



Universidade Federal de Ouro Preto

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental - PROAMB

**PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE HIDROLISADOS GERADOS NO PRÉ-
TRATAMENTO POR AUTO-HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Fernanda Resende Ribeiro

Ouro Preto, MG

2016



Universidade Federal de Ouro Preto

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental - PROAMB

Fernanda Resende Ribeiro

**PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE HIDROLISADOS GERADOS NO PRÉ-
TRATAMENTO POR AUTO-HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

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

Orientador: Sérgio Francisco de Aquino

Ouro Preto, MG

2016

R484p

Ribeiro, Fernanda Resende.

Produção de biogás a partir de hidrolisados gerados no pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar [manuscrito] / Fernanda Resende Ribeiro. - 2016.

101f.: il.: color; graf; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Francisco de Aquino.

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

Área de Concentração: Tecnologias Ambientais.

1. Digestão anaeróbia. 2. Biomassa vegetal. 3. Biogás. I. Aquino, Sérgio Francisco de. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 502/504:6

Catálogo: www.sisbin.ufop.br



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



*Produção de biogás a partir de hidrolisados gerados no pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço
de cana-de-açúcar*

Autora: Fernanda Resende Ribeiro

Dissertação defendida e aprovada, em 29 de agosto de 2016, pela banca examinadora constituída pelos professores:

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

Professor Dr. Carlos Augusto de Lemos Chernicharo
Universidade Federal de Minas Gerais

Professor Dr. Versiane Albis Leão
Universidade Federal de Ouro Preto

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, alicerce de minha vida, por toda proteção, amparo e bênçãos concedidas.

Ao meu orientador Prof. Sérgio Aquino, por todos os ensinamentos, oportunidades, orientação, confiança e atenção.

À minha família, por estar sempre presente em minha vida. Em especial aos meus pais, Paulo e Efigênia, e ao meu irmão, Fabrício, por todo o apoio, preocupação e incentivo. Nada seria possível sem receber o amor de vocês.

Ao Guilherme, meu namorado, companheiro e amigo, por todo amor, dedicação e paciência. Agradeço também pela companhia nas idas ao laboratório nos feriados e fins de semana, e pelas revisões de escrita neste documento de dissertação.

Ao Oscar, Fabiana e Bruno, por todos os conselhos, sabedoria, experiência e atenção dedicados a mim. Vocês são profissionais de alta qualidade, com os quais eu tive a oportunidade de trabalhar.

Aos alunos de estágio e iniciação científica Laís, Júlia, Juliana e Marcelo. Muito obrigada pela relevante colaboração direcionada à realização das atividades exercidas em laboratório.

Aos amigos e colegas do laboratório de Química Tecnológica e Ambiental, em especial à Brittany, Marina Bahia, Davi, Diego, Júnior, Marina Tonucci, Heitor, Liz, Lívia, Leandro, Anna, Ana Carolina, Adriana, Rafael e Leonardo, pelo bom convívio e por tornarem dias cansativos de trabalho em momentos agradáveis.

Aos professores Silvana de Queiroz e Leandro Gurgel, pelas contribuições e por se mostrarem sempre dispostos a esclarecer meus questionamentos.

À Consolação, não somente por ter me oferecido abrigo em Ouro Preto, mas também por todo o carinho prestado durante esse período.

Aos amigos de Conselheiro Lafaiete, pelos momentos de alegria e descontração, contribuindo para que este percurso fosse mais brando.

À Universidade Federal de Ouro Preto, por ceder suas instalações e infraestrutura. Em especial ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, pela oportunidade de realização do curso.

E à CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

“Não tenha medo de pensar diferente, tenha medo de pensar igual e descobrir que todos estão errados”.

(Eça de Queiroz)

RESUMO

O objetivo deste estudo consistiu em avaliar o processo de digestão anaeróbica de hidrolisado hemicelulósico produzido após o pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar. Para isso, ensaios de potencial bioquímico de metano (BMP) foram feitos a fim de selecionar uma condição ótima de pré-tratamento por auto-hidrólise (178,6 °C, 43,6 min e 0,24 g/mL de RSL), que resultou em produção acumulada de metano de 1,82 L/g COT. O hidrolisado de bagaço de cana obtido em tal condição foi alimentado continuamente em reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB) e operado com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 18,4 h. O desempenho do processo foi investigado através da variação da proporção de hidrolisado na solução de alimentação e da variação da carga orgânica volumétrica (OLR). Os dados experimentais mostraram que a diminuição da proporção de xilose/hidrolisado na solução de alimentação resultou em melhor desempenho do processo, enquanto que o aumento na COV causou uma queda no rendimento de produção de metano. A produção máxima de metano (184,2 NmL CH₄/g DQO_{removida}) foi obtida com uma eficiência de remoção de DQO de 67,8%, quando o reator UASB foi alimentado com 100% de hidrolisado como substrato e com uma COV de 1,3 g DQO/L.d. Subsequentemente, quando a COV foi aumentada para 2,4 e 4,8 g DQO/L.d, ocorreu uma diminuição na produção de metano (34,8-80,2 NmLCH₄ /g DQO_{removida}). Contraditoriamente, a maior remoção de DQO (85,7%) foi observada quando o reator foi alimentado com 100% de hidrolisado de bagaço de cana e uma COV de 2,4 g DQO/L.d. Os ácidos graxos voláteis (AGVs) apresentaram maior acúmulo (0,80 g DQO_{AGV}/L) na condição em que o reator UASB foi alimentado com 100% de hidrolisado e COV de 4,8 g de DQO/L.d, tendo sido o ácido acético o AGV encontrado em maiores concentrações durante toda a operação. De modo geral, os resultados mostraram que a digestão anaeróbia de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar é viável, e que este processo poderia melhorar a geração de energia em uma indústria de bioetanol, permitindo também a utilização do bagaço de cana excedente de forma sustentável.

Palavras-chave: digestão anaeróbia, biomassa lignocelulósica; pré-tratamento hidrotérmico; hidrolisado hemicelulósico; metano.

ABSTRACT

The aim of this study consisted in evaluating the anaerobic digestion performance of hemicellulose hydrolysate produced after hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse. For this, biochemical methane potential tests (BMP) were proceeded by selecting an optimal autohydrolysis pretreatment condition (178.6 °C, 43.6 min, and 0.24 g/mL of SLR), which obtained a cumulative methane production of 1.82 L/g TOC. The sugarcane bagasse hydrolysate obtained in such condition was continuously fed in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor operated at a hydraulic retention time (HRT) of 18.4 h. Process performance was investigated by varying the proportion of sugarcane hydrolysate in the feed solution and the inlet organic loading rate (OLR). Experimental data showed that the increase in the proportion of hydrolysate in the feed resulted in better process performance, while an increase in OLR caused a decrease in methane yields. The maximum methane yield (184.2 NmL CH₄/g COD_{removed}) was obtained with a COD removal of 67.8% when the reactor was fed with 100% of sugarcane bagasse hydrolysate as a substrate and at an OLR of 1.3 g COD/L.d. Subsequently, when the OLR was increased to 2.4 and 4.8 g COD/L.d, it occurred a decrease in methane yields (34.8-80.2 NmL CH₄/g COD_{removed}). Controversy, the highest COD removal (85.7%) was observed when the reactor was fed with 100% of sugarcane bagasse hydrolysate and at an OLR of 2.4 g COD/L.d. The volatile fatty acids (VFA) had the higher accumulation (0.80 g COD_{VFA}/L) in the condition that the UASB reactor was fed with 100% of hydrolysate and an OLR of 4.8 g of COD/L.d. Besides that, acetic acid was the VFA found in higher concentrations during the entire operation. On the whole, the results showed that anaerobic digestion of sugarcane bagasse hydrolysate is feasible. This process could improve the net energy generation in a bioethanol plant, while enabling utilization of the surplus sugarcane bagasse in a sustainable manner.

Keywords: anaerobic digestion; lignocellulosic biomass; hydrothermal pretreatment; hemicellulose hydrolysate; methane.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura esquemática da biomassa lignocelulósica.	8
Figura 2. Representação esquemática da estrutura de celulose.	9
Figura 3. Representação da cadeia principal de uma hemicelulose.	10
Figura 4. Representação da estrutura da lignina presente em madeiras moles.	11
Figura 5. Esquema ilustrativo do efeito do pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos.	12
Figura 6. Representação esquemática do processo de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica visando à produção de bioetanol e de biogás.	13
Figura 7. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos.	25
Figura 8. Fluxograma resumido das etapas de desenvolvimento da pesquisa.	36
Figura 9. Hidrolisado gerado no processo de auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.	37
Figura 10. Representação esquemática do sistema de reator anaeróbio com alimentação contínua.	44
Figura 11. Produtividade acumulada de metano nos ensaios de digestão anaeróbia em batelada.	49
Figura 12. (a) Produção acumulada de CH ₄ para o hidrolisado proveniente da condição experimental 2 (CE 2), e ajuste do modelo de Gompertz modificado e (b) relação entre o ajuste perfeito e o ajuste real obtidos pela aplicação do modelo à CE 2.	51
Figura 13. Variação do pH no interior do reator em todas as fases operacionais do reator UASB.	55
Figura 14. (a) Variação da DQO no afluente (■) e no efluente (●) do reator UASB e (b) eficiência de remoção de DQO (○) ao longo do tempo de operação do reator UASB.	57
Figura 15. Eficiência de remoção de DQO para cada fase operacional do reator UASB.	59
Figura 16. (a) Variação temporal da concentração de DQO _{AGV} (■) e DQO _{efluente} (●) no reator UASB e (b) acúmulo de ácidos graxos voláteis no reator UASB nas diferentes fases operacionais.	62
Figura 17. Acúmulo dos diferentes ácidos graxos voláteis no reator UASB para cada fase operacional.	65
Figura 18. Composição da DQO _{AGV} em função dos ácidos graxos voláteis acumulados em cada fase operacional do reator UASB.	66

Figura 19. (a) Variação temporal da produtividade de metano normalizada em função da carga de DQO afluente ao reator UASB e (b) valores medianos da produtividade de metano normalizada em função da carga de DQO removida no reator, nas diferentes fases operacionais.

..... 70

Figura 20. Composição da DQO em cada fase operacional do reator UASB..... 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Cultivo de diferentes culturas agrícolas em território brasileiro.....	6
Tabela 2. Composição química de algumas biomassas lignocelulósicas, em que os valores são expressos em termos de massa seca - MS.	7
Tabela 3. Estudos envolvendo a produção de biogás a partir de biomassas lignocelulósicas pré-tratadas por diferentes processos de pré-tratamento.....	14
Tabela 4. Estudos envolvendo o pré-tratamento por auto-hidrólise de biomassas lignocelulósicas.	18
Tabela 5. Principais reações da fase acetogênica do processo de digestão anaeróbia.....	22
Tabela 6. Principais reações que ocorrem na fase metanogênica do processo de digestão anaeróbia.....	23
Tabela 7. Estudos envolvendo a utilização de diferentes biorreatores para produção de biogás a partir de biomassas lignocelulósicas.	33
Tabela 8. Características das condições experimentais estabelecidas, tendo como base o valor das variáveis dependentes e os parâmetros das quatro condições experimentais estudadas, calculadas pela ferramenta de desejabilidade.....	40
Tabela 9. Solução nutriente utilizada nos ensaios de degradação anaeróbia preparados para DQO de 10.000 mg/L.....	42
Tabela 10. Fases e os principais parâmetros de operação contínua do reator UASB de bancada.	46
Tabela 11. Rotina de monitoramento do reator UASB de bancada.....	47
Tabela 12. Parâmetros do modelo de Gompertz calculados para as quatro condições experimentais utilizadas nos ensaios de BMP.....	50
Tabela 13. Caracterização de quatro hidrolisados obtidos na condição de pré-tratamento 2, que resultou em maior produção de metano nos ensaios de BMP.	53
Tabela 14. Valores médios de DQO afluente e efluente do reator UASB nas fases de operação do reator UASB.	58
Tabela 15. Valores médios de porcentagem de metano no biogás para cada uma das fases operacionais do reator UASB.	68
Tabela 16. Concentrações de HMF e FF nas soluções afluente e efluente do reator, e DQO equivalente desses compostos no efluente do reator, para cada uma das fases operacionais.	73
Tabela 17. Balanço simplificado de DQO no reator UASB para cada uma das fases operacionais.	75

LISTA DE NOTAÇÕES

2G – segunda geração

ΔG° – variação da energia de Gibbs

λ – comprimento de onda

μ_{\max} – taxa máxima de crescimento específico dos micro-organismos

AGV – ácido graxo volátil

A/M – relação alimento/micro-organismo

ASBR – reator anaeróbio em batelada sequencial

ATP – trifosfato de adenosina

BMP – potencial bioquímico de metano

C5 – pentoses

C6 – hexoses

CePTS – Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento

CE – condições experimentais

CI – carbono inorgânico

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

C/N – relação carbono/nitrogênio

CNTP – condições normais de temperatura e pressão

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

COT – carbono orgânico total

COV – carga orgânica volumétrica

CSTR – reator contínuo de tanque agitado

CT – carbono total

DAD – detector de arranjo de diodos

DGGE – técnica de eletroforese em gel com gradiente desnaturante

DQO – demanda química de oxigênio

DQO: N: P – relação entre demanda química de oxigênio, nitrogênio e fósforo

DQO_{AGV} – demanda química de oxigênio proveniente do acúmulo de ácidos graxos voláteis

DQO_{SMP} – demanda química de oxigênio proveniente do acúmulo de produtos microbianos solúveis

ETE – estação de tratamento de esgoto

FAD – dinucleótido de flavina e adenina
FF – 2-furfuraldeído
GM – modelo de Gompertz modificado
HMF – 5-hidroximetil-2-furfuraldeído
LS – lignina solúvel
MS – massa seca
NADH – dinucleótido de nicotinamida e adenina
pH – potencial hidrogeniônico
PVC – cloreto de polivinila
R² – coeficiente de determinação
RSL – razão sólido-líquido
SSV – sólidos suspensos voláteis
SV – sólidos voláteis
SVT – sólidos voláteis totais
ST – sólidos totais
T – temperatura
t – tempo
TCD – detector de condutividade térmica
TDH – tempo de detenção hidráulica
UASB – reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente
UV-vis – ultravioleta visível
Y – coeficiente de produção de biomassa

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - OBJETIVOS	4
2.1 - Objetivo geral	4
2.2 - Objetivos específicos	4
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 - Resíduos Lignocelulósicos.....	5
3.1.1 - Pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos	11
3.1.1.1 – Pré-tratamento hidrotérmico dos resíduos lignocelulósicos.....	16
3.2 – Fundamentos do processo de digestão anaeróbia	20
3.2.1 – Digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos	23
3.2.2 – Fatores que afetam o processo de digestão anaeróbia	25
3.3 – Biogás	29
3.3.1 – Configurações de reatores anaeróbios	31
3.4 – Conclusões da revisão bibliográfica	35
4 - MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 – Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar	36
4.2 – Caracterização química do hidrolisado.....	37
4.2.1 – Determinação do pH.....	38
4.2.2 – Determinação do teor de monossacarídeos, ácidos orgânicos e produtos de degradação de sacarídeos.....	38
4.2.3 – Determinação da demanda química de oxigênio (DQO).....	39
4.2.4 – Determinação do teor de carbono orgânico total (COT)	39
4.3 – Ensaios em batelada para produção de metano	39
4.3.1 – Planejamento experimental	39
4.3.2 – Condições de incubação dos frascos-reatores	41
4.3.3 – Quantificação da produção de metano nos ensaios em batelada	43
4.3.4 – Modelagem da produção de metano nos ensaios em batelada	43
4.4 – Produção de biogás (metano) em reator anaeróbio do tipo UASB.....	44
4.4.1 – Aparato experimental	44
4.4.2 – Condições operacionais	44

4.4.3 – Análises de monitoramento	47
5 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	49
5.1 – Produção de metano a partir de hidrolisados hemicelulósicos e caracterização do hidrolisado gerado na melhor condição de pré-tratamento	49
5.3 – Digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico em reator UASB.....	55
5.3.1 – Avaliação da remoção de DQO e do acúmulo de AGVs no reator UASB	56
5.3.2 – Avaliação da produção de biogás no reator UASB	67
5.3.3 – Balanço de massa no reator UASB.....	71
6 – CONCLUSÕES	76
7 – RECOMENDAÇÕES PARA PESQUISAS FUTURAS	77
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1 - INTRODUÇÃO

Todas as atividades antrópicas provocam impactos no meio ambiente, sendo muitos desses impactos provenientes da geração, manuseio e uso de recursos energéticos. A grande dependência por fontes não renováveis de energia tem acarretado, além da preocupação com o esgotamento dessas fontes, a emissão de grandes quantidades de poluentes na atmosfera (BASTOS, 2007; SILVA et al., 2003). A atmosfera do planeta Terra recebe mais de 15 bilhões de toneladas de CO₂ anualmente. Diante disso, a utilização de combustíveis provenientes de fontes renováveis e sustentáveis de energia, como o biogás, tem sido mundialmente incentivada (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a).

Dentre os recursos energéticos renováveis, podem ser citadas a energia solar, a energia eólica e a energia proveniente da biomassa (SILVA et al., 2003). Uma matéria prima que pode ser utilizada para a produção de bioenergia é a biomassa lignocelulósica, que é proveniente de resíduo orgânico agroindustrial (CARDONA; QUINTERO; PAZ, 2010). De fato, grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos são geradas em decorrência da produção agrícola ou agroflorestal e, neste contexto, o Brasil assume uma posição de destaque, ao considerar-se o volume de produção agrícola e agroflorestal no país. Entretanto, muitas vezes a destinação dada a esses resíduos é pouco nobre, provoca um passivo ambiental e representa uma perda de potencial de produção energética (BRAGATTO, 2010).

O bagaço de cana-de-açúcar, subproduto rico em carboidratos na forma de hemiceluloses e celulose, é uma das principais culturas agrícolas no Brasil, e um exemplo de biomassa lignocelulósica (CANILHA et al., 2012). Ele é comumente utilizado para suprir a demanda energética do setor sucroalcooleiro, sendo aplicado como combustível em caldeiras para a geração de vapor. Entretanto, estima-se que a quantidade de energia produzida a partir da queima do bagaço supere a quantidade de energia requerida para a produção de álcool e açúcar. Dessa forma, nem todo o bagaço gerado é utilizado e o excesso que permanece acarreta problemas ambientais e de armazenagem (COSTA et al., 2014). Tal fato, somado à composição química do bagaço, têm incentivado pesquisas em processos de bioconversão desse material para a produção de bioetanol de segunda geração, biogás e outros bioprodutos (BATALHA et al., 2015).

O biogás é uma mistura combustível obtida a partir da digestão anaeróbia, processo biológico através da qual o material orgânico é transformado em diferentes produtos líquidos (ex.: ácidos orgânicos) e gasosos, como metano e dióxido de carbono (WEILAND; VERSTRAETE; VAN HAANDEL, 2009). Na digestão anaeróbia, a matéria orgânica é decomposta em uma série de reações em cadeia, por uma variedade de micro-organismos em condições livres de oxigênio. O processo pode ser dividido em quatro etapas sequenciais. No início da digestão anaeróbia, carboidratos, proteínas e lipídeos são hidrolisados a açúcares, aminoácidos e peptídeos. Estes compostos são então convertidos pelas bactérias acidogênicas a ácidos orgânicos intermediários e álcoois. Os micro-organismos acetogênicos convertem tais compostos orgânicos intermediários, como propionato e butirato, em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Finalmente, o acetato e o hidrogênio são convertidos em metano e dióxido de carbono pelas arqueias metanogênicas (ZHENG et al., 2014; CHERNICHARO, 2007).

Os resíduos lignocelulósicos são constituídos basicamente de celulose, hemicelulose e lignina. Devido à estrutura complexa da biomassa lignocelulósica, a digestão anaeróbia dessa biomassa é limitada pela etapa de hidrólise e pela acessibilidade dos compostos fermentescíveis presentes. Diante disso, para alcançar elevadas taxas de degradação e de produção de biogás, o resíduo lignocelulósico necessita ser pré-tratado antes de ser submetido ao processo de digestão anaeróbia (MONLAU et al., 2013). O pré-tratamento modifica o tamanho, a estrutura e a composição química da biomassa (NISSILÄ; LAY; PUHAKKA, 2014). Quando eficaz, ele é capaz de remover parte da lignina, solubilizar as hemiceluloses, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a área superficial do material (LIMING; XUELIANG, 2004).

Com base no exposto acima, a presente dissertação pretendeu investigar o potencial do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de biogás (metano), após o pré-tratamento hidrotérmico. Segundo dados da CONAB (2015), estima-se que a produção de cana-de-açúcar no país alcance 663 milhões de toneladas no biênio 2015/2016. Portanto, a escolha desse recurso agrícola justifica-se em função do mesmo ser gerado em grandes quantidades no território nacional. Além disso, a produção de metano a partir de uma variedade de resíduos lignocelulósicos por meio da tecnologia de digestão anaeróbia está crescendo mundialmente e apresenta muitos benefícios econômicos e ambientais (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a). Esse processo abre a possibilidade do uso integral do bagaço de cana-de-açúcar em uma

biorrefinaria lignocelulósica, em que a fração sólida rica em celulose gerada após o processo de extração de hemiceluloses seria utilizada para a produção de bioetanol de segunda geração (2G) e a fração líquida (hidrolisado hemicelulósico), considerada um efluente do processo da planta de produção de etanol 2G, poderia ser utilizada para a produção de biogás.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral

O projeto de pesquisa teve como objetivo geral avaliar o potencial de produção de biogás (metano) a partir de hidrolisado hemicelulósico gerado no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar.

2.2 - Objetivos específicos

Os objetivos específicos do projeto foram:

- a) Determinar o potencial bioquímico de metano de diferentes hidrolisados de forma a definir a melhor condição de pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar.
- b) Avaliar diferentes condições de operação (concentração de substrato e carga orgânica volumétrica aplicada) de reator anaeróbio do tipo UASB alimentado com o hidrolisado hemicelulósico obtido na melhor condição de pré-tratamento hidrotérmico, visando à maximização da conversão de matéria orgânica.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - Resíduos Lignocelulósicos

As principais fontes de energia utilizadas para a execução das atividades industriais são o petróleo, o carvão mineral e o gás natural, que são recursos energéticos fósseis e não renováveis. O aumento do preço do petróleo, as perspectivas de esgotamento de recursos fósseis e a preocupação com as questões ambientais têm fomentado o interesse pela utilização de combustíveis provenientes de fontes renováveis e sustentáveis, dentre as quais se destacam os resíduos lignocelulósicos (BASTOS, 2007; RABELO, 2007).

O termo biomassa se refere a qualquer tipo de matéria orgânica oriunda de fontes animais ou vegetais, e que pode ser utilizada na produção de bioenergia (AGUIAR, 2010). As biomassas provenientes de matérias orgânicas agroindustriais são classificadas como resíduos lignocelulósicos. Os materiais lignocelulósicos incluem vários resíduos agrícolas como palhas, cascas, bagaços, serragens, madeiras e resíduos das indústrias de celulose e papel (SILVA, 2010; CARDONA; QUINTERO; PAZ, 2010). Segundo Kaparaju et al. (2009), os materiais lignocelulósicos provenientes de atividades agrícolas e florestais são as maiores fontes de pentoses (C5) e hexoses (C6) com potencial para a produção de biocombustíveis.

O Brasil é o terceiro maior produtor agrícola do mundo, superado apenas pelos Estados Unidos e pela União Européia (SILVA; COSTA, 2012). Dessa forma, a quantidade de resíduos oriundos do setor agrícola no país é elevada. Conforme Aguiar (2010), “graças à vasta biodiversidade encontrada em seu território, o Brasil dispõe de grande variedade de resíduos agrícolas e agroindustriais cujo bioprocessamento seria de grande interesse econômico e social”.

A cana-de-açúcar é uma gramínea originária da Índia e pertencente ao gênero *Saccharum*, que foi introduzida no Brasil no período colonial (RABELO, 2007). A atividade agrícola de plantação de cana-de-açúcar é desenvolvida em grande escala no território nacional, o que a torna potencial geradora de resíduos lignocelulósicos, tais como o bagaço e a palha seca da cana-de-açúcar (AGUIAR, 2010). A CONAB (2015), em seu relatório de acompanhamento da safra brasileira de grãos para o biênio 2015/2016, estima que a produção de cana-de-açúcar no país alcance 663 milhões de toneladas. Como se pode visualizar na Tabela 1, cana-de-açúcar, soja e milho são as principais culturas agrícolas do Brasil.

Tabela 1. Cultivo de diferentes culturas agrícolas em território brasileiro.

Biomassa	Área plantada (1000 hectares)	Produção de biomassa (1000 t)
Arroz	2.145,1	12.312,3
Café	1.982,3	2.645,5
Cana-de-açúcar	10.286,0	754.948,5
Feijão	2.906,9	3.107,9
Mandioca	1.495,5	22.756,8
Milho	15.561,7	85.707,8
Soja	32.113,1	97.043,7
Trigo	2.463,5	5.425,9

Fonte: IBGE, 2016.

O bagaço da cana-de-açúcar é um resíduo lignocelulósico fibroso proveniente da extração do caldo da cana-de-açúcar no processo de moagem nas usinas e destilarias (SILVA; SILVA, 2013). Considerando que aproximadamente 250 a 280 kg de bagaço de cana-de-açúcar sejam gerados por 1 tonelada de cana-de-açúcar processada (ROCHA et al., 2015), o setor sucroalcooleiro no Brasil produzirá de 166 a 186 milhões de toneladas de bagaço durante a safra de 2015/ 2016.

O bagaço de cana é queimado em caldeiras para a geração de calor e energia para as usinas de açúcar e destilarias de álcool, assim como para a geração de energia elétrica a ser vendida. No entanto, parte do bagaço produzido é subutilizada. Sabendo-se que é possível satisfazer as exigências de energia das usinas de açúcar e álcool com apenas metade do bagaço produzido, o excedente do mesmo pode ser utilizado como matéria-prima para outros fins, tais como a produção de etanol, biogás, celulose e papel (RABELO, 2007). Dessa forma, é importante o desenvolvimento de pesquisas e atividades visando ao melhor aproveitamento dos resíduos agroindustriais, tais como para a produção de bioenergia.

Os materiais lignocelulósicos são constituídos basicamente por três biopolímeros: celulose, hemiceluloses e lignina (STREFFER, 2014). Estes componentes perfazem cerca de 90% do total de massa lignocelulósica seca. O percentual restante é constituído por pequenas quantidades de cinzas, pectinas, proteínas e açúcares solúveis (MONLAU et al., 2014).

O percentual composicional dos constituintes da biomassa lignocelulósica pode variar conforme a espécie vegetal, a idade, o período de coleta do material, a região de origem e outras condições (ALVES, 2011; SILVA, 2010). A Tabela 2 apresenta a composição dos principais componentes da biomassa encontrados em algumas fontes de biomassa lignocelulósica.

