

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CÂMPUS MEDIANEIRA**

**PAULA VERÔNICA REMOR**

**DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR:  
OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DE PRÉ-  
TRATAMENTO ALCALINO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS AMBIENTAIS  
PPGTAMB**

**MEDIANEIRA  
2020**

**PAULA VERÔNICA REMOR**

**DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR: OTIMIZAÇÃO DE  
PARÂMETROS OPERACIONAIS DE PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO**

**ANAEROBIC DIGESTION OF SUGARCANE BAGASSE: OPTIMIZATION OF  
ALKALINE PRETREATMENT OPERATIONAL PARAMETERS**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Ambientais do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais – PPGTAMB - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Thiago Edwiges.

Coorientador: Prof. Dr. Laercio Mantovani Frare.

**MEDIANEIRA**

**2020**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Câmpus Medianeira**



PAULA VERONICA REMOR

**DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR: OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DE PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologias Ambientais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias Ambientais.

Data de aprovação: 26 de Novembro de 2020

Prof Thiago Edwiges, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Airton Kunz, Doutorado - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Suínos e Aves - Santa Catarina

Prof Eduardo Eyng, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/11/2020.

Dedico aos meus pais, Clóvis e Edilma, e a minha irmã Gabriela, por todo amor, companheirismo, motivação e força que sempre me proporcionam.

## **AGRADECIMENTOS**

Um especial agradecimento aos meus pais, Clóvis e Edilma, e minha irmã Gabriela, por todo o apoio e amor incondicional. Vocês são a base de tudo o que sou e serei eternamente grata por tudo que fazem por mim. Agradeço a compreensão e incentivo de vocês e do Thadeu Brito que sempre estão presente para dar forças.

Gostaria de agradecer os meus orientadores Thiago Edwiges e Laércio Frare que nunca mediram esforços para ensinar e abrir oportunidades para que esta etapa fosse iniciada e concluída e ajudaram a ampliar o leque de oportunidades futuras.

Aos meus amigos, família de laboratório, Jhenifer Bastos e João Alino, agradeço de coração todo o suporte, ajuda e ensinamentos que me transmitiram neste período, além do ombro amigo que muitas vezes deu força para continuar o caminho. Aos amigos companheiros de mestrado, An Moran Cardoso, Andressa Corso, Eduardo Ziglioli, Jadiane Cavaler, Alexssander Tavares e todos os amigos que estiveram juntos, física e virtualmente: muito obrigada.

Aos professores do PPGTAMB, em especial ao professor Eduardo Eyng que proporcionou o entendimento do DCCR e auxiliou sempre que necessário. Também, aos coordenadores do PPGTAMB que estão sempre dispostos a ajudar e contornar as adversidades.

Agradeço à UTFPR pelo incrível programa de Mestrado em Tecnologias Ambientais e pela estrutura que permitiu a realização dos experimentos. Agradeço ainda às instituições que financiaram esta pesquisa e tornaram a realização possível: Centro Internacional de Energias Renováveis – CIBiogás e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Destaco ainda um agradecimento a Deus por toda a força e todas as bênçãos concedidas. Por fim, às pessoas que não foram citadas, mas que estiveram presente neste período intenso de atividades e que de alguma forma auxiliaram neste desafio. Obrigada a todos.

## RESUMO

REMOR, Paula Verônica. **Digestão anaeróbia de bagaço de cana-de-açúcar: otimização de parâmetros operacionais de pré-tratamento alcalino.** Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira-PR, 65 f., 2020.

A cana-de-açúcar é a cultura mais comercializada no mundo e o Brasil o maior produtor global. O processamento da cana gera cerca 28% de resíduo na forma de bagaço (BC) sendo que apenas 50% é utilizado para a geração de energia a partir da queima nas próprias indústrias. O BC é um substrato lignocelulósico que se pré-tratado pode ser facilmente convertido em biogás a partir da digestão anaeróbia. Contudo, a aplicação de pré-tratamentos em escala real é limitada devido à falta de parâmetros ótimos (concentração química e tempo de pré-tratamento). Este estudo avaliou o pré-tratamento alcalino do BC no potencial bioquímico de metano (PBM) e estimou condições operacionais ideais de pré-tratamento. O BC foi pré-tratado com soluções de NaOH e KOH com diferentes concentrações entre 1% e 10% (m/v) e tempos de contato entre 1 h e 12 h. O PBM do BC com e sem pré-tratamento foi avaliado em regime de batelada com garrafas de 125 mL e relação inóculo/substrato de 3. A estimativa das condições ótimas de pré-tratamento foram obtidas por meio de modelagem estatística empírica. Após a geração dos modelos, foi realizada validação dos valores preditos e observados. O PBM do BC sem pré-tratamento variou entre 297-306 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup> e o pré-tratamento com KOH e NaOH resultou em valores de produção até 19% e 20% superiores. As condições operacionais ótimas foram de 7,7% e 8,3% para NaOH e KOH e tempo de contato de cerca de 12 h, sendo semelhantes para as duas soluções. O delineamento estatístico indicou que concentrações entre 4% e 10% de NaOH e 6% e 10% de KOH com o tempo de contato otimizado resultam em PBM estatisticamente semelhantes. A validação do modelo matemático indicou um ajuste satisfatório dos resultados preditos e observados com erros de apenas 4,5% para o modelo de NaOH e de 5,2% para o KOH. Neste sentido, a otimização das condições de pré-tratamento possibilita melhor aplicação do processo em escala real pois permite o uso de menores quantidades de produtos químicos e o aumento da produção de metano.

**Palavras-chave:** DCCR, lignocelulose, NaOH, PBM, KOH

## ABSTRACT

REMOR, Paula Verônica. **Anaerobic digestion of sugarcane bagasse: optimization of alkaline pretreatment operational parameters.** Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira-PR, 65 f., 2020.

Sugarcane is the most traded crop in the world and Brazil is the largest global producer. Sugarcane processing generates about 28% of waste in the form of bagasse (SB) with only 50% being used to generate energy from burning in the industries themselves. BC is a lignocellulosic substrate that, if pretreated, can be easily converted into biogas from anaerobic digestion. However, the application of pretreatments on a full scale is limited due to the lack of optimal parameters (chemical concentration and pretreatment time). This study evaluated the alkaline pretreatment of SB on the Biochemical Methane Potential (BMP) and estimated ideal operational conditions for pretreatment. The SB was pretreated with NaOH and KOH solutions with different concentrations between 1% and 10% (w/v) and contact times between 1 h and 12 h. The BMP for SB with and without pretreatment was evaluated in batch mode with 125 mL bottles and an inoculum/substrate ratio of 3. The estimate of optimal pretreatment conditions was obtained through empirical statistical modeling. After generating the models, validation of predicted and observed values were performed. BMP for SB without pretreatment varied between 297-306 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg VS<sup>-1</sup> and pretreatment with KOH and NaOH resulted in production values 19% and 20% higher. The optimum operating conditions were 7.7% and 8.3% for NaOH and KOH and contact time of about 12 h, being similar for both solutions. The statistical design indicated that concentrations between 4% and 10% NaOH and 6% and 10% KOH with the optimized contact time result in statistically similar BMP. The validation of the mathematical model indicated a satisfactory adjustment of the results predicted and observed with errors of only 4.5% for the NaOH model and 5.2% for the KOH. In this sense, the optimization of the pretreatment conditions allows a better full-scale process application because it allows the use of smaller quantities of chemical products and increased methane production.

**Key words:** CCRD, lignocellulose, NaOH, BMP, KOH

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura lignocelulósica da planta.....	15
Figura 2 - Estrutura da Celulose.....	16
Figura 3 - Estrutura dos componentes dominantes da hemicelulose (a) Xilano (b) Glucomanano.....	17
Figura 4 - Estrutura da lignina.....	17
Figura 5 - Monômeros que compõem a estrutura da lignina.....	18
Figura 6 - Estrutura da cana-de-açúcar.....	19
Figura 7 - Diagrama resumido do processo de DA.....	21
Figura 8 - Decomposição na hidrólise.....	22
Figura 9 - Efeito do pré-tratamento na estrutura da biomassa.....	25
Figura 10 - Localização do município de Medianeira – PR.....	32
Figura 11 - BC (a) In Natura; (b) Triturado; (c) Armazenado a vácuo.....	33
Figura 12 - Pré-tratamento de BC com NaOH e KOH.....	34
Figura 13 - Teste de PBM (a) Pesagem do inóculo e substrato; (b) Recirculação de Nitrogênio; (c) Selagem do vidro; (d) Garrafa pronta para teste.....	36
Figura 14 - Medição de biogás.....	37
Figura 15 - Produção acumulada de biogás das amostras pré-tratadas com NaOH.....	42
Figura 16 - Produção diária de biogás das amostras pré-tratadas com NaOH.....	43
Figura 17 - Produção acumulada de biogás das amostras pré-tratadas com KOH.....	45
Figura 18 - Produção diária de biogás das amostras pré-tratadas com KOH.....	46
Figura 19 - (a) Superfície de resposta e (b) Gráfico de Contorno para produção de metano das amostras pré-tratadas com NaOH.....	49
Figura 20 - (a) Superfície de resposta e (b) Gráfico de Contorno para produção de metano das amostras pré-tratadas com KOH.....	50
Figura 21 - Produção de biogás nos pontos ótimos de pré-tratamento para NaOH e KOH.....	51
Figura 22 - Imagens de MEV para (a) e (b) BC sem pré-tratamento; (c) e (d) BC pré-tratado com NaOH (7,7% e 12 h); (e) e (f) BC pré-tratado com KOH (8,3% e 11,8 h).....	53
Figura 23 - Comparação de indicadores de NaOH e KOH.....	55



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Matriz dos delineamentos experimentais .....	38
Tabela 2 - Caracterização do bagaço de cana-de açúcar utilizado como substrato .	40
Tabela 3 – PBM, teor de metano e valores operacionais reais e codificados das amostras pré-tratadas com NaOH.....	41
Tabela 4 – PBM, teor de metano e valores operacionais reais e codificados das amostras pré-tratadas com KOH.....	44
Tabela 5 - Análise dos efeitos das amostras pré-tratadas com NaOH e KOH .....	47
Tabela 6 – ANOVA das amostras de BC pré-tratadas com NaOH e KOH.....	47
Tabela 7 - Coeficientes de regressão do modelo para as amostras pré-tratadas com NaOH e KOH.....	48

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Parâmetros da DA.....	24
Quadro 2 - Substratos utilizados na aclimação do inóculo .....	35

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
2.1 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA .....	14
2.1.1 <i>Celulose</i> .....	15
2.1.2 <i>Hemicelulose</i> .....	16
2.1.3 <i>Lignina</i> .....	17
2.2 CANA DE AÇÚCAR .....	18
2.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	20
2.3.1 <i>Hidrólise</i> .....	21
2.3.2 <i>Acidogênese</i> .....	22
2.3.3 <i>Acetogênese</i> .....	23
2.3.4 <i>Metanogênese</i> .....	23
2.4 PRÉ-TRATAMENTO .....	24
2.4.1 <i>Físico</i> .....	26
2.4.2 <i>Biológico</i> .....	27
2.4.3 <i>Químico</i> .....	27
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	31
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO .....	32
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO .....	34
4.3 PRÉ-TRATAMENTO .....	33
4.4 TESTE DE POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM) .....	35
4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	37
4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	38
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO .....	40
3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA DO BC PRÉ-TRATADO COM NaOH .....	41
3.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA DO BC PRÉ-TRATADO COM KOH .....	44
3.4 ANÁLISE DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE PRÉ-TRATAMENTO ...	46

3.4.1 <i>Análise dos Efeitos e ANOVA para o Pré-tratamento com NaOH e KOH..</i>	46
3.4.2 <i>Modelo Matemático para Pré-tratamento com NaOH e KOH .....</i>	48
3.4.3 <i>Validação dos Modelos Matemáticos.....</i>	51
3.5 ANÁLISE DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	52
3.6 ANÁLISE COMPARATIVA E APLICAÇÃO EM ESCALA REAL.....	54
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com 642 milhões de toneladas produzidas na safra 2019/2020 (ÚNICA, 2020). A partir da cana-de-açúcar são produzidos o açúcar e o etanol e este processo gera grandes quantidades de resíduos, como o bagaço, que compõe cerca de 28% da planta (MANATURA, 2020). Este resíduo, no entanto, pode ser utilizado de forma nobre e ter valor agregado se utilizado como substrato para a digestão anaeróbia. A digestão anaeróbia é um processo bioquímico para o tratamento de substratos orgânicos, que envolve a degradação e estabilização da matéria orgânica por meio de microrganismos que levam a sua conversão em biogás, um gás rico em metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) que pode ser utilizado para substituir fontes de energia fóssil e, assim, reduzir a emissão de gases de efeito estufa.

