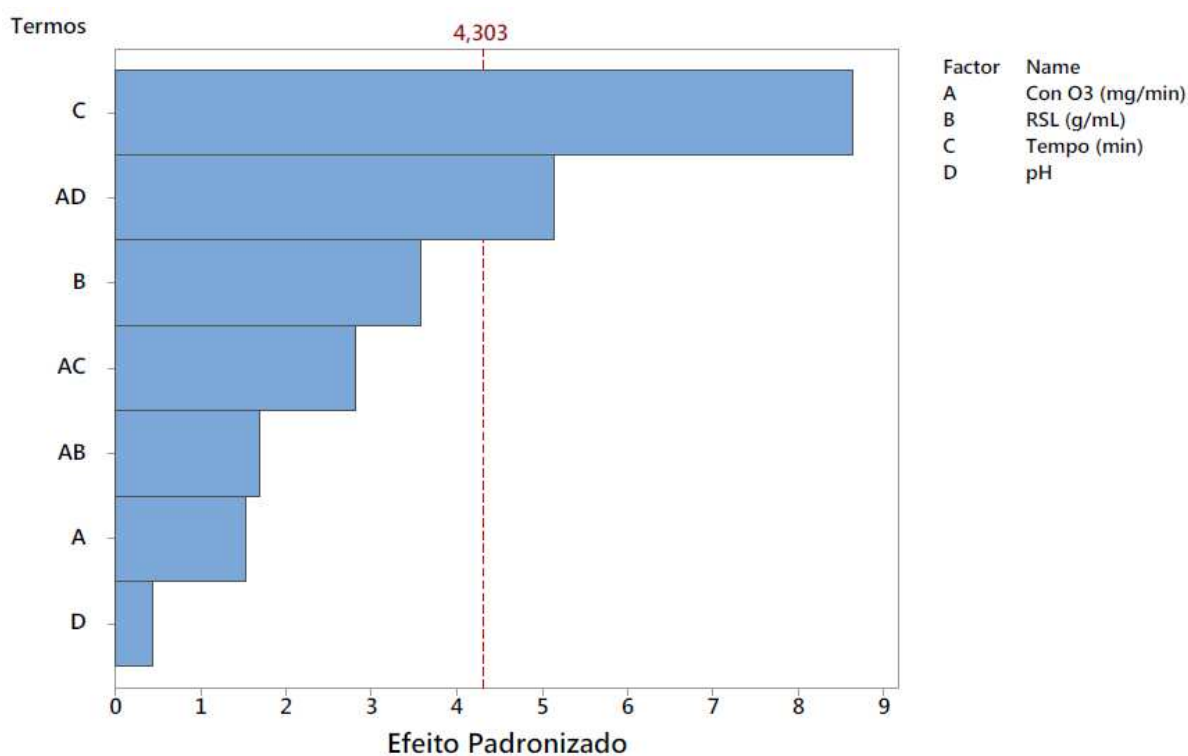


Figura 11. Gráfico para a superfície ajustada do COT em função do tempo e carga de O₃ mantendo fixo o pH em 7 e a RSL em 0,0625

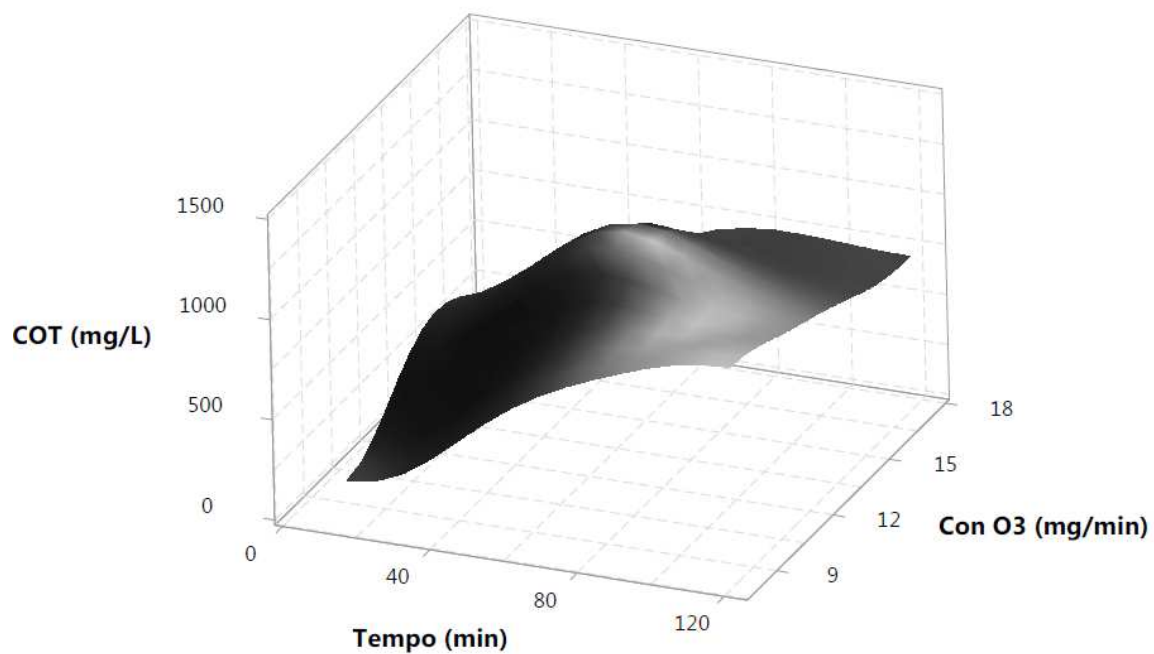
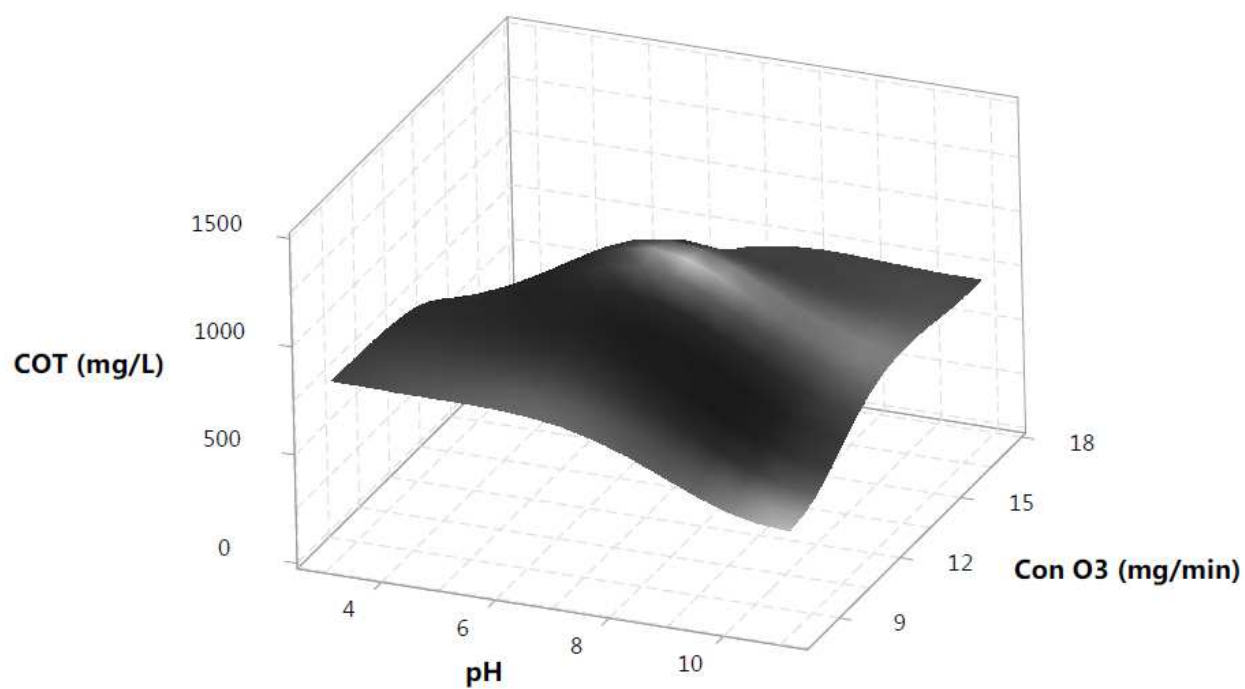


Figura 12. Gráfico para a superfície ajustada do COT em função do pH e carga de O₃ mantendo o tempo fixo no valor de 67,5 min e a RSL em 0,0625 g mL⁻¹



5.3.2 Análise do teor de lignina solúvel

Conforme pode ser visto na Tabela 9, os experimentos 3 e 8, realizados com elevadas doses de ozônio e tempos de contato de 120 min produziram os maiores teores de lignina solúvel, ~1,72 mg e 1,39 mg, respectivamente. Como a relação sólido-líquido nesses experimentos foi a menor das testadas (20 mL por cada 1 g de BCA), os resultados indicam que a maior quantidade de água adicionada levou à maior solubilização de lignina. De forma contrária, sabe-se que sistemas de pré-tratamento que empregam menor teor de água permitem a um maior ataque do ozônio na estrutura da lignina, favorecendo sua solubilização (TRAVAINI et al., 2013). No presente caso, o efeito de solvência, ou seja, solubilização dos fragmentos de lignina formados no ataque com o ozônio parece ter sido mais importante.

Os teores de lignina solúvel obtidos nos experimentos oxidativos são muito menores aos encontrados em técnicas clássicas de pré-tratamento, tal qual a auto-hidrólise (BAËTA et al., 2016). Uma hipótese que justifica tal diferença é que processos térmicos do tipo auto-hidrólise solubilizam a lignina pela sua fragmentação, enquanto processos oxidativos, baseados em ozônio, por exemplo, levam à formação de compostos oxidados (ácidos, aldeídos entre outros subprodutos). De acordo com o anterior, quanto mais oxidado for o carbono, menos metano e mais CO₂ será produzido na digestão anaeróbia e, portanto, a produção eficiente de bioenergia será comprometida.

Os resultados da análise estatística dos pré-tratamentos oxidativos para o teor de lignina solúvel são mostrados na Figura 13 (diagrama de Pareto) e Tabela 11 (ANOVA). Como poder ser visto no diagrama de Pareto, os efeitos significativos na variável lignina solúvel são o tempo de reação e a interação entre a carga de ozônio usada e o pH, confirmando que para fortes interações pH/O₃ com tempos elevados de reação é possível liberar mais lignina para o meio aquoso. A ANOVA confirmou, por meio do p-valor 0,026, o efeito significativo da interação O₃- tempo sobre a variável de resposta 'lignina solúvel no hidrolisado'.

Tabela 11. Análise de variância para lignina solúvel no hidrolisado gerado no pré-tratamento oxidativo do bagaço de cana.

| Fonte | GL | SQ | MQ | F-Calc | <i>p</i> -valor |
|--|----|----------|----------|--------|-----------------|
| Regressão | 8 | 0,000044 | 0,000005 | 17,45 | 0,055 |
| Linear | 4 | 0,000026 | 0,000007 | 20,83 | 0,046 |
| Carga O₃(mg/min) | 1 | 0,000004 | 0,000004 | 14,09 | 0,064 |
| RSL (g/mL) | 1 | 0,000003 | 0,000003 | 8,83 | 0,097 |
| Tempo (min) | 1 | 0,000003 | 0,000003 | 10,08 | 0,087 |
| pH | 1 | 0,000016 | 0,000016 | 50,31 | 0,019 |
| Interações 2a ordem | 3 | 0,000017 | 0,000006 | 18,26 | 0,052 |
| Carga O₃ (mg/min)*RSL(g/mL) | 1 | 0,000005 | 0,000005 | 16,14 | 0,057 |
| Carga O₃ (mg/min)*Tempo(min) | 1 | 0,000011 | 0,000011 | 36,28 | 0,026 |
| Carga O₃ (mg/min)*pH | 1 | 0,000001 | 0,000001 | 2,35 | 0,265 |
| Curvatura | 1 | 0,000000 | 0,000000 | 1,50 | 0,345 |
| Erro | 2 | 0,000001 | 0,000000 | | |
| Total | 10 | 0,000044 | | | |

De acordo com a análise de variância e os dados experimentais, foi possível construir um modelo com coeficiente de ajuste R^2 de 93,59% que permitiu descrever, com boa precisão, os valores da variável resposta. O modelo é definido pela equação 17 e a superfície associada é apresentada na Figura 14 e 15, confirmando que o uso de tempos maiores a 50 minutos, pH inferiores a 5 e cargas de ozônio superiores a 13 mg O₃/min garantem a obtenção dos maiores teores de lignina solúvel. Destaque-se que altos teores de lignina solúvel, são indesejáveis nos processos anaeróbios devido à recalcitrância da lignina. Por outro lado uma elevada deslignificação no pré-tratamento é altamente desejável quando se pensa na produção de etanol 2G.

$$\begin{aligned} \text{Lignina Solúvel (g)} = & 0,00146 + 0,000783 \text{ Carga O}_3 - 0,000049 \text{ Tempo} \\ & - 0,000147 \text{ pH} + 0,000005 \text{ Carga O}_3 * \text{Tempo} - 0,000016 \text{ Carga O}_3 * \text{pH} \end{aligned} \quad (17)$$

Figura 13. Diagrama de Pareto para a lignina solúvel no hidrolisado gerado pelo tratamento oxidativo do bagaço de cana.