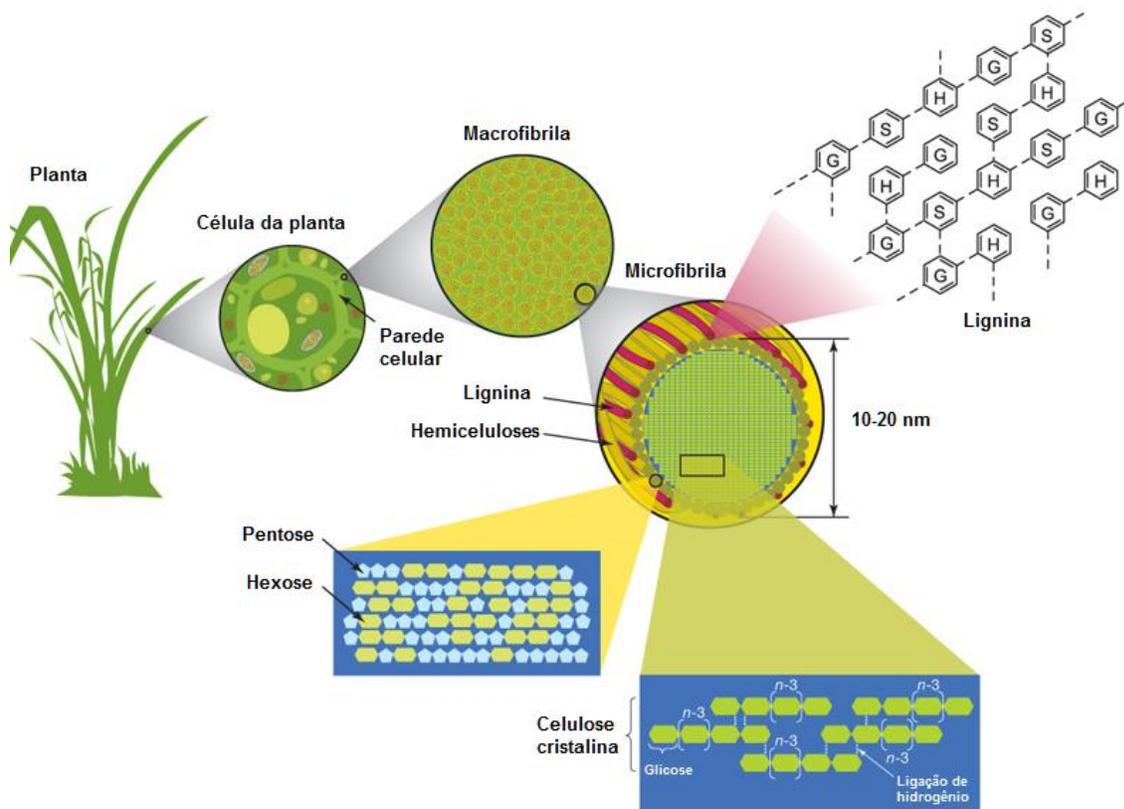
Tabela 2. Composição química de algumas biomassas lignocelulósicas, em que os valores são expressos em termos de massa seca - MS.

Biomassa Lignocelulósica	Celulose (% MS)	Hemiceluloses (%MS)	Lignina (%MS)
Bagaço de cana	38-46	23-27	19-32
Eucalipto	34-44	18-19	19-30
Palha de arroz	35-37	16-22	12-15
Palha de milho	37-39	23-31	14-18
Palha de trigo	33-40	20-34	13-18

Fonte: CANILHA et al., 2012; MONLAU et al., 2014.

Na estrutura lignocelulósica, os polissacarídeos celulose e hemiceluloses são entremeados por outra macromolécula, a lignina, aos quais se encontra unida por ligações covalentes e de hidrogênio (LEE, 1997). A estrutura esquemática da biomassa lignocelulósica é apresentada na Figura 1.

Figura 1. Estrutura esquemática da biomassa lignocelulósica.



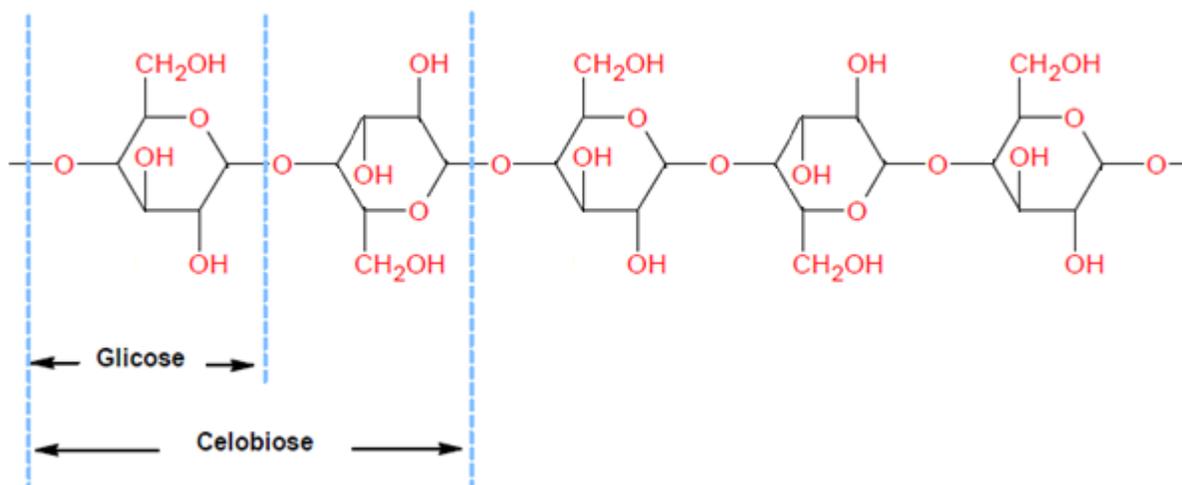
Fonte: RUBIN, 2008. Adaptado.

A parede celular das células vegetais pode ser esquematicamente vista como feixes de microfibrilas arranjados em uma matriz de hemiceluloses e lignina. As propriedades mecânicas, físicas, químicas e biológicas dos materiais lignocelulósicos são dependentes não somente da composição química da matriz lignocelulósica, mas também da organização dos seus constituintes e da interação entre eles (MONLAU et al., 2013).

A celulose, cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 2, é um dos biopolímeros mais abundantes do planeta (MONLAU et al., 2014; LEVIN et al., 2009). De forma geral, ela é o principal componente estrutural das paredes celulares dos vegetais (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a). A celulose é um polissacarídeo linear, que consiste em cadeias lineares de celobiose, e que é fortemente ligada através de ligações glicosídicas (ZHENG et al., 2014). As cadeias de celulose estão interligadas por ligações de hidrogênio e de van der Waals, resultando em microfibrilas com elevada resistência à tração (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a).

As moléculas de celulose apresentam diferentes níveis de cristalinidade. Dessa forma, ela é composta por duas regiões: amorfa (baixa cristalinidade) e cristalina (alta cristalinidade). Quanto maior o índice de cristalinidade, mais difícil é a sua biodegradação (ZHENG et al., 2014).

Figura 2. Representação esquemática da estrutura de celulose.



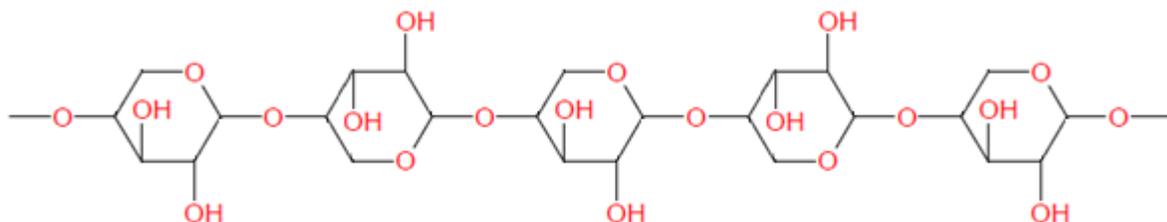
Fonte: ALVES, 2011. Adaptado.

As hemiceluloses, também denominadas como polioses, representam uma classe de compostos poliméricos presentes em vegetais fibrosos. Em contraste com a celulose, que apresenta estrutura majoritariamente cristalina e rígida, as hemiceluloses apresentam uma estrutura amorfa, ramificada e com pouca resistência. Além disso, as polioses diferem da celulose por serem compostas por várias unidades de açúcares. Enquanto a celulose contém exclusivamente a D-glicose como unidade fundamental, as hemiceluloses são heteropolímeros, em cuja composição pode aparecer, em proporções variadas, as seguintes unidades de açúcar: pentoses (xilose e arabinose), hexoses (glicose, manose, ramnose e galactose) e ácidos urônicos (ácido glucurônico e galacturônico) (ZHENG et al., 2014; MARABEZI, 2009; PITARELO, 2007).

O açúcar predominante nas hemiceluloses de madeiras moles é a manose e em madeiras duras e resíduos agrícolas é a xilose. No caso específico do bagaço de cana, o principal açúcar constituinte das polioses é a xilose. Além disso, madeiras duras apresentam maior conteúdo celulósico, enquanto palhas e folhas apresentam maior conteúdo hemicelulósico (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a; MARABEZI, 2009).

A cadeia principal de uma hemicelulose pode ser constituída de uma só unidade (homopolímero) ou de duas ou mais unidades (heteropolímero), unidas entre si por ligações de hidrogênio (ALVES, 2011). A Figura 3 apresenta a cadeia principal de uma poliose.

Figura 3. Representação da cadeia principal de uma hemicelulose.



Fonte: ALVES, 2011.

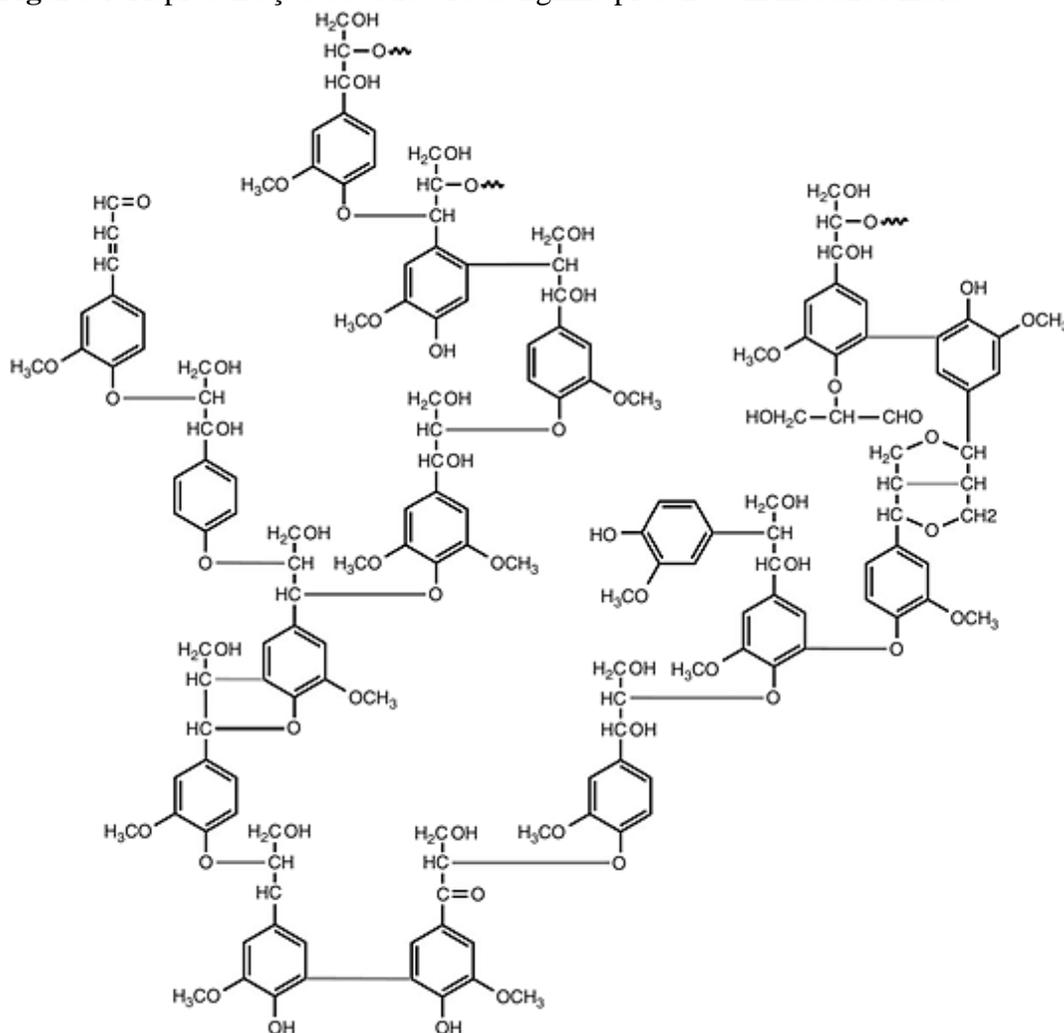
As polioses unem as fibras celulósicas constituindo as microfibrilas, o que promove o aumento da estabilidade da parede celular do vegetal. Além disso, elas também são responsáveis por interligarem essas microfibrilas com a lignina, criando uma rede complexa de ligações que provê força estrutural à planta (WYK, 2001).

A lignina é um composto aromático polifenólico, hidrofóbico e amorfo (ZHENG et al., 2014). Ela é formada a partir de uma reação de polimerização desidrogenativa dos alcoóis p-coumarílico, coniferílico e sinapílico, dando origem às unidades de fenilpropano (WINDEISEN; WEGENER, 2012). A natureza e a quantidade das unidades monoméricas de lignina variam de acordo com a espécie, maturidade e a localização espacial na célula (MONLAU et al., 2013). As madeiras moles contêm mais lignina que a maioria das madeiras duras e dos resíduos agrícolas (TAHERZADEH; KARIMI, 2008). Em geral, o teor de lignina irá aumentar com a idade do vegetal (STREFFER, 2014).

A lignina é responsável por promover resistência à parede celular contra a deformação e unir as células vegetais (RUBIN, 2008). Ela é o componente mais recalcitrante da parede celular da planta, e quanto maior for o teor de lignina, maior será a resistência da biomassa à degradação química e biológica. Dessa forma, a lignina é uma barreira para utilização de biomassa lignocelulósica em processos de bioconversão (ZHENG et al., 2014).

A Figura 4 apresenta a estrutura molecular da lignina de madeiras moles.

Figura 4. Representação da estrutura da lignina presente em madeiras moles.



Fonte: WINDEISEN; WEGENER, 2012. Adaptado.

As propriedades dos materiais lignocelulósicos os tornam resistentes à biodegradação. Devido à complexidade da composição e estrutura química da biomassa lignocelulósica, os materiais lignocelulósicos requerem um pré-tratamento para aumentar sua biodegradabilidade e tornar exequível a conversão da biomassa em biocombustíveis (RABELO, 2007; ZHENG et al., 2014). Os métodos de pré-tratamento se referem à solubilização e a separação de um ou mais componentes da biomassa lignocelulósica (SARKAR et al., 2012).

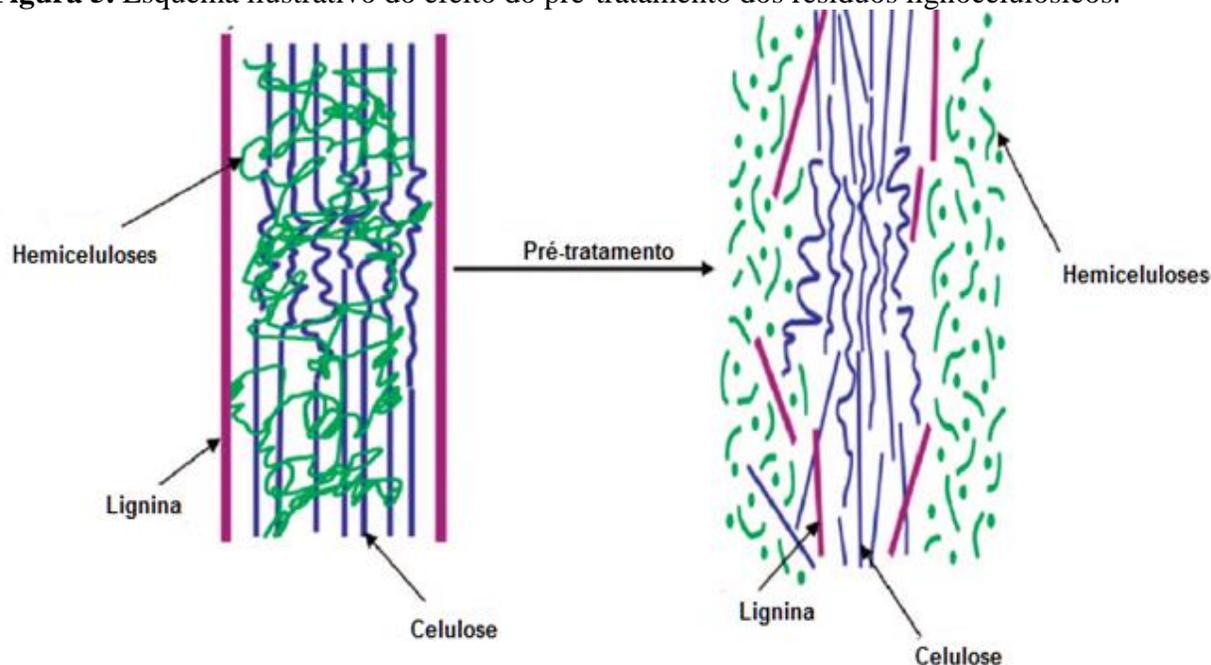
3.1.1 - Pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos

A natureza cristalina da celulose, a barreira física formada por ligninas ao redor das fibras celulósicas, a área superficial acessível e a presença de complexas interações entre hemiceluloses

e celulose limitam a biodegradabilidade da biomassa lignocelulósica (SARKAR et al., 2012; MONLAU et al., 2013). Sendo assim, o pré-tratamento é aplicado para viabilizar a utilização de matérias primas lignocelulósicas em processos envolvendo a biodegradação (REN et al., 2009).

A Figura 5 ilustra o efeito da aplicação dos métodos de pré-tratamento na estrutura da biomassa lignocelulósica.

Figura 5. Esquema ilustrativo do efeito do pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos.



Fonte: HSU; LADISCH; TSAO, 1980 *apud* KUMAR et al., 2009. Adaptado.

Os pré-tratamentos tornam a biomassa lignocelulósica mais acessível para as enzimas ou para os micro-organismos envolvidos no processo biológico. Os objetivos desses pré-tratamentos são a deslignificação, a redução do grau de polimerização da celulose e hemiceluloses, a redução da cristalinidade da celulose e o aumento da área superficial disponível (MONLAU et al., 2013; ZHENG et al., 2014). Um processo de pré-tratamento eficaz deve evitar a perda e/ou a degradação dos açúcares formados, limitar a formação de produtos de inibição, reduzir os gastos energéticos e minimizar os custos (SARKAR et al., 2012).

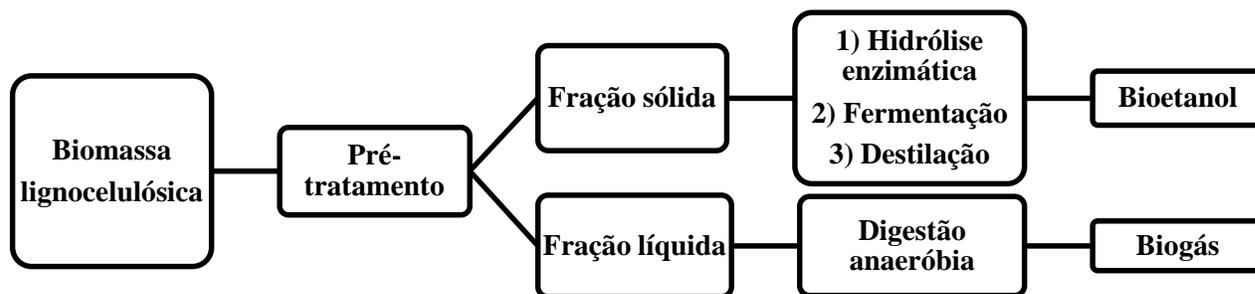
A maioria dos estudos envolvendo o pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas visam à produção de bioetanol. Segundo Kaparaju et al. (2009), xilose e arabinose, açúcares constituintes de hemiceluloses, não podem ser utilizados como substrato para a produção de etanol. Dessa

forma, sabendo-se que a produção de bioetanol utiliza somente a celulose, o objetivo do pré-tratamento é separar a lignina e as hemiceluloses, de forma a produzir um sólido rico em celulose, para aprimorar o posterior processo de hidrólise enzimática (MONLAU et al., 2013). A hidrólise enzimática da celulose produz um licor rico em açúcares C6, que é então utilizado por leveduras *Saccharomices cerevisiae* nas dornas de fermentação, levando à produção de etanol. Finalmente, o etanol produzido é recuperado do mosto por destilação (BARAKAT et al., 2012).

Os processos de pré-tratamento das biomassas lignocelulósicas geram uma fração sólida rica em celulose, e uma fração líquida, que consiste no hidrolisado hemicelulósico e é rica em açúcares C5, tais como xilose e arabinose. A produção de biogás por digestão anaeróbia a partir dessa fração líquida é uma opção tecnológica a ser considerada para maximizar a recuperação de energia a partir de biomassa lignocelulósica (BARAKAT et al., 2012).

A Figura 6 apresenta, de forma esquemática, o processo de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica e a produção de bioetanol e de biogás.

Figura 6. Representação esquemática do processo de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica visando à produção de bioetanol e de biogás.



Fonte: TAHERZADEH; KARIMI, 2008. Adaptado.

Os métodos de pré-tratamento podem ser classificados como físicos, químicos, biológicos ou combinação destes. A escolha do pré-tratamento está intimamente relacionada ao resíduo lignocelulósico em questão e ao produto de interesse (MONLAU et al., 2013). A Tabela 3 apresenta uma breve revisão da literatura sobre alguns estudos envolvendo a produção de biogás por digestão anaeróbia a partir de biomassas lignocelulósicas pré-tratadas por diferentes técnicas.

Tabela 3. Estudos envolvendo a produção de biogás a partir de biomassas lignocelulósicas pré-tratadas por diferentes processos de pré-tratamento.

Classificação do método de pré-tratamento	Método de pré-tratamento	Condições do pré-tratamento	Biomassa lignocelulósica	Produtividade de biogás	Referência bibliográfica
Físico	Irradiação	<ul style="list-style-type: none"> • Intensidade de radiação: 400 a 1600 W • Temperatura: 90 a 260 °C • Pressão: 33 bar • Concentração de biomassa: 0,0375 g palha de trigo/mL água 	Palha de trigo	345 L CH ₄ /g SVT	Jackowiak et al., 2011
Químico e físico-químico	Alcalino	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 40 °C • Tempo reacional: 24 h • Concentração de NaOH: 1 e 10% g NaOH/g ST • Concentração de biomassa: 160 g ST/L 	Sorgo e palha de trigo	<ul style="list-style-type: none"> • Sorgo: 0,345 L CH₄/g SV • Palha de trigo: 0,289 L CH₄/g SV 	Sambusiti et al., 2012
	Explosão a vapor	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 243 °C • Tempo reacional: 0 a 20 min • Pressão: 3,53 MPa 	Bambu	215 mL CH ₄ /g açúcares	Kobayashi et al., 2004
	Oxidativo	<ul style="list-style-type: none"> • H₂O₂ em meio alcalino • Temperatura: 25 °C • Tempo reacional: 1 h • pH: 11,5/utilizando NaOH • Concentração de H₂O₂: 7,36% v/v • Concentração de biomassa: 4 a 15% em teor de matéria seca • Agitação constante de 150 rpm 	Bagaço de cana-de-açúcar	72,1 L CH ₄ /kg bagaço	Rabelo et al., 2011

Tabela 3. Estudos envolvendo a produção de biogás a partir de biomassas lignocelulósicas pré-tratadas por diferentes processos de pré-tratamento (continuação).

Classificação do método de pré-tratamento	Método de pré-tratamento	Condições do pré-tratamento	Biomassa lignocelulósica	Produtividade de biogás	Referência bibliográfica
Químico e físico-químico	Hidrotérmico	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 200 °C • Tempo reacional: 10 min • Pressão: 155 MPa 	Palha de arroz	315,9 7 L biogás/kg SVT	Chandra; Takeuchi; Hasegawa, 2012b
	Fúngico	<ul style="list-style-type: none"> • Fungo: <i>Ceriporiopsis subvermispora</i> • Tempo reacional: 4 a 8 semanas • Temperatura: 28 °C • Concentração de biomassa: 0,33 g biomassa/mL H₂O 	Madeira de cedro	25% do rendimento teórico de CH ₄ baseado no teor de holocelulose da madeira	Amirta et al., 2006
Biológico	Consórcio microbiano	<ul style="list-style-type: none"> • Consórcio microbiano: proveniente de amostras de solo contendo materiais lignocelulósicos em decomposição, enriquecido por meio de peptonacelulose • Temperatura: 55 °C • Tempo reacional: 0 a 96 h • RSL: 0,04 g biomassa/mL H₂O 	Mandioca	259,46 mL CH ₄ /g SV	Zhang et al., 2011

Fonte: Própria autora.

O pré-tratamento da biomassa lignocelulósica pode levar à formação de compostos tóxicos. A natureza e a concentração desses subprodutos dependem significativamente não só das condições do pré-tratamento, mas também do material lignocelulósico. Os principais inibidores são furfural, 5-hidroximetilfurfural e oligômeros, produzidos a partir da degradação de pentoses e hexoses, siringaldeído e vanilina, que são oriundos da lignina (BARAKAT et al., 2012). Estudos na literatura mostram que estes compostos limitam a produção de bioenergia, uma vez que são tóxicos a alguns grupos microbianos responsáveis pelo processo de biodegradação da biomassa lignocelulósica (BARAKAT et al., 2012; KLINKE; THOMSEN; AHRING, 2004; MONLAU et al., 2013; PALMQVIST; HAHN-HAGERDAL, 2000; ZHA et al., 2014). Dessa forma, a presença de tais compostos é a principal razão pela qual hidrolisados hemicelulósicos não têm sido muito explorados na produção de bioenergia (RABELO et al., 2011).

Como citado anteriormente, a Tabela 3 apresenta informações acerca das principais tecnologias de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas, quando objetiva-se o uso das mesmas para a produção de biogás. Tendo em vista que o presente trabalho tem como foco a avaliação da utilização do processo hidrotérmico como técnica de pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar, maior ênfase será dada ao entendimento de tal técnica.

3.1.1.1 – Pré-tratamento hidrotérmico dos resíduos lignocelulósicos

O pré-tratamento hidrotérmico, também conhecido como auto-hidrólise, é um processo físico-químico em que a biomassa lignocelulósica é colocada em contato com água submetida a elevados valores de temperatura e pressão. Durante o pré-tratamento por auto-hidrólise, moléculas de água penetram na biomassa, promovendo a hidratação da celulose, a dissolução das hemiceluloses e a remoção parcial de lignina. A exposição da biomassa à auto-hidrólise causa a liberação de grupos acetil provenientes das hemiceluloses e o aumento da despolimerização (RUIZ et al., 2013; BRANDON et al., 2008; ZHENG et al., 2014).