No entanto, o bagaço de cana-de-açúcar é um substrato lignocelulósico, composto principalmente por celulose, hemicelulose e lignina. Esta composição é formada por ligações fortes que tornam a lignocelulose uma estrutura rígida e complexa de difícil degradação. Devido à biodegradabilidade limitada, estes substratos demandam pré-tratamento para reduzir a recalcitrância e permitir a ação de degradação dos microrganismos anaeróbios, resultando em maiores rendimentos de biogás.

Os principais métodos de pré-tratamento podem ser classificados em químico, físico e biológico. O pré-tratamento físico é utilizado para romper a estrutura da biomassa lignocelulósica pela força física, conduzindo a uma redução de tamanho de partícula. Este método demanda o uso de muita energia para o processo, o que acaba encarecendo a aplicação. O pré-tratamento biológico, por sua vez, utiliza organismos como fungos, bactérias e enzimas para facilitar a degradação da biomassa para os microrganismos da digestão anaeróbia. Embora o pré-tratamento biológico possua vantagens como menor uso de energia e insumos, é necessário um tempo de tratamento muito longo, podendo levar várias semanas para concretizar seu efeito, dificultando o uso em escala industrial.

O pré-tratamento químico é um dos métodos mais utilizados em estudos para degradação de biomassa lignocelulósica. A técnica utiliza ácidos, bases e líquidos iônicos para alterar as características da biomassa e aumentar a produção de metano.

O pré-tratamento alcalino é um método químico que utiliza bases para destruir as ligações entre os componentes lignocelulósicos e melhorar a digestibilidade da biomassa. Os hidróxidos de sódio (NaOH) e de potássio (KOH) são as bases mais utilizadas por apresentarem elevada eficácia na deslignificação, além da possibilidade de reuso no próprio processo.

Estudos anteriores já foram realizados para investigar a eficiência do NaOH e do KOH no pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas, contudo, existe discrepância a respeito dos parâmetros do processo, como concentração alcalina e tempo de contato entre a solução e a biomassa durante o pré-tratamento. Valores de referência para concentração de 1% a 10% e para tempo de contato de 1 h a 12 h são frequentemente utilizados (EDWIGES et al., 2019; SIDDHU et al., 2016). Neste sentido, o estudo destes parâmetros e o uso de ferramentas de modelagem empírica para otimizar o pré-tratamento são importantes para tornar o processo mais eficiente, reduzindo custos operacionais e aumentando a eficiência de conversão em biogás e metano.

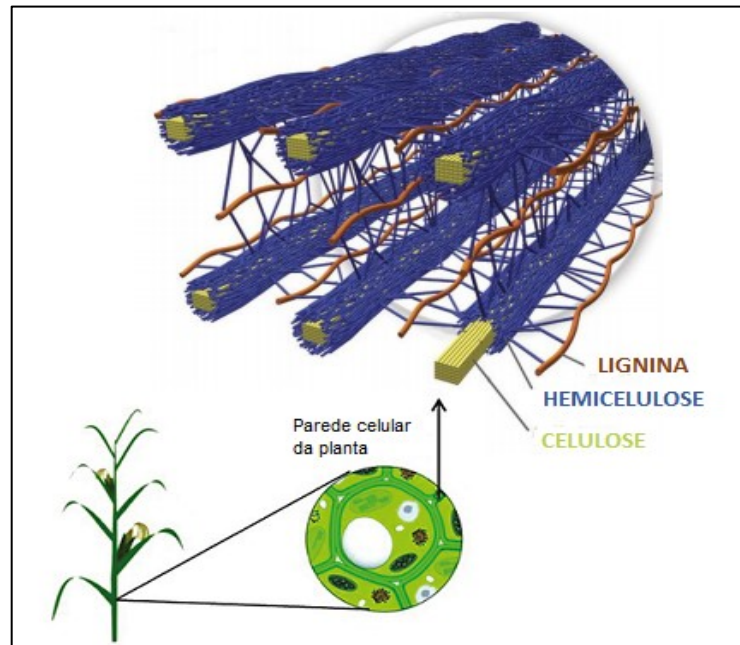
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

A biomassa lignocelulósica, também conhecida como lignocelulose, é o material biorrenovável mais abundante da Terra, produzida a partir de CO<sub>2</sub> atmosférico e água usando a energia da luz solar por meio do processo de fotossíntese (YOUSUF et al., 2020). Mais recentemente, biomassas lignocelulósicas, como resíduos agrícolas (palhas de trigo e milho, bagaço de cana-de-açúcar, entre outros), produtos florestais e culturas energéticas tem se tornado opções promissoras para o aproveitamento energético. Este aproveitamento é necessário devido à alta disponibilidade destes resíduos que por muitas vezes são deixados no campo sem devido tratamento, podendo transformar-se em passivos ambientais (KUILA; SHARMA, 2017; ABRAHAM et al., 2020).

Apesar de ser uma fonte com alta disponibilidade, a lignocelulose é uma matriz complexa, composta principalmente de polissacarídeos, polímeros fenólicos e proteínas que constituem a parte essencial da parede celular das plantas (YOUSUF et al., 2020). A composição varia de acordo com cada substrato, consistindo sobretudo em celulose (30% a 47%), hemicelulose (26% a 31%) e lignina (21% a 36%), sendo que a interação destes componentes cria uma estrutura muito resistente e recalcitrante que dificulta sua degradação (Figura 4) (SAWATDEENARUNAT et al., 2015; LO et al., 2017).

Figura 1 - Estrutura lignocelulósica da célula vegetal



Fonte: Adaptado de Volynets et al. (2017).

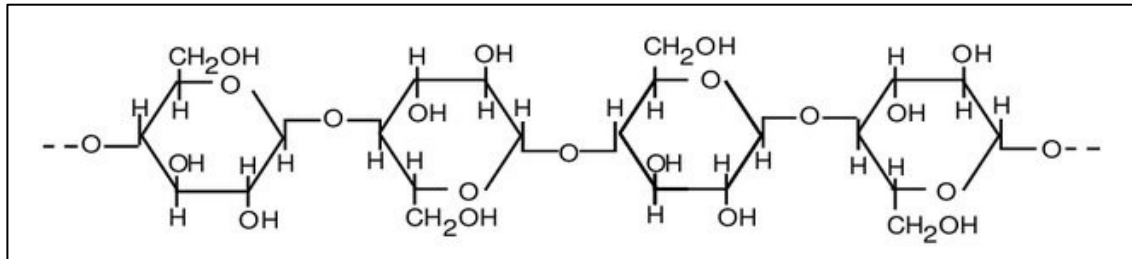
### 2.1.1 Celulose

A celulose é o material polimérico orgânico mais comum e disponível no mundo sendo o principal produto da fotossíntese em ambientes terrestres. É o principal constituinte estrutural da parede celular primária de plantas verdes, algas e oomicetos. Ocorre naturalmente na madeira, cânhamo e outros materiais vegetais e serve como material de reforço dominante nas estruturas das plantas (KUIILA; SHARMA, 2017; YOUSUF et al., 2020).

A celulose consiste em uma cadeia linear de moléculas de D-glicose ligadas por meio de ligações  $\beta$ -(1-4) glicosídicas com a fórmula  $(C_6H_{10}O_5)_n$  (Figura 5) (MOOD et al., 2013). É composta em parte por uma estrutura cristalina (organizada) e em parte por estrutura amorfa (não organizada). A parte cristalina contém a maior proporção da celulose da biomassa, enquanto a menor fração provém da estrutura amorfa. A estrutura cristalina torna a celulose difícil de ser degradada, portanto, a maior parte da degradação ocorre na estrutura amorfa que é mais suscetível ao processo (BAJPAI, 2016; KOUAIE et al., 2019).



Figura 2 - Estrutura química da celulose



Fonte: Adaptado de Bajpai (2016).

O polímero de celulose é quiral e biodegradável, além de ser insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos. Ele pode ser decomposto quimicamente em unidades de glicose com pré-tratamentos e muitas de suas propriedades dependem do comprimento da cadeia, da cristalinidade ou do grau de polimerização da celulose (MONLAU et al., 2013; CHEN et al., 2017).

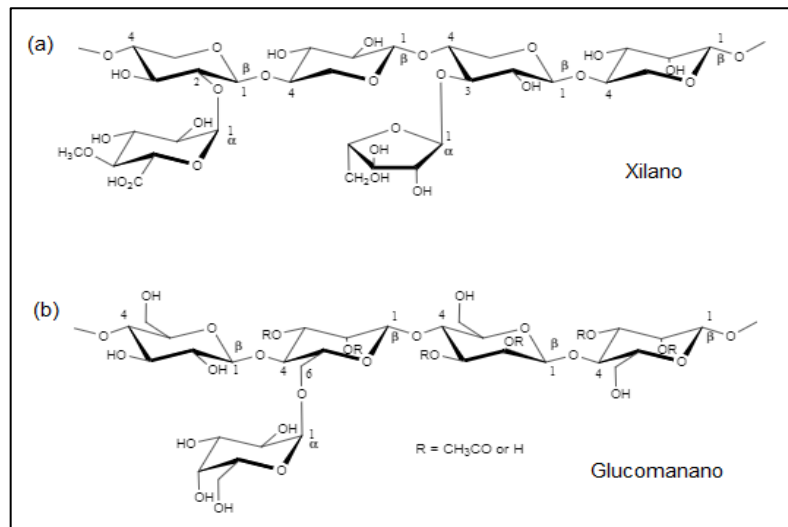
### 2.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose é o segundo polímero mais abundante nas biomassas lignocelulósicas. É um polissacarídeo heterogêneo e complexo que consiste em diferentes unidades de açúcar com predomínio de componentes pentoses (xilose e arabinose) juntamente com hexoses (manose, glicose, galactose e ramnose) e açúcares acetilados (JAWAID et al., 2017; YOUSUF, 2020).

Os componentes são conectados por ligações beta-(1,4)-glicosídicas e, ocasionalmente, ligações beta-(1,3)-glicosídicas. A hemicelulose é geralmente associada a vários outros componentes da parede celular, como a celulose e a lignina, além de proteínas da parede celular e outros compostos fenólicos. Estas associações são feitas por ligações covalentes e de hidrogênio e por interações iônicas e hidrofóbicas (BAJPAI, 2016; KUILA; SHARMA, 2017).

A hemicelulose possui uma estrutura amorfa e aleatória, tem baixo grau de polimerização e não possui regiões cristalinas como a celulose, o que facilita sua degradação em monossacarídeos. O componente dominante de hemicelulose em espécies folhosas (*hardwood*) e plantas agrícolas é o xilano enquanto em espécies coníferas (*softwood*) o principal é o glucomanano (Figura 6) (MONLAU et al., 2013; CHEN et al., 2017).

Figura 3 - Estrutura química dos componentes dominantes da hemicelulose (a) Xilano (b) Glucomanano

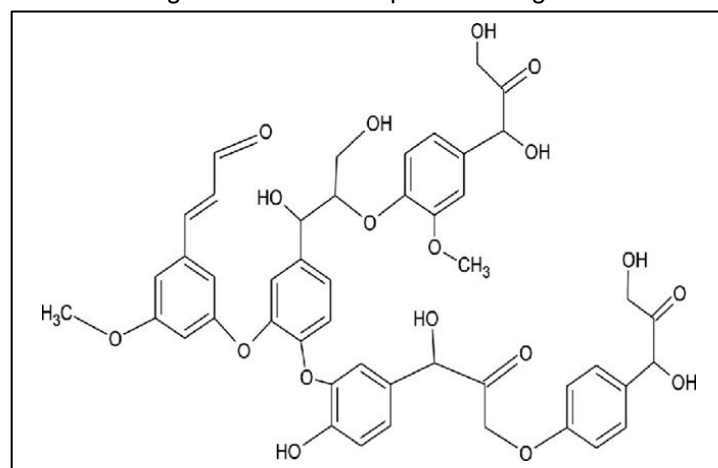


Fonte: Laine (2005).