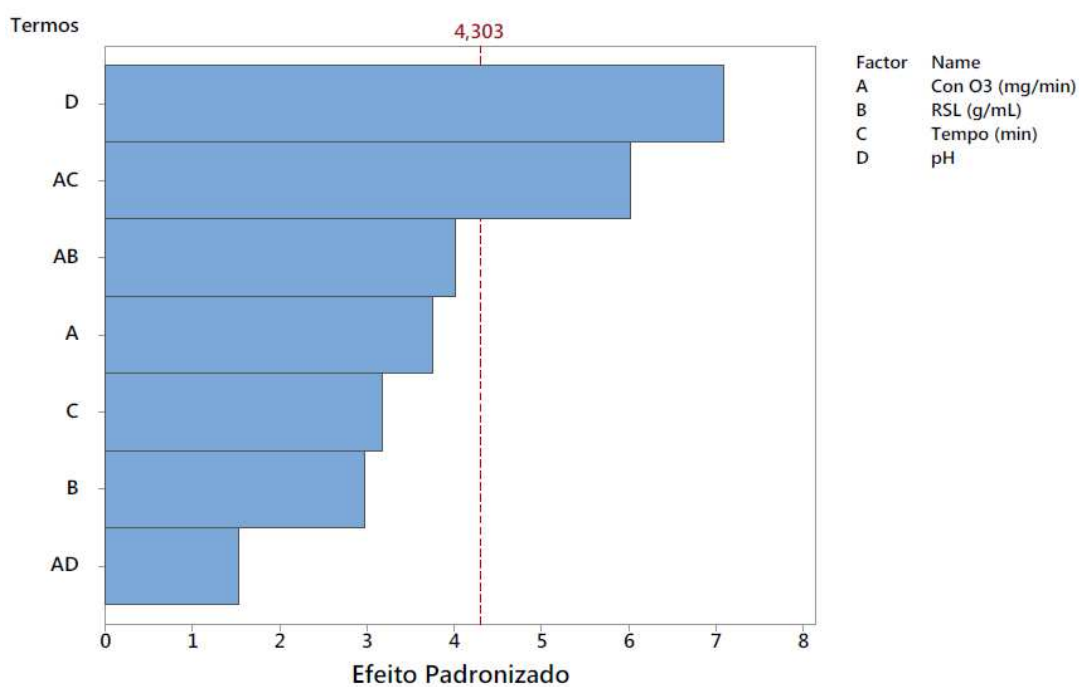


Figura 14. Gráfico para a superfície ajustada da concentração de Lignina Solúvel em função do pH e carga de O₃ mantendo fixo o tempo em 67,5 min e a RSL em 0,0625 g/mL⁻¹

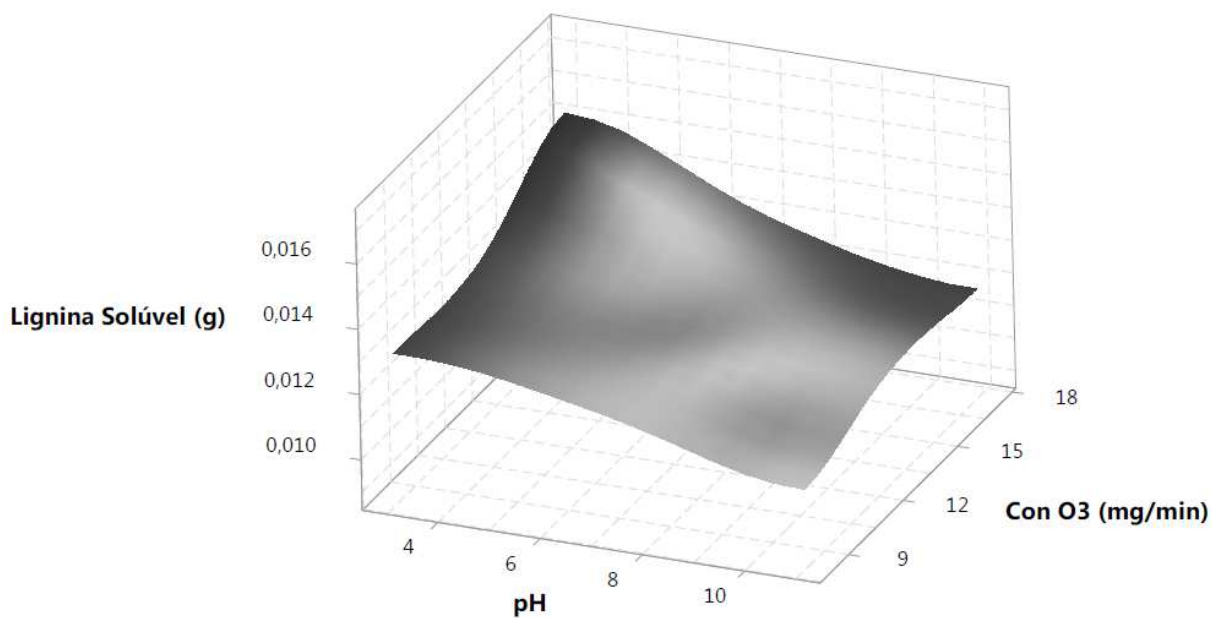
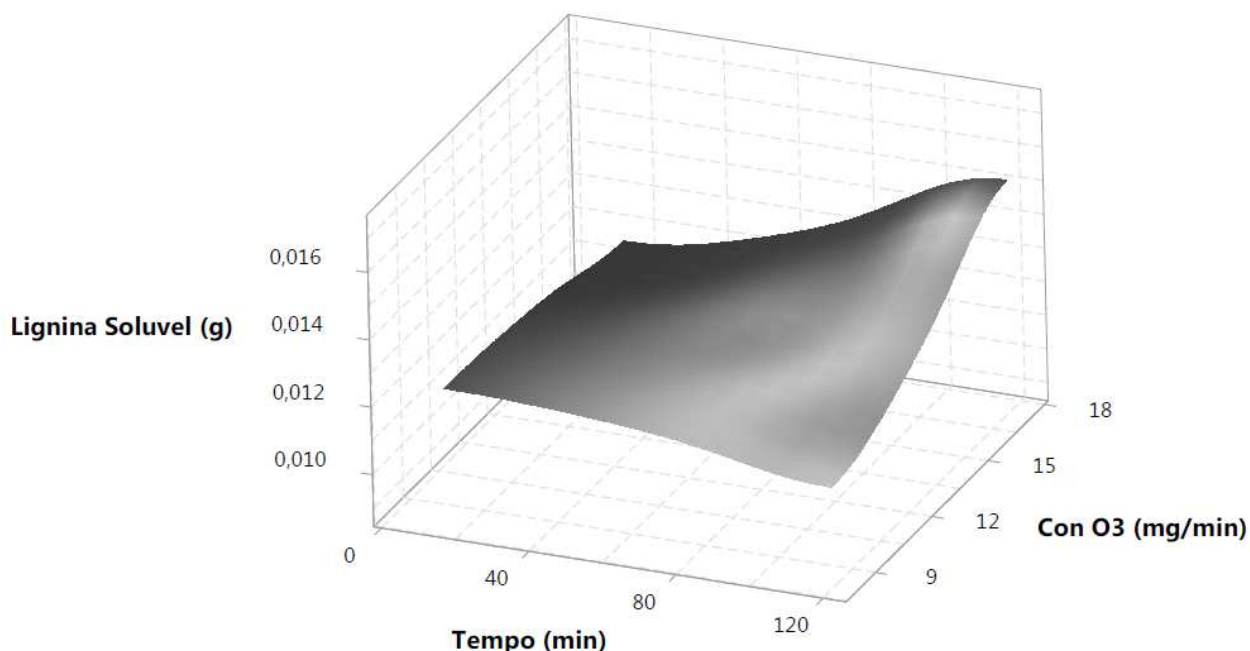


Figura 15. Gráfico para a superfície ajustada da concentração de Lignina Solúvel em função do tempo e carga de O₃ fixando o pH em 7 e a RSL em 0,0625 g/mL⁻¹



5.3.3 Análise do teor de açúcar C5 e C6

Conforme pode ser visto na Tabela 9, o experimento 10 produziu o maior teor de açúcares C₅-C₆ (~5 mg), indicando que doses altas de ozônio gasoso e valores de pH elevados, característico dos POA, são mais efetivos para liberar açúcares do bagaço de cana, mesmo em pequenos tempos de contato (15 min). O experimento 2 resultou na segunda maior liberação de açúcares, e foi caracterizado por um tempo de reação elevado (120 min) e uma menor quantidade de água adicionada, que pode limitar a solubilização dos açúcares liberados. Os teores de açúcares obtidos nos experimentos oxidativos são muito menores aos encontrados em técnicas clássicas de pré-tratamento, tal qual a auto-hidrólise (BAËTA et al., 2016).

No caso das condições dos experimentos 1 e 11, que resultaram em elevados graus de solubilização de hemiceluloses e de deslignificação, não foram produzidos hidrolisados com elevados teores de açúcares o que pode ser justificado pela aparição de seus derivados, tais quais ácidos orgânicos de diferentes tamanho de cadeia obtidos pela reação de ozônio

com as cadeias poliméricas constituintes das hemiceluloses e lignina(MUSSATTO, 2016). O fato anterior é confirmado pelo análise dos hidrolisados por CG-EM para os diferentes experimentos (ver item 5.3.4).

Os resultados da análise estatística dos pré-tratamentos oxidativos para o teor de açúcares C₅-C₆ são mostrados na Figura 16 (diagrama de Pareto) e Tabela 12 (ANOVA). Como poder ser visto no diagrama de Pareto, os efeitos significativos na variável teor de açúcar são a dose de ozônio usada e o pH do sistema, confirmando que doses significativas de ozônio em tempos curtos de reação podem liberar mais açúcares pelo ataque aleatório de íons hidroxila sobre ligações glicosídicas da biomassa produzindo diminuição do pH no final do tempo de reação. A ANOVA confirmou, por meio do p-valor 0,002, o efeito significativo da interação O₃/ pH sobre a variável de resposta ‘teor de açúcar no hidrolisado’.

Figura 16. Diagrama de Pareto das análises de açúcares no hidrolisado obtido pelo tratamento oxidativo do bagaço de cana

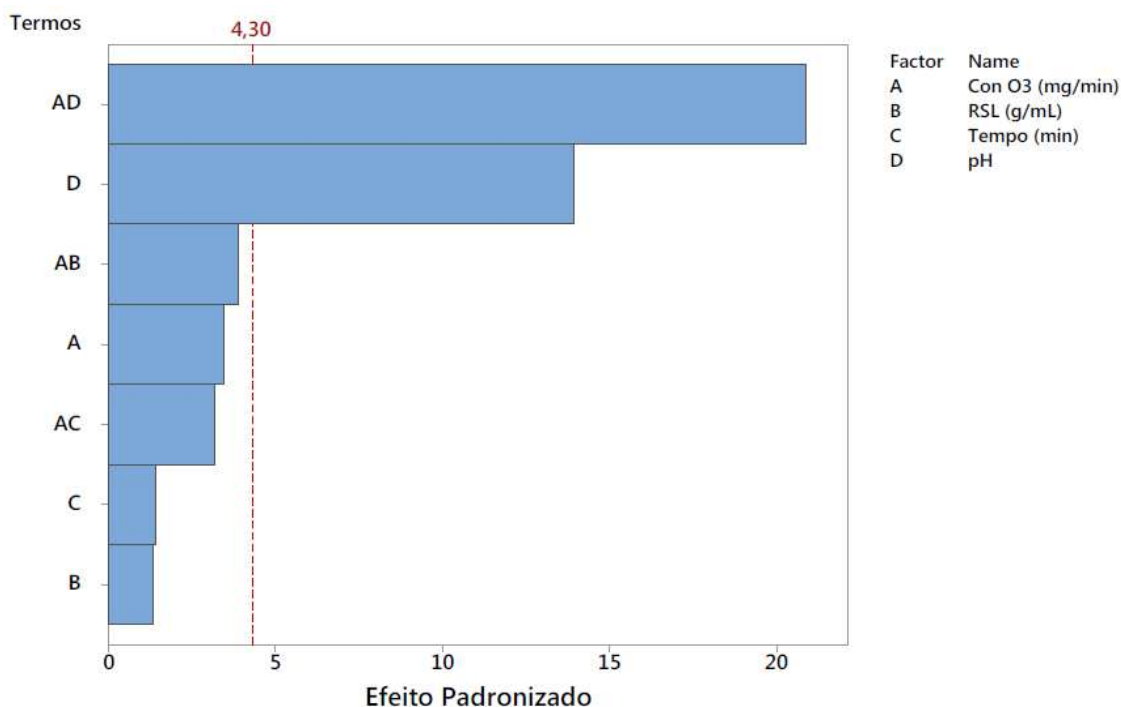


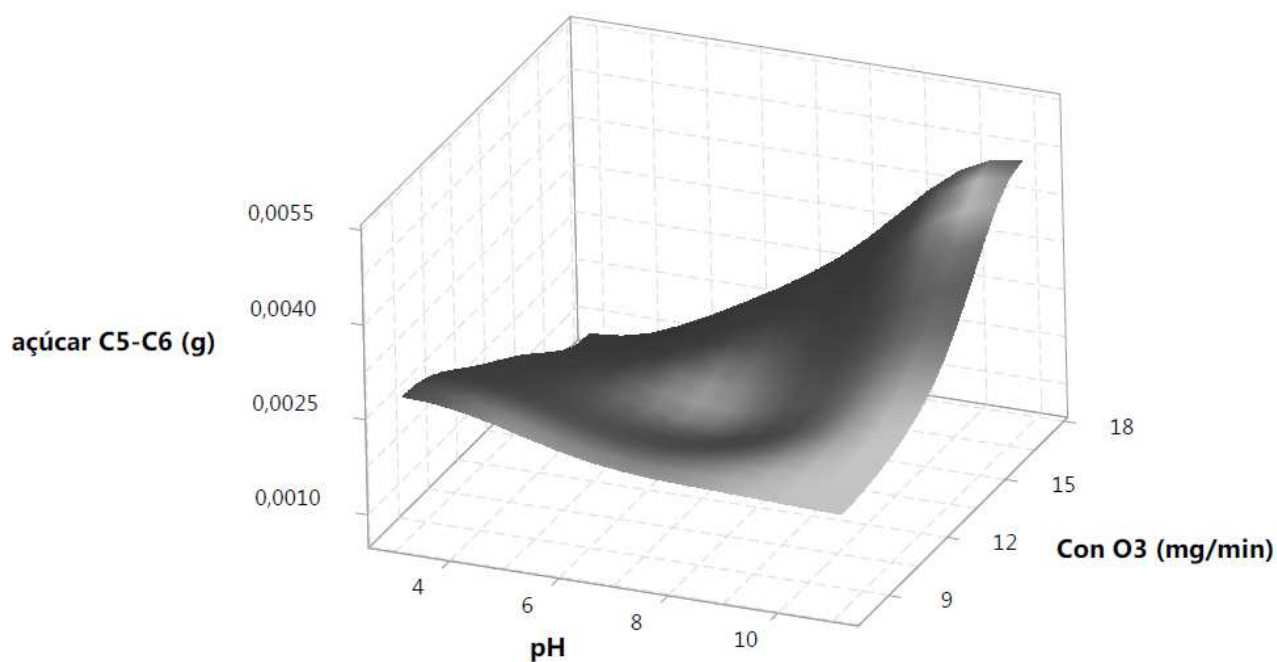
Tabela 12. Análise de variância para os açúcares C₅-C₆ no hidrolisado ou fração solúvel.