Nesse processo, altas pressões (10 a 40 bar) são utilizadas para manter a água no estado líquido em condições de elevadas temperaturas (150 a 200 °C). Essa tecnologia não requer a adição de produtos químicos e possui uma natureza autocatalítica (ZHENG et al., 2014; SILVA-FERNANDES et al., 2015), tendo em vista que os ácidos orgânicos produzidos contribuem para a solubilização das hemiceluloses.

A auto-hidrólise tem o potencial de produzir um hidrolisado com menores concentrações de compostos tóxicos, quando comparado a outros processos de pré-tratamento, tais como os pré-tratamentos ácido e por explosão a vapor. A eficiência da auto-hidrólise depende do tipo de biomassa, variando em função da sua composição química e das suas propriedades estruturais. As condições do pré-tratamento estão intimamente relacionadas ao tipo de matéria prima e do produto predominante que se deseja obter, tal como biogás, bioetanol ou outros bioprodutos (ZHENG et al., 2014). O pH, a temperatura e o tempo do processo devem ser parâmetros controlados para aprimorar a eficiência do pré-tratamento (TAHERZADEH; KARIMI, 2008).

A Tabela 4 apresenta alguns estudos encontrados na literatura que utilizam a auto-hidrólise como técnica de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas. A partir da revisão da literatura é possível observar que existem muitas pesquisas envolvendo a aplicação da auto-hidrólise como tecnologia de pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos. Entretanto, são poucos os estudos que avaliam a viabilidade de utilização desta técnica para pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar, principalmente com vistas à utilização da fase líquida resultante para a geração de biogás. Isto abre a possibilidade de novos estudos utilizando tal tecnologia com vistas à produção de metano para a biomassa proposta no estudo em questão.

Tabela 4. Estudos envolvendo o pré-tratamento por auto-hidrólise de biomassas lignocelulósicas.

Biomassa lignocelulósica	Aplicação	Condições do pré-tratamento	Resultados relevantes	Referência bibliográfica
Bagaço de cana-de-açúcar	Etanol	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 160 a 200 °C • Tempo reacional: 5 a 20 min • Agitação constante de 50 rpm • RSL: 0,1 g biomassa/mL H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> • Condição ótima de pré-tratamento: temperatura de 190 °C e tempo reacional de 17,2 min • 68,95% de conversão de celulose em etanol 	Da Cruz et al., 2012
	Etanol	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 190 °C • Tempo reacional: 20 min • Agitação constante de 500 rpm • RSL: 0,05 m/v 	<ul style="list-style-type: none"> • 71,6% de conversão de celulose em etanol 	Yu et al., 2013
Madeira de seringueira	Etanol	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 130 a 280 °C • Agitação constante de 500 rpm • RSL: 0,11 g biomassa/g H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> • Condição ótima de pré-tratamento: temperatura de 235,5 °C • Rendimento de conversão de glicose em etanol: 0,183 	Petchpradab et al., 2009
Palha de arroz	Biogás (metano)	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 200 °C • Tempo reacional: 10 min • Pressão: 155 MPa 	<ul style="list-style-type: none"> • Produtividade de biogás: 315,9 7 L biogás/kg SVT • Produtividade de metano: 132,7 L CH₄/kg SVT 	Chandra; Takeuchi; Hasegawa, 2012b

Tabela 4. Estudos envolvendo o pré-tratamento por auto-hidrólise de biomassas lignocelulósicas (continuação).

Biomassa lignocelulósica	Aplicação	Condições do pré-tratamento	Resultados relevantes	Referência bibliográfica
Palha de trigo	Biogás (hidrogênio)	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 170 a 180 °C • Tempo reacional de 7,5 a 15 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Condição ótima de pré-tratamento: temperatura de 180 °C e tempo reacional de 15 min • Produtividade: 178,0 mL H₂/g açúcares • Taxa de produção: 184 mL H₂/d.L_{reator} 	Kongjan et al., 2010
	Biogás (hidrogênio) e etanol	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 180 °C • Tempo reacional de 7,5 a 15 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Produtividade de etanol: 0,41 g etanol/g glicose • Produtividade de H₂: 178 mL H₂/g açúcares 	Kaparaju et al., 2009
	Etanol	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura: 185 a 205 °C • Tempo reacional: 6 a 12 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Condição ótima de pré-tratamento: temperatura de 195 °C e tempo reacional de 6 min • 89% de conversão de celulose em etanol 	Petersen; Larsen; Thomsen, 2009

Fonte: Própria autora.

3.2 – Fundamentos do processo de digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo microbiológico no qual bactérias facultativas e/ou estritamente anaeróbias degradam compostos orgânicos complexos na ausência de oxigênio, convertendo-os em gases metano, dióxido de carbono e outros subprodutos (CAMPOS et al., 1999). Ela é classificada em quatro principais etapas nomeadas hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Diferentes grupos de microrganismos trabalham interativamente na conversão da biomassa, em que o produto de um grupo serve como substrato para os outros (CHERNICHARO, 2007; NIELSEN, 2006). As interações entre diferentes grupos microbianas são complexas. O desequilíbrio entre quaisquer grupos microbianos irá afetar a velocidade de reação global, ou mesmo causar a acumulação de inibidores, podendo resultar em falha do processo de digestão anaeróbia (ZHENG et al., 2014).

As etapas sequenciais do processo de digestão anaeróbia são descritas a seguir.

- **Hidrólise:**

A primeira etapa do processo de degradação anaeróbia de resíduos lignocelulósicos consiste na hidrólise de materiais particulados (polímeros) em materiais dissolvidos mais simples (monômeros e oligômeros) (CHERNICHARO, 2007). Tal mecanismo ocorre pela ação de exoenzimas, tais como celulases, xilanases, proteases e lipases, as quais são excretadas por micro-organismos anaeróbios facultativos e/ou estritamente anaeróbios (NIELSEN, 2006). As conversões de carboidratos em açúcares simples, de lipídeos em ácidos graxos e de proteínas em aminoácidos ocorrem na etapa de hidrólise (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012b).

Nesta fase, as ligações covalentes das moléculas orgânicas complexas são quebradas numa reação química com a água. A hidrólise dos carboidratos pode ocorrer em poucas horas, ao passo que a hidrólise de proteínas e lipídeos pode levar alguns dias (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012b). Na anaerobiose, vários fatores podem afetar o grau e a taxa em que o substrato é hidrolisado. Dentre tais fatores, pode-se citar: temperatura operacional do reator, tempo de residência do substrato no reator, composição do substrato, tamanho das partículas e pH do meio (CHERNICHARO, 2007).

- **Acidogênese:**

Os produtos solúveis oriundos da fase de hidrólise são metabolizados no interior das células, através de metabolismo fermentativo. Os micro-organismos acidogênicos fermentam açúcares, aminoácidos e ácidos graxos, resultantes da hidrólise da matéria orgânica complexa, e produzem diversos compostos mais simples (CHERNICHARO, 2007). Dentre os produtos gerados, podem ser citados os ácidos de cadeia curta, moléculas C1-C5 (ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), álcoois, hidrogênio e dióxido de carbono, além de novas células bacterianas. Em virtude da grande quantidade de ácidos gerados, essa etapa é denominada fase ácida (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012b).

Um parâmetro importante para a regulação do metabolismo das bactérias fermentativas é a pressão parcial de hidrogênio. A concentração de gás hidrogênio dissolvido afeta os tipos de produtos gerados na fermentação, uma vez que o mesmo é produto e reagente de várias reações bioquímicas reversíveis, cujo valor de energia livre de Gibbs é próximo de zero (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). Quanto maior a pressão parcial de hidrogênio, menor será a concentração de ácidos com baixo número de carbonos, como o acetato, o que leva ao acúmulo de compostos mais reduzidos, como os ácidos propiônico, (iso) butírico e (iso) valérico (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012b). A grande variação dos produtos de fermentação se deve à capacidade das bactérias fermentativas em alterar o seu metabolismo em relação a reações mais energeticamente favoráveis, dependendo das condições externas (NIELSEN, 2006).

- **Acetogênese:**

A acetogênese é a conversão dos produtos da acidogênese em substratos para a produção de metano (CAMPOS et al., 1999). As bactérias acetogênicas são responsáveis pela oxidação de compostos orgânicos intermediários, como propionato e butirato, em substratos para as arqueias metanogênicas, que são acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (CHERNICHARO, 2007). Além disso, existem os micro-organismos homoacetogênicos, os quais reduzem H_2 e CO_2 a ácido acético (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012b).

As bactérias acetogênicas crescem em uma relação simbiótica com as arqueias metanogênicas. Dessa forma, os valores de pressão de hidrogênio são importantes para manter o

equilíbrio dinâmico entre as etapas de acetogênese e metanogênese. Se o hidrogênio se acumula no sistema, ocorrendo aumento da pressão de hidrogênio, as bactérias produtoras de acetato cessam sua atividade, comprometendo a formação de acetato. Diante disso, as arqueias metanogênicas hidrogenotróficas utilizam o hidrogênio e o dióxido de carbono para a produção de metano, minimizando assim o aumento excessivo da pressão de H₂ (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012b; CHERNICHARO, 2007).

As reações mais importantes que ocorrem na fase acetogênica são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Principais reações da fase acetogênica do processo de digestão anaeróbia.

Substrato → Produto	Reação	ΔG° (kJ/mol)
Butirato ⇌ Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+ 48,1
Propionato ⇌ Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2 + \text{HCO}_3^-$	+ 76,1
Etanol ⇌ Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+ 9,6
H₂ + CO₂ ⇌ Acetato	$4\text{H}_2 + 2\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-104,6

Fonte: NIELSEN, 2006. Adaptado.

- **Metanogênese:**

A etapa final do processo global de conversão anaeróbia de compostos orgânicos em metano é efetuada pelos micro-organismos metanogênicos. Em função de sua fisiologia, as arqueias metanogênicas, micro-organismos anaeróbios estritos, são divididas em dois principais grupos: metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas. As metanogênicas acetoclásticas utilizam acetato como fonte de carbono e energia, produzindo dióxido de carbono e metano. Elas são responsáveis por cerca de 60 a 70% de toda a produção de metano. As metanogênicas hidrogenotróficas utilizam o gás carbônico como fonte de carbono e o hidrogênio como fonte de energia. Nessas circunstâncias, o dióxido de carbono é reduzido bioquimicamente pelo hidrogênio para produzir metano (CHERNICHARO, 2007).

O metano é produzido pelos micro-organismos acetoclásticos e hidrogenotróficos conforme as reações apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. Principais reações que ocorrem na fase metanogênica do processo de digestão anaeróbia.

Substrato → Produto	Reação	ΔG° (kJ/mol)
Acetato \rightleftharpoons Metano	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31,0
$\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightleftharpoons$ Metano	$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-135,6

Fonte: NIELSEN, 2006. Adaptado.

Exemplos de ambientes em que o processo de digestão anaeróbia ocorre naturalmente são sedimentos de corpos de água, o trato intestinal dos ruminantes e aterros sanitários. Além disso, esse processo é utilizado pelo homem para o tratamento de resíduos orgânicos em biorreatores anaeróbios (NIELSEN, 2006).

Quando comparada aos processos de tratamento aeróbios, a digestão anaeróbia apresenta diversas características favoráveis, tais como produção de bioenergia, maior aplicabilidade ao tratamento de resíduos sólidos, menor consumo de energia (não requer aeração), menores custos de implantação e operação, menor produção de sólidos (a taxa de crescimento dos micro-organismos anaeróbios é menor), menor consumo de nutrientes, maior tolerância a elevadas cargas orgânicas e possibilidade de operação com elevados tempos de retenção de sólidos e baixos tempos de detenção hidráulica (CHERNICHARO, 2007). Além disso, a possibilidade de se produzir bioenergia a partir de diferentes substratos é uma das principais vantagens da digestão anaeróbia frente a outros processos, tal como a produção de etanol, cujo substrato é a cana-de-açúcar. De fato, muitas matérias-primas biodegradáveis, tais como efluentes e resíduos industriais, resíduos alimentares e frações orgânicas de resíduos sólidos urbanos são utilizados como substratos para a produção de biogás no processo de digestão anaeróbia (ZHENG et al., 2014).

3.2.1 – Digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos

Atualmente, a biomassa lignocelulósica vem ganhando muita notoriedade como substrato para a produção de bioenergia e bioprodutos. Ao contrário de certas matérias-primas

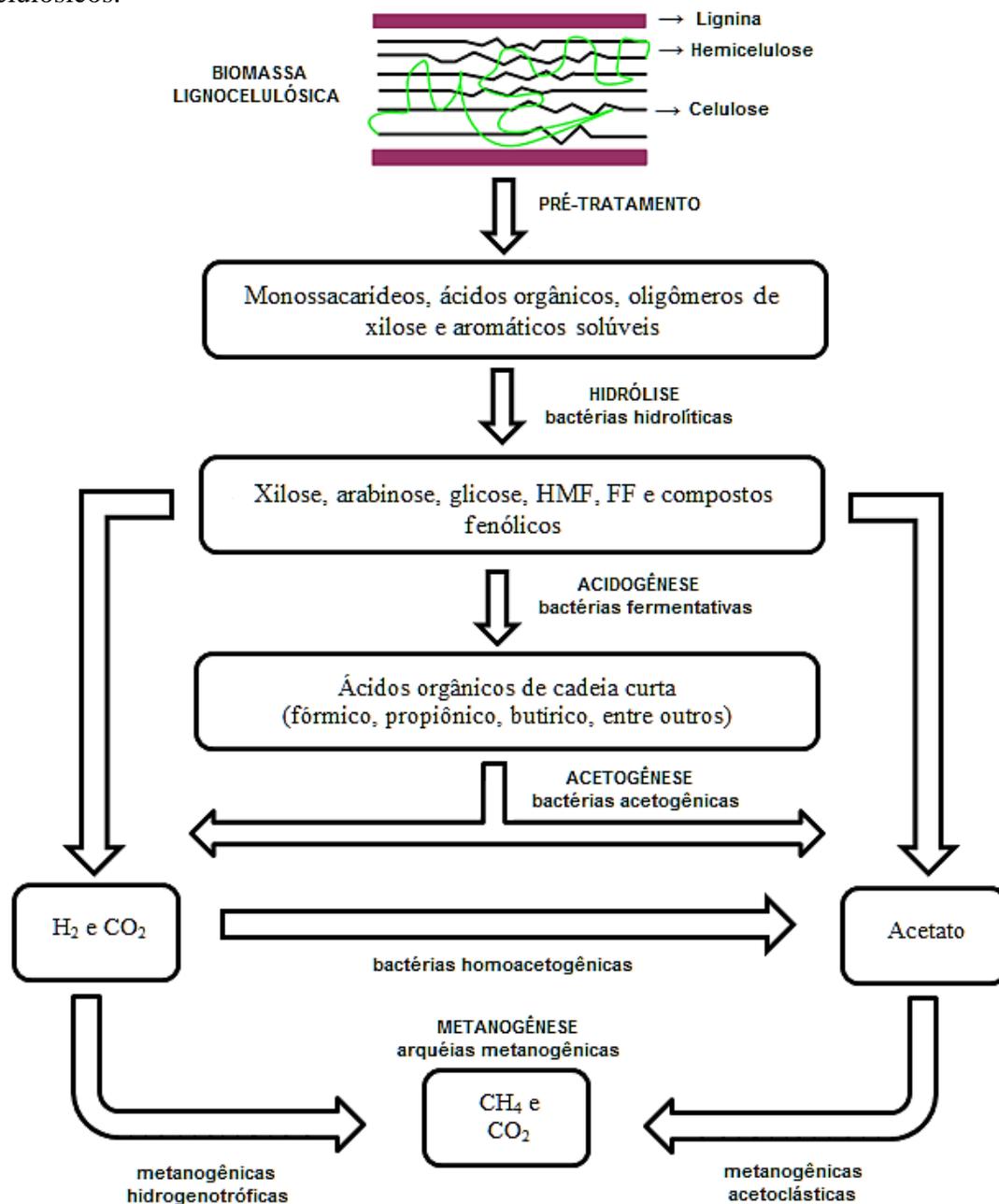
convencionais para a produção de bioenergia, as biomassas lignocelulósicas não competem diretamente com alimentos (SAWATDEENARUNAT et al., 2015).

A digestão anaeróbia é uma das tecnologias de bioconversão mais promissoras para a produção de bioenergia renovável. Dessa forma, esse processo pode ser integrado a uma biorrefinaria lignocelulósica, sendo a fração sólida, obtida após o pré-tratamento da biomassa, utilizada para a produção de bioetanol e a fração líquida ou hidrolisado hemicelulósico utilizada para a produção de biogás.

Para a degradação de materiais particulados e recalcitrantes, tais como a biomassa lignocelulósica, a hidrólise é considerada a etapa limitante do processo. Por isso, para alcançar elevadas taxas de degradação e produção de biogás, a biomassa lignocelulósica precisa ser primeiramente pré-tratada, uma vez que os processos de pré-tratamento promovem maior acessibilidade e biodegradabilidade dos compostos biodegradáveis (celulose e hemiceluloses) (ZHENG et al., 2014; MONLAU, et al., 2013).

Como ilustrado na Figura 7, ao ser submetida à tecnologia de pré-tratamento, a biomassa lignocelulósica, constituída basicamente de celulose, hemiceluloses e lignina, terá sua estrutura modificada, de forma a liberar compostos fermentescíveis. A fração líquida gerada nesse processo, denominada como hidrolisado hemicelulósico, contém monossacarídeos, ácidos orgânicos, oligômeros de xilose e aromáticos solúveis. Após a etapa de pré-tratamento, este hidrolisado hemicelulósico é submetido ao processo de digestão anaeróbia. Na etapa hidrolítica, os compostos presentes na fração líquida obtida do pré-tratamento são hidrolisados gerando xilose, arabinose, glicose, HMF, FF e compostos fenólicos. Estes compostos são então submetidos à etapa de acidogênese, produzindo ácidos de cadeia curta. Em seguida, as bactérias acetogênicas convertem os ácidos orgânicos de cadeia curta em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Por fim, as arqueias metanogênicas convertem esses produtos em metano e dióxido de carbono (CHERNICHARO, 2007; MONLAU et al., 2013).

Figura 7. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos.



Fonte: MONLAU et al., 2013. Adaptado.

3.2.2 – Fatores que afetam o processo de digestão anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia é fortemente influenciado por condições ambientais, uma vez que é um processo biológico que requer a interação entre diferentes grupos de micro-organismos. Dessa forma, é necessário um controle adequado dos fatores ambientais que afetam as interações entre os micro-organismos envolvidos, para garantir uma boa eficiência do

processo. Atenção especial deve ser dada aos micro-organismos metanogênicos, considerados os mais vulneráveis às mudanças das condições ambientais (CHERNICHARO, 2007). Os principais fatores ambientais que afetam o processo de digestão anaeróbia são o pH, a alcalinidade, os ácidos voláteis, a temperatura, os nutrientes e os compostos tóxicos, os quais são descritos a seguir.

- pH, alcalinidade e ácidos voláteis:

O pH, a alcalinidade e os ácidos voláteis estão relacionados entre si e são fatores ambientais igualmente importantes para a operação adequada dos processos anaeróbios. No processo de digestão anaeróbia, o pH afeta significativamente o crescimento dos micro-organismos envolvidos nas diferentes etapas do processo. O pH ótimo do meio depende do tipo de micro-organismo envolvido, assim como do tipo de substrato (CHERNICHARO, 2007; VERSIANI, 2005).

As arqueias metanogênicas têm um crescimento ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4, embora possam ser estáveis numa faixa de pH entre 6,0 e 8,0. As bactérias produtoras de ácidos têm um crescimento ótimo na faixa de pH entre 5,0 e 6,0. Dessa forma, o controle de pH objetiva principalmente a eliminação do risco de inibição dos micro-organismos metanogênicos, pelos baixos valores de pH, evitando assim a falha do processo. Valores de pH abaixo de 6,0 e acima de 8,0 devem ser evitados, uma vez que estes podem inibir as arqueias metanogênicas, ocasionando uma diminuição significativa ou até mesmo cessando a produção de metano (CHERNICHARO, 2007; VERSIANI, 2005).

Nos processos anaeróbios, os dois principais fatores que afetam o pH são o ácido carbônico e os ácidos voláteis. A alcalinidade do sistema se deve principalmente aos íons carbonato e bicarbonato e, secundariamente, aos íons hidróxidos, silicatos, boratos, fosfatos e amônia. A alcalinidade e os ácidos voláteis são provenientes da decomposição dos compostos orgânicos durante o processo de digestão anaeróbia. A interação entre eles durante a digestão anaeróbia está fundamentada na capacidade da alcalinidade do sistema em neutralizar os ácidos formados no processo e também em tamponar o pH, caso ocorra o acúmulo de ácidos voláteis. O tamponamento de um sistema representa a capacidade de uma solução em evitar mudanças no pH e uma solução tampão consiste na mistura de um ácido fraco com o seu sal correspondente,

evitando tanto o aumento como o abaixamento do pH (CHERNICHARO, 2007; VERSIANI, 2005).

Conforme Chernicharo (2007, p. 41):

Quando as populações de bactérias acetogênicas e de arqueas metanogênicas se encontram presentes em quantidades suficientes, e as condições ambientais no interior do sistema são favoráveis, estas utilizam os ácidos intermediários, tão rapidamente quanto estes são formados. Como resultado, os ácidos não se acumulam além da capacidade neutralizadora da alcalinidade naturalmente presente no meio, o pH permanece numa faixa favorável às metanogênicas e o sistema anaeróbio é considerado em equilíbrio. Entretanto, se as bactérias acetogênicas e as arqueas metanogênicas não estiverem presentes em número suficiente, ou se estiverem expostas a condições ambientais desfavoráveis, estas não serão capazes de utilizar os ácidos intermediários na mesma taxa em que são produzidos pelas bactérias acidogênicas, resultando numa acumulação de ácidos no sistema. Nestas condições, a alcalinidade é consumida rapidamente e os ácidos livres, não neutralizados, provocam a queda do pH. Esta situação é normalmente referenciada como a de um reator *azedo*.

- Temperatura:

A temperatura afeta os processos biológicos de duas formas: influenciando as taxas das reações enzimáticas e influenciando as taxas de difusão de substrato. Os micro-organismos não possuem mecanismos para controle de sua temperatura interna e, portanto, a temperatura no interior da célula é determinada pela temperatura ambiente externa (CHERNICHARO, 2007).

As variações na temperatura de operação do biodigestor afetam a atividade biológica, inibindo alguns micro-organismos anaeróbios, como as arqueias metanogênicas. Uma mistura adequada do conteúdo do biodigestor impede o desenvolvimento de zonas de variação da temperatura no interior do mesmo (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a).

Três faixas de temperatura podem ser associadas ao crescimento microbiano nos processos biológicos. Na faixa de temperatura psicrófila, os micro-organismos produzem metano quando a temperatura do processo é de até 20 °C. Na faixa de temperatura mesófila, os micro-organismos produzem biogás no intervalo de temperatura de 20 a 45 °C e a produção atinge o máximo quando a temperatura do processo é mantida em torno de 35 °C. A faixa de temperatura termófila (entre 45 e 70 °C) fornece benefícios de tempo de degradação curto, boa redução de patógenos, produção de biogás elevada e boa separação do lodo, entretanto o processo é mais difícil de ser controlado nessa faixa de temperatura (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a).

Apesar da formação microbiana de metano poder ocorrer numa faixa ampla de temperatura, a maioria das arqueias metanogênicas é ativa em duas faixas de temperatura, que são a faixa de 30 a 35°, que está compreendida na faixa de temperatura mesófila, e a faixa de 50 a 55 °C, que está compreendida na faixa de temperatura termófila (CHERNICHARO, 2007; CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a).

- Nutrientes:

Para um processo de degradação estável e eficiente, é necessário que os nutrientes inorgânicos estejam disponíveis para os micro-organismos em quantidades suficientes. Eles podem ser geralmente classificados como macro e micronutrientes. Nitrogênio, fósforo e enxofre são os macronutrientes mais importantes para o crescimento dos micro-organismos (NIELSEN, 2006).

Geralmente, o nitrogênio é o nutriente inorgânico requerido em maiores concentrações. Ele é essencial para a síntese de proteínas. Em condições anaeróbias, o nitrogênio, nas formas de nitrito e nitrato, não se encontra disponível para o crescimento bacteriano, uma vez que este é reduzido a nitrogênio gasoso e liberado na atmosfera. A amônia, liberada durante a degradação, é a principal fonte de nitrogênio utilizada pelos micro-organismos (CHERNICHARO, 2007). No entanto, se ela estiver presente em concentrações elevadas, será inibitória para o processo de degradação (NIELSEN, 2006).

As exigências de fósforo, que é encontrado nos ácidos nucleicos, fosfolipídios, ATP, NADH e FAD, são menores do que de nitrogênio (NIELSEN, 2006). A maioria dos micro-organismos é capaz de utilizar o ortofosfato inorgânico como fonte de fósforo (CHERNICHARO, 2007).

Assim como o nitrogênio, o enxofre também é necessário para a síntese de proteínas. Segundo Chernicharo (2007), a maioria dos micro-organismos utiliza o sulfeto como fonte de enxofre. É importante enfatizar que a presença de sulfatos pode limitar a metanogênese, porque as bactérias redutoras de sulfato competem por substratos, como o hidrogênio e o acetato. Entretanto, por outro lado, as arqueias metanogênicas dependem da produção de sulfetos para o seu crescimento.

Além do nitrogênio, do fósforo e do enxofre, os quais constituem as macromoléculas das células microbianas juntamente com o carbono e o oxigênio, vários outros elementos são necessários ao processo de digestão anaeróbia, tais como o ferro, o cobalto, o níquel e o molibdênio. Estes elementos são denominados como micronutrientes e a exigência destes micronutrientes é difícil de ser determinada, uma vez que a presença de sulfetos no meio leva à precipitação destes elementos da solução (CHERNICHARO, 2007).

- Compostos tóxicos:

As arqueias metanogênicas geralmente são consideradas os micro-organismos mais sensíveis à toxicidade no processo de digestão anaeróbica. Um número considerável de compostos é tóxico para os micro-organismos anaeróbios, dentre os quais se podem destacar a amônia e os sulfetos. Entretanto, os micro-organismos possuem determinada capacidade de adaptação às concentrações inibidoras da maioria dos compostos, desde que o impacto da toxicidade seja minimizado através de artifícios de projeto, tal como a minimização do tempo de residência das toxinas no sistema. Além disso, pode ocorrer uma aclimatação do processo de digestão anaeróbica, e as concentrações mais elevadas do composto tóxico podem ser toleradas após um período de adaptação (ANGELIDAKI; ELLEGAARD; AHRING, 2003; CHERNICHARO, 2007).