### 2.1.3 Lignina

Depois da celulose e da hemicelulose, a lignina é um dos polímeros mais abundantes da natureza e está presente na parede celular da planta (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). É uma estrutura molecular hidrofóbica complexa, com polímeros reticulados e monômeros fenólicos (Figura 7). A lignina se localiza nas camadas das paredes celulares e forma, junto com a hemicelulose uma matriz amorfa na qual as fibras da celulose são incorporadas e protegidas conferindo suporte estrutural, impermeabilidade e resistência ao ataque microbiano nas plantas (KUILA; SHARMA, 2017; CHEN et al., 2017).

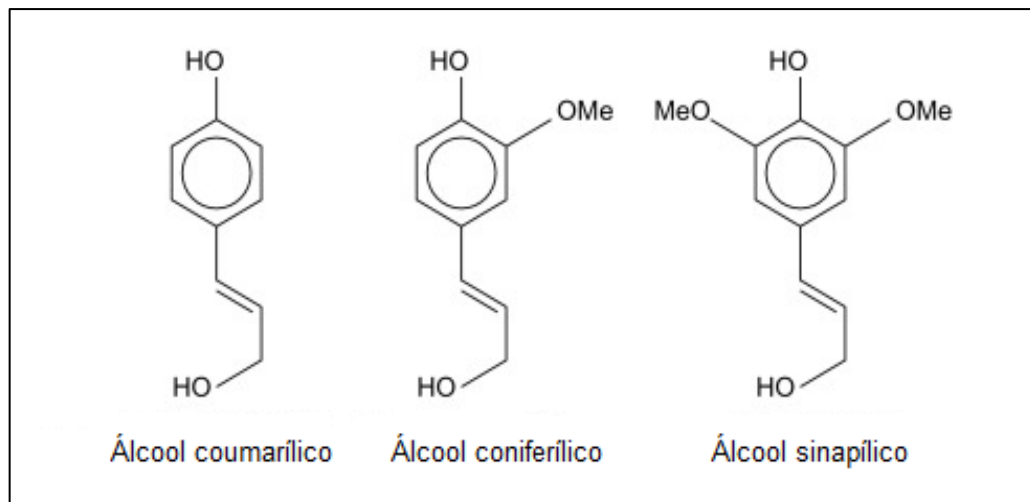
Figura 4 - Estrutura química da lignina



Fonte: Mahmood et al. (2018).

Ao contrário da celulose, que tem forma linear, a lignina é um polímero altamente ramificado ou reticulado. Ela contém muitos grupos funcionais reativos, como a unidade fenol propano, grupos hidroxila, grupos metoxila e grupos carbonila (ASHTER, 2018). Contudo, a formação principal da lignina é dada por três monômeros fenilpropiônicos, sendo álcool coniferílico (guaiacil propanol), álcool coumarílico (p-hidroxifenil propanol) e álcool sinapílico (álcool siringílico) (BAJPAI, 2016) (Figura 8):

Figura 5 - Monômeros que compõem a estrutura da lignina



Fonte: Ashter (2018).

Cada monômero é dominante em diferentes tipos de biomassas lignocelulósicas. O álcool coniferílico é normalmente encontrado em coníferas, o sinapílico em folhosas e o álcool coumarílico em gramíneas e resíduos agrícolas, como o bagaço de cana-de-açúcar (ASHTER, 2018). Além disto plantas herbáceas como gramíneas e resíduos agrícolas possuem menores quantidades de lignina do que as coníferas (KUILA; SHARMA, 2017).

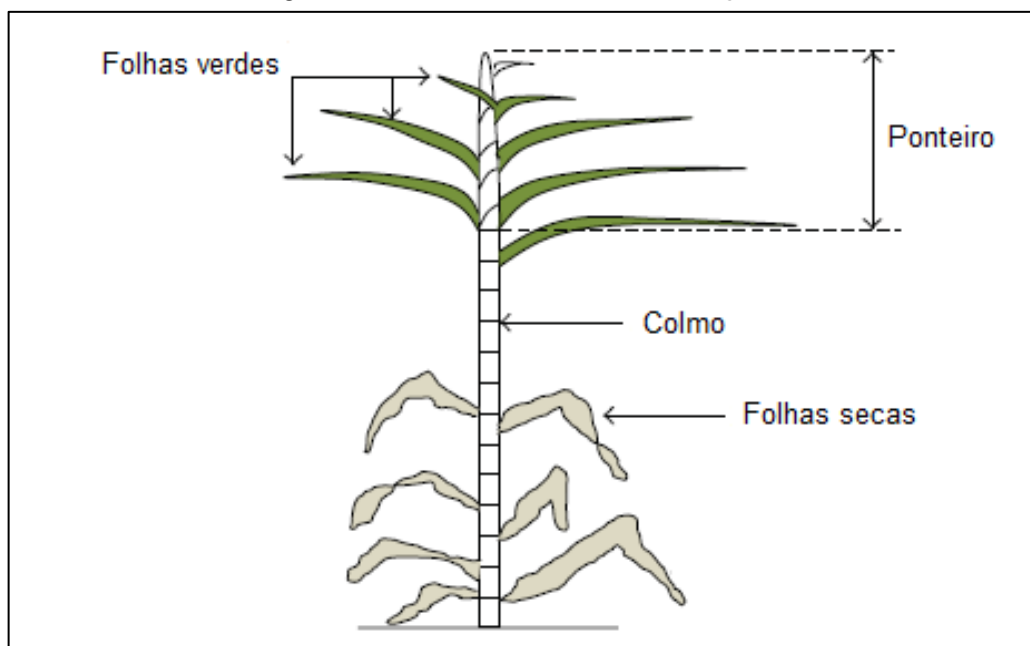
## 2.2 CANA DE AÇÚCAR

A cana-de-açúcar é uma planta semiperene da família das gramíneas, nativa de regiões de clima temperado quente, mais comum em regiões tropicais como Brasil, Índia, África e Ásia-Pacífico (CANILHA et al., 2012). É a maior colheita mundial com relação ao volume de produção (KHAN; KHAN, 2019) e cerca de 26,7 milhões de hectares são utilizados no mundo para cultivar 1,9 bilhão de toneladas de cana-de-açúcar anualmente (FAO 2018). O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-

açúcar, com 642 milhões de toneladas produzidas na safra 2019/2020, cerca de 34% da produção mundial (ÚNICA, 2020).

Fisicamente a cana-de-açúcar consiste em haste, formada por vários colmos constituídos de fibras (celulose, hemicelulose e lignina); açúcares (sacarose, glicose e frutose) e folhas ou palhas (verdes e secas) (Figura 1). Estes compostos formam cerca de 43% da planta enquanto a água representa 57% de sua composição (SANTOS et al., 2020).

Figura 6 - Estrutura física da cana-de-açúcar



Fonte: Adaptado de Canilha et al. (2012).

A cana-de-açúcar é a principal matéria-prima para produção de açúcar e etanol, tendo considerável importância econômica no contexto internacional. Mundialmente sua principal característica é a produção de açúcar e é fonte para a produção de 70% do açúcar do mundo (KHAN; KHAN, 2019). No Brasil, além do açúcar, tem-se a produção de etanol, sendo o país o maior produtor de etanol de cana-de-açúcar do mundo. A partir da produção de cana-de-açúcar brasileira, são gerados anualmente aproximadamente 29 milhões de toneladas de açúcar e 33 milhões m<sup>3</sup> de etanol no país (UNICA, 2020).

A parte da planta utilizada nas indústrias é a haste (colmos), que é moída para se obter o caldo da cana-de-açúcar que por sua vez, é utilizado para a produção de açúcar e álcool (CANILHA et al., 2012; CONAB, 2018). Já o principal subproduto da

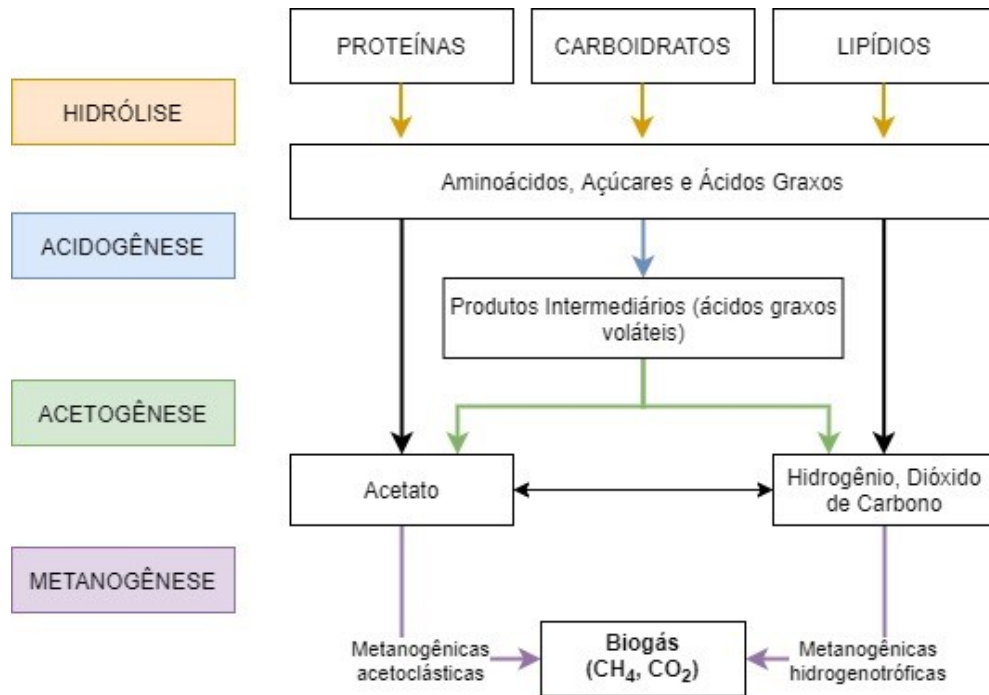
indústria sucroalcooleira é o bagaço (BC) que compõe cerca de 28% da cana-de-açúcar (MANATURA, 2020). Parte do BC é utilizado como combustível para suprir as necessidades de energia das próprias usinas de açúcar e destilarias de etanol ou ainda para alimentação animal (BOLADO-RODRIGUES et al., 2016). Porém, devido a elevada produção de cana-de-açúcar, estima-se que 50% do bagaço produzido seja excedente à demanda energética das indústrias e ainda permaneça sem uso, causando problemas ambientais de armazenamento e destinação final (ROCHA et al., 2011; BAÊTA et al., 2016; LALUCE et al., 2019). Neste sentido, devido à expressiva quantidade de geração, sua composição e, conseqüentemente, o potencial químico e energético da fibra vegetal, é possível utilizar a parte excedente desses materiais de maneira mais nobre, transformando-os em matéria-prima para geração de energia por meio da digestão anaeróbia (SANTOS et al., 2020).

### 2.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia (DA) é um processo de tratamento biológico de degradação da matéria orgânica que ocorre na ausência de oxigênio. O processo envolve a degradação e estabilização da matéria orgânica por meio de microrganismos que leva a geração de biogás, um gás rico em energia que pode ser utilizado para substituir fontes de energia fóssil (RAPOSO et al., 2012).

O biogás é constituído em sua maior parte por gás metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e sua formação dá-se por meio de quatro principais etapas da digestão anaeróbia: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Figura 2) (SEADI et al., 2008).

Figura 7 - Diagrama resumido do processo de digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Chen et al. (2016).

As fases da DA são interligadas entre si e o material inicial é continuamente “quebrado” em menores unidades conforme o avanço de cada etapa. Cada fase é constituída por diferentes grupos de microrganismos que se encontram parcialmente em inter-relação sintrófica e impõem requisitos diferentes ao ambiente (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011).

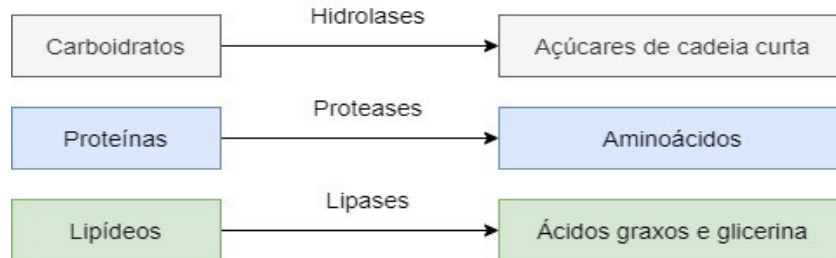
Devido a suas características químicas, principalmente ao alto conteúdo de carboidratos, o BC é um excelente substrato para ser utilizado na DA para a geração de biogás (LIMA et al., 2018). Além do biogás, tem-se também a geração do digestato, que é o material que foi estabilizado e que pode ser utilizado como biofertilizante em lavouras agrícolas. Com a digestão do BC excedente das usinas e destilarias, o digestato produzido pode, portanto, ser utilizado para substituir parcialmente os fertilizantes minerais nas próprias lavouras de cana-de-açúcar (JANKE et al., 2015).