| Fonte | GL | SQ | MQ | F-Calc | p-valor |
|--|----|----------|----------|--------|---------|
| Regressão | 8 | 0,000019 | 0,000002 | 99,62 | 0,010 |
| Linear | 4 | 0,000005 | 0,000001 | 52,57 | 0,019 |
| Carga O₃(mg/min) | 1 | 0,000000 | 0,000000 | 11,85 | 0,075 |
| RSL (g/mL) | 1 | 0,000000 | 0,000000 | 1,73 | 0,319 |
| Tempo (min) | 1 | 0,000000 | 0,000000 | 2,02 | 0,291 |
| pH | 1 | 0,000005 | 0,000005 | 194,67 | 0,005 |
| Interações 2a ordem | 3 | 000011 | 0,000004 | 153,87 | 0,006 |
| Carga O₃ (mg/min)*RSL(g/mL) | 1 | 0,000000 | 0,000000 | 15,04 | 0,061 |
| Carga O₃ (mg/min)*Tempo(min) | 1 | 0,000000 | 0,000000 | 10,08 | 0,087 |
| Carga O₃ (mg/min)*pH | 1 | 0,000011 | 0,000011 | 436,48 | 0,002 |
| Curvatura | 1 | 0,000003 | 0,000003 | 125,06 | 0,008 |
| Erro | 2 | 0,000000 | 0,000000 | | |
| Total | 10 | 0,000019 | | | |

Baseado na análise de variância e nos dados experimentais foi possível construir um modelo com coeficiente de ajuste R² de 96,75% que permitiu descrever, com boa precisão, os valores da variável resposta. O modelo é definido pela equação 18 e a superfície associada é apresentada na Figura 17, confirmando que a oxidação radicalar (POA) empregada (ozônio em meio alcalino) garantiu a obtenção dos maiores teores de açúcares.

$$\begin{aligned}
 \text{Açúcar C}_5\text{-C}_6 = & 0,002393 - 0,000112 \text{ Carga O}_3 - 0,000580 \text{ pH} \\
 & - 0,001 \text{ pH}^2 + 0,000061 \text{ Carga O}_3 * \text{pH}
 \end{aligned}
 \tag{18}$$

Figura 17. Gráfico para a superfície ajustada da concentração de açúcares C₅-C₆ em função do pH e carga de O₃ mantendo a RSL fixa em 0,0625 gL⁻¹ e o tempo em 67,5 min



5.3.4 Análise dos hidrolisados por CG-EM

A análise dos hidrolisados por CG-EM foi feita com o objetivo de identificar os principais compostos que são formados durante a oxidação do bagaço de cana com ozônio em distintos valores de pH, avaliando assim a influência do tipo de oxidação (molecular ou radicalar) sobre os subprodutos acumulados. Dessa forma, foram usadas amostras de hidrolisado geradas nos experimentos: 1 (ozonização em meio alcalino), 8 (ozonização em meio ácido) e 9 (ozonização em meio neutro). As estruturas dos compostos identificados assim como o hidrolisado onde foram detectados são mostrados na Tabela 13.

Tabela 13. Estruturas dos compostos identificados nos hidrolisados por CG-EM. Sendo: experimento 1 meio alcalino, 8 meio ácido e 9 meio neutro (início)

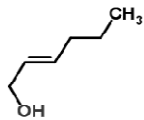
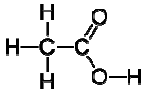
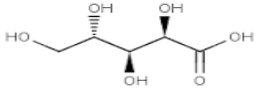
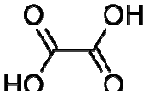
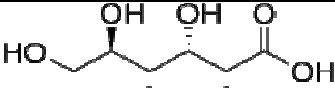
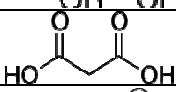
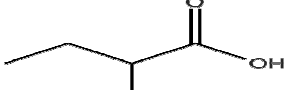
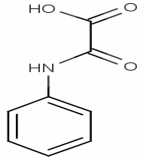
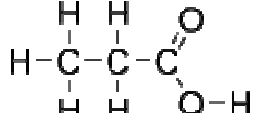
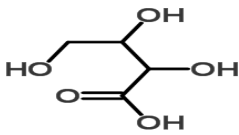
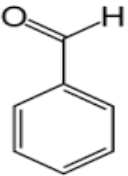
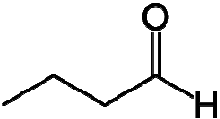
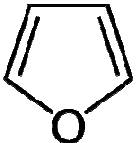
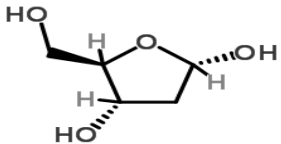
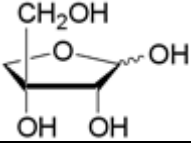
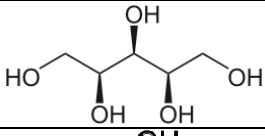
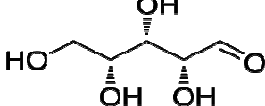
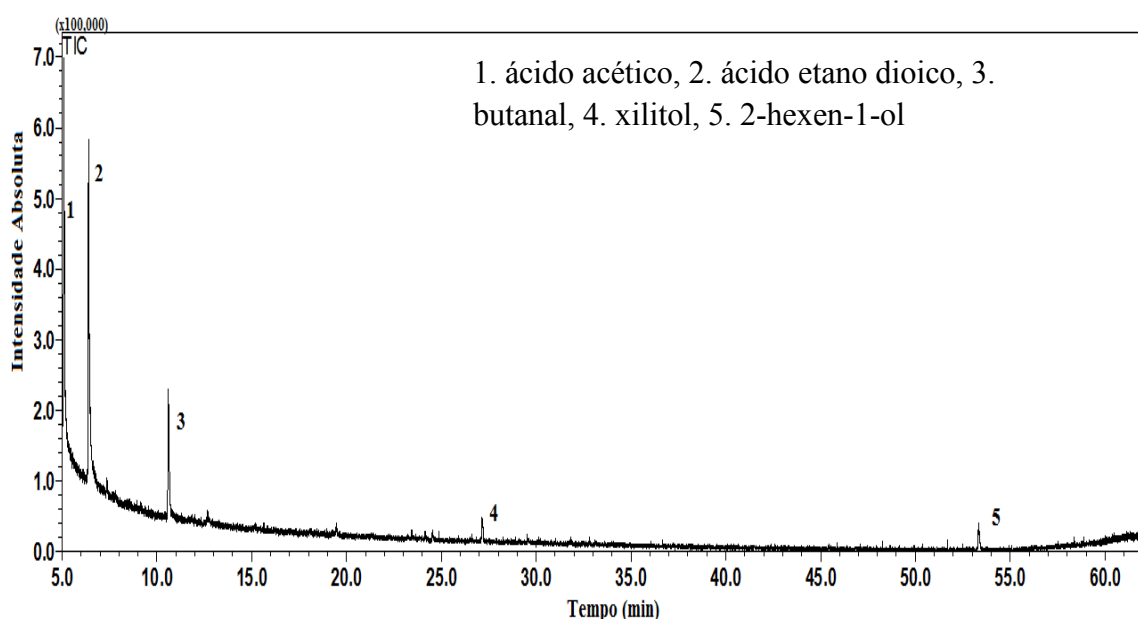
| Nome do Composto | Estrutura | Hidrolisado |
|--------------------------|---|-------------|
| 2-hexen-1-ol |  | 1 |
| Ácido acético |  | 1, 8, 9 |
| Ácido arabinóico |  | 8 |
| Ácido etanodióico |  | 1, 8, 9 |
| Ácido glucônico |  | 8 |
| Ácido malônico |  | 8, 9 |
| Ácido 2-metilbutanoico |  | 8, 9 |
| Ácido oxalínico |  | 8 |
| Ácido propanoico |  | 8, 9 |
| Ácido trihidroxibutírico |  | 8 |

Tabela 13. Estruturas dos compostos identificados nos hidrolisados por CG-EM. Sendo: experimento 1 meio alcalino, 8 meio ácido e 9 meio neutro (final)

| Nome do Composto | Estrutura | Hidrolisado |
|------------------|---|-------------|
| Benzaldeído |  | 8 |
| Butanal |  | 1, 9 |
| Furano |  | 8 |
| Pentafuranose |  | 8 |
| Tetrafuranoose |  | 8 |
| Xilitol |  | 1 |
| Xilose |  | 8, 9 |

Os compostos identificados no hidrolisado 1 e mostrados na Figura 18 foram numerados de 1 a 5 e correspondem aos ácidos acético e etano dióico, butanal, xilitol e 2-hexen-1-ol, respectivamente. Deve-se destacar que o tempo de reação neste experimento foi de 15 minutos e o pH alcalino, e os compostos identificados no espectro de massas do hidrolisado 1 podem ser explicados quimicamente pelas reações que acontecem entre carboidratos e o ozônio em condições em que a oxidação radicalar é favorecida. Sabe-se que o ozônio dissolvido na água em meio alcalino gera radicais hidroxilas por meio da formação de superóxido (principal radical formado), que reage com carboidratos, resultando em clivagem aleatória de ligações glicosídicas e formação de ácidos, álcoois e aldeídos (RAGNAR; ERIKSSON; REITBERGER, 1999; TRAVAINI et al., 2015b).

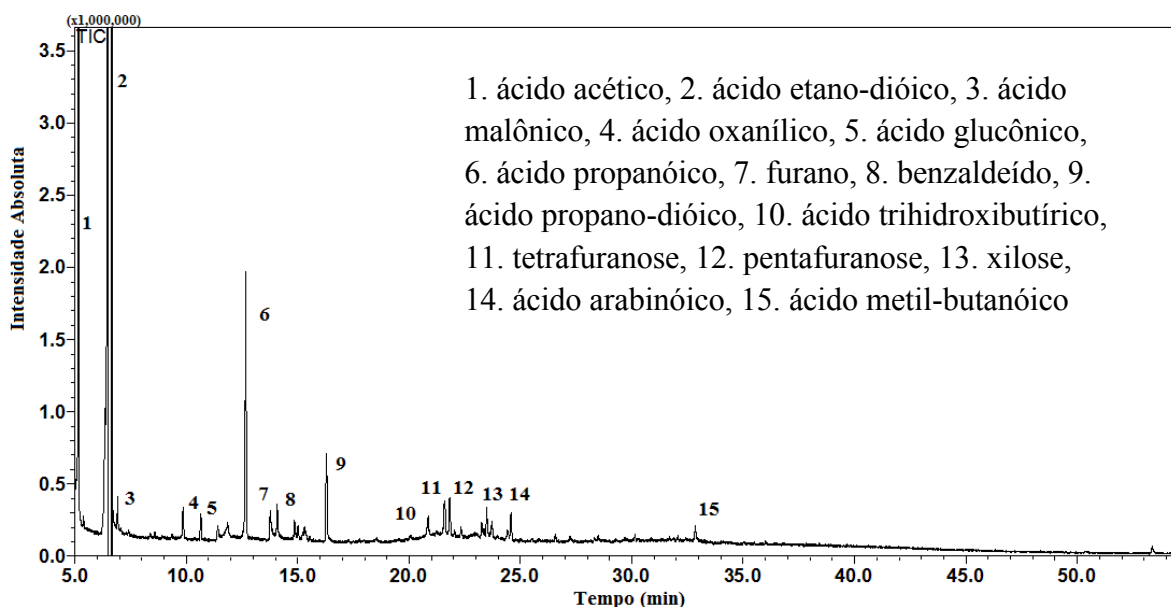
Figura 18. Cromatograma obtido no CG-EM com amostra do hidrolisado gerado na condição experimental 1 (O₃ em meio alcalino).