O efeito da adição dos compostos orgânicos e inorgânicos tóxicos ou inibidores do processo anaeróbio pode variar de estimulante a tóxico. Geralmente ocorre a estimulação da atividade microbiana a baixas concentrações do inibidor, entretanto isso depende do tipo de composto presente. Conforme a concentração aumenta, a inibição se torna acentuada e a taxa de atividade microbiana pode cair a zero (CHERNICHARO, 2007).

Elementos tóxicos como cromo, zinco, cobre, arsênio e cianeto são classificados como compostos inorgânicos altamente tóxicos para o processo de digestão anaeróbica. Um dos procedimentos mais eficazes para se controlar a toxicidade por metais pesados é a adição de quantidades suficientes de sulfeto, para precipitá-los (CHERNICHARO, 2007).

3.3 – Biogás

Atribui-se o nome de biogás à mistura gasosa combustível, incolor e de baixa densidade, resultante da degradação anaeróbica da matéria orgânica (COSTA, 2006). Os principais produtos

desse processo são dióxido de carbono e metano, além de pequenas quantidades de nitrogênio, hidrogênio, amônia e sulfeto de hidrogênio. A proporção de cada gás na mistura depende de vários parâmetros, como o tipo de biodigestor e o substrato a ser digerido (ANGELIDAK; ELLEGAARD; AHRING, 2003). O biogás pode ser gerado a partir de várias fontes de biomassa, tais como resíduos lignocelulósicos, lodo de esgoto, efluentes industriais e resíduos sólidos urbanos (PETERSSON et al., 2007).

As preocupações com a utilização excessiva de combustíveis fósseis e os problemas ambientais relacionados ao seu uso têm impulsionado pesquisas para o desenvolvimento de fontes alternativas de energia, como, por exemplo, o biogás (ZHAO et al., 2014). O estudo de viabilidade do emprego de biogás é efetuado pela avaliação da equivalência energética entre o mesmo e o combustível a ser substituído. O potencial energético do biogás, determinado pelo seu poder calorífico, está diretamente relacionado à quantidade de metano contida na mistura gasosa. Sendo assim, quanto maior a quantidade de metano presente na mistura, maior será o poder calorífico do biogás (COSTA, 2006). Segundo Salomon e Lora (2009), o poder calorífico do biogás varia de 22,5 a 25,0 MJ/m³, considerando que o poder calorífico do metano seja de aproximadamente 35,8 MJ/m³.

Algumas vantagens oferecidas pela utilização do biogás como fonte de energia são: i) ele é produzido a partir de recursos renováveis; ii) sua produção independe de fontes oriundas do petróleo; iii) auxilia na redução da poluição causada por resíduos orgânicos, que são responsáveis por boa parte da poluição de água doce; iv) ajuda a minimizar os problemas de gestão de resíduos (CHANDRA; TAKEUCHI; HASEGAWA, 2012a).

O gás metano (CH₄), principal constituinte da mistura gasosa de biogás, pode ser utilizado para a produção de calor e eletricidade, além de ser fonte de hidrogênio via reforma a vapor (PAKARINEN; TÄHTI; RINTALA, 2009). O metano é o hidrocarboneto gasoso mais estável e abundante na atmosfera (BINGEMER; CRUTZEN, 1987). Ele é produzido por uma grande variedade de processos naturais e antropogênicos. Cerca de 70% da produção de CH₄ são provenientes de fontes antropogênicas e cerca de 30% provenientes de fontes naturais (MINAMI, 1997).

As plantas, as zonas úmidas, os cupins e os oceanos são exemplos de fontes naturais de metano, enquanto os campos de cultivo de arroz, a produção de carne e o confinamento de ruminantes, os aterros sanitários, os sistemas de tratamento de esgoto, a queima de biomassa e a queima de combustíveis fósseis são fontes antropogênicas (CONRAD, 2009). A maior parte do metano atmosférico origina-se do metabolismo microbiano, mais precisamente da sua produção por arqueias metanogênicas no processo de digestão anaeróbia.

O metano representa um problema ambiental, que contribui para a intensificação do efeito estufa e aquecimento global. Segundo Zheng et al. (2014), o potencial de aquecimento global do metano é estimado como sendo cerca de 25 vezes mais elevado do que o potencial do dióxido de carbono. Dessa forma, um dos benefícios da utilização da digestão anaeróbia a partir de biomassas é a redução das emissões fugitivas de metano, uma vez que esse processo permite a recuperação de energia através do armazenamento e aproveitamento do biogás gerado.

3.3.1 – Configurações de reatores anaeróbios

Diferentes condições operacionais, tais como sistemas em batelada, sistemas contínuos de um estágio e sistemas contínuos de duplo estágio têm sido aplicados para a produção de biogás. Além disso, várias configurações de reatores têm sido utilizadas no processo de digestão anaeróbia, tais como reatores contínuos de tanque agitado (CTSR), reatores anaeróbios de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB), reatores anaeróbios de leito fixo ou fluidizado e reatores anaeróbios em batelada sequencial (ASBR). Esses processos diferem essencialmente no modo como os micro-organismos são retidos no biorreator e na separação ou não entre as fases acidogênica e metanogênica da digestão anaeróbia (BOUALLAGUI et al., 2005).

Em processos de digestão anaeróbia em batelada, os digestores são alimentados uma vez e o processo passa por todas as etapas de degradação sequencialmente até que a matéria orgânica biodegradável seja completamente consumida. Os reatores em batelada de bancada (em escala laboratorial) são, de fato, o tipo mais utilizado para se determinar o potencial bioquímico de metano (BMP), que fornece informações sobre a produção de metano e a biodegradabilidade de um substrato (BOUALLAGUI et al., 2005; SUN, 2015).

Nos processos de digestão anaeróbia em sistemas contínuos de um estágio, os biodigestores são alimentados continuamente com o material a ser degradado e os resíduos da digestão são

removidos simultaneamente. Levando-se em consideração que os grupos de micro-organismos acidogênicos e metanogênicos são diferentes no que diz respeito às suas necessidades nutricionais, fisiologia, pH ótimo, crescimento e absorção de nutrientes, nos processos de digestão anaeróbia em sistemas contínuos em um estágio, condições uniformes são impostas aos diferentes grupos de micro-organismos. Por sua vez, nos sistemas contínuos de duplo estágio, as etapas de degradação microbiológica são separadas em dois digestores. O primeiro digestor é utilizado para as etapas de hidrólise/acidogênese/acetogênese e o segundo digestor para a metanogênese. Esse processo permite o maior controle das etapas intermediárias do processo de digestão anaeróbia. Entretanto, alguns pesquisadores preferem utilizar sistemas de um estágio por causa de seus projetos mais simples e menores custos de investimento (BOUALLAGUI et al., 2005; SUN, 2015).

Entre as configurações de reatores em sistemas contínuos, reatores CSTR e UASB são os mais amplamente empregados. Reatores CSTR são simples de operar, entretanto, menos eficientes em termos da qualidade do efluente em comparação com outras configurações de reatores, tais como os reatores UASB. Em geral, o reator UASB tem algumas vantagens sobre o CSTR, dentre as quais se pode destacar o fato de que o primeiro pode ser operado em tempos de detenção hidráulica mais curtos, permitindo assim um menor tempo de operação e reduzindo os custos do processo. A principal limitação do CSTR é o fato de que o tempo de detenção hidráulica do reator é igual ao tempo de retenção celular, o que implica em grandes volumes de reator em processos anaeróbios, uma vez que os micro-organismos anaeróbios apresentam crescimento mais lento (KAPARAJU; SERRANO; ANGELIDAKI, 2009).

A Tabela 7 apresenta uma breve revisão da literatura sobre alguns estudos envolvendo a aplicação de diferentes biorreatores na produção de biogás por digestão anaeróbia a partir de biomassas lignocelulósicas. Não foram encontrados trabalhos na literatura utilizando biorreatores contínuos para a produção de metano a partir de hidrolisados obtidos no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar. Tal consideração abre a possibilidade para a realização de estudos que avaliem o uso de tais biorreatores com vistas a garantir altas eficiências de produção de metano por digestão anaeróbia de hidrolisados provenientes do pré-tratamento da biomassa em questão.

Tabela 7. Estudos envolvendo a utilização de diferentes biorreatores para produção de biogás a partir de biomassas lignocelulósicas.

Biorreator	Aplicação	Condições de operação para produção de biogás	Biomassa lignocelulósica	Pré-tratamento da biomassa	Produtividade de biogás (H ₂ ou CH ₄)	Referência bibliográfica
Batelada	Hidrogênio	<ul style="list-style-type: none"> Inóculo: estrume de elefante (5,24 g SSV/L) submetido a tratamento térmico (100 °C, 2 h) Temperatura: 37 °C 	Bagaço de cana-de-açúcar	Ácido e alcalino	0,84 mol H ₂ /mol açúcares	Fangkum; Reungsang, 2011
	Metano	<ul style="list-style-type: none"> Temperatura: 37 °C Relação A/M: 1 Relação C/N: 25 Concentração de sólidos totais do substrato: 50 g/L 	Palha de arroz	Alcalino e hidrotérmico	<ul style="list-style-type: none"> Pré-tratamento alcalino: 74,1 L CH₄/kg SVT Pré-tratamento hidrotérmico: 132,7 L CH₄/kg SVT 	Chandra; Takeuchi; Hasegawa, 2012b
CSTR	Hidrogênio	<ul style="list-style-type: none"> Temperatura: 70 °C TDH: 72 h Volume útil do reator: 700 mL Concentração de hidrolisado: 20% v/v 	Palha de trigo	Hidrotérmico	178,0 mL H ₂ /g açúcares	Kongjan et al., 2010
		<ul style="list-style-type: none"> Inóculo: proveniente de ETE e submetido a tratamento térmico (100 °C, 1 h) Volume útil do reator: 1,2 L Temperatura: 37 °C pH: 5,5 	Palha de arroz	Ácido	0,69 mol H ₂ /mol açúcares	Liu et al., 2013

Tabela 7. Estudos envolvendo a utilização de diferentes biorreatores para produção de biogás a partir de biomassas lignocelulósicas (continuação).

Biorreator	Aplicação	Condições de operação para produção de biogás	Biomassa lignocelulósica	Pré-tratamento da biomassa	Produtividade de biogás (H ₂ ou CH ₄)	Referência bibliográfica
CSTR e UASB	Metano	<p><u>CSTR:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Inóculo: estrume de vaca • Volume útil do reator: 3,5 L <ul style="list-style-type: none"> • TDH: 20 d • Carga orgânica aplicada: 1,35 a 1,65 g SV/L.d • Temperatura: 55 °C 	Palha de trigo	Hidrotérmico	<ul style="list-style-type: none"> • Produtividade para CSTR: 297 mL CH₄/g DQO • Produtividade para UASB: 267 mL CH₄/g DQO 	Kaparaju; Serrano; Angelidaki, 2009
		<p><u>UASB:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Inóculo: proveniente de ETE de indústria de batata • Volume útil do reator: 255 mL <ul style="list-style-type: none"> • TDH: 48 h • Carga orgânica volumétrica: 2,26 a 14,82 g DQO/L.d • Concentração de hidrolisado: 5 a 50% v/v • Temperatura: 55 °C 				
UASB	Metano	<ul style="list-style-type: none"> • Inóculo: lodo granular metanogênico (20 g SSV/L) • Volume útil do reator: 1,1 L <ul style="list-style-type: none"> • TDH: 24 h • Carga orgânica volumétrica: 0,5 a 11,5 g DQO/L.d 	Palha de aveia	Ácido, alcalino/oxidativo e enzimático (em sequência)	0,36 L CH ₄ /g DQO	Gomez-Tovar et al., 2012

Fonte: Própria autora.

3.4 – Conclusões da revisão bibliográfica

A partir da revisão da literatura, foi possível constatar que resíduos lignocelulósicos podem ser utilizados como fontes de açúcares fermentescíveis para a produção de biocombustíveis, tais como bioetanol de segunda geração (etanol 2G), biogás e outros bioprodutos de valor agregado, desde que tal biomassa seja submetida a alguma técnica de pré-tratamento. As técnicas de pré-tratamento promovem a desagregação dos constituintes da biomassa lignocelulósica e o aumento da degradabilidade da mesma.

Dentre as diferentes técnicas de pré-tratamento existentes, pode-se destacar o processo físico-químico denominado como auto-hidrólise. Estudos realizados por diferentes pesquisadores apontam que as principais vantagens da auto-hidrólise são a não adição de insumos químicos, a eficácia no aumento da acessibilidade e susceptibilidade da área superficial da biomassa lignocelulósica, e a geração de um hidrolisado com menores concentrações de produtos inibidores quando comparado às técnicas que utilizam baixos valores de pH. Mediante as vantagens apresentadas, um número significativo de estudos vem sendo desenvolvidos com intuito de avaliar o uso de tal técnica de pré-tratamento para diferentes tipos de biomassas, com distintas finalidades.

A literatura atesta que o processo de digestão anaeróbia é promissor para a produção de energia renovável, tendo em vista que nesse processo ocorre a conversão microbiana da matéria orgânica em biogás com potencial energético, como o metano. Diante do exposto, vários pesquisadores têm realizado estudos envolvendo a aplicação de biorreatores na produção de biogás por digestão anaeróbia.

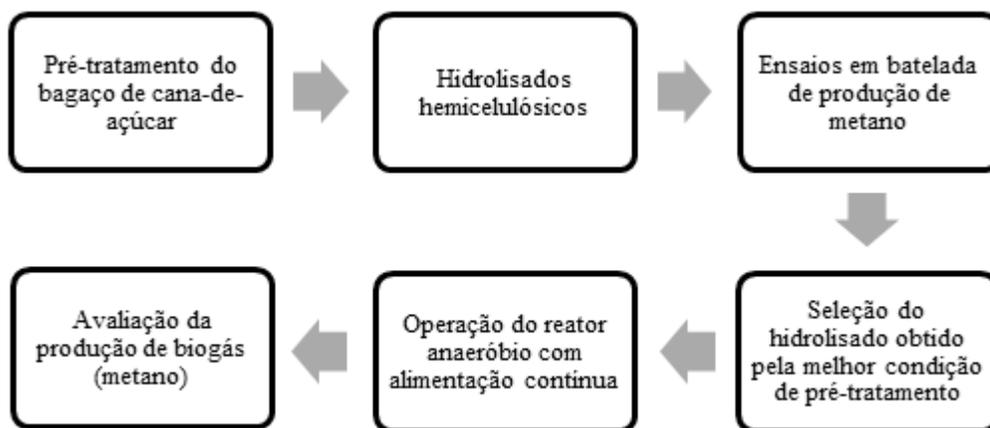
Não foram encontrados estudos na literatura que investigaram a produção de biogás em sistema contínuo a partir dos hidrolisados hemicelulósicos gerados no pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar. Dessa forma, o presente trabalho contribuirá para o avanço de conhecimentos na área de biorrefinaria lignocelulósica, uma vez que se pretende verificar a efetividade da auto-hidrólise como técnica de pré-tratamento do bagaço de cana, tendo como foco a obtenção de um hidrolisado capaz de ser empregado na produção de metano por digestão anaeróbia.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

Este capítulo tem por objetivo apresentar a metodologia empregada na execução da pesquisa. São mostrados os procedimentos utilizados no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar, nos ensaios em batelada de produção de metano, na montagem e monitoramento do reator anaeróbico com alimentação contínua, bem como as principais técnicas analíticas para a caracterização do hidrolisado.

A Figura 8 apresenta um fluxograma com as principais etapas de desenvolvimento da pesquisa em questão.

Figura 8. Fluxograma resumido das etapas de desenvolvimento da pesquisa.



Fonte: Própria autora.

4.1 – Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado, pertencente à safra de 2013/2014, foi fornecido pela Usina Jatiboca Açúcar e Álcool, situada em Ponte Nova, Minas Gerais. Ele foi moído, peneirado (Mesh 10 (1,7 mm)) e armazenado em temperatura ambiente.

Os ensaios de auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar foram realizados em reator Parr, modelo 4848, que possui 2 L de capacidade, sendo que o volume útil representa 70% de sua capacidade total. As condições ideais de cozimento estabelecidas, discutidas em mais detalhes no Item 4.3 do presente trabalho, foram 178,6 °C, 43,6 min e 0,24 g/mL de razão sólido-líquido (RSL). A temperatura de cozimento foi programada e monitorada com o auxílio de um

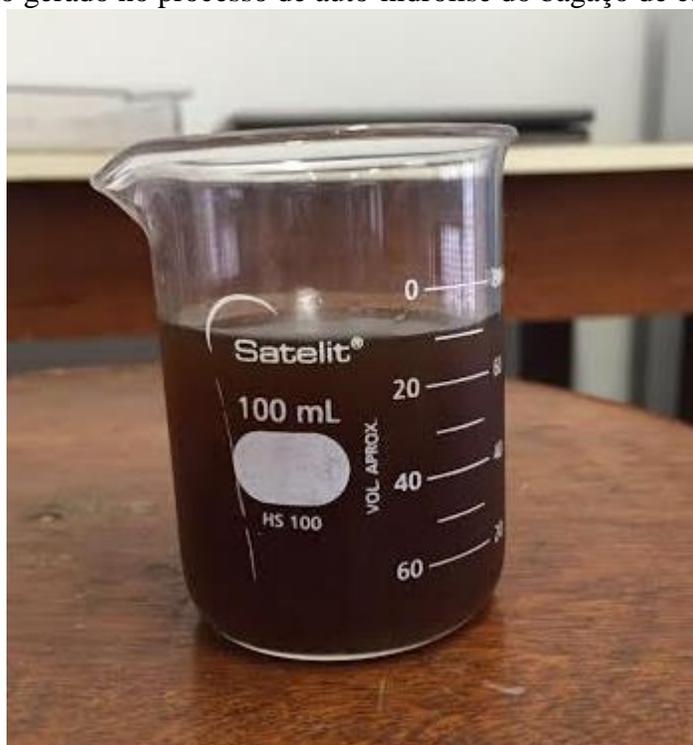
controlador do equipamento. O conteúdo de água do bagaço foi contabilizado nos balanços de massa, sendo a massa de bagaço de cana utilizada nos experimentos fixada em 120 g (base seca).

Após a auto-hidrólise, o bagaço pré-tratado era prensado sob 9 toneladas em uma prensa hidráulica da marca Solab, modelo SL10/15/E. Por fim, o hidrolisado obtido (~ 450 mL) era armazenado em geladeira (a 0 °C) até sua utilização para o preparo de solução de alimentação dos biorreatores (batelada e contínuo).

4.2 – Caracterização química do hidrolisado

A Figura 9 apresenta uma fotografia típica do hidrolisado obtido do pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.

Figura 9. Hidrolisado gerado no processo de auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.



Fonte: Própria autora.

Para suprir a demanda de hidrolisado durante a alimentação contínua do reator anaeróbio, foi necessário efetuar o tratamento hidrotérmico por 20 vezes, usando diferentes amostras do mesmo bagaço de cana-de-açúcar (estocado em saco de 10 kg). Sabendo-se que a caracterização química do hidrolisado é efetuada com o propósito de verificar a sua composição, por questões logísticas, o mesmo não pôde ser caracterizado a cada vez que era produzido, tendo sido feitos

ensaios de caracterização de apenas 1/5 das amostras de hidrolisado obtidas. Conseqüentemente, quatro hidrolisados gerados foram caracterizados e denominados i, ii, iii e iv.

Através do teste de normalidade de Anderson-Darling foi possível observar que cada um dos parâmetros analisados seguia uma distribuição paramétrica dos dados. Portanto, foram efetuados os cálculos da média e desvio padrão para cada parâmetro, a fim de se obter um valor médio (com o respectivo intervalo de confiança) de caracterização do hidrolisado.

Sua caracterização foi feita em termos de pH, monossacarídeos (glicose, xilose e arabinose), ácidos orgânicos (ácido acético e ácido fórmico), produtos de degradação de sacarídeo (2-furfuraldeído e 5-hidroximetil-2-furfuraldeído), demanda química de oxigênio (DQO) e carbono orgânico total (COT), cujas metodologias são detalhadas a seguir.

4.2.1 – Determinação do pH

O pH do hidrolisado foi medido por meio de pHmetro da marca Metrohm, modelo 827, calibrado ao uso.

4.2.2 – Determinação do teor de monossacarídeos, ácidos orgânicos e produtos de degradação de sacarídeos

Os teores de monossacarídeos, ácidos orgânicos e produtos de degradação de sacarídeos foram determinados pela análise cromatográfica dos componentes da solução de hidrolisado. Essa determinação foi realizada por meio da detecção dos seguintes compostos na solução: 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) da Shimadzu, equipado com detector de índice de refração (RID-6A Shimadzu) e coluna Aminex HPX 87H (300 x 7,8 mm Bio-Rad). A mistura eluente era composta de ácido sulfúrico 0,005 mol/L e o fluxo no qual o eluente era bombeado para o sistema foi de 0,6 mL/min. A temperatura do forno (CTO-10A Shimadzu) na qual a coluna era mantida foi de 55°C.

As condições cromatográficas para a determinação dos ácidos orgânicos, FF e HMF eram iguais às condições para determinação dos açúcares. A única alteração foi relacionada à detecção dos compostos que, neste caso, foi feita com auxílio de um detector UV-Vis (SPD-10AV

Shimadzu) operado em canal duplo, sendo o comprimento de onda de 210 nm utilizado para determinação dos ácidos e de 284 nm para análise de FF e HMF.

4.2.3 – Determinação da demanda química de oxigênio (DQO)

As análises de DQO foram realizadas de acordo com o método colorimétrico de refluxo fechado, como descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA/AWWA/WEF, 2005). Para a análise de DQO, as amostras (em triplicatas) eram aquecidas em termoreator Dry Block MA 4004, Marconi (por 2 horas, a 148 °C). Após seu completo resfriamento, elas eram então analisadas em espectrofotômetro HP UV-vis, modelo 8453.

4.2.4 – Determinação do teor de carbono orgânico total (COT)

Para a determinação do teor de carbono orgânico total, a amostra foi previamente centrifugada a 3.600 rpm por 10 minutos, em centrífuga Fanem Excelsa Baby I, modelo 206, e o sobrenadante obtido foi filtrado em membrana de acetato de celulose de 0,45 µm. A análise de carbono orgânico total (COT) foi efetuada no instrumento TOC-LCSH/CSN, da Shimadzu. O carbono orgânico total foi medido de forma indireta, subtraindo-se do carbono total (CT) o valor referente ao carbono inorgânico (CI). O carbono total (CT) foi medido pela oxidação catalítica, a CO₂, de todo o carbono presente na amostra, na temperatura de 720 °C. Para medição do carbono inorgânico (CI), a amostra era acidificada com ácido fosfórico e pulverizada para desprender (purgar) o CI presente na forma de CO₂. Em ambos os casos (CI e CT), o dióxido de carbono liberado foi medido por espectroscopia na região do infravermelho. O limite de detecção do método foi estimado em 0,2 mg COT/L e a faixa de linearidade era de 0,2 a 500 mg/L.

4.3 – Ensaios em batelada para produção de metano

4.3.1 – Planejamento experimental

Um estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa otimizou as condições do pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar por auto-hidrólise, com o auxílio do planejamento experimental Doehlert. As variáveis independentes avaliadas durante tal planejamento foram temperatura (T, °C), tempo (t, min) e razão sólido-líquido (RSL, g/mL). As variáveis dependentes monitoradas foram teor de açúcares (C5 - C6, g), teor de furanos (HMF - FF, g) e teor de lignina solúvel (LS,

g) presentes no hidrolisado. O planejamento experimental gerou 19 experimentos, conforme detalhes apresentados em Baêta et al. (2016).

Partindo-se dos resultados obtidos pelo planejamento experimental realizado, utilizou-se a ferramenta estatística conhecida como função de desejabilidade. Para a execução dos ensaios de desejabilidade, foram definidas quatro condições experimentais (CE) que avaliassem a influência das variáveis dependentes (C5-C6, HMF-FF, LS) na produção de CH₄ por digestão anaeróbia. Sabe-se que a produção de biogás a partir dos hidrolisados obtidos pelo pré-tratamento por auto-hidrólise do resíduo lignocelulósico é facilitada em condições que promovam maior liberação de açúcares. Portanto, buscou-se definir condições experimentais que avaliassem a influência que o teor de lignina solúvel e o teor de furanos exerceriam na produção de CH₄, assim como a influência exercida pela presença de baixo ou alto teor de ambos. A Tabela 8 apresenta as características de cada uma das condições experimentais definidas, assim como os valores ótimos das variáveis independentes avaliadas (T, t, RSL), determinados pela função de desejabilidade.

Tabela 8. Características das condições experimentais estabelecidas, tendo como base o valor das variáveis dependentes e os parâmetros das quatro condições experimentais estudadas, calculadas pela ferramenta de desejabilidade.

Condição experimental	1	2	3	4
Dados de entrada (<i>input</i>)				
Teor de açúcares	Máximo	Máximo	Máximo	Máximo
Teor de furanos	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
Teor de lignina solúvel	Máximo	Mínimo	Mínimo	Máximo
Dados calculados (<i>output</i>)				
RSL (g/mL)	0,14	0,24	0,19	0,25
Temperatura (°C)	185,0	178,6	178,6	182,9
Tempo (min)	55,0	43,6	55,0	40,7

Fonte: Própria autora.

Dessa forma, foram desenvolvidos experimentos em batelada para avaliar a produção de CH₄ a partir dos hidrolisados obtidos do processo de auto-hidrólise para cada uma das quatro condições experimentais (CE) definidas pela função de desejabilidade. O hidrolisado que obteve o melhor resultado de produção de metano nos ensaios em batelada foi utilizado como substrato para a realização dos experimentos com alimentação contínua em escala de bancada.

4.3.2 – Condições de incubação dos frascos-reatores

O conteúdo orgânico dos hidrolisados empregados nos ensaios de digestão anaeróbia em batelada foram: 2.911,67 mg COT/L (CE 1); 1.797,50 mg COT/L (CE 2); 2.322,00 mg COT/L (CE 3); e 2.945,00 mg COT/L (CE 4). A determinação destas concentrações é importante para o cálculo do potencial bioquímico de metano, expresso em termos de volume de metano produzido em relação à massa de COT alimentada no ensaio.

Os ensaios em batelada foram executados em triplicata. Além disso, efetuou-se a incubação de um frasco denominado ‘branco’, que representa um frasco-reator sem a presença de substrato, para avaliação da produção endógena de metano. Os experimentos foram realizados em frascos âmbar de 275 mL, dos quais 150 mL compreendiam a fase líquida e a diferença representava a fase gasosa (*headspace*).

O inóculo utilizado (24,79 g SSV/L) foi retirado de um reator UASB em escala piloto que trata esgoto sanitário no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS), localizado na Estação de Tratamento de Esgoto do Arrudas (ETE-Arrudas), em Belo Horizonte, Minas Gerais. Ele foi previamente submetido a uma etapa de aclimação, que consistiu em deixá-lo sem alimentação por um período de sete dias. De acordo com Aquino et al. (2007), a etapa de aclimação é importante para minimizar a produção de biogás endógena.