### 2.3.1 Hidrólise

Na primeira fase da DA, compostos complexos de alta massa molecular como carboidratos, lipídios e proteínas são decompostos em substâncias orgânicas mais

simples e solúveis com o auxílio de enzimas produzidas pelas bactérias hidrolíticas (Figura 3) (KUNZ et al., 2019).

Figura 8 – Decomposição da matéria orgânica durante a fase de hidrólise



Fonte: Seadi et al. (2015).

A velocidade em que a hidrólise acontece depende das características do substrato a ser degradado, podendo variar de algumas horas para carboidratos, até alguns dias para proteínas e lipídeos. Compostos lignocelulósicos, como o BC, tem degradação mais lenta e muitas vezes pode ser incompleta devido à alta recalcitrância (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011).

Dentre as fases da DA, a hidrólise pode ser considerada limitante do processo. Muitos estudos buscam melhorar o desempenho de degradação dos substratos nesta etapa com o intuito de melhorar a produção de biogás e evitar a interrupção do processo (HORAN et al., 2018), como é o caso dos pré-tratamentos.

### 2.3.2 Acidogênese

Na acidogênese os monômeros formados na hidrólise são convertidos, por meio de bactérias facultativas e anaeróbias, em ácidos orgânicos de cadeia curta, álcoois, óxido de nitrogênio, sulfeto de hidrogênio, hidrogênio, dióxido de carbono e em ácidos graxos voláteis (ácido butírico, propiônico e acético) e acetato (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011).

Os grupos de bactérias da acidogênese podem seguir em diferentes vias durante a fase. A taxa, rendimento, produtos finais e inibição da etapa dependem das espécies microbianas presentes, da composição do substrato e das condições do processo. Amônia e sulfeto de hidrogênio também podem ser gerados na acidogênese e podem ser tóxicos e inibir a ação dos microrganismos quando em altas concentrações (KANDYLIS et al., 2016).

A acidogênese é geralmente considerada a mais rápida das etapas individuais do processo anaeróbio, e no caso de sobrecarga de ácidos orgânicos, ocasionará na queda no pH e na diminuição da alcalinidade e finalmente na falha do processo. Uma relação sintrófica entre organismos formadores de ácido e organismos consumidores de ácido, como os metanogênicos, é formada para equilibrar o desempenho da DA (HORAN et al., 2018).

### 2.3.3 Acetogênese

Na terceira fase da DA, os produtos da acidogênese que não podem ser convertidos diretamente em metano, são convertidos em compostos que servirão de substrato para as arqueas metanogênicas (SEADI et al., 2008). As bactérias acetogênicas desta fase estabelecem relação de simbiose com as arqueas metanogênicas e também com bactérias homoacetogênicas. Esta relação entre os microrganismos é de suma importância no processo, pois as bactérias acetogênicas convertem os ácidos graxos voláteis em acetato, hidrogênio ( $H_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ) enquanto as homoacetogênicas consomem o  $H_2$  e  $CO_2$  para a produção de acetato (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011).

A maior parte do acetato é proveniente de  $H_2$  e  $CO_2$ , que pode ainda ser obtido a partir de água ( $H_2O$ ) e monóxido de carbono (CO), de  $CO_2$  e metanol ( $CH_3OH$ ) e também de açúcares ou hexoses de seis carbonos (HORAN et al., 2018). Os produtos formados nesta fase, principalmente o acetato, serão utilizados pelos microrganismos metanogênicos, para transformação em metano (NIE et al., 2007; KUMAR; SAMADDER, 2020).

### 2.3.4 Metanogênese

A quarta fase do processo de digestão é a metanogênese. Esta etapa é complexa e requer enzimas e cofatores que não são encontrados em outros microrganismos (SIKORA et al., 2017). As arqueas metanogênicas são microrganismos unicelulares e anaeróbios obrigatórios, extremamente sensíveis ao oxigênio (BORJA; RINCÓN, 2017).



Na metanogênese as arqueas metanogênicas utilizam como substrato os produtos intermediários produzidos na acetogênese, como acetato, H<sub>2</sub> e parte do CO<sub>2</sub>, e os converte em metano, CO<sub>2</sub> e água. Duas vias bioquímicas são usadas pelos microrganismos para produzir o metano: acetoclástica e hidrogenotrófica. Cerca de 70% do metano formado é convertido pelas metanogênicas acetoclásticas que utilizam o acetato como substrato e os 30% restantes são provenientes da conversão do CO<sub>2</sub> e do H<sub>2</sub> pelas metanogênicas hidrogenotróficas (HORAN et al., 2018; AKUNNA, 2019).

A metanogênese é uma fase crítica da DA uma vez que possui as reações bioquímicas mais lentas do processo. Esta etapa é extremamente influenciada pelas condições do meio e o processo pode ser inibido com pequenas mudanças no comportamento (SEADI et al., 2008). O Quadro 1 apresenta algumas condições importantes que devem ser mantidas para o bom desempenho da DA em suas fases.

Quadro 1 – Parâmetros recomendados para a digestão anaeróbia

<b>Parâmetros</b>	<b>Hidrólise/Acidogênese</b>	<b>Metanogênese</b>
Temperatura (°C)	25 – 35	Mesofílica: 32 – 42 Termofílica: 50 – 58
pH	5,2 - 6,3	6,7 - 7,5
Relação C/N	10 - 45	20 - 30
Matéria seca	< 40%	< 30%
Relação C/N/P/S	500/15/5/3	600/16/5/3
Elementos traço	Sem requisitos obrigatórios	Essenciais Ni, Co, Mo e Se

Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhouser (2011).

## 2.4 PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

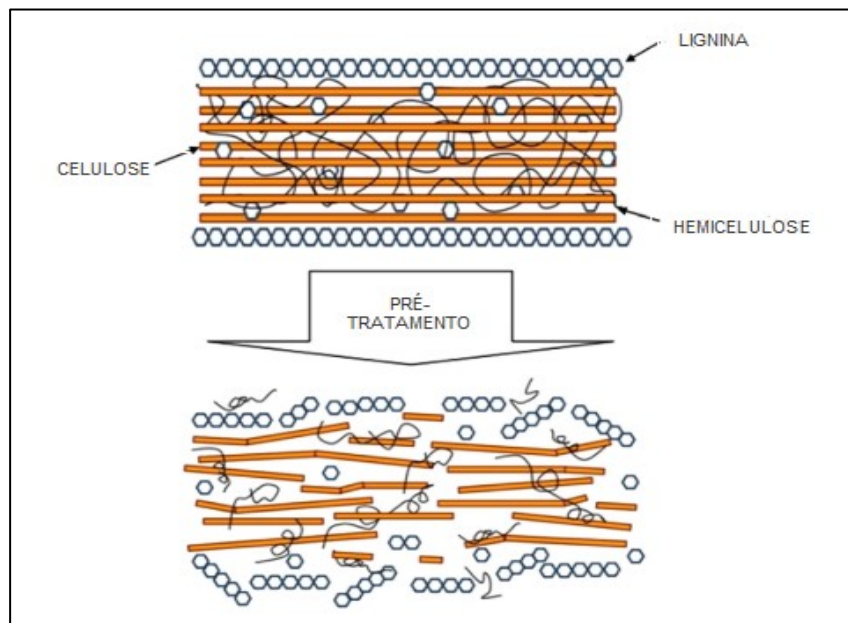
Na estrutura da biomassa lignocelulósica a celulose é coberta por polímeros heterogêneos de hemicelulose que por sua vez é envolta por polímeros amorfos de lignina. Esta característica torna estes tipos de biomassa, como o BC, resistentes ao ataque biológico dos microrganismos da DA (VOLYNETS et al., 2017).

Apesar do potencial energético do BC, a estrutura cristalina desta biomassa dificulta a degradabilidade de todo o conteúdo. Aproximadamente 44% do material fermentável da lignocelulose é protegido pela lignina que tem baixa degradação no

processo de DA, o que pode tornar a degradação do BC incompleta (KAUR et al., 2020).

A lignina é uma das principais desvantagens do uso de biomassas lignocelulósicas na DA, devido a sua elevada recalcitrância. Diferentes biomassas contêm diferentes quantidades de lignina que devem ser removidas por meio de pré-tratamento para alterar sua estrutura e propriedades químicas, expondo a celulose para a ação dos microrganismos (Figura 9) (TEGHAMMAR et al., 2012; BEJPAI, 2016; KUILA; SHARMA, 2017).

Figura 9 - Efeito do pré-tratamento na estrutura da biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptado de Mood et al. (2013).

O principal objetivo de qualquer pré-tratamento é remover a lignina e a hemicelulose, reduzir a cristalinidade e o grau de polimerização da celulose e ainda aumentar a porosidade da matéria lignocelulósica (SINGH et al., 2015). Li et al. (2010) apontam que uma estratégia eficiente de pré-tratamento inclui três principais fatores:

- Interromper e remover a matriz reticulada de lignina e hemicelulose que incorpora as fibras de celulose;
- Romper as ligações de hidrogênio na celulose cristalina;
- Ampliar a porosidade e a área de contato da celulose.

Os tipos de pré-tratamentos podem ser classificados em físicos, químicos, biológicos e a combinação entre eles. O processo possibilita a quebra ou separação da lignina dos demais componentes, facilitando o processo de digestão anaeróbia (SUN; CHENG, 2005). O pré-tratamento é um passo crucial na conversão de resíduos lignocelulósicos e a escolha do procedimento adequado deve considerar a compatibilidade entre o tipo da biomassa, o processo de digestão e os microrganismos envolvidos (CHEN et al., 2017).

Nem todos os pré-tratamentos resultam na deslignificação substancial da biomassa, uma vez que a estrutura da lignina pode ser apenas alterada sem que haja sua extração. A biomassa pré-tratada, no entanto, se torna mais digerível em comparação com a biomassa bruta, mesmo que as duas possam ter aproximadamente o mesmo conteúdo de lignina (BAJPAI, 2016).

#### 2.4.1 Físico

O pré-tratamento físico (mecânico) é utilizado para romper a estrutura da biomassa lignocelulósica pela força física, conduzindo a uma redução de tamanho de partícula (KOUAIE et al., 2019). O uso do pré-tratamento físico transforma a biomassa em partículas menores, aumentando a área de superfície e reduzindo o grau de cristalinidade da celulose, bem como diminuindo o grau de polimerização da celulose e da hemicelulose (MONLAU et al., 2013). Este tratamento apresenta efeito significativo no aumento da área superficial acessível e no tamanho dos poros necessários à ação de microrganismos (KOUAIE et al., 2019).

Tsapekos et al. (2015) testaram seis pré-tratamentos mecânicos de redução de partícula em gramíneas do prado e constataram que partículas menores favoreceram a digestibilidade do substrato. A melhor eficiência obtida no experimento apresentou aumento de até 25% na produção de metano para o substrato com tamanho até 5 cm, comparado a planta sem redução de tamanho (até 20 cm). Dell'Omo e Spina (2020) submeteram duas biomassas a pré-tratamento físico para redução de partícula, sendo elas caule de cana-do-reino e palha de trigo. A primeira foi reduzida obtendo partículas de até 390 µm, enquanto a palha de trigo foi reduzida até 30 µm. A cana-do-reino teve produção 137,7% superior a biomassa sem pré-tratamento, enquanto a palha de trigo apresentou produção 49,1% superior.

Os métodos de pré-tratamento físico causam menores impactos ambientais e são normalmente compostos por processos relativamente simples, contudo, demandam muita energia e potência para os equipamentos, o que aumenta o custo de utilização (CHEN et al., 2017). Além disto, a maioria destes métodos empregados não são capazes de remover completamente a lignina e, portanto, são normalmente utilizados como um estágio preliminar ao tratamento térmico ou químico (KOUPAIE et al., 2019).

#### 2.4.2 Biológico

O pré-tratamento biológico é um método mais ambientalmente adequado que utiliza fungos, consórcios microbiológicos e enzimas para o tratamento de biomassa lignocelulósica (ZHENG et al., 2014). Os microrganismos são utilizados para degradar a lignina e a hemicelulose, facilitando a posterior degradação da biomassa pelos microrganismos da DA (TAHERZADEH; KARIMI, 2018).