No caso do hidrolisado 8 o tempo de reação experimental foi de 120 minutos e o pH ácido, características que permitiram o acúmulo de um número maior de compostos, como é mostrado na Figura 19. Os picos numerados de 1 a 15 e mostrados na Figura 19 foram identificados como sendo, respectivamente, ácido acético, ácido etano-dióico, ácido malônico, ácido oxalínico, ácido glucônico, ácido propanóico, furano, benzaldeído, ácido propano-dióico, ácido trihidroxibutírico, tetrafuranose, pentafuranose, xilose, ácido

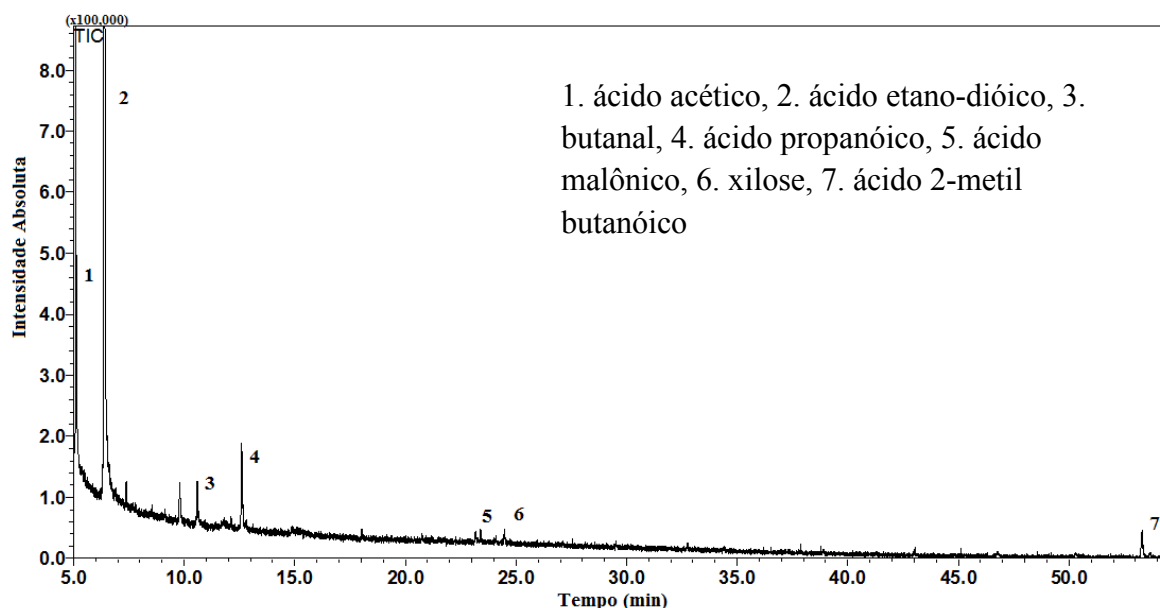
arabinóico e ácido metil-butanóico. A geração de tais compostos pode ser explicada quimicamente pelas reações de ozônio com compostos aromáticos via oxidação molecular, que envolvem um ataque eletrofílico inicial seguido por uma hidroxilação do anel aromático, o que aumenta a reatividade na substituição eletrofílica do anel. Outro modo de reação é a inserção de ozônio em ligações carbono-hidrogênio em estruturas de álcool, aldeído e éter. No caso de alquil e aril éteres a reação resulta ainda na clivagem das ligações éter. Os mecanismos descritos são reportados em RAGNAR et al., (1999); TRAVAINI et al., (2015b).

Figura 19. Cromatograma obtido no CG-EM com amostra do hidrolisado gerado na condição experimental 8 (O_3 em meio ácido).



Os compostos identificados no hidrolisado gerado na condição experimental 9, cujo tempo de contato foi moderado (67,5 min) e o pH na faixa da neutralidade, são apresentados na Figura 20 com numeração de 1 a 7 e referem-se, respectivamente, a ácido acético, ácido etano-dióico, butanal, ácido propanóico, ácido malônico, xilose e ácido 2-metil butanóico. Além das explicações químicas já descritas para os hidrolisados 1 e 8, é importante destacar que também podem ocorrer ataques diretos do ozônio em carboidratos o que resulta na formação de grupos carbonila e carboxila, confirmando a presença dos ácidos comuns aos 3 hidrolisados analisados.

Figura 20. Cromatograma obtido no CG-EM com amostra do hidrolisado gerado na condição experimental 9 (O₃ em meio neutro).



Embora a quantificação de tais compostos não tenha sido possível pela ausência de padrões cromatográficos, vale ressaltar que todos os compostos listados são biodisponíveis (elevada solubilidade) e biodegradáveis, em decorrência da presença de grupos oxidados na sua estrutura.

5.4 Produção de metano e hidrogênio a partir dos hidrolisados de bagaço de cana

Com o intuito de verificar qual dos hidrolisados gerados durante o pré-tratamento seria capaz de produzir maior quantidade de metano (CH₄) e hidrogênio (H₂), ensaios de potencial bioquímico de metano (PBM) e hidrogênio (PBH) foram feitos usando os hidrolisados gerados nos 11 experimentos planejados inicialmente. A Tabela 14 mostra os valores obtidos nos testes de produção de metano e hidrogênio, e percebe-se que a condição que mais produziu biogás foi o experimento 1. Como já foi dito, tal ensaio empregou condições de oxidação avançada e pequenos tempos de reação. Apesar disso, os valores de produção de metano encontrados são maiores que aqueles reportados por autores como Baêta et al. (2016) na produção de metano (1.56 Nm³/kg COD) em condições otimizadas usando auto-hidrólise como técnica de pré-tratamento.

A hipótese que suporta a eficiência da condição experimental 1 é fundamentada no acúmulo de compostos biodegradáveis como o ácido acético e ácido etano-dióico os quais são substratos para produção de metano e hidrogênio em consórcios microbianos anaeróbios. Além disso, é importante destacar que os hidrolisados com maiores teores de açúcar não produziram as maiores quantidades de biogás, mostrando que foram formados outros compostos inibitórios, como 2,5-furandiona identificada no CG-EM dos hidrolisados 10, 2 e 8, para os microrganismos nos pré-tratamentos oxidativos empregados.

A condição experimental 8 produziu um hidrolisado que não resultou em nenhuma produção de metano ou hidrogênio, o que pode ser explicado pela presença de compostos furânicos como a 2,5-furandiona, tetrafurano e pentafurano, identificados na análise por CG-EM. Por tanto, os microrganismos do consórcio anaeróbio sofrem inibição e não conseguem metabolizar e usar este tipo de agentes químicos que são subprodutos da degradação de lignina e hemiceluloses, gerados no pré-tratamento (BARAKAT et al., 2012).

A incubação dos hidrolisados 4, 9 e 11, produzidos em condições de pH neutro, mostraram maior capacidade para produzir metano do que hidrogênio, permitindo inferir que pode ter havido o acúmulo de um composto comum, gerado no ataque molecular do ozônio na biomassa, que agiu como inibidor para o consórcio produtor de hidrogênio. Uma hipótese alternativa para justificar este comportamento pode ser o consumo do hidrogênio por algum agente oxidante (oxigênio dissolvido) presente no hidrolisado.

A maior produção de H_2 foi obtida para as condições 1 e 5, é importante mencionar que elas tem em comum o mesmo tempo de reação (15 min) e RSL(g/mL), baseado nestas características, é possível que o uso de tempos curtos de reação e teores reduzidos de água sejam seletivos para a produção de compostos como ácido fórmico e acético em altas concentrações, de acordo com a magnitude dos picos do CG-EM, facilitando a produção de hidrogênio na etapa de acetogênese na digestão anaeróbia.

O modelo de Gompertz modificado foi usado para modelar a cinética de produção de metano e hidrogênio nos testes realizados, e mostrou-se satisfatório uma vez que o coeficiente de ajuste foi superior a 0,99. As Figuras 21 a 26 mostram que dependendo do tipo de hidrolisado os tempos de adaptação da biomassa (*lag time*) para produzir metano ou hidrogênio variaram significativamente e foram relativamente elevados, mesmo nas

condições em que se observaram as maiores produções de biogás. Como exemplo, no experimento 1 o tempo de adaptação para a produção de metano foi de 11 dias enquanto para a produção de hidrogênio foi de 8 dias. Tais resultados indicam que de fato os hidrolisados continham compostos que, por serem tóxicos ou elevaram o potencial redox do meio, afetaram adversamente a digestão anaeróbia.

Os parâmetros dos ajustes de Gompertz para as condições de maior produção de biogás são apresentados nas Tabelas 15 e 16 para metano e hidrogênio, respectivamente. Note-se que a produção de metano sempre é maior que a de hidrogênio, muito embora o consórcio microbiano demore mais tempo para se adaptar na produção de metano. Em outras palavras, a produção de metano é limitada cineticamente, o que é coerente com o fato de os micro-organismos metanogênicos apresentarem menores taxas de crescimento do que os produtores de hidrogênio, sendo mais susceptíveis a efeitos tóxicos e condições adversas. Como os micro-organismos produtores de hidrogênio são acidogênicos e tem maior taxa de crescimento, a cinética de consumo de substrato e produção de hidrogênio também serão maiores, pois são proporcionais à quantidade de micro-organismos presentes.

Tabela 14. Produção normalizada de metano e hidrogênio a partir dos hidrolisados gerados nos ensaios de oxidação do bagaço de cana.

| Experimento | $\text{N m}^3 \text{CH}_4 / \text{kg COD}$ | $\text{N m}^3 \text{H}_2 / \text{kg COD}$ |
|--------------------|--|---|
| 1 | 2,60 | 0,14 |
| 2 | 0,09 | 0,00 |
| 3 | 0,04 | 0,05 |
| 4 | 0,25 | 0,01 |
| 5 | 0,00 | 0,18 |
| 6 | 0,30 | 0,02 |
| 7 | 0,09 | 0,03 |
| 8 | 0,00 | 0,00 |
| 9 | 0,23 | 0,03 |
| 10 | 0,13 | 0,03 |
| 11 | 0,28 | 0,00 |

Figura 21. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de metano a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 1 (O₃ meio alcalino)

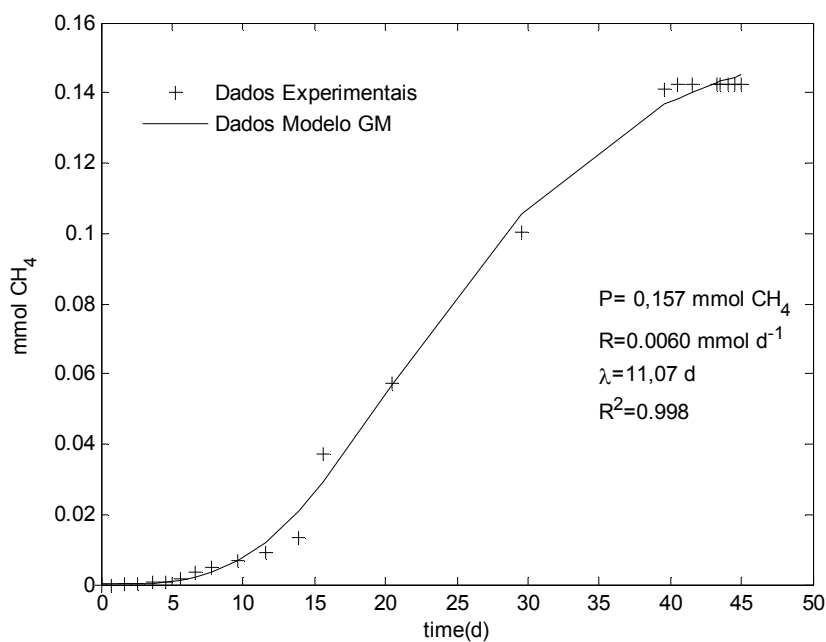


Figura 22. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de metano a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 7 (O₃ meio ácido)

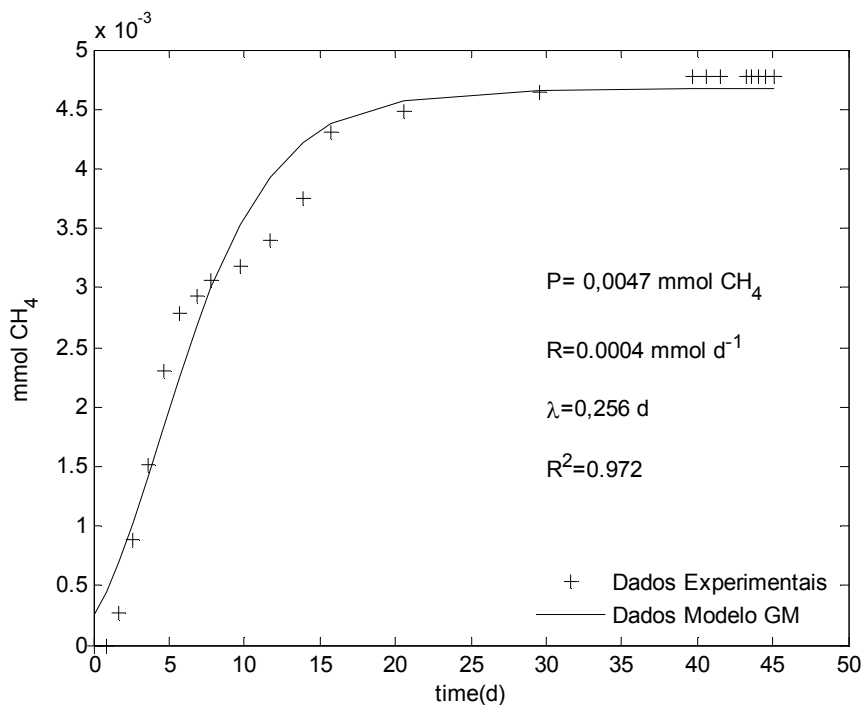


Figura 23. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de metano a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 11 (O₃ meio neutro)

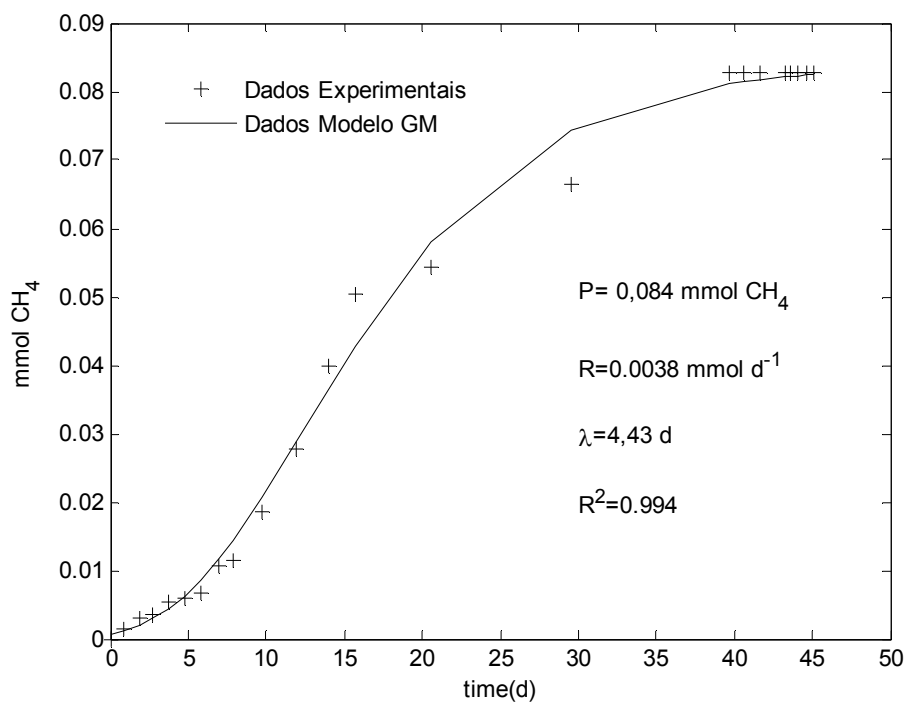


Tabela 15. Comparação dos parâmetros do modelo de Gompertz para a produção de metano apresentada nas Figuras 21, 22 e 23.