Nos ensaios em batelada, os frascos foram preenchidos com substrato, inóculo, água destilada e solução nutriente, de forma a se manter uma relação alimento/micro-organismo (A/M) de 0,4 g COT/g SSV (BAËTA et al., 2016). O pH das amostras foi corrigido para uma faixa entre 6,6 e 7,4 e N₂ (99,9999% de pureza – White Martins) foi fluxionado no *headspace* dos frascos por 5 min, para garantir uma condição de anaerobiose.

Para que houvesse suficiente contato da biomassa com o substrato e para que não houvesse limitações de transferência de massa do substrato e dos nutrientes, os frascos foram inseridos em uma incubadora de bancada com agitação orbital (Shaker Solab, modelo SL 222), na ausência de luz, com agitação constante de 110 rpm e a uma temperatura controlada de 35 °C.

Uma solução contendo micro e macronutrientes foi preparada conforme Aquino et al. (2007), a fim de manter uma proporção de DQO: N: P próxima da relação ideal de 350: 5: 1. A Tabela 9 mostra detalhadamente os reagentes e as concentrações utilizadas para o preparo da solução nutriente para uma DQO de 10.000 mg/L.

Tabela 9. Solução nutriente utilizada nos ensaios de degradação anaeróbia preparados para DQO de 10.000 mg/L.

Macronutrientes	Concentração (mg/L)	Micronutrientes	Concentração (mg/L)
NH₄Cl	2.224,00	FeCl₃.6H₂O	10,00
(NH₄)₂HPO₄	265,00	ZnCl₂	0,26
(NH₄)₂HPO₄	89,00	MnCl₂.4H₂O	2,50
MgCl₂	500,00	(NH₄)₆MO₇O₂₄.4H₂O	3,20
CaCl₂.2H₂O	378,00	AlCl₃.6H₂O	0,26
NaHCO₃	5.000,00	CoCl₂.6H₂O	10,00
-	-	NiCl₂.6H₂O	26,00
-	-	H₃BO₃	6,00
-	-	CuCl₂.2H₂O	16,00
-	-	HCl	1 mL/L

Fonte: AQUINO et al., 2007.

4.3.3 – Quantificação da produção de metano nos ensaios em batelada

A produção de metano foi avaliada em um cromatógrafo de fase gasosa da marca Shimadzu, modelo GC-2014, equipado com detector de condutividade térmica (TCD). O metano presente no *headspace* dos frascos foi separado em coluna Rt – Msieve 5A (30m x 0.53mm x 50 µm), usando nitrogênio como gás de arraste, sendo a temperatura da coluna mantida em 40 °C. As temperaturas do detector e do injetor foram programadas em 120 °C. Para a quantificação de metano, uma alíquota de 1 mL de biogás era retirada do frasco âmbar e injetada no cromatógrafo por meio de uma seringa de vidro esmerilhado. Após cada injeção, o gás acumulado no *headspace* do frasco era liberado para evitar acúmulo de pressão. A quantificação do gás foi feita a partir da construção de uma curva de calibração, pela injeção de diferentes volumes de gás padrão CH₄ (99,5% de pureza – White Martins) no equipamento.

A fração de metano presente no biogás foi determinada inicialmente de 3 em 3 horas e posteriormente a cada 24 horas, quando o sistema atingiu a fase de produção exponencial. Os testes foram finalizados quando a produção acumulada de gás encontrou-se estável. A frequência elevada das medidas de composição do biogás nos ensaios em batelada teve por objetivo permitir a modelagem da produção de metano mediante digestão anaeróbia dos hidrolisados de bagaço de cana-de-açúcar.

4.3.4 – Modelagem da produção de metano nos ensaios em batelada

Os resultados obtidos de produção acumulada de metano foram ajustados ao modelo de Gompertz modificado (GM) que, segundo Zwietering et al. (1990), é um modelo com função sigmoideal utilizado para descrever a produção de biogás em ensaios em batelada. Os parâmetros do modelo são estimados por métodos iterativos, tal qual o método dos mínimos quadrados. O software utilizado para ajuste dos dados ao modelo foi o Matlab 7.10.0, e a formulação matemática do modelo é apresentada na Equação 1.

$$\text{Produção de CH}_4 = P \cdot \exp \left[\frac{R_m \cdot e}{P} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \quad (1)$$

em que a produção de CH₄ é dada em mL/g COT; P é o potencial de produção de metano (mL/g COT); R_m é a taxa máxima de produção de metano (mL/g COT.d); λ é o período da fase *lag* (d); e *e* representa a constante de Euler.

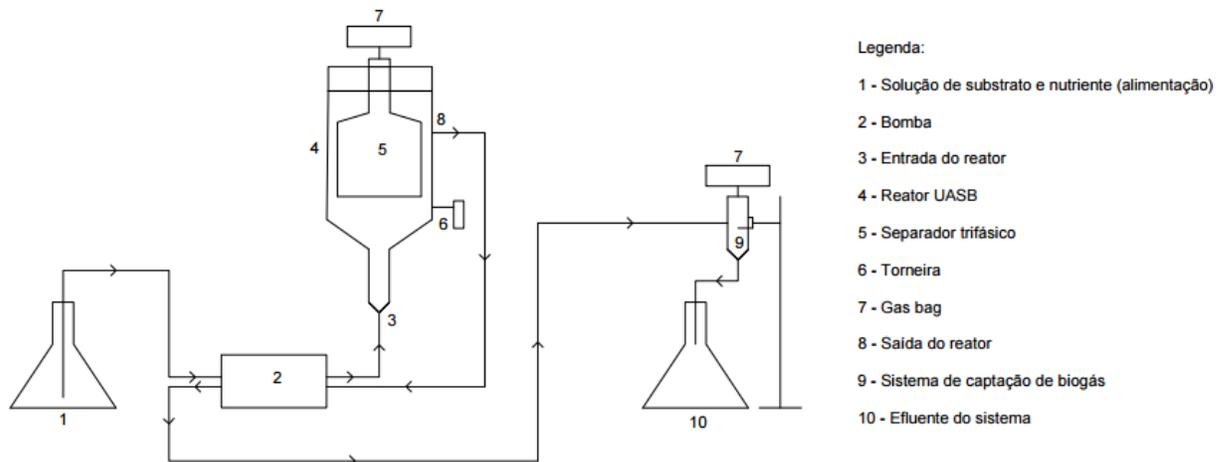
4.4 – Produção de biogás (metano) em reator anaeróbico do tipo UASB

4.4.1 – Aparato experimental

Para a alimentação contínua de um reator anaeróbico com hidrolisados de bagaço de cana-de-açúcar, construiu-se um reator do tipo UASB (reator anaeróbico de manta de lodo e fluxo ascendente), em escala de bancada. O biorreator foi construído utilizando-se tubos e conexões de cloreto de polivinila (PVC), com volume útil de 2,3 L, conforme mostra a Figura 10. O topo do reator foi fechado com um *cap*, para garantir as condições de anaerobiose no meio, e permitir a coleta e medição do biogás produzido.

A solução de alimentação foi bombeada para o reator sob vazão constante (0,125 L/h), por meio de uma bomba peristáltica de dois canais (Milan, modelo 628). Uma torneira foi acoplada no biorreator (Figura 10, item 6), para possibilitar a coleta de amostra de dentro do mesmo. Da mesma forma, um saco coletor de gás ou *gas bag* de 0,6 L (Supelco Analytica, modelo 30228-U) foi inserido no topo do reator para permitir a coleta do biogás produzido. Com o objetivo de evitar perdas de biogás dissolvido no efluente, foi montado um sistema de captação de gás, na linha de saída do efluente. Tal dispositivo consistiu em uma *gas bag* acoplada a uma seringa (Figura 10, item 9), o que permitiu a recuperação do metano dissolvido.

Figura 10. Representação esquemática do sistema de reator anaeróbico com alimentação contínua.



Fonte: Própria autora.

4.4.2 – Condições operacionais

Para dar início ao ensaio contínuo, o reator foi inoculado com lodo anaeróbico proveniente de reator UASB alimentado com esgoto sanitário, o mesmo que foi utilizado para a realização

dos ensaios em batelada (24,79 g SSV/L). De modo a se estabelecer uma relação alimento/micro-organismo de 0,4 g DQO/g SSV, a quantidade de inóculo utilizada correspondeu a 5,75 g SSV. Após inoculação, para o *start-up* do reator UASB, uma solução de xilose com concentração de 1g DQO/L foi bombeada para o reator a uma vazão de 0,125 L/h, e o mesmo demorou aproximadamente 18,4 h para completar o seu volume útil.

Além de xilose e/ou hidrolisado, utilizados como substratos, a solução de alimentação incorporou ainda nutrientes, cujo preparo foi feito conforme Tabela 9, e água de torneira. As vazões de operação do sistema foram reguladas em aproximadamente 0,125 L/h, tendo sido medidas e ajustadas pelo menos duas vezes ao dia. A temperatura do reator não foi controlada e, portanto, a mesma permaneceu-se em condição ambiente, que oscilou de 20 a 30 °C durante toda a operação. O conteúdo do reator UASB foi mantido em pH próximo da neutralidade, por meio da adição de NaHCO₃ (1,5 mol/L) ou HCl (1,5 mol/L) na solução de alimentação, sempre que necessário.

Procedeu-se a operação do reator UASB em três fases operacionais, conforme apresentando na Tabela 10, durante um período de 168 dias. A primeira fase operacional (período de estabilização) se prolongou até que uma condição de estado estacionário, caracterizada como sendo o período no qual a eficiência de remoção de DQO variasse em menos de 5%, fosse atingida. A segunda fase operacional avaliou a proporção xilose/hidrolisado na solução de alimentação, em termos de concentração, e foi dividida em três etapas: na primeira, denominada II-A, a solução de alimentação continha 50% de solução de xilose e 50% de hidrolisado; na segunda, II-B, a alimentação continha 25% de solução de xilose e 75% de hidrolisado; e na terceira, II-C, a alimentação continha 100% de hidrolisado. Por fim, na terceira fase operacional, o fator de diluição do hidrolisado foi alterado de forma a variar a carga orgânica volumétrica aplicada ao sistema, a qual foi progressivamente aumentada.

Gomez-Tovar et al. (2012) reportou uma faixa ótima de carga orgânica volumétrica aplicada de 0,5 a 11,5 g DQO/L.d e um tempo de detenção hidráulica de 24 h para a produção de metano em reator UASB, a partir de hidrolisado de palha de aveia. Portanto, com base no estudo anteriormente citado e levando-se em consideração algumas limitações operacionais, optou-se por conduzir a operação contínua do reator anaeróbio com um tempo de detenção hidráulica constante de 18,4h ao longo de todas as fases, e avaliar as cargas orgânicas volumétricas aplicadas (de 1,2 a 4,8 g DQO/L.d), conforme observado na Tabela 10. Além disso, a carga biológica no início da operação do reator equivaleu a 0,56 g DQO/g SSV.d.

Tabela 10. Fases e os principais parâmetros de operação contínua do reator UASB de bancada.

Fase operacional	I	II			III	
Descrição	Adaptação da biomassa	Avaliação da proporção xilose/ hidrolisado			Aplicação de diferentes cargas orgânicas	
Substrato	Xilose	Xilose e/ou hidrolisado			Hidrolisado	
Etapas	-	A	B	C	A	B
Dias de operação	1-56	57-69	70-92	93-119	120-144	145-168
Carga orgânica volumétrica (g DQO/L.d)	1,4	1,4	1,2	1,3	2,4	4,8
TDH (h)	18,4		18,4		18,4	
Fator de diluição do hidrolisado	-	176	118	88	44	22

Fonte: Própria autora.

4.4.3 – Análises de monitoramento

No presente estudo, foram efetuadas análises de pH, demanda química de oxigênio (DQO), ácidos graxos voláteis (AGVs), açúcares e seus subprodutos de degradação e composição do biogás produzido. Com o intuito de que as análises fossem feitas com a frequência adequada para a obtenção de todos os dados necessários, uma rotina de monitoramento foi estruturada, conforme apresentado na Tabela 11.

Tabela 11. Rotina de monitoramento do reator UASB de bancada.

Frequência de monitoramento			
Parâmetros	Afluente	Reator	Efluente
pH	6 vezes por semana	6 vezes por semana	6 vezes por semana
DQO	3 vezes por semana	-	3 vezes por semana
AGVs	-	-	1 vez por semana
Açúcares e subprodutos	1 vez por semana	-	1 vez por semana
Produção e composição do biogás	-	6 ou 7 vezes por semana	-

Fonte: Própria autora.

As análises de pH, DQO, açúcares e seus produtos de degradação foram feitas conforme procedimentos detalhados no item 4.2. Com relação à DQO, as análises foram efetuadas em termos de DQO total no afluente do reator e em termos de DQO filtrada no efluente. As demais análises são descritas a seguir.

- **Análise de ácidos Graxos Voláteis (AGVs)**

As análises dos AGVs (fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico) foram feitas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) da Shimadzu, com detector de arranjo de diodos (DAD), sendo a análise realizada no comprimento de onda (λ) de 210 nm. A separação cromatográfica foi realizada em coluna de troca iônica Aminex HPX-874 (Bio-Rad) mantida a 55°C, e uma solução de ácido sulfúrico 0,01 M com fluxo isocrático de 0,6

mL/min foi utilizada como fase móvel. As amostras foram previamente centrifugadas a 3.600 rpm por 10 minutos, na centrífuga Fanem Excelsa Baby I Modelo 206, e filtradas por membrana de 0,45 µm de acetato de celulose. O volume injetado no equipamento foi de 10 µL, e o método devidamente validado segundo Mesquita et al. (2013).

Por meio dos respectivos coeficientes estequiométricos, as concentrações de AGV foram usadas para estimar a fração de DQO devida a tais compostos intermediários da digestão anaeróbia, de acordo com a Equação 2.

$$DQO_{AGV} = (0,35 \cdot [AF]) + (1,07 \cdot [AA]) + (1,50 \cdot [AP]) + (1,82 \cdot [AB + AIB]) + (2,04 \cdot [AV + AIV]) \quad (2)$$

sendo que: [] representa concentração; AF é ácido fórmico; AA é ácido acético; AP é ácido propiônico; AB é ácido butírico; AIB é ácido isobutírico; AV é ácido valérico; e AIV é ácido isovalérico.

- **Análise do biogás e quantificação de metano**

Como apresentado no tópico 4.4.1 do presente trabalho, o biogás gerado no reator UASB de bancada foi coletado em sacos de 0,6 L. Para a quantificação do biogás coletado, amostras do interior do saco (*gas bag*) foram injetadas em cromatógrafo de fase gasosa e analisadas conforme procedimento descrito no item 4.3.3.

A comparação dos valores de áreas dos picos cromatográficos obtidos com a curva de calibração construída com gás padrão CH₄ (99,5% de pureza – White Martins) permitiu a determinação do teor de CH₄ no biogás. Uma vez analisada a composição do biogás produzido, o volume de biogás acumulado em cada saco foi determinado pelo deslocamento de água contida em uma proveta (tubo de Mariotte), sendo o volume de água deslocado igual ao volume de biogás contido no saco. Dessa forma, sabendo-se o volume total de biogás e a concentração de CH₄ contida em uma amostra de biogás, obteve-se o volume total de gás metano produzido, multiplicando-se o volume de biogás pela composição (porcentagem volumétrica, % v/v) de metano no biogás.

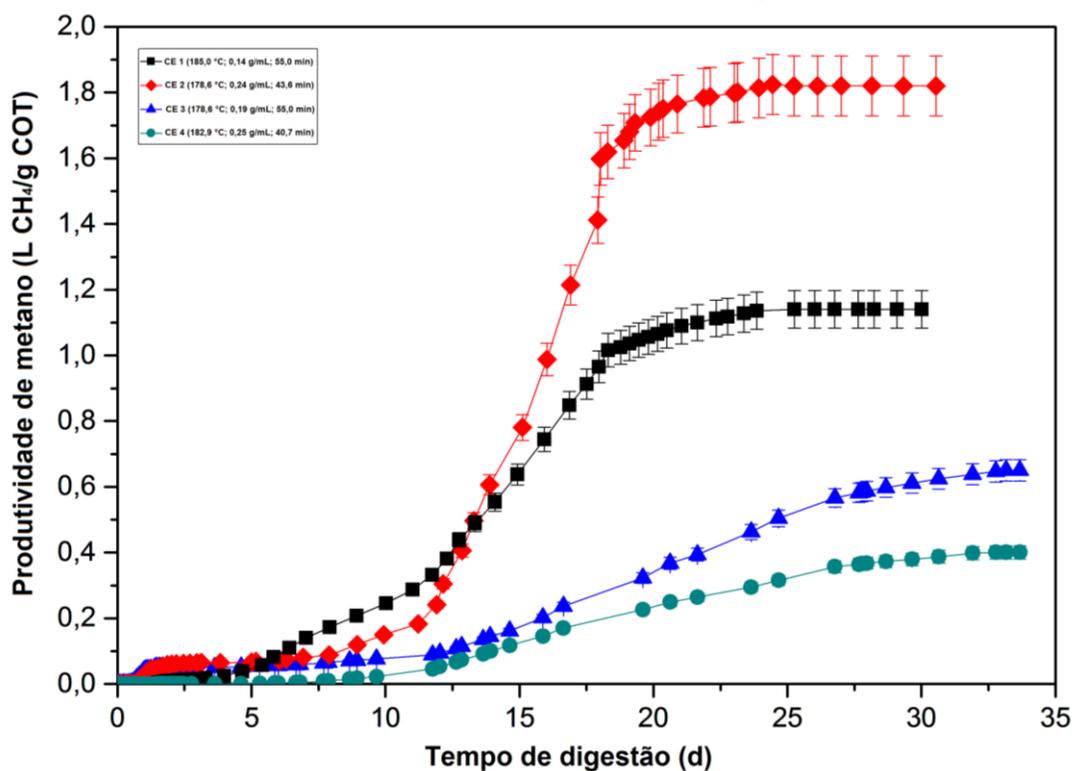
5 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 – Produção de metano a partir de hidrolisados hemicelulósicos e caracterização do hidrolisado gerado na melhor condição de pré-tratamento

Os ensaios de digestão anaeróbia em batelada foram realizados para avaliar o potencial bioquímico de metano (BMP) dos quatro hidrolisados hemicelulósicos obtidos do pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar, provenientes das condições definidas pelo ensaio de desejabilidade apresentadas na Tabela 8. Os ensaios de BMP avaliam a biodegradabilidade de substratos por meio da produção de biogás e, além disso, podem ser utilizados para otimizar a operação de um digestor anaeróbio (MOODY et al., 2009).

Os resultados obtidos nos ensaios de digestão anaeróbia em batelada para as quatro condições experimentais (CE) estudadas são apresentados na Figura 11.

Figura 11. Produtividade acumulada de metano nos ensaios de digestão anaeróbia em batelada.



A produção acumulada de metano foi mais elevada para a CE 2 (1,82 L/g COT) quando comparada às demais (CE 1 = 1,14 L/g COT, CE 3 = 0,65 L/g COT e CE 4 = 0,40 L/g COT). A CE 2 é aquela que apresenta baixos teores de furanos e de lignina solúvel. De fato, estudos

anteriores reportaram que o hidrolisado hemicelulósico contém compostos tóxicos, tais como: HMF e FF, gerados em condições severas de temperatura durante a hidrólise de hexoses e pentoses, respectivamente; e compostos fenólicos, provenientes da degradação da lignina. Estes compostos podem se comportar como inibidores do metabolismo microbiano quando em elevadas concentrações no meio, danificando as paredes e membranas celulares, dificultando o crescimento celular e reduzindo as atividades enzimáticas (TORRY-SMITH; SOMMER; AHRING, 2003; KAPARAJU et al., 2010; HEREDIA-OLEA et al., 2012; SENE et al., 2011; BARAKAT et al., 2012). Portanto, estes resultados indicam que concentrações mais elevadas de furanos e de lignina solúvel podem contribuir para a diminuição ou inibição da atividade metanogênica.

Os dados experimentais foram modelados a partir da aplicação do Modelo de Gompertz modificado, que propiciou o cálculo dos parâmetros cinéticos do processo, os quais são apresentados na Tabela 12.

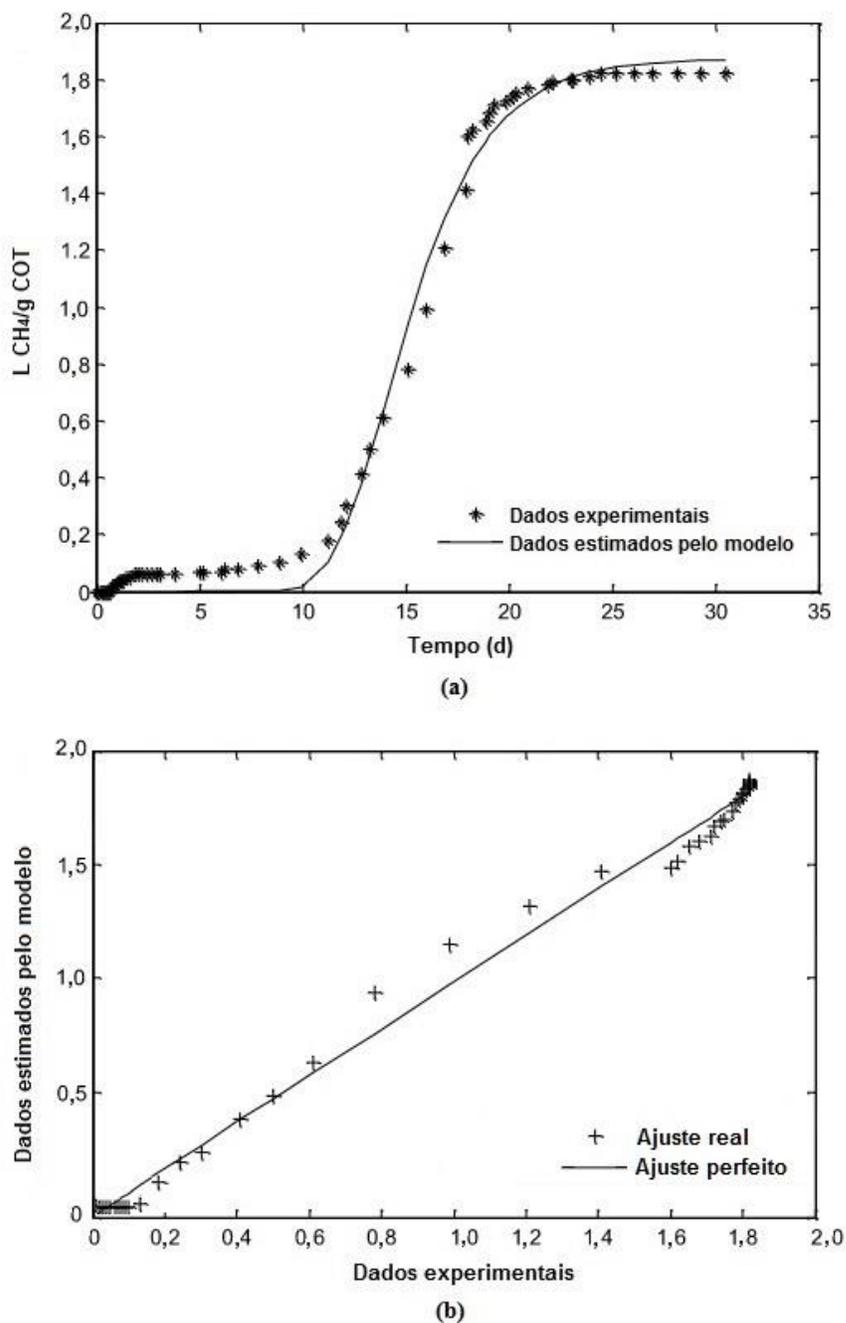
Tabela 12. Parâmetros do modelo de Gompertz calculados para as quatro condições experimentais utilizadas nos ensaios de BMP.

Hidrolisado hemicelulósico	Potencial de produção de metano - P (L/g COT)	Taxa máxima de produção de metano - R_m (L/g COT. d)	Fase <i>lag</i> - λ (d)	Coefficiente de determinação - R^2
CE 1	1,21	0,104	8,07	0,994
CE 2	1,88	0,256	11,43	0,995
CE 3	0,71	0,028	8,26	0,987
CE 4	0,45	0,024	9,96	0,999

Sabe-se que o coeficiente de determinação (R^2) é uma medida que representa o ajuste de um modelo em relação aos valores experimentais observados. Ele varia entre 0 e 1 e assinala o quanto o modelo consegue explicar os valores observados. Além da análise do coeficiente de determinação, é importante avaliar o erro, cujo estudo pode ser executado por meio do gráfico de valores preditos x valores experimentais, conforme mostrado na Figura 12 (b). Portanto, é possível notar que o modelo foi capaz de reproduzir a produção de metano com bons ajustes, uma

vez que os valores dos coeficientes de determinação foram superiores a 0,98 para as quatro condições em questão. O ajuste do modelo para a condição experimental 2, que resultou na maior produção de metano, é mostrado na Figura 12.

Figura 12. (a) Produção acumulada de CH₄ para o hidrolisado proveniente da condição experimental 2 (CE 2), e ajuste do modelo de Gompertz modificado e (b) relação entre o ajuste perfeito e o ajuste real obtidos pela aplicação do modelo à CE 2.



A condição experimental 2 (CE 2) apresentou os melhores resultados de potencial de produção de metano (P) e de taxa máxima de produção de metano (R_m) estimados pelo modelo de Gompertz modificado, indicando que tal hidrolisado apresentou maior biodegradabilidade anaeróbia em relação aos demais hidrolisados estudados, provavelmente pelo menor teor de furanos e lignina presentes. Contraditoriamente, analisando os resultados de período de fase *lag* obtidos, nota-se que o período de fase *lag* para a CE 2 foi maior do que a obtida para as demais condições. A fase *lag* de crescimento microbiano representa o período inicial, que precede a fase de crescimento exponencial, e, nessa fase, os micro-organismos se encontram em um estado de latência (PRATS et al., 2008). Dessa forma, o período de adaptação da comunidade microbiana ao meio foi maior para a CE 2, possivelmente devido a alguma condição ambiente de estresse ou deficiência nutricional no momento da inoculação.

Tendo em vista que o hidrolisado proveniente da CE 2 (pré-tratamento hidrotérmico adotando $T = 178,6$ °C; $RSL = 0,24$ g/mL; $t = 43,6$ min) foi o que obteve os resultados mais expressivos de produção de metano nos ensaios em batelada, o mesmo foi aplicado como substrato no processo de digestão anaeróbia contínuo em reator UASB.

Conforme descrito no item 4.2, quatro diferentes hidrolisados provenientes da CE 2 foram submetidos à caracterização. A Tabela 13 exhibe os resultados das concentrações dos compostos analisados nesses quatro hidrolisados, assim como a média dos resultados obtidos, com o respectivo intervalo de confiança.