A influência de três linhagens de fungos lignolíticos foi estudada por Kainthola et al. (2019) no pré-tratamento de palha de arroz. O substrato ficou em contato com os fungos durante 5 semanas e seus resultados mostraram uma deslignificação de 36% e uma produção de metano 2,2 vezes maior, quando comparado a biomassa sem pré-tratamento.

O pré-tratamento biológico não requer grandes gastos com energia e nem o uso de produtos químicos para o processo, o que leva a condições mais brandas de pré-tratamento e menor produção de possíveis compostos inibitórios para os microrganismos da DA. Contudo, necessita de longos períodos de pré-tratamento para que o método seja eficiente na deslignificação da biomassa, o que limita seu uso para aplicações comerciais de grande escala. Além disto, pode haver competição por carboidratos, pois parte da celulose que seria degradada na DA, pode ser consumida pelos microrganismos do pré-tratamento (ZHENG et al., 2014; AMIN et al., 2017).

#### 2.4.3 Químico

Dentre os pré-tratamentos citados, o químico é o mais utilizado e estudado devido a sua alta efetividade em degradar estruturas mais complexas, além de

necessitar menores tempos de processo. Neste método são utilizados produtos químicos como ácidos, bases, líquidos iônicos, solventes orgânicos, entre outros, sob diferentes condições, para alterar as características físicas e químicas da biomassa lignocelulósica e torná-la menos recalcitrante (HERNÁNDEZ-BELTRÁN et al., 2019).

Muitos métodos de pré-tratamento químicos são estudados para produção de etanol, contudo, apenas alguns vem sendo aplicados para a produção de biogás por meio da DA. Os principais utilizados são os pré-tratamentos ácidos e alcalinos (ZHENG et al, 2014).

#### a) Ácido

O pré-tratamento ácido utiliza ácidos orgânicos e inorgânicos para pré-tratar a biomassa. Os ácidos mais utilizados são o sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), clorídrico (HCl), nítrico ( $HNO_3$ ), fosfórico ( $H_3PO_4$ ) e o acético (ZHENG et al., 2014). Os ácidos podem ser utilizados diluídos e em altas temperaturas, ou concentrados com baixas temperaturas (MOOD et al., 2013). Apesar de os ácidos concentrados serem mais eficientes, são extremamente tóxicos, corrosivos e perigosos. Neste sentido, o uso de ácidos diluídos é mais recomendado, sendo um dos métodos químicos mais comumente utilizados (ZHENG et al, 2014).

A principal função do pré-tratamento ácido é a ruptura das forças de Van der Waals e nas ligações de hidrogênio e covalentes que mantem os componentes da biomassa unidos, tornando-a recalcitrante. O processo causa a desintegração da biomassa e lise celular, resultando na solubilização da hemicelulose da biomassa (AMIN et al., 2017; ABRAHAM et al., 2020).

Song et al. (2014) testaram o uso de quatro ácidos diferentes ( $H_2SO_4$ , HCl,  $H_2O_2$  e  $CH_3COOH$ ) com concentrações de 1%, 2%, 3% e 4% no pré-tratamento de palha de milho para produção de metano. O processo decorreu por um período de 7 dias em temperatura ambiente. Todos os pré-tratamentos apresentaram eficiência na produção de metano, sendo a melhor obtida para 3% de  $H_2O_2$ , com um aumento de 115% em comparação ao substrato bruto.

## b) Alcalino

O pré-tratamento alcalino utiliza bases para tornar a biomassa lignocelulósica mais degradável para os microrganismos anaeróbios. Os hidróxidos de sódio (NaOH), de potássio (KOH) e de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) são os químicos mais utilizados no pré-tratamento alcalino, sendo o NaOH e o KOH os que apresentam maior efetividade no aumento da digestibilidade da biomassa (AMIN et al., 2017).

As primeiras reações que ocorrem no pré-tratamento alcalino são solvatação e saponificação, além da clivagem das ligações lignina-carboidrato. Este processo causa um aumento na porosidade e na área de superfície interna da biomassa e inchaço estrutural o que acarreta na diminuição no grau de polimerização e cristalinidade da celulose e ruptura da lignina (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009; ZHENG et al., 2014). As proteínas do substrato perdem sua forma original, enquanto os lipídeos são saponificados quando expostos a altos pHs. A estrutura polimérica extracelular é destruída e as células da biomassa não são capazes de manter sua pressão de turgor. Em consequência do pré-tratamento, os materiais intracelulares são liberados no meio, o que aumenta a biodegradabilidade do substrato (ATELGE et al., 2020).

A efetividade do pré-tratamento alcalino é altamente associada as condições impostas no processo e ao teor de lignina presente na biomassa, sendo mais eficiente em biomassas com menor concentração de lignina, como os resíduos agrícolas (AMIN et al., 2017; ZHENG et al., 2014). As principais condições do pré-tratamento alcalino são a concentração da base, o tempo de contato entre a solução e a biomassa e a temperatura do processo. O uso de altas temperaturas é menos desejado em escala real devido aos maiores gastos com energia (CHEN et al., 2013; SHETTY et al., 2017) e ainda existe muita discrepância entre estudos para a escolha dos parâmetros de concentração e tempo de contato (HERNÁNDEZ-BELTRÁN et al., 2019).

O NaOH é a base mais utilizada para pré-tratamento alcalino, pois é eficiente em condições brandas, além de ser efetivo na quebra da lignina. Edwiges et al. (2019) investigaram a produção de metano em resíduos de jardim com diferentes pré-tratamentos. No estudo, foi observado que o pré-tratamento alcalino com solução de 10% de NaOH e 12 horas de tempo de contato foi o que apresentou melhores resultados na produção de metano, chegando a um aumento de até 70% com relação

ao substrato sem pré-tratamento. Chandra et al. (2012) estudaram o pré-tratamento de palha de trigo com concentração de 4% de NaOH, tempo de contato de 120 h e temperatura de 37 °C. Seus estudos constatam um aumento de 111% na produção de metano com a amostra pré-tratada, quando comparada ao substrato sem pré-tratamento.

Apesar de o NaOH possuir alta eficiência, o KOH apresenta efeito semelhante no incremento da produção de metano (ZHENG et al, 2014; YANG et al., 2009). Além disto, o KOH possui outras vantagens, principalmente ambientais, pois o potássio é menos danoso ao ambiente quando comparado ao sódio. O KOH pode ainda ser recuperado do licor negro resultante do processo de pré-tratamento, e assim como o digestato da DA, pode ser utilizado como biofertilizante no solo (PAIXÃO et al., 2016; BENSAN et al., 2019).

Jaffar et al. (2016) utilizou várias concentrações de KOH (1%, 3%, 6% e 9%) para avaliar o pré-tratamento de palha de trigo na produção de metano. Constatou-se que houve um aumento de 41% na produção de metano para o substrato pré-tratado com 6% de KOH com temperatura ambiente por um período de 3 dias. Li et al. (2015) também obtiveram bons resultados com o uso de KOH e perceberam em seu estudo um aumento de 95% na produção de metano ao pré-tratarem resíduos de milho com 2,5% de KOH por 24 horas a 20 °C.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Otimização do processo de pré-tratamento alcalino em bagaço de cana-de-açúcar no potencial bioquímico de metano.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o bagaço de cana-de-açúcar por meio de parâmetros físico-químicos;
- Pré-tratar o bagaço de cana-de-açúcar com soluções de hidróxido de sódio e hidróxido de potássio com diferentes concentrações e tempos de contato;
- Avaliar o Potencial Bioquímico de Metano do bagaço sem pré-tratamento e das amostras pré-tratadas;
- Gerar modelos matemáticos para estimativa da produção de metano a partir de bagaço pré-tratado nas condições estudadas;
- Determinar as condições ótimas de concentração e tempo de contato para o pré-tratamento de bagaço com NaOH e KOH;
- Comparar o pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar com NaOH e KOH.

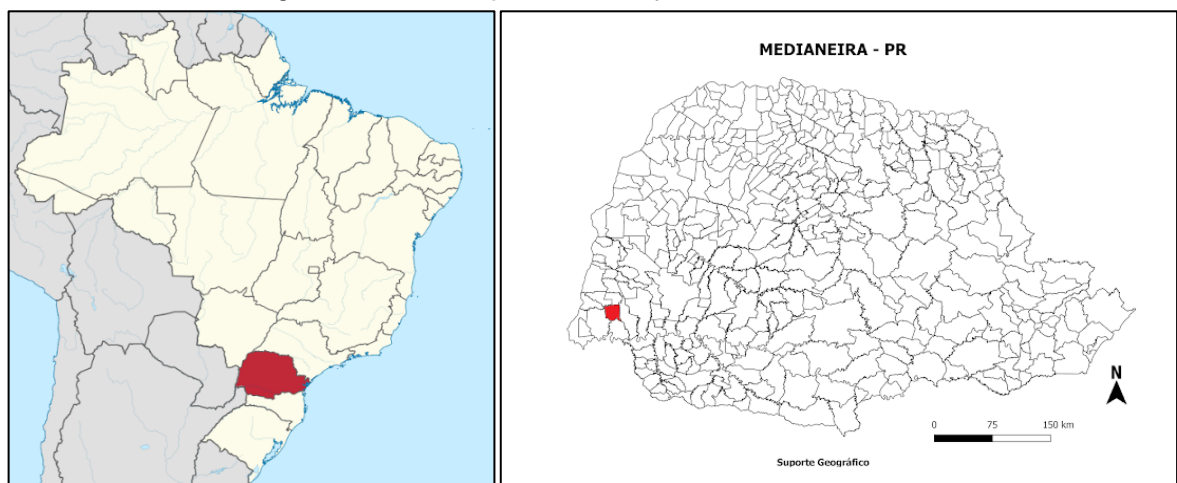


## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

O bagaço de cana-de-açúcar (BC) foi coletado em uma unidade produtora de caldo de cana-de-açúcar no município de Medianeira no oeste do estado do Paraná (Brasil) (Figura 10).

Figura 10 - Localização do município de Medianeira – PR



Fonte: Suporte Geográfico, 2019.

Após a coleta, o BC foi seco em temperatura ambiente ( $25\pm 3$  °C) por quatro dias até obter teor de umidade de aproximadamente 10% conforme recomendado por Arni, (2018). Posteriormente, o BC foi triturado em moinho de facas (Solab – SL 31) até dimensão inferior a 2 mm. Após a redução de partícula, o substrato foi armazenado em saco a vácuo em refrigerador ( $\pm 4$  °C) até a incubação (Figura 11).

Figura 11 – Bagaço de cana-de-açúcar (a) In Natura; (b) Triturado; (c) Armazenado a vácuo



Fonte: Autoria própria (2020).

## 4.2 PRÉ-TRATAMENTO

O pré-tratamento alcalino foi realizado com soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e potássio (KOH) com concentrações de 1% a 10% (m/v) e tempos de contato entre 1 h e 12 h, que foram definidos a partir de estudos prévios (SIDDHU et al., 2016; EDWIGES et al., 2019; BASTOS, 2020). As misturas entre o BC e as soluções alcalinas foram mantidas em béquer aberto de 1 L em temperatura ambiente ( $23\pm 2$  °C). A mistura consistiu na adição de 450 mL de solução alcalina em 55,5 g de BC, a fim de manter o teor de sólidos totais (ST) da mistura em 10% (SHEN et al., 2013) (Equação 1).

$$ST_{mis} = \frac{M_{sub} * ST_{sub}}{M_{sub} + M_{sol}} \quad (1)$$

Em que:

$ST_{MIS}$ : teor de sólidos totais da mistura (adotado como 10% ou 0,1);

$ST_{SUB}$ : teor de sólidos totais do substrato (%);

$M_{SUB}$ : massa de substrato (g);

$M_{SOL}$ : massa da solução alcalina (g).

Após o tempo de contato de cada ensaio a mistura foi peneirada separando a fase líquida (licor negro) e a sólida (substrato pré-tratado) com uma peneira de granulometria de 1 mm. O bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado (BCP) foi lavado em

água corrente até atingir pH próximo da neutralidade. Em seguida, o BCP foi seco em estufa a 50 °C por 24 horas para reduzir a heterogeneidade das amostras (Figura 12).