| Experimento | P ₀ (mmol) | R (mmoldia ⁻¹) | λ (dia) | R ² | Nm ³ CH ₄ kgCOD ⁻¹ |
|-------------|--------------------------|----------------------------|---------|----------------|---|
| 1 | 0,1570 | 0,0060 | 11,079 | 0,998 | 2,598 |
| 7 | 0,0047 | 0,0004 | 0,2584 | 0,972 | 0,109 |
| 11 | 0,0840 | 0,0038 | 4,4283 | 0,994 | 0,282 |

Figura 24. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de hidrogênio a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 1 (O₃ meio alcalino)

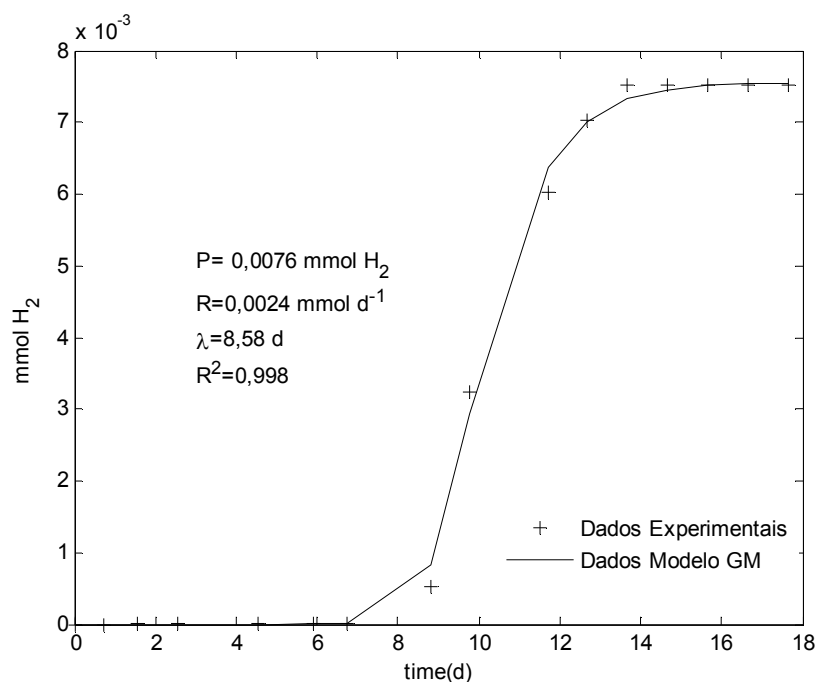


Figura 25. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de hidrogênio a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 5 (O₃ meio ácido).

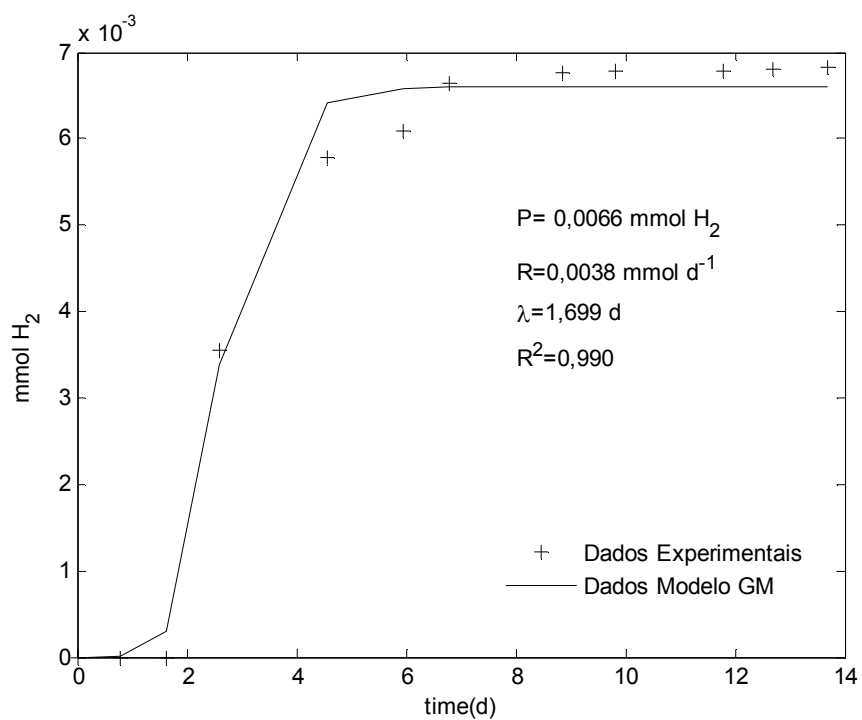


Figura 26. Modelo de Gompertz modificado para explicar a produção de hidrogênio a partir do hidrolisado gerado na condição experimental 9 (O₃ meio neutral).

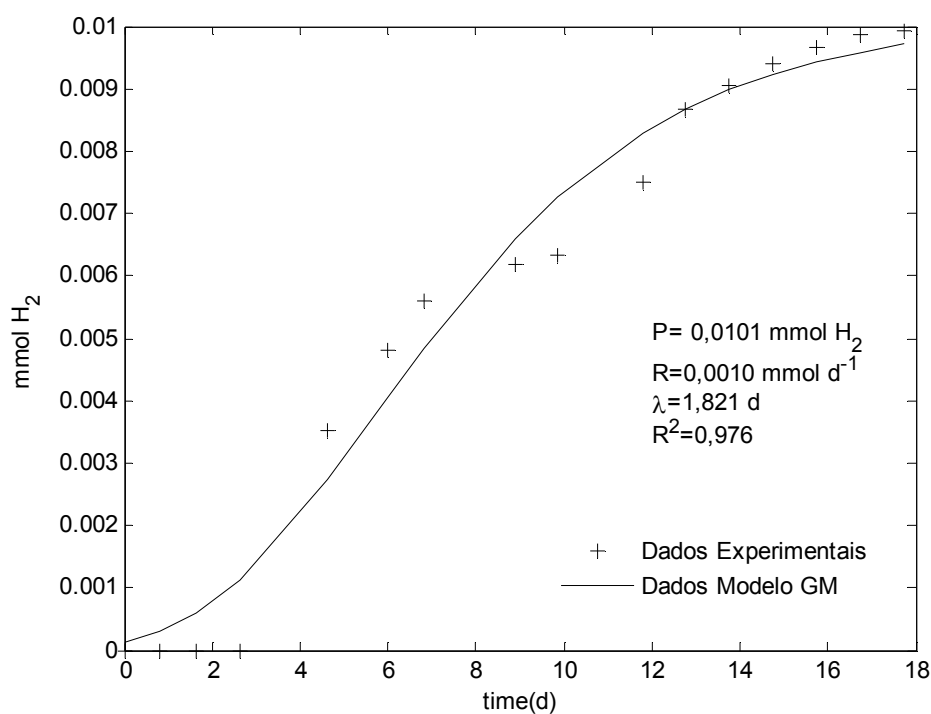


Tabela 16. Comparação dos parâmetros do modelo de Gompertz para a produção de hidrogênio apresentada nas Figuras 24, 25 e 26

| Experimento | P _O (mmol) | R (mmoldia ⁻¹) | λ (dia) | R ² | Nm ³ H ₂ kgCOD ⁻¹ |
|-------------|-----------------------|----------------------------|---------|----------------|--|
| 1 | 0,0076 | 0,0024 | 8,580 | 0,998 | 0,138 |
| 5 | 0,0066 | 0,0038 | 1,699 | 0,990 | 0,176 |
| 9 | 0.0101 | 0,0010 | 1,821 | 0,976 | 0,032 |

5.5 Modelagem integrada da produção de metano e hidrogênio e das condições de oxidação do bagaço de cana

Levando em conta os valores reportados nos testes de produção de metano e hidrogênio, foram aplicadas ferramentas estatísticas com o objetivo de estabelecer a influência das variáveis de pré-tratamento da biomassa na produção do biogás. Em primeiro lugar foi analisada, por meio do diagrama de Pareto e da ANOVA, quais variáveis tinham mais efeito e que fatores poderiam ser usados na construção do modelo dessa relação.

Os resultados para metano mostraram que todas as variáveis do processo têm efeitos significativos na produção, fato que é confirmado pelas análises dos teores dos compostos medidos e quantificados nos hidrolisados. A influência de cada efeito é mostrada no diagrama de Pareto (figura 27) e os termos que influenciam o desenvolvimento do modelo são confirmados usando a ANOVA (tabela 17) com referência aos itens que possuem *p*-valores menores que 0,05. Em outras palavras, um modelo significativo que relacione a produção de metano às variáveis do pré-tratamento deve levar em conta os termos principais, assim como as interações definidas na análise de variância.

Tabela 17. Análise de variância da produção normalizada de metano ($\text{Nm}^3\text{CH}_4/\text{kgCOD}$) em função das variáveis de pré-tratamento do bagaço de cana.

| Fonte | GL | SQ | MQ | F-Calc | <i>p</i> -valor |
|--|----|--------|---------|---------|-----------------|
| Regressão | 8 | 5,6123 | 0,70155 | 954,35 | 0,001 |
| Linear | 4 | 3,3262 | 0,83155 | 1131,20 | 0,001 |
| Carga O₃(mg/min) | 1 | 0,9297 | 0,92973 | 1264,76 | 0,001 |
| RSL (g/mL) | 1 | 0,5652 | 0,56528 | 768,98 | 0,001 |
| Tempo (min) | 1 | 0,7172 | 0,71728 | 975,76 | 0,001 |
| pH | 1 | 1,1139 | 1,11391 | 1515,31 | 0,001 |
| Interações 2a ordem | 3 | 2,2359 | 0,74533 | 1013,91 | 0,001 |
| Carga O₃ (mg/min)*RSL(g/mL) | 1 | 0,6609 | 0,66097 | 899,14 | 0,001 |
| Carga O₃ (mg/min)*Tempo(min) | 1 | 0,7095 | 0,70956 | 965,25 | 0,001 |
| Carga O₃ (mg/min)*pH | 1 | 0,8654 | 0,86546 | 1177,32 | 0,001 |
| Curvatura | 1 | 0,0501 | 0,05017 | 68,25 | 0,014 |
| Erro | 2 | 0,0014 | 0,00074 | | |
| Total | 10 | 5,6138 | | | |

O modelo calculado é mostrado na equação 19 e seu coeficiente de ajuste é 94,97% o que mostra que a produção de metano pode ser prevista com precisão suficiente pelas variáveis indicadas. Os resultados aqui mostrados são melhores quando comparados às correlações definidas para o pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana, conforme apresentado por Baêta et. al. (2016) (ajuste de 84 %) e Ferreira et al (2013) (ajuste de 57 %).

O gráfico da superfície definida pela equação do modelo é mostrado nas Figuras 28 e 29, confirmando que para pH superiores a 9, pequenos tempos de reação e carga de ozônio, é possível obter rendimentos de produção de metano significativos.

$$\begin{aligned} \text{Nm}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg COT} = & -4,652 + 0,2714 \text{ Carga O}_3 + 82,99 \text{ RSL} - 0,020930 \text{ Tempo} \\ & + 0,31400 \text{ pH} - 4,841 \text{ Carga O}_3 * \text{RSL} + 0,001194 \text{ Carga O}_3 * \text{Tempo} \\ & - 0,017311 \text{ Carga O}_3 * \text{pH} \end{aligned}$$

(19)

Figura 27. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados da produção de metano

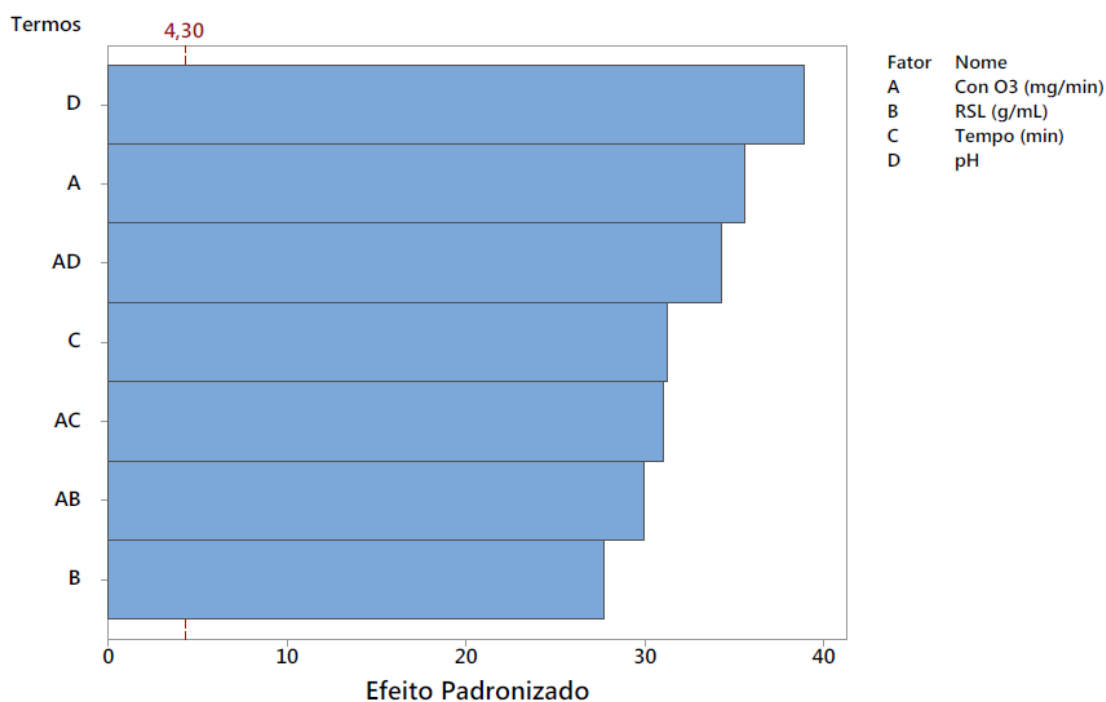


Figura 28. Gráfico de superfície da produção de metano em função da carga de O_3 e pH mantendo fixo o tempo em 67,5 min e RSL em $0,0625 \text{ gmL}^{-1}$