No estudo em questão, o hidrolisado foi caracterizado em termos de pH, COT, DQO, açúcares (glicose, xilose e arabinose), ácidos orgânicos (fórmico e acético) e furfurais (HMF e FF). Sabe-se que o hidrolisado hemicelulósico é constituído ainda por compostos fenólicos, os quais são derivados da degradação da lignina, e outros compostos, tal como o ácido levulínico, que é resultante da degradação de HMF (BARAKAT et al., 2012; GIRISUTA, 2007). Portanto, determinada fração do carbono orgânico total e da demanda química de oxigênio quantificados nesta pesquisa são provenientes de subprodutos de degradação não analisados de forma específica.

Os resultados apresentados na Tabela 13 revelaram que a xilose foi o açúcar encontrado em maior quantidade (18,40 g/L) no hidrolisado da CE 2, representando 82,8% do valor total de

açúcares analisados. Glicose e arabinose também foram identificadas, entretanto em concentrações mais baixas (3,16 e 0,66 g/L, respectivamente). Sabendo-se que a xilose é o principal monossacarídeo constituinte das hemiceluloses (BARAKAT et al., 2012), este resultado comprova o fato de que o pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar leva à produção de uma fração líquida rica em conteúdo hemicelulósico. A maior liberação de xilose do que de glicose no pré-tratamento está relacionada ao fato de que a estrutura das hemiceluloses é hidrolisada mais facilmente do que a estrutura da celulose (ANTUNES et al., 2014).

Tabela 13. Caracterização de quatro hidrolisados obtidos na condição de pré-tratamento 2, que resultou em maior produção de metano nos ensaios de BMP.

Hidrolisado	i	ii	iii	iv	Valor médio (± desvio padrão)
pH	3,20	3,09	3,16	3,12	3,14 (± 0,04)
COT (g/L)	30,28	30,06	32,58	32,83	31,44 (± 1,27)
DQO (g/L)	93,87	89,56	84,16	85,05	88,16 (± 3,88)
Glicose (g/L)	3,25	2,88	3,44	3,07	3,16 (± 0,21)
Xilose (g/L)	19,34	17,46	17,10	19,69	18,40 (± 1,13)
Arabinose (g/L)	0,71	0,64	0,57	0,72	0,66 (± 0,06)
Ácido fórmico (g/L)	6,78	6,46	6,70	6,41	6,58 (± 0,15)
Ácido acético (g/L)	11,63	9,28	10,81	12,19	10,98 (± 1,10)
HMF (g/L)	8,54	6,99	6,74	8,99	7,82 (± 0,97)
FF (g/L)	3,28	4,40	3,91	4,13	3,93 (± 0,41)

As condições do pré-tratamento hidrotérmico empregadas na CE 2 ($T = 178,6\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\text{RSL} = 0,24\text{ g/mL}$; $t = 43,6\text{ min}$) provocaram a degradação parcial das pentoses e hexoses, gerando FF e HMF, respectivamente. As concentrações de HMF ($7,82\text{ g/L}$) e de FF ($3,93\text{ g/L}$) no hidrolisado foram expressivas, totalizando $11,75\text{ g/L}$ de derivados de furanos. Segundo Almeida et al. (2007), condições mais severas de hidrólise acarretam concentrações mais elevadas destes compostos. De fato, as demais condições experimentais estudadas (CE 1, CE 3 e CE 4) resultaram (dados não apresentados) em concentrações ainda mais elevadas de compostos inibidores e recalcitrantes (furanos e lignina) à digestão anaeróbia.

Presume-se que o baixo pH do hidrolisado (3,14) seja devido à produção de ácidos orgânicos (ácidos acético e fórmico) durante o pré-tratamento hidrotérmico. O ácido acético é resultado da hidrólise de grupos acetil contidos nas cadeias laterais de hemiceluloses e o ácido fórmico é produzido a partir da degradação de furfurais (KAPARAJU; SERRANO; ANGELIDAKI, 2009; ALMEIDA et al., 2007). Tendo em vista que as arqueias metanogênicas apresentam crescimento ótimo em uma faixa de pH de 6,6 a 7,4, é importante que se efetue um ajuste do pH do hidrolisado hemicelulósico ao aplicá-lo como substrato no processo de digestão anaeróbia contínuo em reator UASB do estudo em questão.

Os valores de caracterização do hidrolisado do bagaço de cana obtidos nesta pesquisa foram significativamente superiores aos reportados por Baêta et al. (2016), que efetuou o pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar utilizando as mesmas condições de T , t e RSL . Contudo, sabe-se que a composição química do hidrolisado proveniente do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar depende não apenas das condições de pré-tratamento, mas também da genética do bagaço de cana-de-açúcar empregado, do ambiente em que o vegetal foi cultivado, dos métodos e períodos de colheita, e do modo de armazenamento do bagaço (CANILHA et al., 2012). Diante disso, as diferenças observadas podem ser justificadas pelo fato de que os bagaços utilizados foram provenientes de diferentes safras, apesar de terem sido obtidos da mesma indústria. Além disso, Baêta et al. (2016) efetuou a lavagem do bagaço antes que o mesmo fosse submetido ao pré-tratamento, e esse procedimento visa à remoção dos açúcares residuais do processo de moagem da cana-de-açúcar. Como na atual pesquisa esse procedimento não foi realizado, é possível que isso explique o maior conteúdo orgânico do hidrolisado.

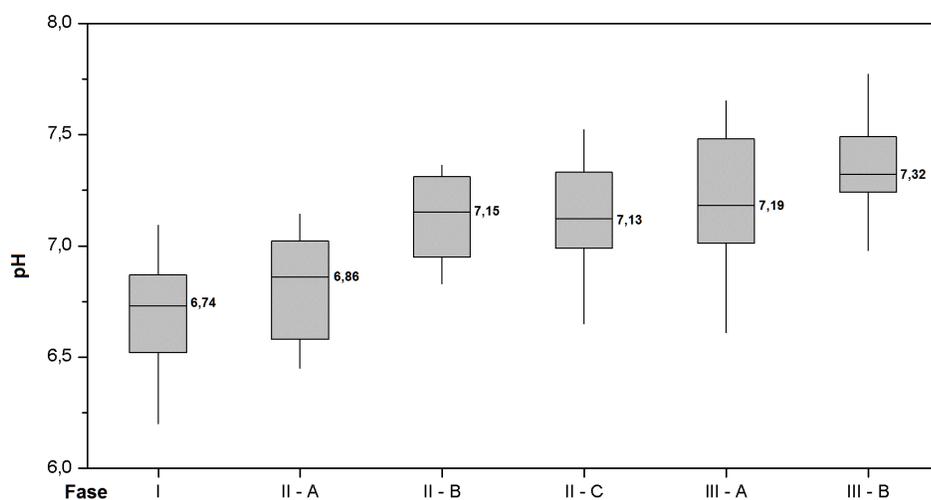
5.2 – Digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico em reator UASB

Com o objetivo de avaliar o potencial de produção de biogás (metano) em reator anaeróbio de bancada a partir de hidrolisado hemicelulósico gerado no pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar, alimentou-se continuamente um reator do tipo UASB e efetuaram-se o monitoramento do pH, da remoção de DQO, do acúmulo de AGVs, da produção de biogás, e do consumo de açúcares e subprodutos de degradação de sacarídeos (HMF e FF).

O reator UASB foi escolhido por proporcionar boa eficiência de conversão da matéria orgânica em metano e por possuir o separador trifásico, que é um dispositivo cujo objetivo é promover eficiente retenção da biomassa e efetuar a separação dos gases contidos na mistura líquida. Além disso, o reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente é caracterizado pelos baixos custos de implantação, simplicidade operacional e baixa produção de lodo (CHERNICHARO, 2007; PRADO; CAMPOS, 2008).

O pH é um dos parâmetros que mais influenciam o desempenho da digestão anaeróbia e o seu controle é importante para evitar o risco de inibição dos micro-organismos metanogênicos e de consequente falha do processo (CIOABLA, 2012). A Figura 13 retrata a variação do pH no reator UASB em cada fase operacional.

Figura 13. Variação do pH no interior do reator em todas as fases operacionais do reator UASB.



Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

Os valores de pH no reator apresentaram, em geral, pouca variabilidade durante todo o período de operação. Sabendo-se que o processo de digestão anaeróbia é desenvolvido por um consórcio de micro-organismos, dentre os quais os metanogênicos são os mais sensíveis a variações de parâmetros como o pH, qualquer oscilação brusca de pH apresentada poderia ter dificultado a digestão do hidrolisado hemicelulósico.

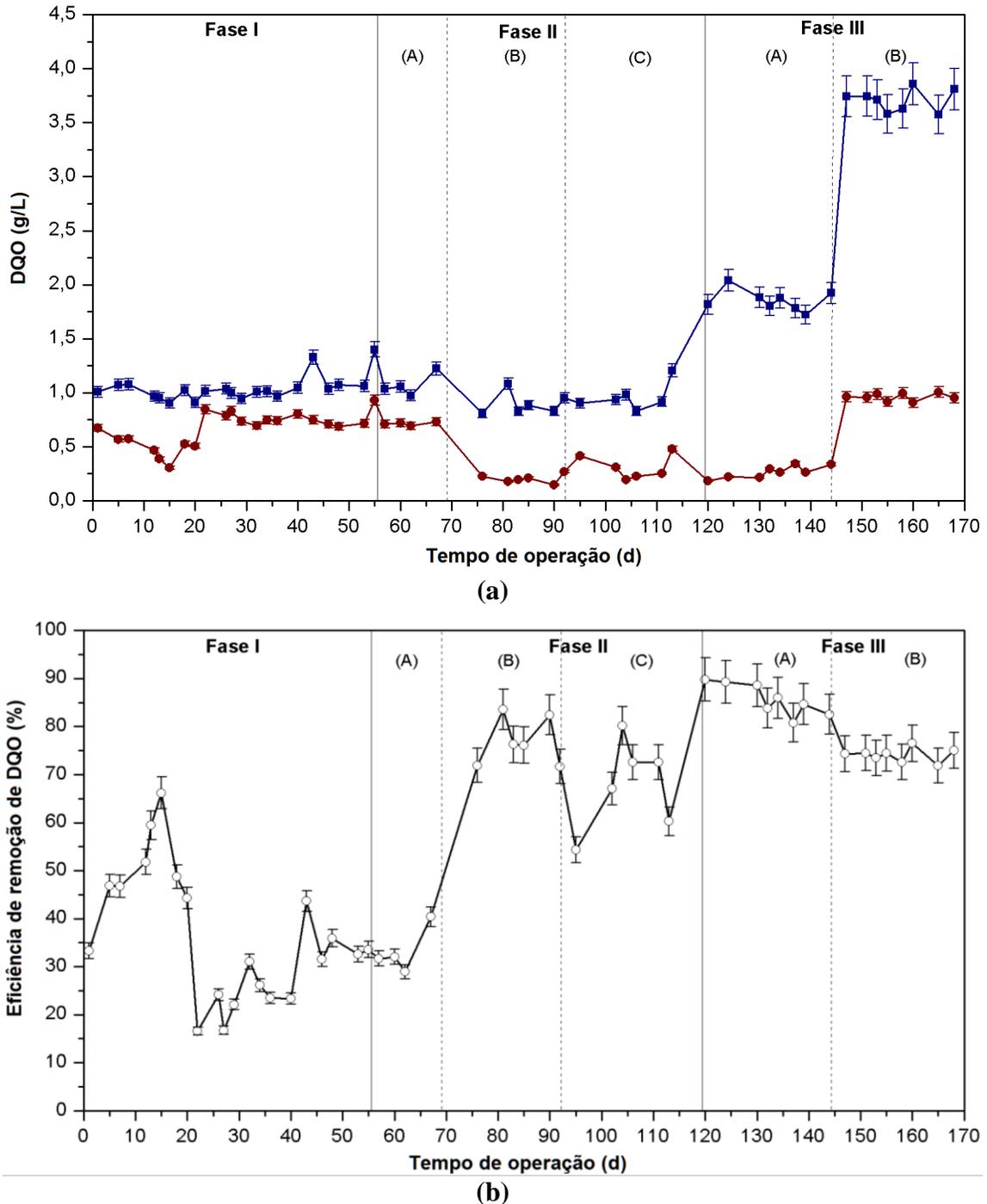
A Figura 13 deixa nítido o aumento progressivo do pH ao longo das etapas de operação. Esse comportamento está relacionado ao aumento da alcalinidade no sistema, possivelmente causada pelos íons bicarbonato. Com a diminuição gradual do fator de diluição do hidrolisado hemicelulósico (pH = 3,14) e conseqüente aumento de sua concentração na solução de alimentação, a quantidade de NaHCO_3 requerida para manter o pH da solução afluyente próximo da neutralidade aumentou gradativamente, promovendo, dessa forma, elevação da concentração de íons bicarbonato no sistema.

A mediana do pH variou de 6,74 (fase I) a 7,32 (fase IIIA). Embora em alguns dias de monitoramento o pH no reator estivesse abaixo ou acima da faixa considerada ideal para o crescimento das arqueias metanogênicas (6,6 a 7,4), é possível conseguir estabilidade na formação de metano, mesmo que em taxas de reação mais baixas, em uma faixa de pH de 6,0 a 8,0. (CHERNICHARO, 2007). Dessa forma, o pH no reator se manteve em uma faixa adequada para a produção de biogás durante todo o processo.

5.2.1 – Avaliação da remoção de DQO e do acúmulo de AGVs no reator UASB

As análises de demanda química de oxigênio tiveram o objetivo de estimar a concentração de matéria orgânica presente na fase líquida do afluyente e efluyente do reator, viabilizando o cálculo da eficiência do processo de remoção. A Figura 14 mostra a variação da DQO, assim como a sua eficiência de remoção ao longo do período de operação do reator UASB, e a Tabela 14 apresenta os resultados médios obtidos deste parâmetro para cada uma das fases operacionais.

Figura 14. (a) Variação da DQO no afluente (■) e no efluente (●) do reator UASB e (b) eficiência de remoção de DQO (○) ao longo do tempo de operação do reator UASB.



Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

Tabela 14. Valores médios de DQO afluente e efluente do reator UASB nas fases de operação do reator UASB.

Fase	Etapa	DQO afluente (g/L) (± desvio padrão)	DQO efluente (g/L) (± desvio padrão)
I	-	1,04 (± 0,12)	0,67 (± 0,15)
	A	1,07 (± 0,09)	0,71 (± 0,01)
II	B	0,90 (± 0,10)	0,20 (± 0,04)
	C	0,96 (± 0,12)	0,31 (± 0,10)
III	A	1,86 (± 0,09)	0,26 (± 0,05)
	B	3,71 (± 0,10)	0,96 (± 0,03)

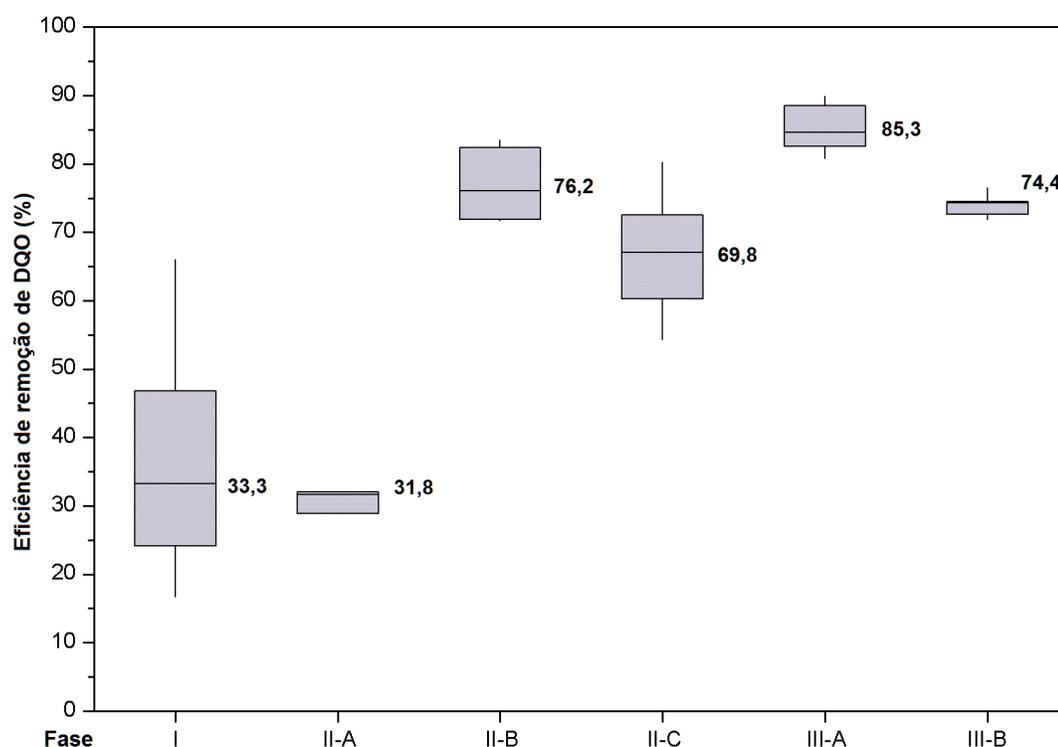
Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

O reator UASB atingiu a estabilidade no 56º dia de operação, tendo em vista que a condição de estado estacionário foi caracterizada como sendo o período no qual a eficiência de remoção de DQO variou em menos de 5%. No período de estabilização, o reator foi alimentado com solução de xilose, visto que a mesma é o açúcar mais presente no hidrolisado hemicelulósico, conforme mostrado na Tabela 13 do presente trabalho. O longo período de aclimatação pode estar relacionado à falta de um ambiente favorável à sobrevivência da comunidade microbiana ou à possibilidade do inóculo utilizado não possuir grande quantidade de micro-organismos capazes de degradar a xilose (JAYANTHA; RAMANUJAM, 1995).

Como pode ser observada na Figura 15, a eficiência de remoção de DQO mediana na fase I foi de 33,3%. A razão para esse baixo valor está relacionada à adaptação da comunidade microbiana nesse período. Após essa fase, o hidrolisado hemicelulósico foi progressivamente introduzido na solução de alimentação por meio de diferentes diluições, devido as limitações logísticas relacionadas ao pré-tratamento do bagaço de cana no reator Parr e por seu elevado conteúdo orgânico (88,16 g DQO/L), que contém inibidores (furfurais e compostos fenólicos).

Em uma biorrefinaria lignocelulósica, essa diluição poderia ser procedida mediante a utilização de vinhaça, que representa o subproduto aquoso resultante do processo de destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado para obtenção do etanol. Sua produção é estimada como sendo cerca de 10 a 20 vezes o volume de etanol produzido e apresenta considerável potencial de contaminação ambiental. Além disso, a vinhaça dispõe de elevado conteúdo nutricional, o que poderia evitar a suplementação com nutrientes na solução empregada na produção de biogás (WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

Figura 15. Eficiência de remoção de DQO para cada fase operacional do reator UASB.



Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

De acordo com os resultados obtidos, a substituição gradual de xilose por hidrolisado hemicelulósico na solução de alimentação aumentou a remoção de DQO quando se compara as fases I e II-A com as fases II-B e II-C. Durante as fases II-B e II-C, o reator foi alimentado com solução contendo 75 e 100% de hidrolisado hemicelulósico como substrato e atingiu 76,2% e 69,8% de remoção de DQO mediana, respectivamente. Esses resultados sugerem que o reator

UASB respondeu positivamente ao hidrolisado, o qual possui demais compostos orgânicos passíveis de degradação pelos micro-organismos, tais como os oligômeros.

Inclusive, segundo Gong et al. (1999), os micro-organismos geralmente preferem utilizar glicose como substrato antes de consumir outro açúcar. De acordo com o estudo desenvolvido por este pesquisador, quando as hemiceluloses são hidrolisadas, uma mistura de monossacarídeos é produzida, e os açúcares liberados predominantemente são glicose, xilose e arabinose. Os micro-organismos são expostos a essa mistura de açúcares, e o fenômeno de repressão catabólica é frequentemente observado. Portanto, em tais misturas, os micro-organismos irão consumir glicose antes de consumir arabinose e xilose.

A carga orgânica volumétrica aplicada foi significativamente alterada no 119º dia de operação (fase III-A) e no 144º dia de operação (fase III-B) do reator UASB, por meio do aumento da concentração de DQO afluente. Como pode ser visto na Figura 14 (b), o aumento da carga orgânica volumétrica na fase III-A promoveu um aumento na eficiência de remoção de DQO de 69,8% para 85,3%. Portanto, houve um aumento de 22,2% na remoção de DQO com o aumento da carga orgânica volumétrica de 1,3 g DQO/L.d para 2,4 g DQO/L.d. Em contrapartida, o aumento da COV na fase III-B ocasionou uma queda na eficiência de remoção de DQO. A eficiência de remoção em termos de mediana nessa fase foi de 74,4%, gerando uma queda de 12,8% na remoção de DQO com o aumento da carga orgânica volumétrica de 2,4 g DQO/L.d para 4,8 g DQO/L.d.

No que diz respeito ao aumento da COV, a remoção de DQO foi mantida na faixa de 72 a 90% na fase III (COV de 2,4 g DQO/L.d), tendo sido semelhante ou superior aos valores obtidos na fase anterior (fase II). Como pode ser visto na Figura 14, mesmo após a carga orgânica volumétrica aumentar até 4,8 g DQO/L.d, a remoção de DQO foi mantida acima de 70%, com uma concentração média de DQO de 0,96 g de DQO/L no efluente do reator.

A eficiência máxima de remoção de DQO mediana no presente estudo foi de 85,3%, obtida na fase III-A, caracterizada pela alimentação contendo 100% de hidrolisado hemicelulósico como substrato, diluído 44 vezes, e carga orgânica volumétrica de 2,4 g DQO/L.d. Não foram encontrados na literatura demais estudos que investigassem a produção de metano em reator contínuo a partir de hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana, entretanto os resultados

obtidos estão em conformidade com aqueles obtidos por Kaparaju; Serrano; Angelidaki (2009), que investigaram a produção de biogás em reator UASB a partir de hidrolisado hemicelulósico obtido do pré-tratamento hidrotérmico da palha de trigo. A faixa de remoção de DQO solúvel obtida por esses pesquisadores variou de 48,7 a 78,7%, sendo que a máxima remoção de DQO solúvel foi obtida para alimentação com carga orgânica volumétrica de 6,97 g DQO/L.d.

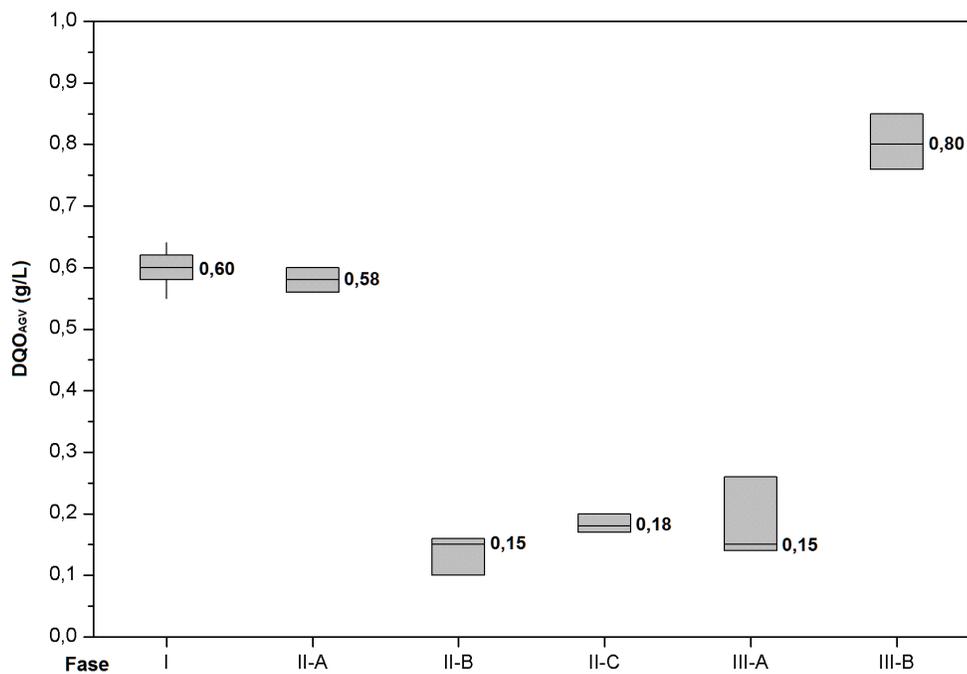
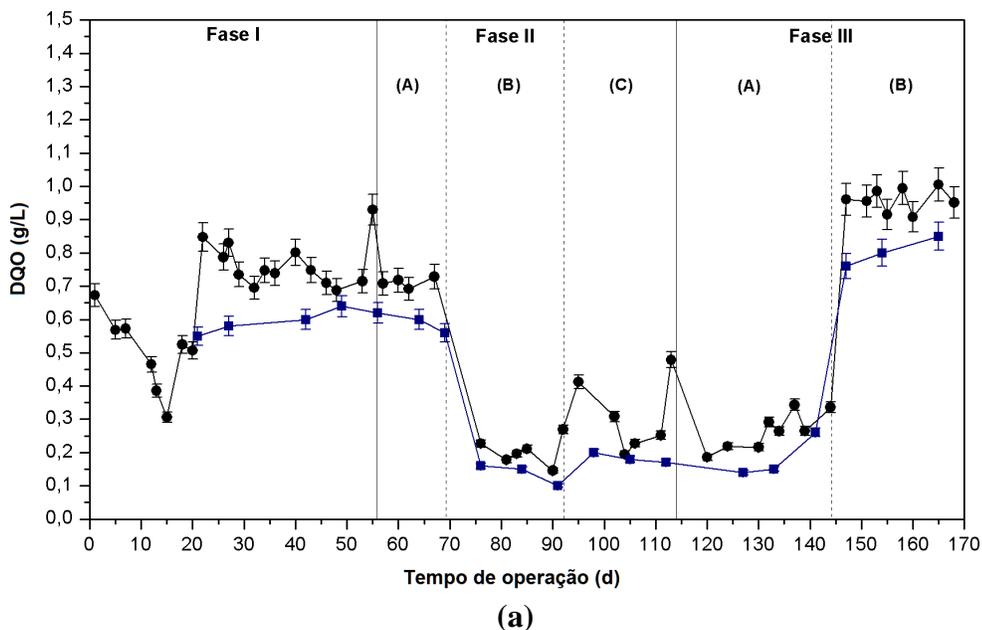
A importância da avaliação do acúmulo de ácidos graxos voláteis em um sistema está relacionada ao fato de que, no processo de digestão anaeróbia, existe um consórcio entre microorganismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos, e o equilíbrio desse consórcio pode ser averiguado pela análise dos AGVs, uma vez que tais ácidos são os principais substratos e produtos da comunidade microbiana que participa desse processo (CHERNICHARO, 2007).