Figura 12 - Pré-tratamento de BC com NaOH e KOH



Fonte: Autoria própria (2020).  
BC: Bagaço de cana-de-açúcar

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO

O inóculo utilizado nos testes em batelada foi coletado no Centro Internacional de Energias Renováveis – Cibiogás onde foi preparado em laboratório a partir de uma mistura de dois tipos de digestatos provenientes de reatores anaeróbios em escala real que recebem dejetos bovinos e dejetos suínos. Os dois tipos de digestatos foram coletados na região oeste do estado do Paraná/Brasil e misturados na proporção de 1:1 (v/v%). A mistura foi mantida em temperatura mesofílica de  $37 \pm 1$  °C em reator anaeróbio com capacidade de 100 L e agitação de 60 rpm.

Uma mistura de substratos orgânicos ricos em proteínas, carboidratos e lipídeos (Quadro 2) foi utilizada como fonte de alimentação para manter as bactérias ativas e um inóculo com características biológicas adequadas. A alimentação foi semanal com carga orgânica volumétrica (COV) de  $0,5 \text{ kg SV m}^3 \text{ d}^{-1}$ . Esta preparação

de inóculo facilita a adaptação dos microrganismos à digestão anaeróbia de vários tipos de substratos e é necessária devido à baixa disponibilidade de plantas mesofílicas de biogás na região do estudo.

Quadro 2 - Substratos utilizados na aclimatação do inóculo

<b>Componentes</b>	<b>(%)</b>
Leite em pó	25
Proteína de soja	10
Farinha de milho	20
Gramma seca	25
Óleo vegetal	20

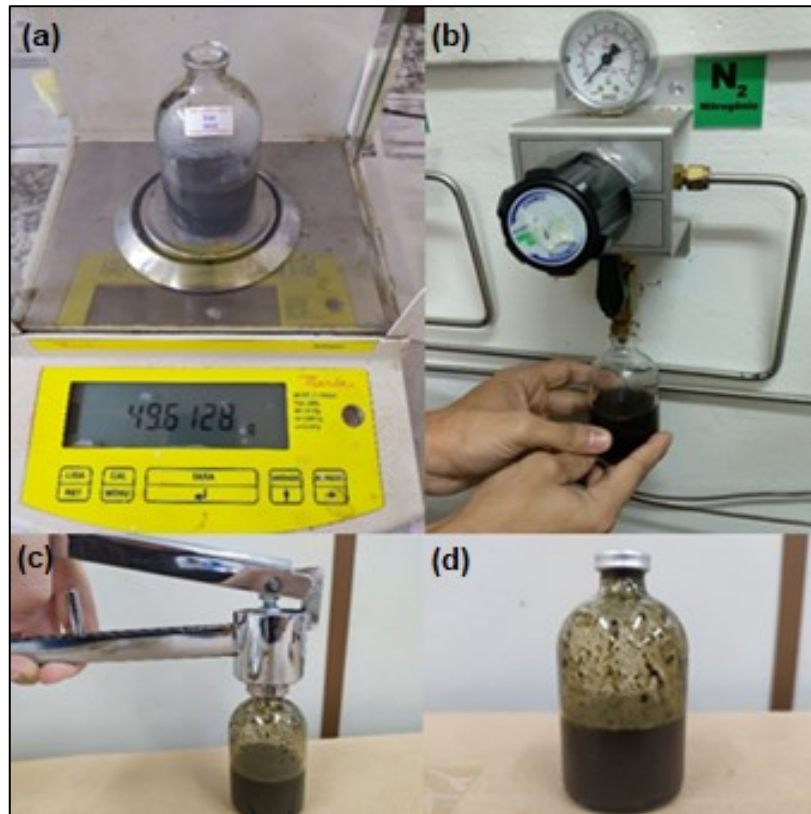
Fonte: Aatoria própria (2020).

#### 4.4 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

Os testes de batelada para determinação do Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foram realizados em frascos de vidro de 125 mL, com relação inóculo/substrato de 3/1. As amostras de BC pré-tratadas com as soluções de NaOH e KOH foram incubadas juntamente com uma amostra de BC sem pré-tratamento (amostra controle), celulose microcristalina (controle positivo) para avaliar a atividade biológica do inóculo e inóculo puro (Holliger et al., 2016). Todo o experimento foi realizado em triplicata.

Gás nitrogênio (N<sub>2</sub>) foi recirculado no *headspace* dos reatores a fim de expulsar o oxigênio e tornar o ambiente imediatamente anaeróbio, facilitando o início da atividade biológica. Os frascos foram selados e mantidos em temperatura mesofílica de 37±1 °C durante o teste (Figura 13).

Figura 13 - Teste de PBM (a) Pesagem do inóculo e substrato; (b) Recirculação de Nitrogênio; (c) Selagem do vidro; (d) Garrafa pronta para teste



Fonte: Autoria própria (2020).

A leitura da produção de gás foi realizada por deslocamento de gás em uma seringa de vidro de 100 mL, igualando-se a pressão interna do frasco à pressão atmosférica (Figura 14). Nos 10 primeiros dias de análise o volume de biogás foi quantificado diariamente. Em seguida, foi quantificado a cada 2 dias até o 20º dia e posteriormente a cada 3 dias até que a produção de biogás representasse menos de 1% do total acumulado. O volume quantificado foi normalizado nas condições padrão de pressão e temperatura (101,22 kPa e 273,15 K) e expresso em relação a massa de SV adicionada ( $L_N CH_4 kg SV^{-1}$ ).



Figura 14 - Medição de biogás com seringa de vidro e manômetro



Fonte: Autoria própria (2020).

A composição do biogás foi determinada por cromatografia gasosa (ASTM D1945-14, 2014) em cromatógrafo (Perkin Elmer – Clarus 680) com Detector de Condutividade Térmica (TCD), coluna empacotada Plot Q, com 30 m de comprimento e diâmetro interno de 0,32 mm. Gás hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 30 mL min<sup>-1</sup>. A rampa de temperatura do forno foi programada para aumentar de 32 a 200 °C com taxa de 10 °C min<sup>-1</sup> e tempo de espera final de 2 minutos (EDWIGES, 2017).

#### 4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A caracterização físico-química do BC foi realizado antes do pré-tratamento. O teor de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV), foram determinados de acordo com o Standard Methods (APHA, 2017), pelo método 2540 G. O teor de Lipídeos foi determinado por Extração Soxhlet (CECCHI, 1999), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) foi analisado pelo método micro-Kjeldahl (MALAVOLTA et al., 1997) e proteínas por composição centesimal multiplicando-se o valor de NTK pelo fator de conversão de 6,25 (FAO, 1973).

O teor de lignina foi determinado pela metodologia adaptada de TAPPI (2006) (T 222 0m-02) e os teores de celulose e hemicelulose pelo método Van Soest et al. (1991). Cinzas e extrativos foram determinadas pelas metodologias TAPPI T 211 om-02 e T 204 cm-97 (TAPPI, 2002, 2007), respectivamente.

As alterações morfológicas e estruturais do BC bruto e pré-tratado com NaOH e KOH foram observadas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras secas foram revestidas com ouro (Quorum Technologies, Laughton, Lewes) e as imagens microscópicas obtidas por MEV (TESCAN, Veja 3), com tensão 10.0 kV.

#### 4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Um planejamento de experimentos, utilizando a metodologia do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) foi aplicado para avaliar a influência de dois fatores (concentração da solução alcalina e tempo de contato) no pré-tratamento alcalino de BC. A seleção das variáveis e dos níveis estudados foi baseada em estudos científicos prévios de pré-tratamentos de biomassas semelhantes. A variável resposta estudada foi a produção de CH<sub>4</sub>.

O número de ensaios necessário para cada experimento que utiliza DCCR é dado por  $2^k + 2k + n$ , sendo que  $k$  é o número de variáveis independentes,  $2^k$  corresponde aos ensaios fatoriais,  $2k$  aos pontos axiais e  $n$  às réplicas no ponto central. Para este estudo, foram executados dois planejamentos experimentais, um para pré-tratamento com NaOH e outro para KOH, de  $2^2$  fatorial com 3 pontos centrais e 4 pontos axiais, totalizando em 11 ensaios cada um. A Tabela 1 apresenta os valores reais e codificados para as variáveis estudadas.

Tabela 1 – Matriz dos delineamentos experimentais

Ensaio	Variáveis Codificadas		Variáveis Reais	
	Concentração da solução alcalina (X <sub>1</sub> )	Tempo de contato (X <sub>2</sub> )	CA (%)	TC (h)
1	1	1	8,7	10,4
2	-1	1	2,3	10,4
3	1	-1	8,7	2,6
4	-1	-1	2,3	2,6
5	0	0	5,5	6,5
6	0	0	5,5	6,5
7	0	0	5,5	6,5
8	1,41	0	10	6,5
9	-1,41	0	1	6,5
10	0	1,41	5,5	12
11	0	-1,41	5,5	1

Fonte: Autoria própria (2020).

CA: Concentração alcalina; TC: tempo de contato

A codificação dos valores das variáveis concentração alcalina (CA) e tempo de contato (TC) foi realizada a partir das Equações 2 e 3.

$$X_1 = \frac{CA - 5,5}{3,2} \quad (2)$$

$$X_2 = \frac{TC - 6,5}{3,9} \quad (3)$$

Um modelo quadrático matemático é ajustado para a variável resposta (produção de CH<sub>4</sub>) pelo ajuste estatístico dos resultados correspondentes aos ensaios experimentais realizados, utilizando o *software* Statistica (versão 11.0). O modelo matemático codificado para a produção de CH<sub>4</sub> a partir de BC é apresentado na Equação 4.

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \sum_{i<j} \beta_{ij} X_i X_j \quad (4)$$

Em que:

y: variável resposta;

$\beta$ : coeficientes de regressão do modelo;

X<sub>i</sub> e X<sub>j</sub>: valor codificado das variáveis independentes.

A significância estatística do modelo matemático obtido foi testada utilizando análise de variância (ANOVA) com intervalo de confiança de 95%. Após a geração do modelo, fez-se sua validação por meio do cálculo da produção predita (com o uso do modelo) e a realização de novo ensaio de PBM utilizando amostras de BC pré-tratado com as concentrações de NaOH e KOH e o tempo de contato que apresentaram maior produção de metano.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

O teor de ST do BC foi de  $90,7 \pm 0,15\%$ , resultado do processo de secagem (Tabela 2). Mokomele et al. (2019) reportaram valor semelhante de ST de 90,8% para este substrato após a secagem realizada em temperatura ambiente. Baixa umidade também é encontrada em outros substratos utilizados com frequência em estudos de pré-tratamento, como palha de trigo e de arroz que apresentam cerca de 90,0% e 94,2% de ST, respectivamente (SHETTY et al., 2017).

Tabela 2 - Caracterização do bagaço de cana-de açúcar utilizado como substrato

Parâmetro	Teor
Sólidos totais (%)	90,7 ( $\pm 0,15$ ) <sup>1</sup>
Sólidos voláteis (% ST)	98,0 ( $\pm 0,18$ )
Celulose (% SV)	30,2 ( $\pm 0,40$ )
Hemicelulose (% SV)	21,1 ( $\pm 0,40$ )
Lignina (% SV)	22,3 ( $\pm 1,60$ )
Cinzas (% SV)	2,8 ( $\pm 0,80$ )
Extrativos (% SV)	6,7 ( $\pm 0,90$ )
Proteínas (% SV)	1,7 ( $\pm 0,09$ )
Lipídeos (% SV)	0,9 ( $\pm 0,10$ )

Fonte: Aatoria própria (2020).

<sup>1</sup> Parênteses representam desvio padrão (DP)

O teor de SV do BC foi de  $98,0 \pm 0,18\%$  e reflete a alta concentração de material com potencial para a conversão em biogás. Bolado-Rodríguez et al. (2016) e Mokomele et al. (2019) reportaram teor de SV semelhante de 90,7% e 96,1%, respectivamente para amostras de BC. Os teores de celulose, hemicelulose e lignina foram de  $30,2 \pm 0,40\%$ ,  $21,1 \pm 0,40\%$  e  $22,3 \pm 1,60\%$ , respectivamente. Valores similares foram reportados por Vats et al. (2019) de 33%, 25% e 18%, nesta ordem. Extrativos apresentaram um valor de 6,7% e cinzas de 2,8%.

O teor de proteínas do BC foi de  $1,7 \pm 0,09\%$ , semelhante ao encontrado por Janke et al. (2015) que obtiveram um valor de 1,8% em seu estudo com o mesmo

substrato. O conteúdo de lipídeos foi de  $0,9 \pm 0,10\%$ , equivalente ao encontrado por Huang et al. (2017), que obteve  $0,85\%$  também para o BC.