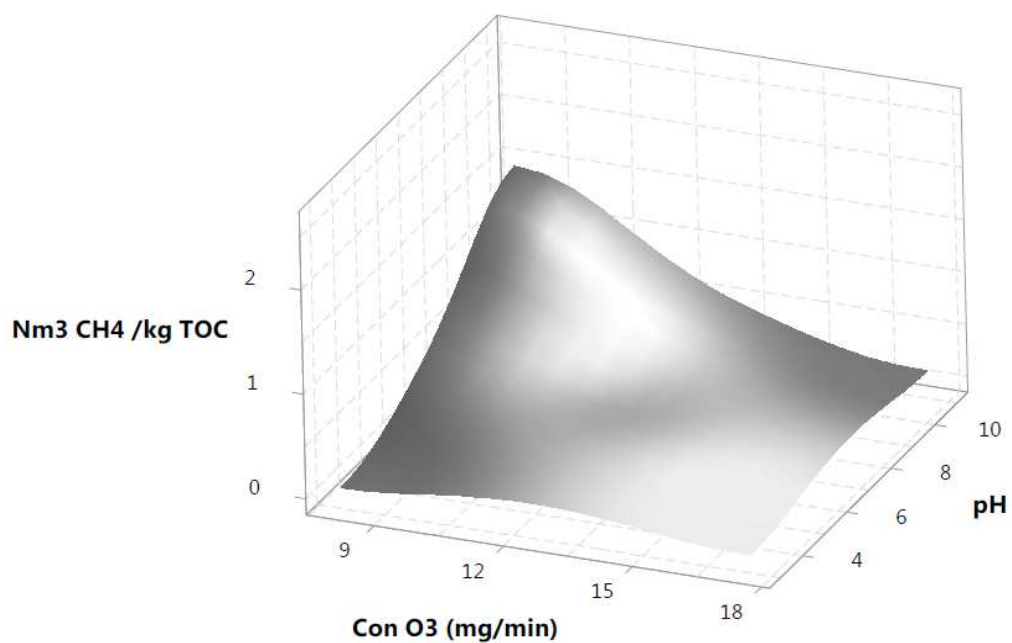
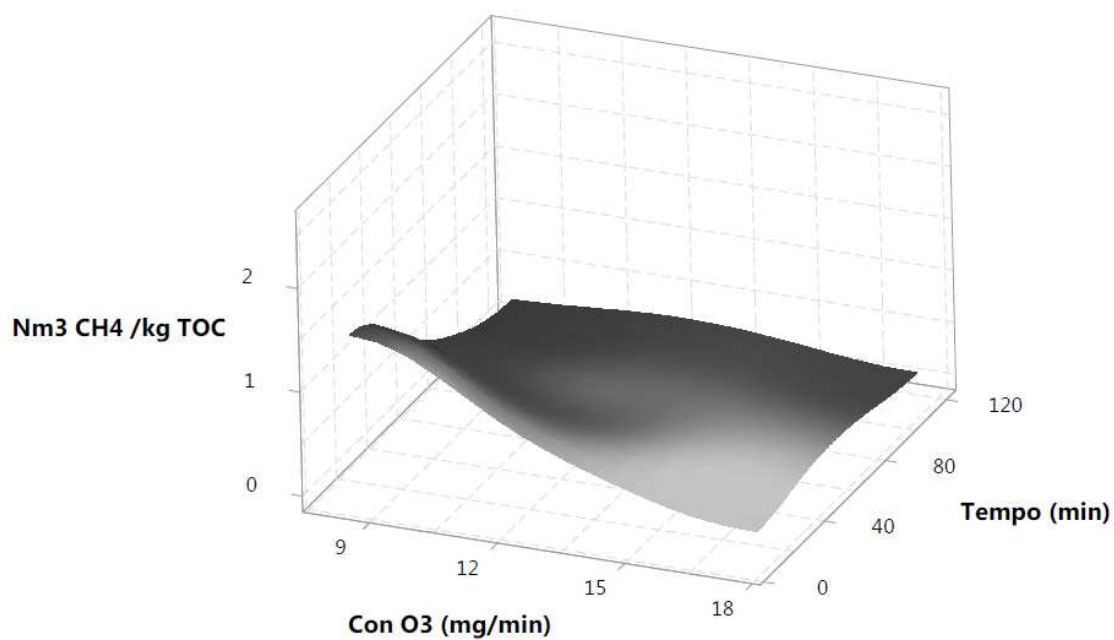


Figura 29. Gráfico de superfície da produção de metano em função da carga de O_3 e tempo de oxidação fixando o pH em 7 e a RSL em $0,0625 \text{ gmL}^{-1}$



Os resultados para definir a relação entre a produção de hidrogênio e as variáveis do processo de pré-tratamento do bagaço de cana são apresentados na Tabela 14. Observa-se, de acordo com o diagrama de Pareto (figura 30) e a análise de variância, que o efeito mais importante é dado pela interação entre o pH e a carga de ozônio, seguido do tempo, o qual é confirmado pelos p-valores na ANOVA (tabela 18). Este comportamento indica que há valores ótimos de carga de ozônio e pH que garantem a máxima produção de H₂ na posterior digestão anaeróbia dos hidrolisados de bagaço de cana.

Tabela 18. Análise de variância para produção normalizada de hidrogênio (Nm³H₂/kg COT) a partir dos hidrolisados gerados no tratamento oxidativo do bagaço de cana.

| Fonte | GL | SQ | MQ | F-Calc | p-valor |
|--|----|----------|----------|--------|---------|
| Regressão | 8 | 0,00883 | 0,001104 | 19,62 | 0,049 |
| Linear | 4 | 0,00341 | 0,000854 | 15,18 | 0,063 |
| Carga O₃(mg/min) | 1 | 0,000304 | 0,000304 | 5,40 | 0,146 |
| RSL (g/mL) | 1 | 0,000196 | 0,000196 | 3,49 | 0,203 |
| Tempo (min) | 1 | 0,002577 | 0,002577 | 45,80 | 0,021 |
| pH | 1 | 0,000340 | 0,000340 | 6,04 | 0,133 |
| Interações 2a ordem | 3 | 0,003693 | 0,001231 | 21,87 | 0,044 |
| Carga O₃ (mg/min)*RSL(g/mL) | 1 | 0,000013 | 0,000013 | 0,23 | 0,681 |
| Carga O₃ (mg/min)*Tempo(min) | 1 | 0,000021 | 0,000021 | 0,37 | 0,603 |
| Carga O₃ (mg/min)*pH | 1 | 0,003659 | 0,003659 | 65,02 | 0,015 |
| Curvatura | 1 | 0,001722 | 0,001722 | 30,60 | 0,031 |
| Erro | 2 | 0,000113 | 0,000056 | | |
| Total | 10 | 0,008944 | | | |

Baseados na análise de variância e nos valores experimentais coletados foi possível construir um modelo definido pela equação 20, com um coeficiente ajuste de 98,74 %. De acordo com os gráficos de superfície (figuras 31 e 32), pode-se afirmar que doses elevadas de ozônio e pH inferiores a 5 permitem a obtenção de hidrolisados que levam à maior produção de hidrogênio nos ensaios de digestão anaeróbia.

$$\text{Nm}^3 \text{H}_2 / \text{kg COT} = -0,0843 + 0,01007 \text{ Carga O}_3 - 0,000425 \text{ Tempo} \\ + 0,01272 \text{ pH} - + 0,000006 \text{ Carga O}_3 * \text{Tempo} \\ - 0,001126 \text{ Carga O}_3 * \text{pH}$$

(20)

Figura 30. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados da produção de hidrogênio

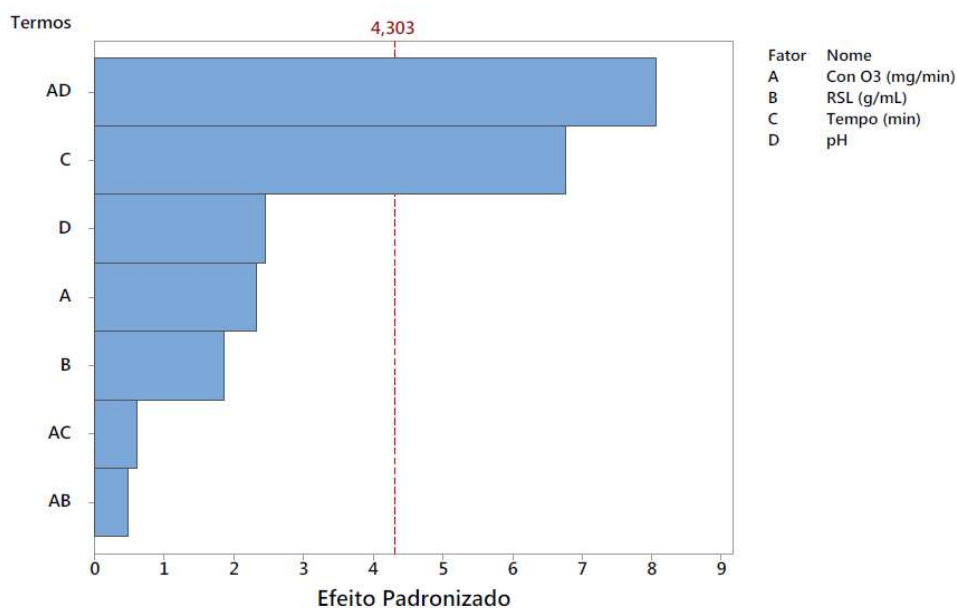


Figura 31. Gráfico de superfície da produção de H_2 em função da carga de ozônio e pH para um tempo fixo de 67,5 min e RSL de $0,0625 \text{ g mL}^{-1}$

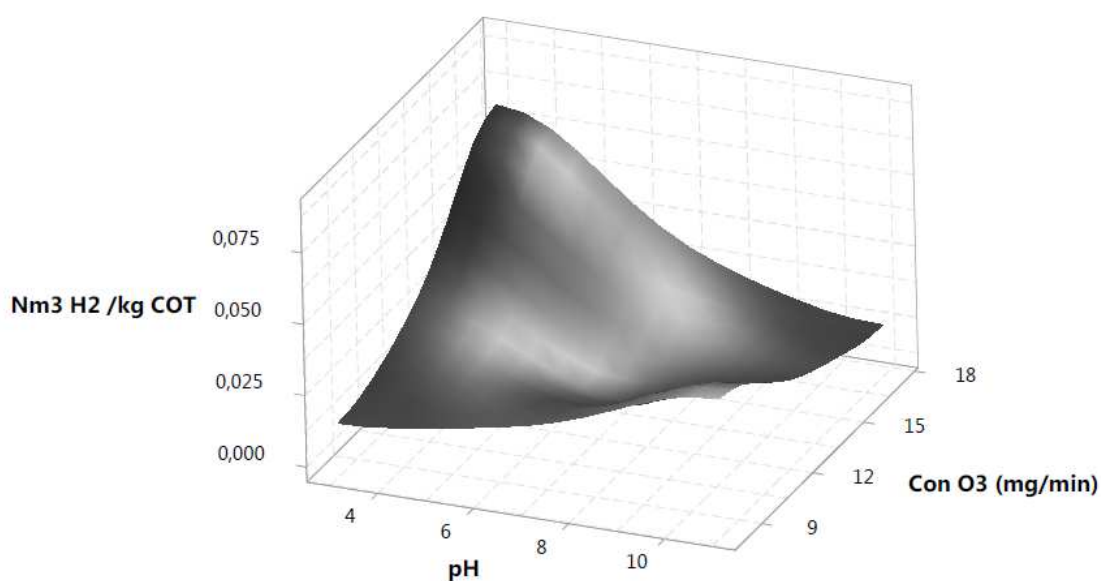
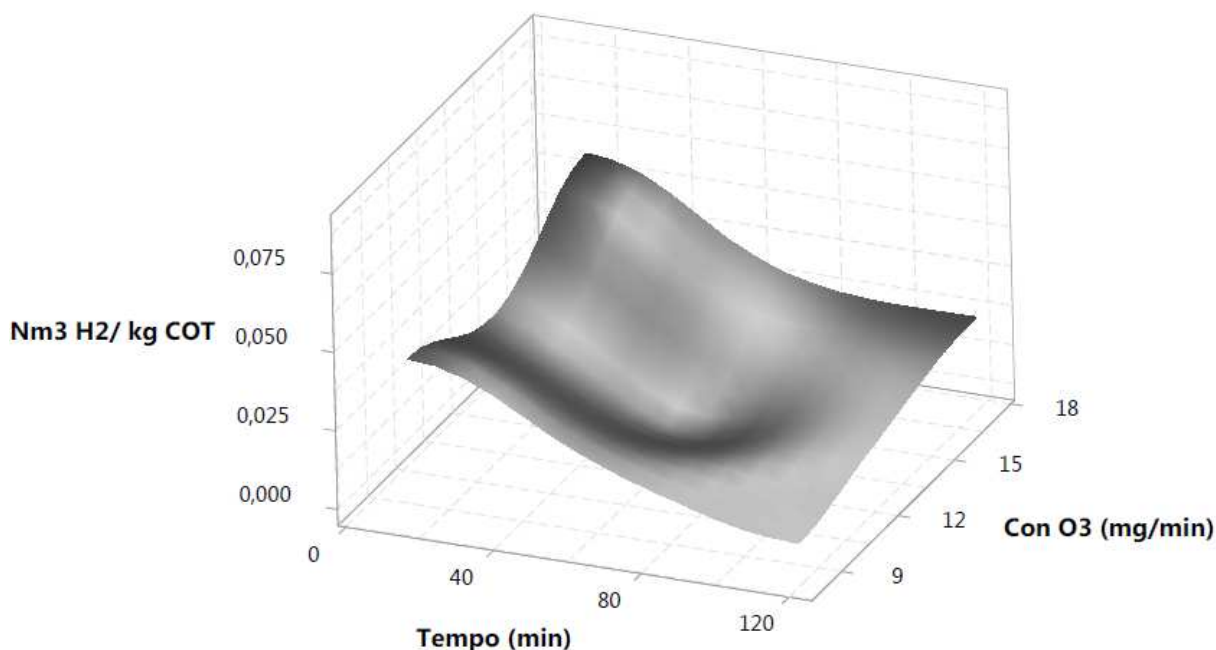


Figura 32. Gráfico de superfície da produção de H₂ em função da carga de ozônio e tempo de oxidação em quanto o pH é fixado em 7 e RSL em 0,0625 gmL⁻¹



Por outro lado, é importante destacar que a produção de metano e hidrogênio, via digestão anaeróbia, não depende exclusivamente das condições dos pré-tratamentos da biomassa, pois os sistemas biológicos para obter biogás apresentam sensibilidade ante diferentes variáveis como são o tipo de inoculo e as condições de incubação. Em consequência, apesar de não poder usar os valores absolutos de produção de CH₄ ou H₂ dados pelos modelos ajustados (output), eles pelo menos indicam uma tendência e apontam as melhores condições de pré-tratamento para a produção de metano ou hidrogênio.