A Figura 16 retrata a variação das concentrações de DQO_{AGV} e de $DQO_{efluente}$ no reator UASB ao longo do período de operação, assim como o acúmulo dos ácidos graxos voláteis em cada fase operacional. A DQO_{AGV} foi calculada conforme metodologia apresentada no item 4.4.3 do presente trabalho.

O acúmulo de ácidos graxos voláteis está relacionado à ausência de condições ideais ao crescimento biológico (limitações cinéticas) ou ao acúmulo de produtos intermediários, que provoca inibições termodinâmicas (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). De acordo com os resultados apresentados, é possível verificar expressivas concentrações de DQO_{AGV} nas fases I, II-A e III-B, cujos valores em termos de mediana foram de 0,60 g/L, 0,58 g/L e 0,80 g/L, respectivamente.

Na etapa III-B, em que foi observado o maior acúmulo de AGVs, esse resultado possivelmente está associado ao aumento da carga orgânica volumétrica, conforme foi constatado também por Kaparaju e colaboradores (2010), no estudo sobre produção de biogás a partir de vinhaça de palha de trigo em reator UASB. Ao dobrarem a concentração de vinhaça na solução de alimentação para 50% (v/v), os pesquisadores observaram aumento expressivo no acúmulo de AGVs (de 542,9%) e queda substancial na produção de biogás (de 82,6%). No presente estudo, o aumento da COV de 2,4 para 4,8 g DQO/L.d na fase III-B promoveu um aumento de 433,3% no acúmulo dos AGVs, indicando grande instabilidade no sistema.

Figura 16. (a) Variação temporal da concentração de DQO_{AGV} (■) e $DQO_{efluente}$ (●) no reator UASB e (b) acúmulo de ácidos graxos voláteis no reator UASB nas diferentes fases operacionais.



(b)

Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

É importante também enfatizar a presença de derivados de furanos (2-furfuraldeído e 5-hidroximetil-2-furfuraldeído) e compostos fenólicos no hidrolisado hemicelulósico, que são sabidamente tóxicos a micro-organismos quando em elevadas concentrações no meio. De acordo com Aquino e Chernicharo (2005), a presença de compostos tóxicos afeta principalmente os micro-organismos de crescimento lento, ou seja, os acetogênicos e metanogênicos acetoclásticos, resultando na acumulação de ácidos orgânicos voláteis e baixa produção de metano. Segundo Portanto, é provável que o aumento da carga orgânica volumétrica tenha provocado acúmulo de DQO_{AGV} nessa etapa do processo devido à maior carga de compostos inibidores afluente no reator.

O resultado de DQO_{AGV} obtido na etapa III-B indica que uma maior concentração de substrato leva a uma maior concentração de produtos de fermentação, o que nem sempre favorece o crescimento dos seus consumidores. Segundo Nielsen e Ahring (2006), a quantidade de matéria orgânica não está necessariamente diretamente relacionada à produção de metano. Durante uma sobrecarga orgânica, o substrato é adicionado ao reator além da capacidade de degradação dos micro-organismos, e isso pode acontecer quando o mesmo é de difícil biodegradabilidade. Dependendo da natureza do substrato, o aumento na concentração de DQO pode provocar decréscimo no potencial de produção de metano, resultando no acúmulo de AGVs e de outros intermediários.

A DQO efluente ou residual representa a fração da DQO afluente que não foi removida, e é constituída pela DQO relativa aos ácidos graxos voláteis (DQO_{AGV}), e aos substratos que não foram degradados ou aos compostos que foram gerados no processo de digestão anaeróbia, tais como subprodutos de degradação e produtos microbianos solúveis ($DQO_{desconhecida}$). De acordo com a Figura 16 (a), é possível observar que as curvas de DQO_{AGV} e $DQO_{efluente}$ apresentaram o mesmo comportamento durante todo o período de operação do reator. Como foi reportado na Tabela 14, os valores médios de DQO efluente obtidos nas fases I, II-A e III-B foram de 0,67 g/L, 0,71 g/L e 0,96 g/L, respectivamente. Dessa forma, frações de 89,6% (fase I), 81,7% (fase II-A) e 83,3% (fase III-B) da DQO residual decorreram da produção de ácidos graxos voláteis nessas três etapas em que foram observadas elevadas concentrações de DQO_{AGV} . A concentração mediana de DQO_{AGV} nas fases II-B, II-C e III-A foi de 0,15 g/L, 0,18 g/L e 0,15 g/L,

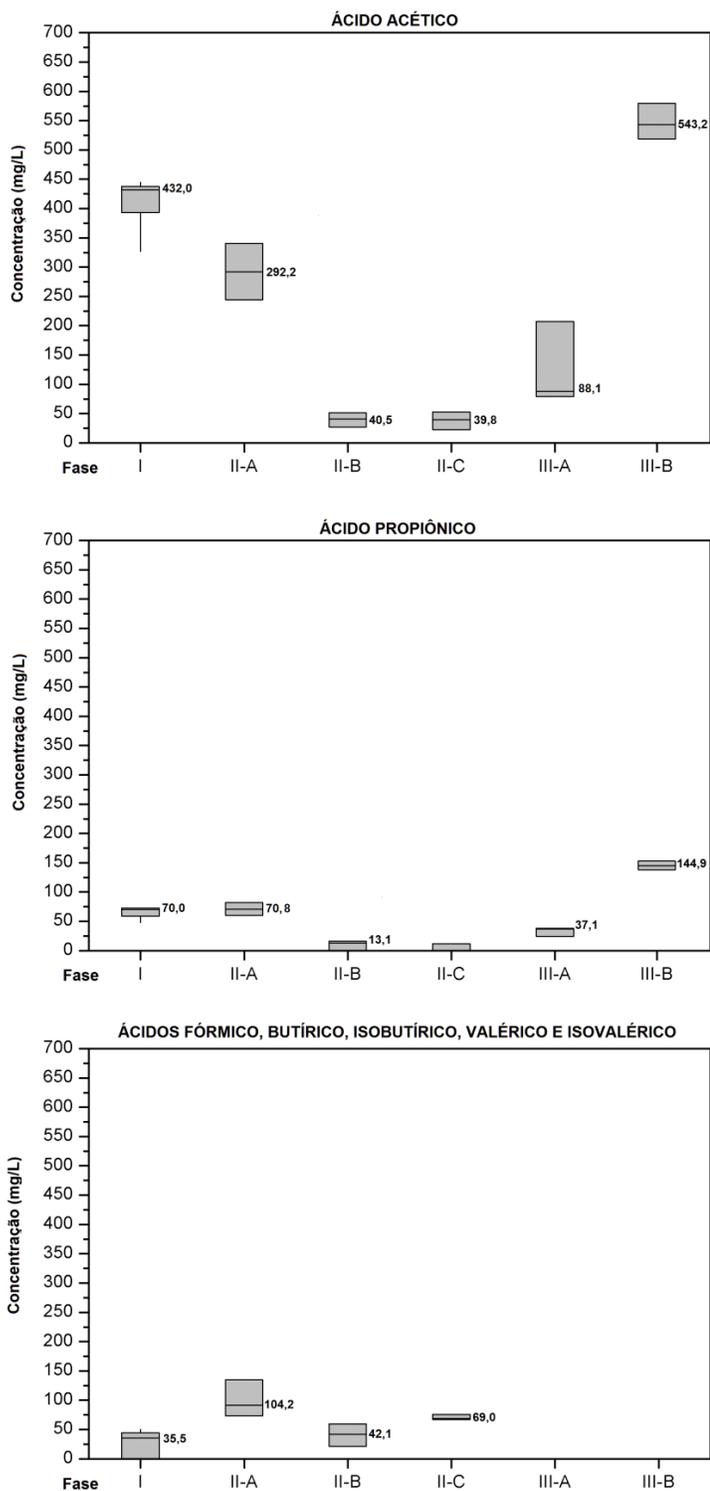
respectivamente. Portanto, nas etapas em que não houve elevado acúmulo de AGVs, a DQO_{AGV} representou 75,0% (fase II-B), 58,1% (fase II-C) e 57,7% (fase III-A) da DQO residual.

O acúmulo de AGV pode levar à redução do pH, porque consome alcalinidade do meio (ABREU, 2007). No presente estudo, entretanto, o pH não apresentou valores abaixo da faixa de pH considerada ideal para o crescimento de arqueias metanogênicas, conforme apresentado na Figura 13, e esse fato está relacionado à boa capacidade de tamponamento do sistema.

Além de verificar o comportamento do reator com relação ao acúmulo de AGVs em diferentes concentrações de substrato e carga orgânica volumétrica, é importante investigar a predominância dos ácidos orgânicos voláteis em cada fase operacional. De acordo com as Figuras 17 e 18, é possível observar o predomínio do acúmulo de ácido acético em todas as fases de operação do reator UASB. O ácido propiônico também foi detectado no efluente do reator UASB em todas as fases operacionais, entretanto em menores quantidades. Por outro lado, o ácido fórmico foi verificado somente na fase II-A, em pequenas concentrações, e os demais ácidos graxos voláteis analisados só não foram observados na fase III, mas sempre em menores quantidades nas demais fases. Segundo Chernicharo (2007), os ácidos acético e propiônico são os mais importantes ácidos voláteis intermediários precursores da formação de metano, sendo que, para a degradação de substratos complexos, o ácido acético é responsável por aproximadamente 72% do metano formado e, juntamente com o ácido propiônico, por cerca de 85% da produção total de CH_4 .

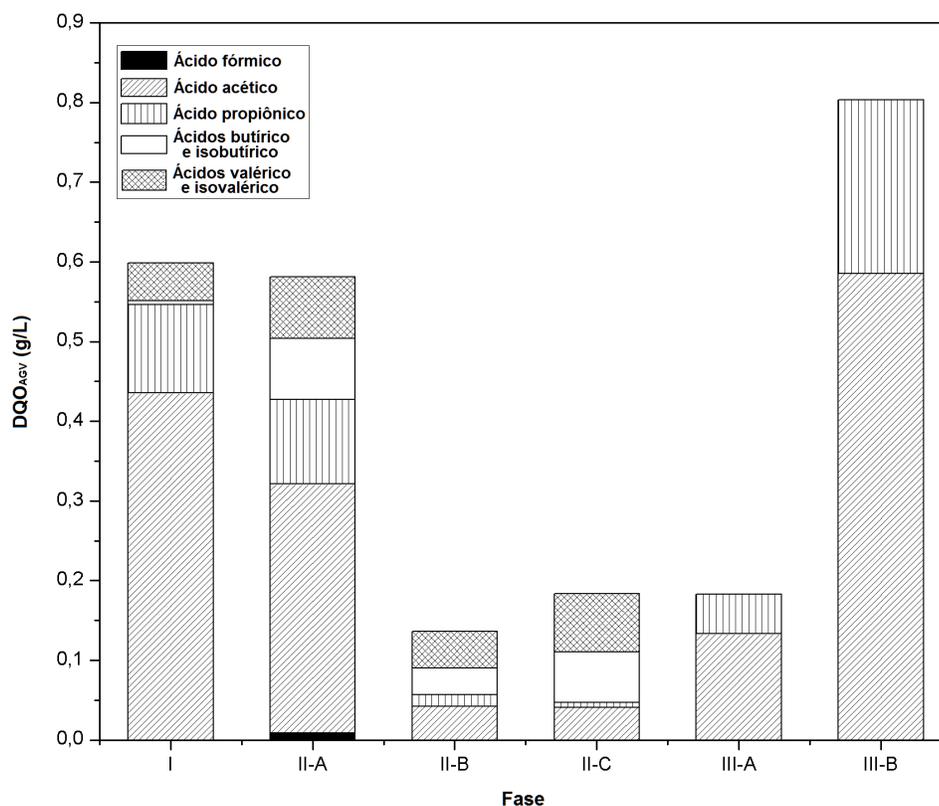
Nas fases I, II-A e III-B, em que houve muito acúmulo de ácidos graxos voláteis e o reator se mostrou mais instável, foram observadas elevadas concentrações de ácido acético no efluente do reator (432,0 mg/L, 292,2 mg/L e 543,2 mg/L, respectivamente). Nessas etapas, o acúmulo de ácido acético representou aproximadamente 73%, 54% e 73% do total de DQO relacionada a ácidos graxos voláteis, na devida ordem.

Figura 17. Acúmulo dos diferentes ácidos graxos voláteis no reator UASB para cada fase operacional.



Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

Figura 18. Composição da DQO_{AGV} em função dos ácidos graxos voláteis acumulados em cada fase operacional do reator UASB.



Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

Segundo Chernicharo (2007), durante condições de estresse, tais como a presença de compostos tóxicos ou choques de carga orgânica, as diferenças cinéticas entre micro-organismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos podem ocasionar o desequilíbrio entre produção e consumo de produtos intermediários e, como consequência, acúmulo de ácido acético. Pavlostathis e Giraldo-Gomez (1991) descrevem que o valor típico de taxa máxima de crescimento específico (μ_{max}) para micro-organismos metanogênicos acetoclásticos durante digestão anaeróbia em condições mesofílicas está compreendido na faixa de 0,08 a 0,7 d⁻¹, e para micro-organismos metanogênicos hidrogenotróficos, na faixa de 0,05 a 4,07 d⁻¹. Portanto, o acúmulo de acetato observado no estudo pode ter ocorrido devido às limitações cinéticas dos micro-organismos metanogênicos acetoclásticos, favorecendo o metabolismo das arqueias hidrogenotróficas, as quais produzem metano a partir da redução de dióxido de carbono.

Com relação ao ácido propiônico, as concentrações detectadas nas fases I, II-A e III-B foram de 70,0 mg/L, 70,8 mg/L e 144,9 mg/L, respectivamente, e esses valores foram equivalentes a 19%, 18% e 27% do total de DQO_{AGV} . Segundo Chernicharo (2007), reatores que favorecem o crescimento disperso da biomassa, como os reatores UASB, não garantem uma efetiva separação das fases acidogênica, acetogênica e metanogênica. Assim sendo, é provável que o acúmulo de propionato ocorra nesses reatores durante condições de deficiência nutricional, presença de compostos tóxicos ou choques de carga, devido a limitações termodinâmicas causadas pela acumulação de hidrogênio e acetato. Na fase III-B, o maior acúmulo de ácido propiônico possivelmente ocorreu devido à presença de compostos tóxicos no hidrolisado hemicelulósico e por choque de carga orgânica (provocada pelo aumento da concentração de substrato na solução afluente), fatores que podem ter prejudicado o crescimento das arqueias metanogênicas acetoclásticas por inibição cinética e, conseqüentemente, desencadeado o acúmulo de propionato.

Amostras de conteúdo do reator anaeróbio foram guardadas, e a técnica de eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) está sendo aplicada no estudo em questão, com o objetivo de facilitar a análise da bioconversão de hidrolisado hemicelulósico no reator UASB e verificar as principais vias de degradação, comprovando ou refutando as hipóteses que foram estabelecidas com relação ao acúmulo de ácidos graxos voláteis.

5.2.2 – Avaliação da produção de biogás no reator UASB

A Tabela 15 mostra os valores médios obtidos de porcentagem de metano no biogás para cada uma das fases operacionais do reator UASB. Na fase I, a composição de metano no biogás obteve o menor valor médio (44,9%) e apresentou a maior variação. Na fase II-A, a porcentagem de metano no biogás (71,6%) aumentou substancialmente com relação à fase I (elevação de 59,5%), dando indícios de estabilidade do sistema. A composição de CH_4 no biogás nas fases II e III de operação do reator UASB apresentou valores relativamente próximos, variando de 69,0% (etapa III-B) a 79,3% (etapa II-B).

Tabela 15. Valores médios de porcentagem de metano no biogás para cada uma das fases operacionais do reator UASB.

Fase	Etapa	Porcentagem de metano no biogás (%) (± desvio padrão)
I	-	44,9 (± 17,4)
II	A	71,6 (± 6,8)
	B	79,3 (± 5,7)
	C	78,7 (± 7,7)
III	A	75,5 (± 5,1)
	B	69,0 (± 6,1)

Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

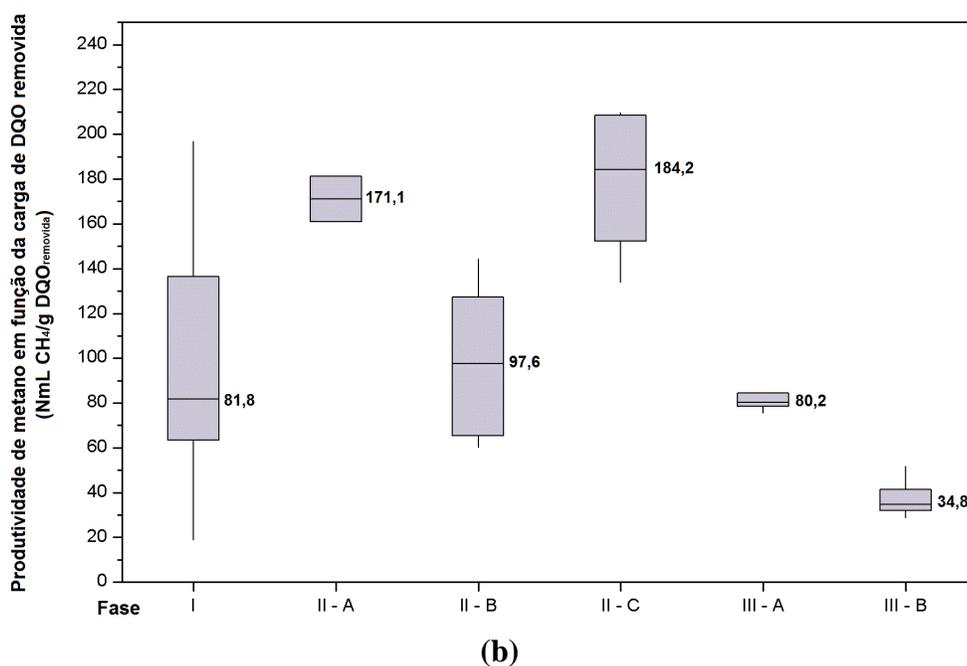
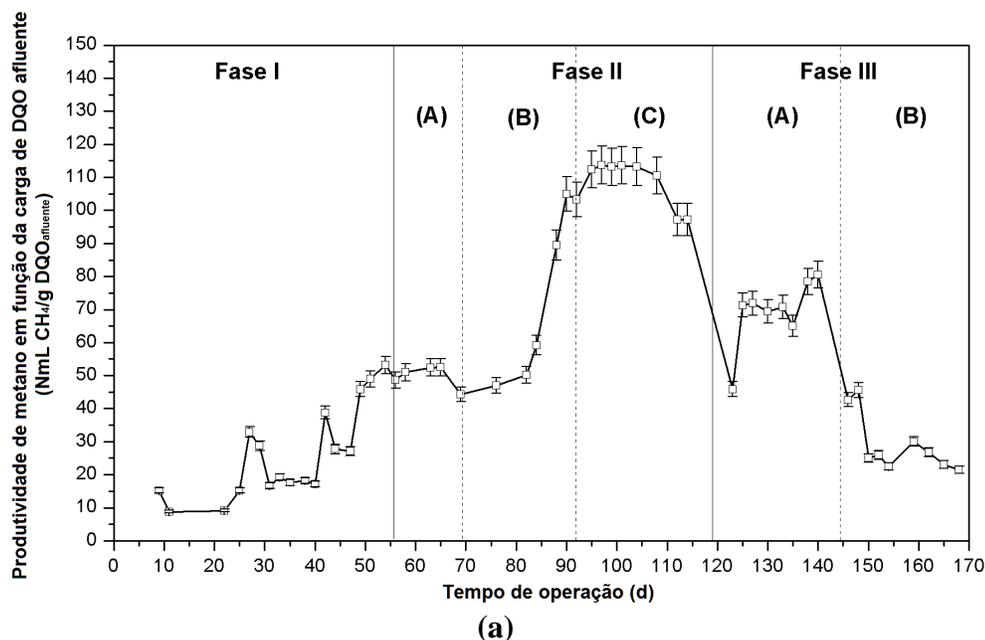
A fração de metano no biogás é um indicativo da condição em que se encontra a comunidade metanogênica no meio em questão. Todavia, este parâmetro, por si só, não fornece informações conclusivas quanto ao bom funcionamento do sistema. Segundo Chernicharo (2007), a proporção de CH₄ pode variar substancialmente, dependendo das características do composto a ser degradado. No processo de digestão anaeróbia de esgotos domésticos, as proporções típicas no biogás são de 70 a 80% de metano. No trabalho em questão, a fração de metano no biogás variou de 44,9% a 79,3%. No estudo de Kaparaju; Serrano; Angelidaki (2009), os pesquisadores obtiveram proporções de metano variando de 58,9% a 67,5% no biogás obtido a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de trigo em reator CSTR, e de 42,0% a 66,9% para a produção de biogás em reator UASB. Nkemka e Murto (2013) estudaram a produção de biogás em reator UASB a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de trigo obtido do pré-tratamento por explosão a vapor catalisada por ácido, e obtiveram proporções de metano no biogás variando de 49 a 55%.

Conforme mostrado na Figura 10, foi introduzido um sistema de captação de biogás na saída do efluente do reator, com o objetivo de recuperar o metano dissolvido no efluente. É importante relatar que a fração de metano no biogás recolhido nesse sistema foi relativamente pequena (~5 a 15%) durante todo o período de operação do reator e, por essa razão, esses dados não foram apresentados. Entretanto, o volume de CH₄ recolhido no sistema de captação foi utilizado para a execução dos cálculos referentes à produção de metano no UASB. A justificativa para as baixas porcentagens de metano obtidas no sistema de captação está relacionada ao fato de que o CH₄ produzido no processo de digestão anaeróbia é rapidamente separado da fase líquida, em razão da sua baixa solubilidade em água (CHERNICHARO, 2007).

A Figura 19 retrata a variação temporal da produção de CH₄ normalizada em relação à carga de DQO afluente ao reator UASB, bem como a produtividade de metano normalizada em relação à carga de DQO removida, para cada uma das fases operacionais. Tomou-se como base a produção prevista teoricamente para averiguar se os resultados de produção de CH₄ encontrados foram coerentes ou não. Ela avalia a produção de metano a partir da estimativa de degradação de DQO no reator, fundamentada em considerações estequiométricas. A produção de metano teórica em condições normais de temperatura e pressão (CNTP) é de 350 NmL CH₄/g DQO_{removida}, assumindo que todo o fluxo de elétrons contido na matéria orgânica reduzida seja canalizado para a produção de metano.

Sabe-se que no processo de digestão anaeróbia, diversos grupos de micro-organismos trabalham interativamente na conversão da matéria orgânica complexa em biogás e novas células bacterianas. Portanto, cabe destacar que parte da DQO removida (de 5 a 20% conforme Speece, 1996) é direcionada à síntese celular. O cálculo do coeficiente de produção de biomassa (Y) seria importante nesse estudo, pois forneceria informações a respeito da fração de substrato convertida em células durante a degradação do mesmo. Entretanto, não foi possível efetuar essa análise, uma vez que não houve dados de variação de concentração de biomassa ao longo do tempo para cada fase operacional. Dessa forma, considerando os cenários de mínimo e máximo crescimento celular, ou seja, assumindo que de 5% a 20% da DQO removida seriam canalizados para a síntese de novas células, a produção de metano esperada estaria na faixa de 280 a 332,5 NmL CH₄/g DQO_{removida}.

Figura 19. (a) Variação temporal da produtividade de metano normalizada em função da carga de DQO afluyente ao reator UASB e (b) valores medianos da produtividade de metano normalizada em função da carga de DQO removida no reator, nas diferentes fases operacionais.



Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

Como pode ser verificado na Figura 19, os valores de mediana da produtividade de metano

em termos de DQO removida variaram de 34,8 (etapa III-B) a 184,2 NmL CH₄/g DQO_{removida} (etapa II-C). Portanto, vale ressaltar que, durante todo o período de operação do reator UASB, a recuperação de metano foi baixa (aproximadamente 10% a 55%, considerando o cenário de máximo crescimento celular – 20% da DQO removida convertida em células) em comparação com a produção de metano teórica.

As possíveis circunstâncias para esses baixos resultados de recuperação de metano no estudo em questão são perdas de CH₄ na fase gasosa (vazamentos nos dispositivos de coleta – *gas bags*) e/ou dissolvida, e adsorção de compostos recalcitrantes provenientes do hidrolisado ao lodo. Campos e colaboradores (2005) relataram perdas de metano para a atmosfera e para o efluente líquido do reator UASB alimentado com dejetos de suínos. De acordo com os pesquisadores, o volume de biogás produzido foi influenciado pela variação de pressão causada pela altura da coluna d'água no reator. Este inconveniente fez com que a produção de biogás medido fosse menor do que a produção prevista teoricamente, resultando em medições práticas com valores de 20 a 50% da produção teórica.

Como o hidrolisado hemicelulósico é constituído por furfurais (HMF e FF) e substâncias fenólicas, os quais são de difícil biodegradabilidade, uma hipótese a se considerar é que tenha ocorrido adsorção de parte desses compostos ao lodo nas fases II e III de operação, em que o reator foi alimentado com solução de hidrolisado. Aksu (2005) estudou a aplicação da adsorção utilizando biomassa microbiana para remoção de poluentes orgânicos e mostrou que compostos fenólicos podem ser adsorvidos. O mesmo pesquisador certificou que, no processo de adsorção, esses elementos são retidos na parede celular das células microbianas presentes no lodo. Dessa forma, para tais compostos que foram supostamente adsorvidos, não haveria, de fato, remoção de DQO (uma vez que não ocorreria degradação dos mesmos) e consequente geração de biogás.

5.3.3 – Balanço de massa no reator UASB

O balanço de massa em termos de DQO é uma ferramenta útil para esclarecer o fluxo de matéria orgânica através do reator e avaliar o desempenho do processo (SOUZA, 2010). Tendo em vista que não foram procedidas as análises dos produtos microbianos solúveis, dos substratos e subprodutos não identificados, e da produção de células bacterianas, foi realizado um estudo simplificado do balanço de massa em termos de DQO no reator UASB. No balanço de matéria

orgânica no reator UASB, a DQO afluente filtrada seria equivalente à soma da DQO removida, que corresponde à DQO convertida em biogás ($DQO_{\text{biogás}}$) e em novas células bacterianas ($DQO_{\text{células}}$), e da DQO efluente ou residual. A DQO residual seria constituída pela DQO relativa aos ácidos graxos voláteis (DQO_{AGV}), aos produtos microbianos solúveis, aos substratos não quantificados (ex.: lignina solúvel) e/ou não completamente degradados, e aos subprodutos não identificados gerados no processo de digestão anaeróbia. Nesse balanço de massa simplificado, tais compostos foram agrupados e denominados como $DQO_{\text{desconhecida}}$.