As características do inóculo utilizado nos testes de PBM foram de ST  $3,7 \pm 0,01\%$ , SV  $62,9 \pm 0,40\%$  de ST e o pH de  $8,0 \pm 0,06$ .

### 3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA DO BC PRÉ-TRATADO COM NaOH

O PBM do BC bruto foi de  $306 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$  (Tabela 3). Mokomele et al. (2019) reportaram PBM de  $258 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$  e Janke et al. (2015) encontraram valores entre 236 e  $326 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$  para o mesmo substrato. A variação dos valores de PBM encontrados entre diferentes estudos pode estar ligada às diferentes composições do substrato, presença de casca, tempo de colheita e forma de transporte e armazenamento.

Tabela 3 – PBM, teor de metano e valores operacionais reais e codificados das amostras pré-tratadas com NaOH

Ensaio	CA		TC		PBM ( $\text{L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ )	Teor de $\text{CH}_4$ (%)
	X <sub>1</sub>	(%)	X <sub>2</sub>	(h)		
BC	-	-	-	-	306 ( $\pm 0,2$ ) <sup>f</sup>	54 ( $\pm 0,6$ ) <sup>1</sup>
E1	1	8,7	1	10,4	359 ( $\pm 7$ ) <sup>ab</sup>	55 ( $\pm 0,6$ )
E2	-1	2,3	1	10,4	348 ( $\pm 8$ ) <sup>bc</sup>	54 ( $\pm 0,4$ )
E3	1	8,7	-1	2,6	342 ( $\pm 4$ ) <sup>cd</sup>	54 ( $\pm 0,8$ )
E4	-1	2,3	-1	2,6	325 ( $\pm 15$ ) <sup>e</sup>	54 ( $\pm 0,4$ )
E5	0	5,5	0	6,5	344 ( $\pm 3$ ) <sup>cd</sup>	55 ( $\pm 0,4$ )
E6	0	5,5	0	6,5	335 ( $\pm 4$ ) <sup>de</sup>	55 ( $\pm 0,5$ )
E7	0	5,5	0	6,5	343 ( $\pm 2$ ) <sup>cd</sup>	54 ( $\pm 0,6$ )
E8	1,41	10,0	0	6,5	343 ( $\pm 5$ ) <sup>cd</sup>	54 ( $\pm 0,8$ )
E9	-1,41	1,0	0	6,5	300 ( $\pm 12$ ) <sup>f</sup>	53 ( $\pm 0,5$ )
E10	0	5,5	1,41	12,0	367 ( $\pm 1$ ) <sup>a</sup>	54 ( $\pm 0,3$ )
E11	0	5,5	-1,41	1,0	337 ( $\pm 10$ ) <sup>cde</sup>	54 ( $\pm 0,4$ )

Fonte: Autoria própria (2020).

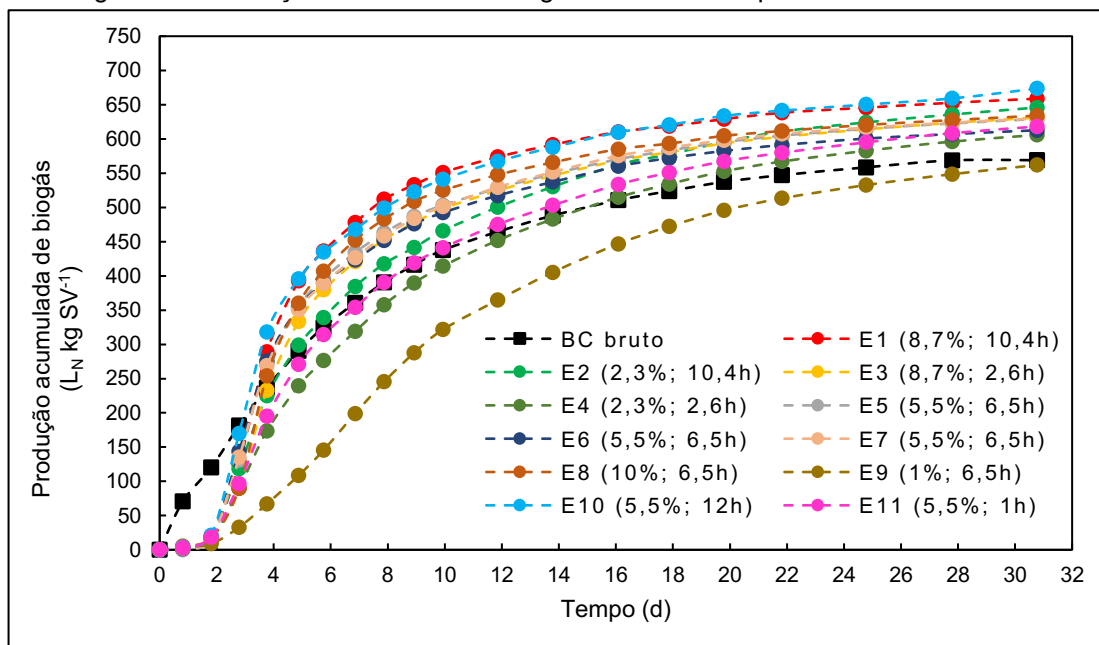
PBM: Potencial Bioquímico de Metano; BC: Bagaço de cana-de-açúcar bruto; E: ensaios 1 a 11; CA: Concentração alcalina; TC: Tempo de contato. Parênteses representam desvio padrão (DP). Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ).

As diferentes concentrações de NaOH e tempos de contato durante o pré-tratamento resultaram em PBMs com diferenças estatísticas significativas. As maiores produções de metano foram obtidas para os ensaios E1 ( $8,7\%$  e  $10,4 \text{ h}$ ) e E10 ( $5,5 \%$

e 12 h), de 359 e 367 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes ensaios apresentaram PBM estatisticamente semelhantes pelo Teste de Tukey ( $p$ -valor < 0,05), superando em 17% e 20% o BC sem pré-tratamento. Os ensaios E3 e E8, com concentrações mais altas da solução alcalina (8,7 e 10,0%) resultaram em produções de metano inferiores, de 342 e 343 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, visto que estes ensaios foram realizados com tempos de contato de apenas 2,6 e 6,5 horas, revelando que o tempo de pré-tratamento é um parâmetro tão importante quanto a concentração da solução química para aumentar a produção de metano.

Este fator é importante principalmente para o pré-tratamento em plantas de grande escala, pois o menor uso de produtos químicos implica em menores custos para o processo. O menor PBM foi registrado para o ensaio E9 (1,0% e 6,5 h) de 300 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup> e estatisticamente semelhante ao BC sem pré-tratamento ( $\alpha$  = 5%). Bolado-Rodríguez et al. (2016) ao tratar BC com NaOH 1% em autoclave (121 °C por 60 min) reportaram 230 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, um incremento de apenas 3% em relação ao substrato sem pré-tratamento. A baixa concentração da solução química aplicada ao substrato pode ter contribuído para o baixo rendimento do pré-tratamento (Figura 15).

Figura 15 - Produção acumulada de biogás das amostras pré-tratadas com NaOH



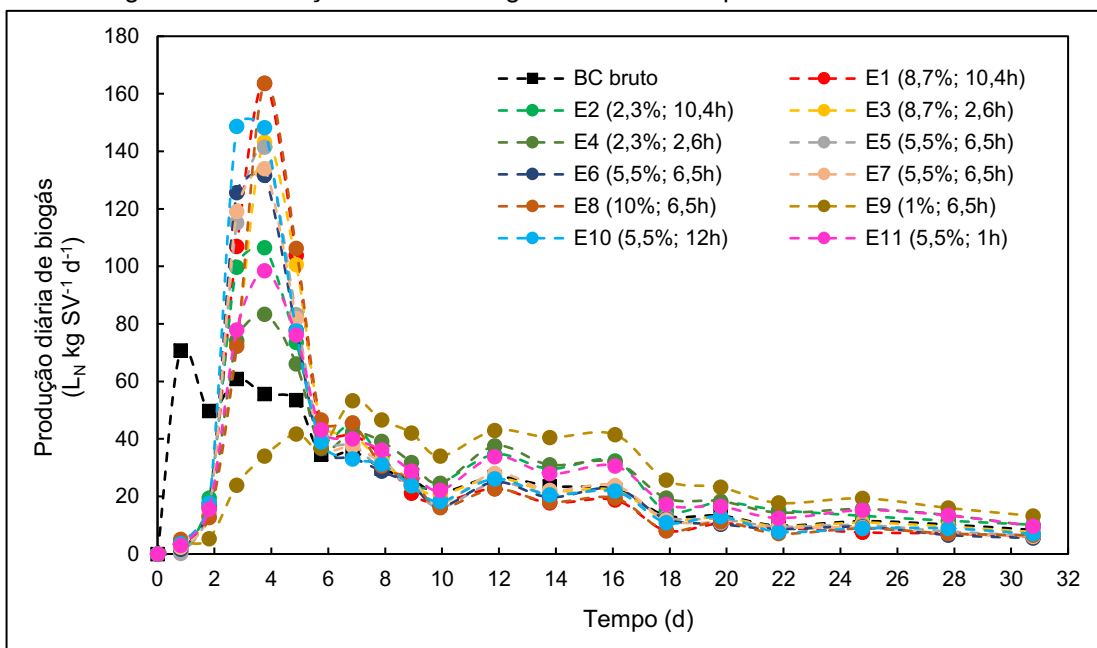
Fonte: Autoria própria (2020).

BC: Bagaço de cana-de-açúcar; E: Ensaios 1 a 11.

O início da produção de biogás foi imediato para todas as amostras (Figura 16). O BC sem tratamento teve pico de produção de 71 L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> no

primeiro dia de incubação. Os maiores picos de produção das amostras pré-tratadas foram registrados entre os dias 3 e 5 de digestão. Os picos mais tardios, porém maiores das amostras pré-tratadas indica a possível remoção de compostos de maior degradabilidade durante o pré-tratamento e posterior lavagem das amostras como açúcares mais simples e proteínas e, ainda, maior biodisponibilidade dos compostos alterados pelo pré-tratamento, que são convertidos em biogás na sequência, como a celulose e parte da hemicelulose remanescente (TALHA et al., 2016).

Figura 16 - Produção diária de biogás das amostras pré-tratadas com NaOH



Fonte: Autoria própria (2020).  
Bagaço de cana-de-açúcar; E: Ensaios 1 a 11.

O maior pico foi registrado para o ensaio E8, realizado com a maior concentração de NaOH (10,0% e 6,5 h) no dia 4 com 164 LN biogás kg SV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Já o menor pico foi registrado para o ensaio E9 (1,0% e 6,5 h) após 7 dias com 53 LN biogás kg SV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. A maior concentração de NaOH (10%) elevou em 131% o pico de produção, quando comparado ao pico do BC sem pré-tratamento. Esta diferença mostra o efeito positivo do pré-tratamento, pois a degradação da lignina pela solução alcalina aumenta a porosidade do substrato e expõe os carboidratos para a degradação pelos microrganismos da DA (SHETTY et al., 2017).

### 3.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA DO BC PRÉ-TRATADO COM KOH

O PBM do BC sem pré-tratamento para os ensaios com KOH foi de 297 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup> (Tabela 4), levemente inferior ao obtido com o BC sem pré-tratamento na primeira bateria de ensaios com NaOH e esta pequena diferença de 3% pode estar relacionada a diferenças quanto à amostragem.

Tabela 4 – PBM, teor de metano e valores operacionais reais e codificados das amostras pré-tratadas com KOH

Ensaio	CA		TC		PBM (L <sub>N</sub> CH <sub>4</sub> kg SV <sup>-1</sup> )	Teor de CH <sub>4</sub> (%)
	X <sub>1</sub>	(%)	X <sub>2</sub>	(h)		
BC	-	-	-	-	297 (±3) <sup>f</sup>	54 (±1,0) <sup>1</sup>
E1	1	8,7	1	10,4	353 (±2) <sup>a</sup>	55 (±0,6)
E2	-1	2,3	1	10,4	323 (±3) <sup>d</sup>	55 (±1,6)
E3	1	8,7	-1	2,6	335 (±4) <sup>c</sup>	55 (±0,6)
E4	-1	2,3	-1	2,6	309 (±1) <sup>e</sup>	54 (±1,5)
E5	0	5,5	0	6,5	340 (±5) <sup>bc</sup>	55 (±0,8)
E6	0	5,5	0	6,5	341 (±6) <sup>bc</sup>	55 (±0,7)
E7	0	5,5	0	6,5	341 (±2) <sup>bc</sup>	55 (±0,8)
E8	1,41	10,0	0	6,5	353 (±8) <sup>a</sup>	55 (±0,5)
E9	-1,41	1,0	0	6,5	271 (±7) <sup>g</sup>	55 (±1,5)
E10	0	5,5	1,41	12,0	343 (±4) <sup>b</sup>	55 (±0,5)
E11	0	5,5	-1,41	1,0	318 (±4) <sup>d</sup>	54 (±1,0)

Fonte: Autoria própria (2020).