Finalmente, a condição que mostra melhor performance na produção tanto de metano como de hidrogênio foi a 1, de acordo com isto o vetor energético que teria mais viabilidade técnica é a produção de metano pois foi muito maior. No entanto, para definir isto precisa-se de uma análise econômica e um balanço energético para determinar as melhores condições no sistema.

5.6 Análise energética do processo

Para avaliar as vantagens e desvantagens do pré-tratamento investigado nesta pesquisa, foi feito um balanço energético para determinar quanta energia é gasta e

produzida. Vale ressaltar que após o pré-tratamento a fração sólida possui menos lignina e hemiceluloses, o que é benéfico para os processos posteriores de hidrólise enzimática e fermentação do bagaço com vistas à produção de etanol 2G. Sendo assim, foram estimadas a energia produzida na forma de metano e hidrogênio pela digestão anaeróbia do hidrolisado e na forma de etanol 2G a partir do bagaço pré-tratado. Na análise do balanço energético foram feitas as seguintes considerações:

- a) A potência máxima de consumo do equipamento de ozonização é de 0,8 kW(LIFE, 2010);
- b) Os cálculos foram desenvolvidos usando como base de cálculo 1 kg de bagaço de cana em base seca;
- c) Usando bagaço de cana é possível produzir entre 3700 litros de etanol por hectare (SOCCOL et al., 2010);
- d) Um hectare pode produzir 74,2 toneladas de cana de açúcar (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), 2015a);
- e) Cada tonelada de cana processada produz aproximadamente 270 kg de bagaço de cana com 50 % de umidade (SOCCOL et al., 2010);
- f) Hipoteticamente é possível usar 50 % do bagaço de cana produzido por tonelada de cana processada na queima para obter vapor e energia;
- g) A densidade do etanol e seu poder calorífico inferior são 0,795 kg/L e 27,430 MJ/kg respectivamente (POLING; PRAUSNITZ; O APOS CONNELL, 2007);
- h) Os valores de poder calorífico do metano e do hidrogênio em condições normais são 34,45 MJ/kg e 121 MJ/kg, respectivamente (POLING; PRAUSNITZ; O APOS CONNELL, 2007);
- i) Não são computados gastos energéticos relacionados à produção de etanol (destilação e separação), pois eles já são cobertos pelo processo produtivo de etanol 1G (DIAS et al., 2013);

A Tabela 19 apresenta os resultados do balanço energético para todos os experimentos realizados.

Tabela 19. Representação do balanço energético para cada condição experimental

| Exp | kg O ₃ Alimentado /kg BCA | % Remoção de Lignina | % Remoção de Hemiceluloses | Energia entrada O ₃ MJ/kg BCA | Energia Saída Pré- tratamento DA MJ/kg BCA | Energia saída etanol produzido do BCA pré- tratado | Energia líquida MJ/kg BCA |
|-----------|--|----------------------------|----------------------------------|--|--|--|------------------------------------|
| 1 | 0,01198 | 45,19 | 48,27 | 7,192 | 0,4531 | 16,79 | 10,05 |
| 2 | 0,20962 | 22,70 | 40,59 | 57,49 | 0,1478 | 16,79 | -40,55 |
| 3 | 0,21000 | 20,95 | 37,23 | 57,60 | 0,0887 | 16,79 | -40,71 |
| 4 | 0,08603 | 29,64 | 41,31 | 32,39 | 0,1310 | 16,79 | -15,46 |
| 5 | 0,02621 | 21,87 | 43,96 | 7,190 | 0,0286 | 16,79 | 9,63 |
| 6 | 0,09602 | 21,29 | 38,49 | 57,61 | 0,5623 | 16,79 | -40,25 |
| 7 | 0,01196 | 15,716 | 24,53 | 7,177 | 0,0733 | 16,79 | 9,68 |
| 8 | 0,09595 | 32,40 | 31,45 | 57,57 | 0,0000 | 16,79 | -40,77 |
| 9 | 0,08600 | 27,71 | 37,99 | 32,38 | 0,8423 | 16,79 | -14,75 |
| 10 | 0,0262 | 16,55 | 30,81 | 7,203 | 0,2186 | 16,79 | 9,80 |
| 11 | 0,08592 | 32,87 | 44,54 | 32,34 | 0,5916 | 16,79 | -14,96 |

Os dados apresentados na Tabela 19 mostram que a energia gasta na produção de ozônio é significativa e, portanto, esta é uma variável que deve ser otimizada dependendo das eficiências de remoção de lignina e hemiceluloses pretendidas. A Tabela 19 mostra ainda que balanços energéticos positivos foram observados para os experimentos 1 e 10, em que o tempo de contato foi pequeno (15 min) e o pH de trabalho elevado (11), sendo assim caracterizados por oxidação radicalar (processos oxidativos avançados). Por outro lado, Os experimentos 5 e 7, que também empregaram tempo de oxidação de 15 minutos, deram balanço energético positivo, confirmando que esta variável é crítica e deve ser mantida no menor valor possível, tendo em vista que todos os ensaios que usaram tempo de oxidação superior a 15 min resultaram em balanço energético desfavorável

A Energia produzida pelo CH₄ e H₂ nos processos de DA é baixa, mas vale ressaltar que no presente estudo ela foi produzida usando apenas a fração líquida obtido no pré-

tratamento. Tais resultados mostram que é necessário utilizar a fração sólida rica em celulose gerada nas etapas de pré-tratamento para produzir etanol 2G, compensando assim o gasto do pré-tratamento do bagaço de cana. Analisando a questão por outro prisma, vale ressaltar que o pré-tratamento (solubilização de hemicelulose e lignina) é condição *sine qua non* para a produção de etanol 2G, e que os hidrolisados (ricos em C₅ e lignina) produzidos são considerados efluentes do processo. Dessa forma, a digestão anaeróbia desses hidrolisados, além de mitigar os impactos ambientais do seu lançamento no ambiente, leva à geração de metano e hidrogênio que contribuem para que o balanço energético da planta seja positivo.

Do ponto de vista energético alguns autores, que empregaram ozônio no pré-tratamento de bagaço de cana (Travaini *et al.* (2013)) ou palha de trigo (Schultz *et al.* (2013)), reportam consumos de ozônio de 0,2 e 0,8 kg O₃/kg biomassa seca respectivamente, para alcançar remoções de lignina na faixa de 50 a 66,8 % usando tempos de reação de no mínimo 120 min, o que implica em elevado gasto energético. Sendo assim, quando se compara as remoções de lignina e hemicelulose e o gasto energético dos trabalhos mencionados com aqueles obtidos no experimento 1 desta dissertação, é possível verificar melhorias significativas na produção e aproveitamento energético do bagaço de cana.

6. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste trabalho mostram que usando processos oxidativos avançados (O_3 dissolvido em solução de pH elevado) como técnica de pré-tratamento de bagaço de cana de açúcar, obtém-se elevados graus de remoção de hemiceluloses (48,28 %) e lignina (45,19 %), o que permitiu obter hidrolisados contendo elevadas concentrações de compostos fermentescíveis para a posterior produção de biogás via digestão anaeróbia, além de fração sólida rica em celulose para posterior hidrólise enzimática e produção de etanol 2G.

Os ensaios de potencial de produção de metano e hidrogênio feitos em batelada com hidrolisados produzidos nas diferentes condições de oxidação do bagaço de cana com ozônio mostraram que nem sempre os hidrolisados com maiores teores de açúcares e carbono orgânico total resultam nas maiores quantidades de biogás. Isso indica que o pré-tratamento leva à produção de compostos tóxicos/recalcitrantes (derivados de furano, frações de lignina) ou que criam condições adversas (ex. elevação do potencial redox) para a digestão anaeróbia, diminuindo assim a cinética e o potencial de produção de hidrogênio e, principalmente, metano.

A caracterização dos hidrolisados por cromatografia de fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) permitiu elucidar, ainda que parcialmente, os mecanismos de reação entre o bagaço de cana e o ozônio dissolvido. Foram identificados 18 compostos diferentes derivados da reação do ozônio com lignina e carboidratos, a maioria formada em condições nas quais a oxidação molecular (pH neutro) foi favorecida, sendo que alguns deles (ex. derivados de furanos) parecem ter dificultado os processos de adaptação da biomassa microbiana e, conseqüentemente, a produção de biogás.

A análise energética das diferentes condições de pré-tratamento investigadas neste trabalho mostraram um gasto significativamente alto relacionado à produção de ozônio, principalmente nas condições em que doses de ozônio ou tempos de contato elevados são utilizados. Mesmo nas condições em que se empregou as menores cargas de ozônio (8 mg/min) e tempos de contato (15 min), o gasto energético não foi compensado pela produção de biogás oriunda dos hidrolisados obtidos. Contudo, ao se considerar o uso da fração sólida rica em celulose gerada nas etapas de pré-tratamento para a produção de etanol 2G, o investimento energético no pré-tratamento oxidativo é compensado,

garantindo assim a viabilidade do processo integrado de produção de combustíveis de 1ª e 2ª geração.

7. RECOMENDAÇÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

Realizar o estudo a cinético da etapa de pré-tratamento com ozônio gasoso em meio alcalino, para o calculo de reator otimizado.(máximas remoções de ligninas e hemiceluloses).

Definir as concentrações dos compostos identificados por CG-EM no processo de pré-tratamento por oxidação avançada

Otimizar a configuração do reator para oxidação avançada de biomassa com objetivo de minimizar as perdas de agente oxidante e maximizar o rendimento das reações acontecidas.

Avaliar a toxicidade dos hidrolisados gerados contendo a maior concentração de COT com vias a melhorar a produção de CH_4 e H_2 .

Realizar estudos de desejabilidade para aumentar/otimizar a produção de CH_4 e H_2 .

Realizar as hidrolise enzimáticas das frações solida visando comprovar a eficácia do pré-tratamento para produção de etanol 2G.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVIRA, P. et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource technology**, v. 101, n. 13, p. 4851–61, jul. 2010.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. [s.l.] American Public Health Association, 2005.
- ASSALIN, M. R.; DÚRAN, N. Novas tendências para aplicação de ozônio no tratamento de resíduos : ozonização catalítica. **Revista Analytica**, v. 26, p. 76–86, 2007.
- BADER, H. Determination of Ozone In Water By The Indigo Method: A Submitted Standard Method. **Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association science & Engineering**, v. 4, n. 4, p. 169–176, 1982.
- BADER, H.; HOIGNÉ, J.; HOIGNI, J. Determination of ozone in water by the indigo method. **Water Research**, v. 15, n. 4, p. 449–456, jan. 1981.
- BAËTA, B. E. L. et al. Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolyzates in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 137–146, 2016.
- BARAKAT, A. et al. Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 90–99, 2012.
- BARTON, F. E. Chemistry of Lignocellulose : Methods of Analysis and Consequences of Structure. **Animal Feed Science and Technology**, v. 21, p. 279–286, 1988.
- BENSAH, E. C.; MENSAH, M. Chemical Pretreatment Methods for the Production of Cellulosic Ethanol: Technologies and Innovations. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2013, p. 1–21, 2013.
- BINDER, J. B.; RAINES, R. T. Simple Chemical Transformation of Lignocellulosic Biomass into Furans for Fuels and Chemicals. **Journal of american chemical society**, v. 131, n. 5, p. 1979–1985, 2009.
- BOND, J. Q.; ALONSO, D. M.; DUMESIC, J. A. Catalytic Strategies for Converting Lignocellulosic Carbohydrates to Fuels and Chemicals. In: E.WYMAN, C. (Ed.). . **Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals**. First edit ed. [s.l.] John Wiley& Sons, Ltd, 2014. p. 62–102.
- BRIENZO, M.; SIQUEIRA, A. F.; MILAGRES, A. M. F. Search for optimum conditions of sugarcane bagasse hemicellulose extraction. **Biochemical Engineering Journal**, v. 46, n. 2, p. 199–204, out. 2009.
- BUNDHOO, Z. M. A.; MUDHOO, A.; MOHEE, R. Promising Unconventional Pretreatments for Lignocellulosic Biomass. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 20, p. 2140–2211, jan. 2013.
- CANDAL, R.; BILMES, S.; BLESA, M. Semiconductores con actividad fotocatalítica. In: BLESA, M. A.; VIII-G, R. C. (Eds.). . **Eliminación de Contaminantes por Fotocatalisis**

Heterogenea. Buenos Aires, Argentina: PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA EL DESARROLLO CYTED, 2001. p. 316.

CANILHA, L. et al. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: an overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2012, p. 989572, jan. 2012.