Os açúcares e os produtos de degradação (presentes no hidrolisado hemicelulósico) analisados foram glicose, xilose, arabinose, HMF e FF. Observou-se que os compostos facilmente degradáveis, tais como os açúcares C5 e C6, foram completamente utilizados pelos micro-organismos e convertidos em biogás ou novas células em todas as fases operacionais. Já os produtos de degradação de sacarídeo foram completamente removidos nas fases I e II, entretanto apenas parcialmente na fase III.

A Tabela 16 mostra as concentrações de HMF e FF no afluente e efluente do reator em cada fase operacional, assim como a DQO equivalente desses compostos no efluente do UASB. Segundo cálculos estequiométricos, 1 g de HMF e 1 g de FF apresentam DQO teórica de 0,76 g e 0,83 g, respectivamente. Na etapa III-A, 20,5% de HMF e 11,5% de FF não foram removidos no reator UASB. Já na etapa III-B, esses valores foram de 33,9% para HMF e 20,5% para FF. Esse resultado reforça a hipótese de que, nas etapas III-A (COV de 2,4 g DQO/L.d) e III-B (COV de 4,8 g DQO/L.d), esses dois produtos de degradação de sacarídeo estavam presentes em concentrações elevadas no meio, podendo ter sido prejudiciais ao metabolismo de alguns grupos microbianos responsáveis pela biodegradação do hidrolisado hemicelulósico (Barakat et al., 2012). Além disso, é importante observar que, como HMF e FF não são compostos facilmente degradados, a remoção de parte desses compostos pode ter se dado por adsorção ao lodo, o que acentua o problema de toxicidade.

Tabela 16. Concentrações de HMF e FF nas soluções afluente e efluente do reator, e DQO equivalente desses compostos no efluente do reator, para cada uma das fases operacionais.

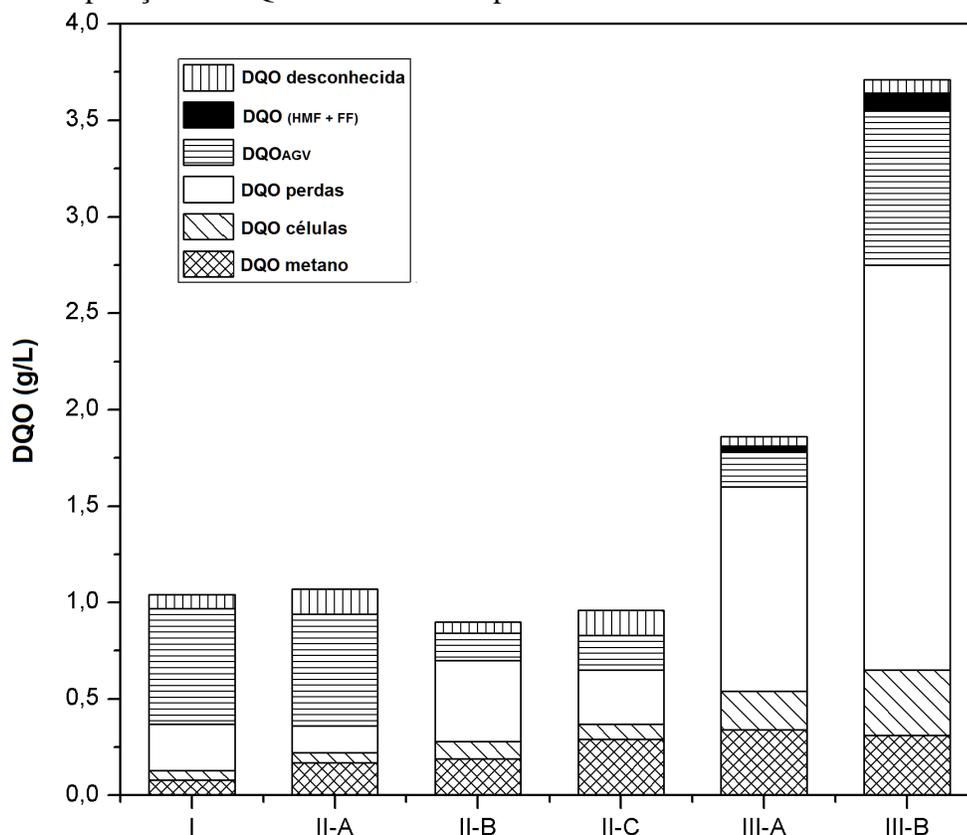
Composto	Fase operacional	Concentração afluente (g/L)	Concentração efluente (g/L)	DQO equivalente no efluente (g/L)	
HMF	I	-	-	-	
	A	< LD	< LD	< LD	
	II	B	0,0272	< LD	< LD
	C	0,0723	< LD	< LD	
	III	A	0,1246	0,0255	0,0194
		B	0,2227	0,0755	0,0574
	FF	I	-	-	-
A		< LD	< LD	< LD	
II		B	0,0162	< LD	< LD
C		0,0706	< LD	< LD	
III		A	0,1149	0,0132	0,0110
		B	0,1943	0,0398	0,0330

< LD: abaixo do limite de detecção; fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

A Figura 20 ilustra a composição da DQO em cada fase operacional e a Tabela 17 apresenta o balanço simplificado de DQO, com os valores médios obtidos para cada uma das fases de operação do reator. Para o cálculo de DQO_{metano}, tomou-se uma temperatura média de 25 °C, uma vez que não houve controle de temperatura no período de operação do UASB, e pressão atmosférica de 1 atm. Como já mencionado anteriormente, a análise de crescimento celular não foi efetuada no estudo em questão. Portanto, tendo em vista a informação fornecida por Speece (1996), que de 5 a 20% do total de DQO removida sejam canalizados para a produção e o

crescimento de células em processos anaeróbios, estimou-se que 20% da DQO removida seria direcionado à síntese celular.

Figura 20. Composição da DQO em cada fase operacional do reator UASB.



Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

Como pode ser comprovado na Figura 20 e Tabela 17, a recuperação de metano foi baixa durante todo o período de operação do reator UASB, provavelmente pelas perdas de biogás nos dispositivos de coleta (*gas bags*) e/ou na fase dissolvida, além de adsorção de subprodutos ao lodo. Na etapa II-C, em que foi observada a maior produção média de metano, a DQO_{metano} equivaleu a 53% da DQO removida. Já na etapa III-B, em que foi constatada a pior produção média de CH_4 , a DQO_{metano} correspondeu a apenas 10% da DQO removida.

Tabela 17. Balanço simplificado de DQO no reator UASB para cada uma das fases operacionais.

Fase	DQO afluente (g/L)	DQO removida (g/L)			DQO residual (g/L)		
		DQO metano (g/L)	DQO células (g/L)	DQO perdas (g/L)	DQO _{AGV} (g/L)	DQO (HMF+FF) (g/L)	DQO desconhecida (g/L)
I	1,04	0,09	0,08	0,21	0,60	-	0,06
A	1,07	0,16	0,07	0,13	0,58	< LD	0,13
II B	0,90	0,19	0,14	0,36	0,14	< LD	0,07
C	0,96	0,34	0,13	0,18	0,18	< LD	0,13
III A	1,86	0,36	0,32	0,91	0,18	0,03	0,06
B	3,71	0,27	0,55	1,93	0,80	0,09	0,07

Fase I: alimentação com solução de xilose e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-A: alimentação com solução contendo 50% de xilose e 50% de hidrolisado e COV de 1,4 g DQO/L.d; fase II-B: alimentação com solução contendo 25% de xilose e 75% de hidrolisado e COV de 1,2 g DQO/L.d; fase II-C: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 1,3 g DQO/L.d; fase III-A: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 2,4 g DQO/L.d; fase III-B: alimentação com solução de hidrolisado e COV de 4,8 g DQO/L.d.

6 – CONCLUSÕES

Os ensaios de potencial bioquímico de metano (BMP) selecionaram uma condição ótima de pré-tratamento hidrotérmico (178,6 °C, 43,6 min e 0,24 g/mL de RSL), que proporcionou uma produção acumulada de metano de 1,82 L/g COT, e cujo hidrolisado foi posteriormente aplicado como substrato em reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB). A maior biodegradabilidade do hidrolisado proveniente dessa condição ótima possivelmente está relacionada ao fato da mesma possuir menores concentrações de furanos e de lignina solúvel em comparação com as demais condições avaliadas.

O desempenho do reator UASB foi avaliado pela variação da concentração de hidrolisado e da carga orgânica volumétrica (COV), e os resultados obtidos indicaram que a diminuição na proporção xilose/hidrolisado na solução de alimentação resultou em melhor desempenho do processo. Em contrapartida, o aumento na COV causou queda nos rendimentos de metano. A produção máxima de metano observada (184,2 NmL CH₄/g DQO_{removida}) foi obtida quando o reator UASB foi alimentado com 100% de hidrolisado como substrato e com uma COV de 1,3 g DQO/L.d. Contraditoriamente, quando se aumentou a carga orgânica volumétrica de 1,3 para 2,4 g DOQ/L.d, a remoção de matéria orgânica atingiu seu valor mais expressivo (85,3%). De fato, é importante enfatizar que a baixa recuperação de metano durante todo o período de operação pode ter ocorrido por perdas de metano na fase gasosa e/ou dissolvida, além de adsorção de compostos recalcitrantes provenientes do hidrolisado hemicelulósico ao lodo.

De modo geral, concluiu-se que a aplicação da tecnologia anaeróbia para a degradação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar e geração de biogás (metano) em reator do tipo UASB é possível e promissora. Este processo poderia contribuir para a geração de energia em uma indústria de bioetanol, uma vez que esta tecnologia amplia as possibilidades de utilização completa do bagaço de cana em um conceito de biorrefinaria lignocelulósica.

7 – RECOMENDAÇÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

a) Efetuar a quantificação de outros gases presentes no biogás produzido em reator anaeróbio com alimentação contínua, tais quais H_2 e CO_2 .

b) Efetuar a análise periódica de sólidos suspensos voláteis em reator anaeróbio com alimentação contínua para viabilizar a avaliação do crescimento de micro-organismos no reator.

c) Adotar um mecanismo de coleta de gás mais eficiente, que evite a perda de biogás produzido.

d) Efetuar um ensaio de adsorção para avaliar a hipótese de que subprodutos recalcitrantes da digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico se adsorvem ao inóculo do reator UASB.

e) Avaliar o potencial de produção de biogás (hidrogênio e metano) em sistema anaeróbio de dois estágios com alimentação contínua, em que as condições de operação são estabelecidas para propiciar a fermentação do substrato a hidrogênio e favorecer o crescimento de bactérias acidogênicas no primeiro estágio, e as condições são alteradas para favorecer a metanogênese no segundo estágio.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E. F. de. **Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores UASB tratando esgoto sanitário**. 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

AGUIAR, C. M. de. **Hidrólise Enzimática de Resíduos Lignocelulósicos utilizando Celulases Produzidas pelo Fungo *Aspergillus Niger***. 2010. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2010.

AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: A review. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3-4, p. 997–1026, 2005.

ALBUQUERQUE, M. F. G. de. **Tratamento do efluente da produção de biodiesel em reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) visando a redução de matéria orgânica e geração de metano**. 2014. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2014.

ALMEIDA, J. R. M., et al. Increased tolerance and conversion of inhibitors in lignocellulosic hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 82, n. 4, p. 340–349, 2007.

ALVES, R. E. **Caracterização de Fibras Lignocelulósicas Pré-Tratadas por meio de Técnicas Espectroscópicas e Microscópicas Ópticas de Alta Resolução**. 2011. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

AMIRTA, R. et al. Methane fermentation of Japanese cedar wood pretreated with a white rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*. **Journal of Biotechnology**, v. 123, n. 1, p. 71–77, 2006.

ANGELIDAKI, I.; ELLEGAARD, L.; AHRING, B. K. Applications of the anaerobic digestion process. **Advances in biochemical engineering/biotechnology**, v. 82, p. 1–33, 2003.

ANTUNES, F. A. F. et al. Bioethanol production from sugarcane bagasse by a novel brazilian pentose fermenting yeast *Scheffersomyces shehatae* UFMG-HM 52.2: Evaluation of fermentation medium. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2014, 2014.

APHA, AWWA and WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed. Washington: American Public Health Association, 2005. 1082 p.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n.2, p. 152-161, 2005.

AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, n.2, p.380-389, 2007.

BAËTA, B. E. L. et al. Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolysates in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 200, n. 2016, 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, n. 2012, p. 90–99, 2012.

BASTOS, V. D. Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 25, p. 5-38, mar. 2007. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/bndes/bndes_pt/Institucional/Publicacoes/Consulta_Expressa/Setor/Complexo_Quimico/200703_3.html>. Acesso em: 14 Jan. 2015.

BATALHA, L. A. R. et al. Production of fermentable sugars from sugarcane bagasse by enzymatic hydrolysis after autohydrolysis and mechanical refining. **Bioresource Technology**, v. 180, n. 2015, p. 97–105, 2015.

BINGEMER, H. G.; CRUTZEN, P. J. The production of methane from solid wastes. **Journal of Geophysical Research**, v. 92, n. D2, p. 2181, 1987.

BOUALLAGUI, H. et al. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 989-995, 2005.

BRAGATTO, J. **Avaliação do Potencial da Casca de *Eucalyptus* spp. para a Produção de Bioetanol**. 2010. 154 f. Tese (Doutorado em Ciências: Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

BRANDON, S. K. et al. Hydrolysis of Tifton 85 Bermudagrass in a Pressurized Batch Hot Water Reactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Fev. 2008. n. 83, p. 505-512.

CAMPOS, C. M. M. et al. Potential evaluation of biogas production and treatment efficiency of an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) fed with swine manure liquid effluent. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 4, p. 848–856, 2005.

CAMPOS, J. R. et al. Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo. **PROSAB**. 1ª Ed. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 1999. 436 p.

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 and Biotechnology**, v. 2012, 2012.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4754–4766, 2010.

CHANDRA, R.; TAKEUCHI, H.; HASEGAWA, T. Hydrothermal pretreatment of rice straw biomass: A potential and promising method for enhanced methane production. **Applied Energy**, v. 94, n. 2012, p. 129–140, 2012b.

CHANDRA, R.; TAKEUCHI, H.; HASEGAWA, T. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 3, p. 1462–1476, 2012a.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Reatores anaeróbios**. 2 ed. v. 5. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG, 2007. 380 p.

CIOABLA, A. E. et al. Comparative study on factors affecting anaerobic digestion of agricultural vegetal residues. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, n. 39, 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. v.2. Segundo levantamento. 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_13_15_58_44_boletim_cana_portugues_-_2o_lev_-_15-16.pdf>. Acesso em: 12 Jan. 2016.

CONRAD, R. The global methane cycle: Recent advances in understanding the microbial processes involved. **Environmental Microbiology Reports**, v. 1, n. 5, p. 285–292, 2009.

COSTA, A. G. et al. The use of thermochemical pretreatments to improve the anaerobic biodegradability and biochemical methane potential of the sugarcane bagasse. **Chemical Engineering Journal**, v. 248, p. 363–372, 2014.

COSTA, D. F. da. **Geração de Energia Elétrica a partir do Biogás do Tratamento de Esgoto**. 2006. 194 f. Dissertação (Mestrado em Energia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

DA CRUZ, S. H. et al. Hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse using response surface methodology improves digestibility and ethanol production by SSF. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 3, p. 439–447, 2012.

DESAI, T. A.; RAO, C. V. Regulation of arabinose and xylose metabolism in *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 5, p. 1524–1532, 2010.

EL-MASHAD, H.M., ZEEMAN, G., WILKO, P. A. Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 2, p. 191–201, 2004.

FANGKUM, A.; REUNGSANG, A. Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung: Effects of initial pH and substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 14, p. 8687–8696, 2011.

GIRISUTA, B. **Levulinic acid from lignocellulosic biomass**. [s.l: s.n.]. Thesis, University of Groningen, 2007.

GOMEZ-TOVAR, F. et al. Chemical and enzymatic sequential pretreatment of oat straw for methane production. **Bioresource Technology**, v. 116, n. 2012, p. 372–378, 2012.

GONG, C. S. et al. Ethanol production from renewable resources. In: **Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology**. v. 65. Berlin: Springer-Verlag, 1999, p. 208-238.

HEREDIA-OLEA, E.; PÉREZ-CARRILLO, E.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Effects of different acid hydrolyses on the conversion of sweet sorghum bagasse into C5 and C6 sugars and yeast inhibitors using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 119, n. 2012, p. 216–223, 2012.

HSU, T. A.; LADISCH, M. R.; TSAO, G. T. Alcohol from cellulose. **Chem. Technol.**, v. 10, p. 315–319, 1980.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2016. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201601_2.shtm>. Acesso em: 18 Fev. 2016.

JACKOWIAK, D. et al. Optimisation of a microwave pretreatment of wheat straw for methane production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 12, p. 6750–6756, 2011.

JAYANTHA, K. S.; RAMANUJAM, T. K. Start-up criteria for a Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 13. p. 307–310, 1995.

KAPARAJU, P. et al. Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 9, p. 2562–2568, 2009.

KAPARAJU, P.; SERRANO, M.; ANGELIDAKI, I. Effect of reactor configuration on biogas production from wheat straw hydrolysate. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6317–6323, 2009.

KAPARAJU, P.; SERRANO, M.; ANGELIDAKI, I. Optimization of biogas production from wheat straw stillage in UASB reactor. **Applied Energy**, v. 87, n. 12, p. 3779–3783, 2010.

KLINKE, H. B.; THOMSEN, A. B.; AHRING, B. K. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 1, p. 10–26, 2004.

KOBAYASHI, F. et al. Methane production from steam-exploded bamboo. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 97, n. 6, p. 426–8, 2004.

KONGJAN, P. et al. Biohydrogen production from wheat straw hydrolysate by dark fermentation using extreme thermophilic mixed culture. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 105, n. 5, p. 899–908, 2010.

KUMAR, P. et al. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 08, p. 3713-3729, 2009.

LEE, J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Journal of Biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 1–24, 1997.

LEVIN, D. B. et al. Challenges for biohydrogen production via direct lignocellulose fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7390–7403, 2009.

LIMING, X.; XUELIANG, S. High-yield cellulase production by *Trichoderma reesei* ZU-02 on corn cob residue. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 3, p. 259–262, 2004.

LIU, C.M. et al. Biohydrogen production evaluation from rice straw hydrolysate by concentrated acid pre-treatment in both batch and continuous systems. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 35, p. 15823–15829, 2013.

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**. 2009. 158 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Físico-Química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MATLAB .Versão 7.10.0. Natick, Massachusetts: The MatWorks Inc., 2010.

MESQUITA, P. da L. et al. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 04, p. 295–302, 2013.

MINAMI, K. Atmospheric methane and nitrous oxide: sources, sinks and strategies for reducing agricultural emissions. **Nutrient cycling in agroecosystems**, v. 49, n. 1-3, p. 203–211, 1997.

MONLAU, F. et al. Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 5, p. 934–951, 2014.

MONLAU, F. et al. Lignocellulosic Materials Into Biohydrogen and Biomethane: Impact of Structural Features and Pretreatment. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 260–322, 2013.

MOODY, L. et al. Use of biochemical methane potential (BMP) assays for predicting and enhancing anaerobic digester performance. **Agricultural engineering: 44th Croatian and fourth international symposium on agriculture**, p. 930–934, 2009.

NIELSEN, H. B. **Control parameters for understanding and preventing process imbalances in biogas plants. Emphasis on vfa dynamics**. [s.l.: s.n.]. Thesis, Technical University of Denmark, 2006.

NIELSEN, H. B.; AHRING, B. K. Responses of the biogas process to pulses of oleate in reactors treating mixtures of cattle and pig manure. **Biotechnology and Bioengineering Journal**, v. 95, p. 95-105, 2006.

NISSILÄ, M. E.; LAY, C. H.; PUHAKKA, J. A. Dark fermentative hydrogen production from lignocellulosic hydrolyzates - A review. **Biomass and Bioenergy**, v. 67, p. 145–159, 2014.

NKEMKA, V. N.; MURTO, M. Biogas production from wheat straw in batch and UASB reactors: The roles of pretreatment and seaweed hydrolysate as a co-substrate. **Bioresource Technology**, v. 128, n. 2013, p. 164–172, 2013.

OLIVEIRA, R.A. de; FORESTI E.; LUCAS JÚNIOR, J. Efeito da temperatura sobre o desempenho de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 25, 1996, Bauru. **Anais...** Bauru: Sociedade Brasileira de Engenharia Agrícola, 1996.

PAKARINEN, O. M.; TÄHTI, H. P.; RINTALA, J. A. One-stage H₂ and CH₄ and two-stage H₂ + CH₄ production from grass silage and from solid and liquid fractions of NaOH pre-treated grass silage. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 10, p. 1419–1427, 2009.

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

PAVLOSTATHIS, S. G.; GIRALDO-GOMEZ, E. Kinetics of anaerobic treatment – a critical review. **Critical Reviews in Environmental Control**, v. 21, p. 411–490, 1991.

PETCHPRADAB, P. et al. Hydrothermal pretreatment of Rubber wood for the saccharification process. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 9, p. 4587–4591, 2009.

PETERSEN, M. Ø.; LARSEN, J.; THOMSEN, M. H. Optimization of hydrothermal pretreatment of wheat straw for production of bioethanol at low water consumption without addition of chemicals. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 5, p. 834–840, 2009.

PETERSSON, A. et al. Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic biomass from winter rye, oilseed rape and faba bean. **Biomass and Bioenergy**, v. 31, n. 11-12, p. 812–819, 2007.

PITARELO, A. P. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PRADO, M. A. C.; CAMPOS, C. M. M. Produção de biogás no tratamento dos efluentes líquidos do processamento de Coffea arábica L. em reator anaeróbio UASB para o potencial aproveitamento na secagem do café. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 938-947, 2008.

PRATS, C. et al. Analysis and IBM simulation of the stages in bacterial lag phase: Basis for an updated definition. **Journal of Theoretical Biology**, v. 252, n. 1, p. 56–68, 2008.

RABELO, S. C. **Avaliação de Desempenho do Pré-Tratamento com Peróxido de Hidrogênio Alcalino para a Hidrólise Enzimática de Bagaço de Cana-de-Açúcar**. 2007. 150 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

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. 7887–7895, 2011.

REN, N. et al. Bioconversion of lignocellulosic biomass to hydrogen: Potential and challenges. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 6, p. 1051–1060, 2009.

RIZVI, H. et al. Start-up of UASB reactors treating municipal wastewater and effect of temperature/sludge age and hydraulic retention time (HRT) on its performance. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 780–786, 2015.

ROCHA, G. J. DE M. et al. Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical-chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, n. 2015, p. 52–58, 2015.

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

RUIZ, H. A. et al. Biorefinery valorization of autohydrolysis wheat straw hemicellulose to be applied in a polymer-blend film. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 2154–2162, 2013.

SALOMON, K. R.; LORA, E. E. S. Estimate of the electric energy generating potential for different sources of biogas in Brazil. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 9, p. 1101–1107, 2009.

SAMBUSITI, C. et al. Sodium hydroxide pretreatment of ensiled sorghum forage and wheat straw to increase methane production. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 11, p. 2447–2452, 2012.

SARKAR, N. et al. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, v. 37, n. 1, p. 19–27, 2012.

SAWATDEENARUNAT, C. et al. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 178, p. 178–186, 2015.

SENE, L. et al. Evaluation of sorghum straw hemicellulosic hydrolysate for biotechnological production of xylitol by *Candida guilliermondii*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 1141–1146, 2011.

SILVA, E. P. da. et al. Recursos energéticos, meio ambiente e desenvolvimento. **MultiCiência**, n. 01, p. 01–22, Nov. 2003.

SILVA-FERNANDES, T. et al. Hydrothermal pretreatment of several lignocellulosic mixtures containing wheat straw and two hardwood residues available in Southern Europe. **Bioresource Technology**, v. 183, p. 213–220, 2015.

SILVA, M. F. de O. e; COSTA, L. M. A indústria de defensivos agrícolas. **BNDES Setorial**, n. 35, p. 233 – 276. 2012.

SILVA, N. L. C. **Produção de Bioetanol de Segunda Geração a partir de Biomassa Residual da Indústria de Celulose**. 2010. 109f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

SILVA, V. S.; SILVA, C. M. de. Análise da Viabilidade de Projetos de Cogeração de Energia por meio do Bagaço da Cana-de-Açúcar: Um Estudo a partir de Agroindústrias Sucroalcooleiras do Paraná. **Campo Digital: Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 09-22, dez. 2013.

SOUZA, C. L. de. **Estudo das rotas de formação, transporte e consumo de gases metano e sulfeto de hidrogênio resultantes do tratamento de esgoto doméstico em reatores UASB**. 2010. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters**. Nashville: Archae Press, 1996. 394 p.

STREFFER, F. Lignocellulose to Biogas and other Products. **JSM Biotechnology and Biomedical Engineering**, v. 2, n. 01, p. 1023-1029, 2014.

SUN, L. **Biogas production from lignocellulosic materials**. [s.l.: s.n.]. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, 2015.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, n. 9, p. 1621–1651, 2008.

TORRY-SMITH, M.; SOMMER, P.; AHRING, B. K. Purification of bioethanol effluent in an UASB reactor system with simultaneous biogas formation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 84, n. 1, p. 7–12, 2003.

VAN HAANDEL, A. C., LETTINGA, G. **Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate**. 1 ed. Chichester: Wiley & Sons, 1995. 236 p.

VERSIANI, B. M. **Desempenho de um Reator UASB Submetido a Diferentes Condições Operacionais Tratando Esgotos Sanitários do Campus da UFRJ**. 2005.78 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4^a ed. v. 1. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Editora UFMG, 2014. 472 p.

WEILAND, P.; VERSTRAETE, W.; VAN HAANDEL, A. Biomass Digestion to Methane in Agriculture: A Successful Pathway for the Energy Production and Waste Treatment Worldwide. **Biofuels**, p. 171–195, 2009.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, n. 2, p. 63–102, 2000.

WINDEISEN, E.; WEGENER, G. Lignin as Building Unit for Polymers. **Polymer Science: A Comprehensive Reference**, v. 10, p. 255–265, 2012.

WYK, J. P. H. V. Biotechnology and the Utilization of Biowaste as a Resource for Bioproduct Development. **Trends in Biotechnology**, v. 19, n. 05, p. 172-177, 2001.

YU, Q. et al. Liquid hot water pretreatment of sugarcane bagasse and its comparison with chemical pretreatment methods for the sugar recovery and structural changes. **Bioresource Technology**, v. 129, n. 2013, p. 592–598, 2013.

ZHA, Y. et al. Identifying inhibitory compounds in lignocellulosic biomass hydrolysates using an exometabolomics approach. **BMC biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 22, 2014.

ZHANG, Q. et al. Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 8899–8906, 2011.

ZHAO, L. et al. An anaerobic sequential batch reactor for enhanced continuous hydrogen production from fungal pretreated cornstalk hydrolysate. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 33, p. 19311–19316, 2014.

ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, n. 1, p. 35–53, 2014.

ZWIETERING, M. H. et al. Modeling of the Bacterial-Growth Curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 1875-1881, 1990.