CAREY, F. A. Carbohydrates. In: MCGRAW HILL (Ed.). **ORGANIC CHEMISTRY**. Fourth ed. [s.l.] McGraw Hill Companies, 2001. p. 1217.

CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; GÍRIO, F. M. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 67, n. November, p. 849–864, 2008.

CHANDRA, R. et al. Improving biodegradability and biogas production of wheat straw substrates using sodium hydroxide and hydrothermal pretreatments. **Energy**, v. 43, n. 1, p. 273–282, 2012.

CHATURVEDI, V.; VERMA, P. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. **3 Biotech**, v. 3, n. 5, p. 415–431, 5 set. 2013.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Reatores Anaerobios-Volumen 5**. Primeira ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 1997.

COELHO, S. T. et al. Geração de energia elétrica a partir do biogás proveniente do tratamento de esgoto. **V Congresso Brasileiro De Planejamento Energético**, p. 1–12, 2006.

COLMENARES, J. C. et al. Nanostructured Photocatalysts and Their Applications in the Photocatalytic Transformation of Lignocellulosic Biomass: An Overview. **Materials**, v. 2, n. 4, p. 2228–2258, 7 dez. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira Cana-de-Açúcar. Primeiro Levantamento 2015/2016**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 3 maio. 2015a.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira Café. Primeiro Levantamento 2015/2016**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 5 maio. 2015b.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira Grãos. Sétimo Levantamento 2014/2015**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 5 maio. 2015c.

DA SILVA, A. S. et al. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. **Bioresource technology**, v. 101, n. 19, p. 7402–7409, out. 2010.

DIAS, M. O. S. et al. Evaluation of process configurations for second generation integrated with first generation bioethanol production from sugarcane. **Fuel Processing Technology**, v. 109, p. 84–89, 2013.

DOMÈNECH, X.; JARDIM, W. F.; LITTER, M. I. Procesos avanzados de oxidación para

la eliminación de contaminantes. In: **Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea**. [s.l.: s.n.]. p. 3–26.

EBRINGEROVÁ, A.; HEINZE, T. Xylan and xylan derivatives – biopolymers with valuable properties, 1. Naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 21, n. 9, p. 542–556, 2000.

ENERGIA, A. P. DE LA. **Biorrefinerías: Una oportunidad de negocio para las zonas rurales y las industrias**. [s.l.: s.n.].

FERREIRA, L. C. et al. Influence of thermal pretreatment on the biochemical methane potential of wheat straw. **Bioresource technology**, v. 143, p. 251–7, set. 2013.

GARCÍA-CUBERO, M. A. T. et al. Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. **Bioresource technology**, v. 100, n. 4, p. 1608–13, fev. 2009.

GÍRIO, F. M. et al. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. **Bioresource technology**, v. 101, n. 13, p. 4775–800, jul. 2010.

GLAZE, W.; KANG, J. W.; CHAPIN, D. The Chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation. **Ozone science & Engineering**, v. 9, p. 335–352, 1987.

GORDON, G.; BUBNIS, B. Residual Ozone Measurement: Indigo Sensitivity Coefficient Adjustment. **Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association of the International Ozone Association**, v. 24, n. 1, p. 17–28, 2002.

GURGEL, L. V. A. **Hidrólise Ácida de Bagaço de Cana-de-Açúcar: Estudo Cinético de Sacarificação de Celulose para Produção de Etanol**. [s.l.] USP, 2010.

HART, E. J.; SEHESTED, K.; HOLCMAN, J. Molar Absorptivities of Ultraviolet and Visible Bands of Ozone in Aqueous Solutions. **Analytical Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 46–49, 1983.

HEISKE, S. et al. Improving Anaerobic Digestion of Wheat Straw by Plasma-Assisted Pretreatment. **Journal of Atomic and Molecular Physics**, v. 2013, p. 1–7, 2013.

JACKSON DE MORAES ROCHA, G. et al. Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 1, p. 663–670, jan. 2011.

JÖNSSON, L. J.; ALRIKSSON, B.; NILVEBRANT, N.-O. Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. **Biotechnology for biofuels**, v. 6, n. 1, p. 16, jan. 2013.

JUNG, K.-W. et al. Two-stage UASB reactor converting coffee drink manufacturing wastewater to hydrogen and methane. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 9, p. 7473–7481, maio 2012.

KAFLE, G. K.; KIM, S. H. Anaerobic treatment of apple waste with swine manure for biogas production: Batch and continuous operation. **Applied Energy**, v. 103, p. 61–72, 2013.

KANSAL, S. K.; SINGH, M.; SUD, D. Studies on TiO₂/ZnO photocatalysed degradation

- of lignin. **Journal of hazardous materials**, v. 153, n. 1-2, p. 412–7, 1 maio 2008.
- KOBAYAKAWA, K. et al. Photodecomposition of kraft lignin catalyzed by titanium dioxide. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 62, n. 11, p. 3433–3436, 1989.
- KOBAYASHI, M. et al. Effect of ozone treatment of wood on its liquefaction. **Journal of Wood Science**, v. 51, n. 4, p. 348–356, 2005.
- KUMAR, J.; REETU, S.; TEWARI, L. Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. **3 Biotech**, p. 1–17, 2014.
- LAZARO, C. Z. **Influência da concentração de substrato e da temperatura na produção de hidrogênio a partir de vinhaça de cana-de-açúcar**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2012.
- LAZARO, C. Z. et al. Hydrogen production and consumption of organic acids by a phototrophic microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 16, p. 11691–11700, ago. 2012.
- LI, C. et al. Ozonolysis pretreatment of maize stover: The interactive effect of sample particle size and moisture on ozonolysis process. **Bioresource Technology**, v. 183, p. 240–247, 2015.
- LI, Z. et al. Rapid and effective oxidative pretreatment of woody biomass at mild reaction conditions and low oxidant loadings. **Biotechnology for biofuels**, v. 6, n. 1, p. 119, jan. 2013.
- LIFE, O. &. **Dados Técnicos Gerador de Ozônio Modelo O&L3.0 RM**. São Jose dos campos, SP, Brazil: [s.n.].
- LUCAS, M. et al. Evidence for room temperature delignification of wood using hydrogen peroxide and manganese acetate as a catalyst. **Bioresource technology**, v. 119, p. 174–80, set. 2012.
- MARABEZI, K. **Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de Lignina e Holocelulose em amostras de Bagaço e Palha de Cana-de- Açúcar**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2009.
- MBACHU, R. A. D.; MANLEY, R. S. J. Degradation of Lignin by Ozone . I . The Kinetics of Lignin Degradation of Ozone. **Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition**, v. 19, p. 2053–2063, 1981a.
- MBACHU, R. A. D.; MANLEY, R. S. J. Degradation of Lignin by Ozone II . Molecular Weights and Molecular Weight Distributions of the Alkali-Soluble Degradation Products. **Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition**, v. 19, p. 2065–2078, 1981b.
- MICHALSKA, K. et al. Influence of pretreatment with Fenton's reagent on biogas production and methane yield from lignocellulosic biomass. **Bioresource technology**, v. 119, p. 72–8, set. 2012.
- MORONE, A.; PANDEY, R. A. Lignocellulosic biobutanol production: Gridlocks and potential remedies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 37, p. 21–35, set. 2014.

MUSSATTO, S. I. **Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefiner**. First ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2016.

NASCIMBENI, F. A. **Avaliação da produção biológica de hidrogênio em reator em batelada sob condição termófila**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2013.

NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton 's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal of hazardous materials**, v. 98, p. 33–50, 2003.

NINOMIYA, K. et al. Sonocatalytic-Fenton reaction for enhanced OH radical generation and its application to lignin degradation. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1092–7, jul. 2013.

OGATA, B. H. **Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2013.

OMC | **Estadísticas del comercio internacional, 2010**. Disponível em: <https://www.wto.org/spanish/res_s/statis_s/its2010_s/its10_toc_s.htm>. Acesso em: 5 maio. 2015.

ORLANDO, U. . S. et al. A new procedure to produce lignocellulosic anion exchangers from agricultural waste materials. **Bioresource Technology**, v. 83, n. 3, p. 195–198, jul. 2002.

PENG, F. et al. Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 4, p. 879–903, 2012.

POLING, B. E.; PRAUSNITZ, J. M.; O APOS CONNELL, J. P. Properties of Gases and Liquids. **Experimental Thermal and Fluid Science**, v. 1, n. 4, p. 1–803, 2007.

PURI, V. P. Ozone pretreatment to increase digestibility of lignocellulose. **Biotechnology Letters**, v. 5, n. 11, p. 773–776, 1983.

QUESADA, J.; RUBIO, M.; GÓMEZ, D. Ozonation of Lignin Rich Solid Fractions from Corn Stalks. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 19, n. 1-2, p. 115–137, fev. 1999.

QUIROZ, M. A.; BANDALA, E. R.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. Advanced Oxidation Processes (AOPs) for Removal of Pesticides from Aqueous Media. In: STOYTICHEVA, M. (Ed.). . **Pesticides - Formulations, Effects, Fate**. first ed. [s.l.] InTech, 2011. p. 822.

RABELO, S. C. et al. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource technology**, v. 102, n. 17, p. 7887–95, set. 2011.

RAGNAR, M. et al. A New Mechanism in the Ozone Reaction with Lignin Like Structures. **Holzforschung**, v. 53, n. 4, p. 423–428, 1999.

RAGNAR, M.; ERIKSSON, T.; REITBERGER, T. Radical Formation in Ozone Reactions with Lignin and Carbohydrate Model Compounds. **Holzforschung**, v. 53, n. 3, p. 292–298, 1999.

RECKHOW, D. A. **Standard Operating Procedures: Laboratory Ozonation**. Amherst, Massachusetts, USA: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.ecs.umass.edu/eve/research/sop/ozonation.pdf>>.

REN, N. et al. Bioconversion of lignocellulosic biomass to hydrogen: Potential and challenges. **Biotechnology advances**, v. 27, n. 6, p. 1051–60, 2009.

RIBEIRO, M. A. **PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA UTILIZANDO O PROCESSO DE OXIDAÇÃO AVANÇADA POR FEIXE DE ELÉTRONS PARA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA CELULOSE**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2013.

RUBIN, E. M. Genomics of cellulosic biofuels. **Nature**, v. 454, n. 7206, p. 841–845, 14 ago. 2008.

RUGGERI, B.; TOMMASI, T. Efficiency and efficacy of pre-treatment and bioreaction for bio-H₂ energy production from organic waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 8, p. 6491–6502, abr. 2012.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 279–91, maio 2003.

SÁNCHEZ, O. J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource technology**, v. 99, n. 13, p. 5270–95, set. 2008.

SANDERS, J. P. M. et al. Process intensification in the future production of base chemicals from biomass. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 51, p. 117–136, jan. 2012.

SANSON, A. L. **Estudo da Extração e Desenvolvimento de Metodologia para Determinação Simultânea de Microcontaminantes Orgânicos em Água Superficial por GC-MS e Métodos Quimiométricos**. [s.l.] Universidade Federal de Ouro Preto, 2012.

SAYAR, N. A. et al. Schizosaccharomyces pombe and its Ni(II)-insensitive mutant GA1 in Ni(II) uptake from aqueous solutions: a biodynamic model. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 15, p. 6859–6869, 2014.

SJÖSTRÖM, E. **Wood Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 1993.

SOCCOL, C. R. et al. Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. **Bioresource technology**, v. 101, n. 13, p. 4820–5, jul. 2010.

SOUZA-CORRÊA, J. A et al. Decomposition of lignin from sugar cane bagasse during ozonation process monitored by optical and mass spectrometries. **The journal of physical chemistry. B**, v. 117, n. 11, p. 3110–9, 21 mar. 2013.

STREFFER, F. Lignocellulose to Biogas and other Products. **JSM Biotechnology & Biomedical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2014.

SUMATHI, S.; HUNG, Y.-T. Treatment of Pulp and Paper Mill Wastes. In: WANG, L. K. et al. (Eds.). **Handbook of industrial and hazardous wastes treatment**. Second ed. New York, USA: CRC Press, 2004. p. 1368.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource technology**, v. 83, n. 1, p. 1–11, maio 2002.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. **Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review**. [s.l.: s.n.]. v. 9

TEXEIRA, C. . . DE A.; FIGUEIREDO, W. **Caderno Temático Volume 03 Processos**

Oxidativos Avançados Conceitos Teóricos: Caderno Temático. Campinas, Brasil: [s.n.]. Disponível em: <<http://lqa.iqm.unicamp.br/cadernos/caderno3.pdf>>.

TRAVAINI, R. et al. Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation. **Bioresource technology**, v. 133, p. 332–9, abr. 2013.

TRAVAINI, R. et al. Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 2–12, 2015a.

TRAVAINI, R. et al. Ozonolysis. In: **Pretreatment of Biomass: Processes and Technologies**. [s.l.] Elsevier, 2015b. p. 105–136.

VALLEJOS, M. E. et al. Low liquid-solid ratio (LSR) hot water pretreatment of sugarcane bagasse. **Green Chem.**, v. 14, n. 7, p. 1982–1989, 2012.

VAN DYK, J. S.; PLETSCHE, B. I. A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes--factors affecting enzymes, conversion and synergy. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 6, p. 1458–80, 2012.

VAN WYK, J. P. . Biotechnology and the utilization of biowaste as a resource for bioproduct development. **Trends in Biotechnology**, v. 19, n. 5, p. 172–177, maio 2001.

WINDEISEN, E.; WEGENER, G. **Polymers for a Sustainable Environment and Green Energy: Lignin as building-unit for polymers**. [s.l.] Elsevier B.V., 2012.

WU, J.; UPRETI, S.; EIN-MOZAFFARI, F. Ozone pretreatment of wheat straw for enhanced biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 25, p. 10270–10276, ago. 2013.

XU, B. et al. Production of reducing sugars from corn stover by electrolysis. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 44, n. 7, p. 797–806, 4 jun. 2014.

YU, Z. et al. The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis. **Bioresource technology**, v. 102, n. 19, p. 9083–9, out. 2011.

ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, p. 35–53, jun. 2014.

ZWIETERING, M. H. et al. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and environmental microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1875–1881, 1990.