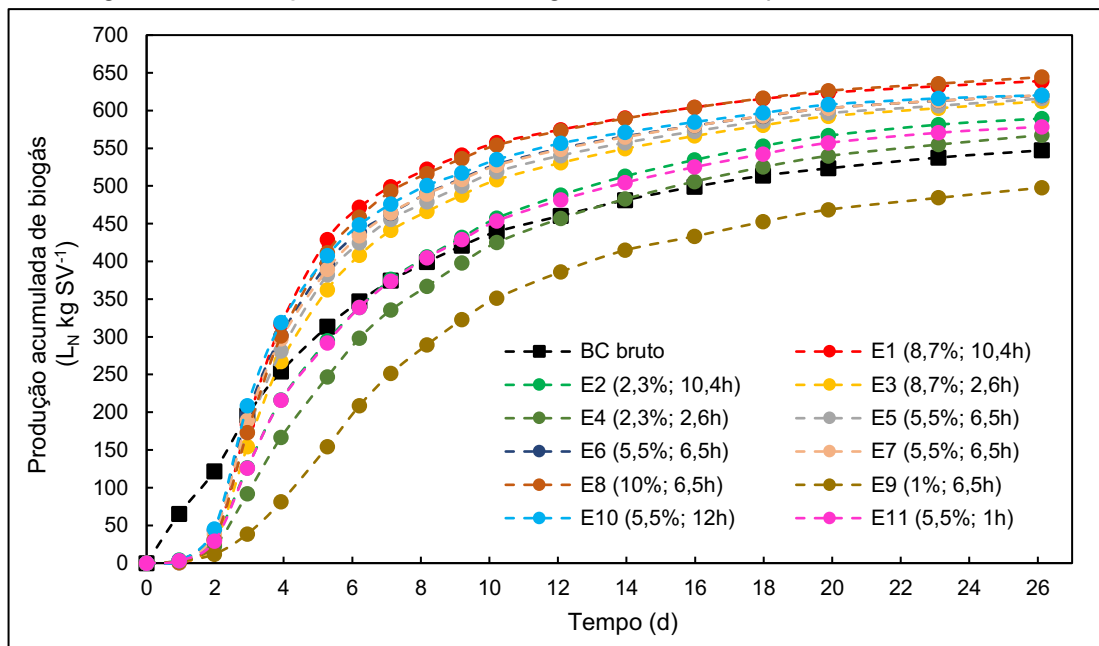
PBM: Potencial Bioquímico de Metano; BC: Bagaço de cana-de-açúcar bruto; E: ensaios 1 a 11; CA: Concentração alcalina; TC: Tempo de contato. <sup>1</sup> Parênteses representam desvio padrão (DP). Letras diferentes indicam diferenças significativas (p-valor<0,05).

Os valores de PBM do BC pré-tratado com KOH também resultaram em diferenças estatísticas significativas (p-valor < 0,05), caracterizadas pelas diferentes condições de concentração e tempo de contato a que foram expostas. Os maiores valores de PBM foram obtidos nos ensaios E1 (8,7% e 10,4 h) e E8 (10,0% e 6,5 h), que resultaram em 353 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup> para as duas condições, sendo 19% superior ao BC sem tratamento e similar aos 20% de eficiência obtida com o NaOH.

O pré-tratamento alcalino produz uma reação de inchaço na parede celular da biomassa, causando um aumento na área de superfície interna e simultaneamente a diminuição do grau de polimerização e cristalinidade da celulose, o que facilita a conversão do substrato na DA (ZHENG et al., 2014). O ensaio E9 (1,0% e 6,5 h)

resultou na menor produção registrada de  $271 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$  e um rendimento negativo de 9% em relação ao BC sem pré-tratamento. Este efeito pode ter ocorrido devido à baixa concentração da solução química, que foi capaz de solubilizar os compostos de maior biodegradabilidade como açúcares simples e proteínas, mas não o suficiente para alterar a estrutura rígida da lignocelulose, limitando a degradação dos compostos de celulose e hemicelulose do BC (Figura 17). Resultados mais satisfatórios foram encontrados por Liu et al. (2015) ao utilizar KOH para pré-tratar palha de trigo com baixa concentração de 2% por 24 h de tempo de contato e temperatura ambiente ( $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ). A produção de metano da amostra pré-tratada foi 53% mais eficiente em comparação ao seu substrato bruto, o que pode indicar que outros substratos podem ser mais favoráveis que o BC ao pré-tratamento com baixas concentrações e que o tempo de contato mais longo pode compensar no uso de menos químicos.

Figura 17 - Produção acumulada de biogás das amostras pré-tratadas com KOH



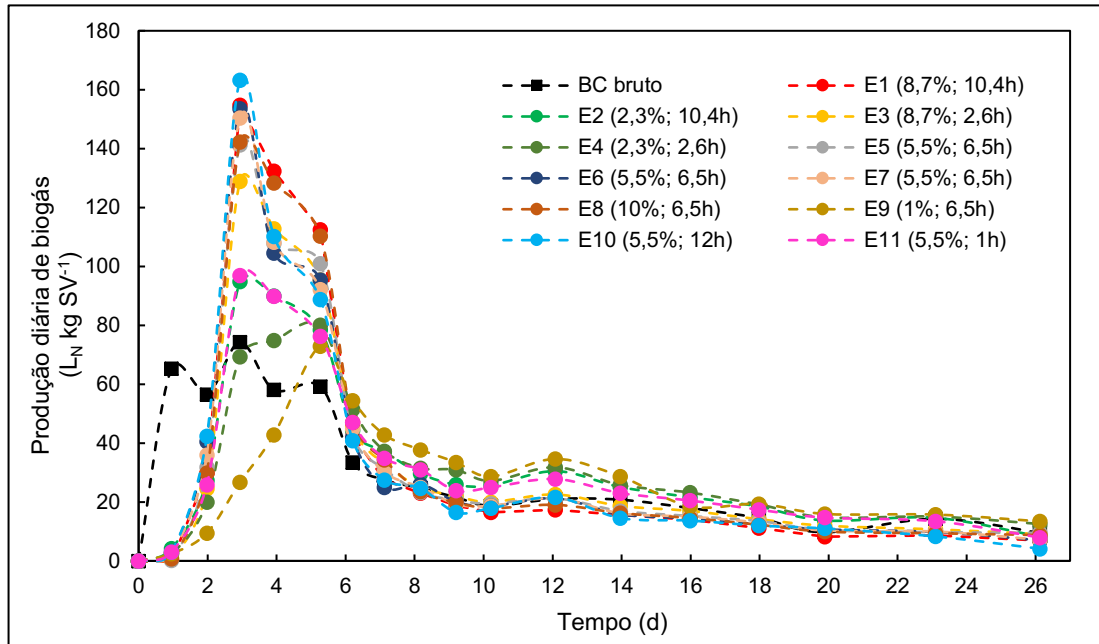
Fonte: Autoria própria (2020).

BC: Bagaço de cana-de-açúcar; E: Ensaios 1 a 11.

O início da produção de biogás também foi imediato para todas as amostras (Figura 18). O BC sem pré-tratamento apresentou pico de produção de  $74 \text{ L}_N \text{ biogás kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$  após 3 dias de digestão. Para as amostras pré-tratadas com KOH, o pico de produção também ocorreu no dia 3, com exceção dos ensaios E4 (2,3% e 2,6 h) e E9 (1,0% e 6,5 h) que obtiveram os menores picos de produção registrados apenas

no dia 5 (80 L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e 73 L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente). O maior pico foi apresentado pelo ensaio E10 (5,5% e 12 h) de 163 L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, sendo 120% superior ao BC sem tratamento, evidenciando o efeito do pré-tratamento que possibilitou que a matéria recalcitrante fosse acessível à ação dos microrganismos anaeróbios.

Figura 18 - Produção diária de biogás das amostras pré-tratadas com KOH



Fonte: Autoria própria (2020).

BC: Bagaço de cana-de-açúcar; E: Ensaios 1 a 11.

### 3.4 ANÁLISE DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE PRÉ-TRATAMENTO

#### 3.4.1 Análise dos Efeitos e ANOVA para o Pré-tratamento com NaOH e KOH

Na Tabela 5 são apresentadas as análises dos efeitos para o pré-tratamento de BC com NaOH e KOH. As duas variáveis estudadas apresentaram efeito positivo na produção de CH<sub>4</sub> para as duas bases (NaOH e KOH), o que significa que tanto o aumento da CA quanto o aumento do TC resultam no aumento da produção de CH<sub>4</sub>. Para o NaOH, o efeito das duas variáveis foi semelhante, enquanto para o KOH o efeito da concentração foi superior ao efeito do tempo de contato.

Tabela 5 - Análise dos efeitos das amostras pré-tratadas com NaOH e KOH

Fator	NaOH		KOH	
	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor
CA (L)	22,2013	0,0091	43,2071	0,0024
CA (Q)	-15,4726	0,0610	-24,4902	0,0442
TC (L)	20,8252	0,0117	16,8523	0,0796
TC (Q)	15,1054	0,0065	-6,1471	0,5321
CA x TC	-2,6828	0,7385	1,6565	0,8845

Fonte: Autoria própria (2020).

CA: concentração alcalina; TC: tempo de contato; L: termo linear; Q: termo quadrático

As variáveis CA (termo linear) e TC (termos linear e quadrático) apresentaram influência significativa na produção de CH<sub>4</sub> (p-valor < 0,05) para o pré-tratamento com NaOH. Para o KOH, apenas a variável CA (termos linear e quadrático) apresentou influência significativa. A variável CA (termo quadrático) para o NaOH e o TC (termos linear e quadrático) do KOH obtiveram p-valor > 0,05. Contudo, estas variáveis foram mantidas no modelo como forma de aumentar a proporção da variabilidade total das respostas explicadas pelo modelo de regressão, uma vez que a remoção não melhorou as características do modelo. A variável de interação entre CA e TC não apresentou significância para nenhum dos ensaios e foi retirada dos modelos matemáticos, sendo sua contribuição incorporada aos resíduos para o cálculo da ANOVA (Tabela 6).

Tabela 6 – ANOVA das amostras de BC pré-tratadas com NaOH e KOH

Solução	Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabelado</sub>	p-valor
NaOH	Regressão	2502,472	4	625,618	12,670	4,534	0,004
	Resíduos	296,258	6	49,376			
	Total	2798,730	10				
KOH	Regressão	5179,000	4	1294,750	13,145	4,534	0,003
	Resíduos	591,000	6	98,500			
	Total	5770,000	10				

Fonte: Autoria Própria (2020).

SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: média dos quadrados; F: teste F; L: termo linear; Q: termo quadrático

O F<sub>calculado</sub> (12,670) para a regressão do modelo de NaOH reparametrizado foi significativamente maior que o F<sub>tabelado</sub> (4,534). Além disto, o coeficiente de



determinação ( $R^2$ ) do modelo foi de 90,34%. Para o modelo de KOH, o  $F_{\text{calculado}}$  (13,145) foi cerca de 3 vezes superior ao  $F_{\text{tabelado}}$  (4,534), indicando forte aceitação do modelo, e o  $R^2$  foi de 89,67%. Estes fatores garantem ajuste satisfatório para a determinação da produção de  $\text{CH}_4$  por meio dos dois modelos quadráticos obtidos.

Na Tabela 7 são apresentados os coeficientes do modelo de regressão para o modelo reparametrizado (após ajuste dos fatores).

Tabela 7 - Coeficientes de regressão do modelo para as amostras pré-tratadas com NaOH e KOH

Fator	NaOH		KOH	
	Coeficientes	p-valor	Coeficientes	p-valor
Média	340,3833	< 0,0000	340,9415	< 0,0000
CA (L)	11,1007	0,0042	21,6035	0,0008
CA (Q)	-7,7363	0,0403	-12,2451	0,0266
TC (L)	10,4126	0,0057	8,4262	0,0534
TC (Q)	7,5527	0,0438	-3,0736	0,4912

Fonte: Autoria própria (2020).

CA: concentração alcalina; TC: tempo de contato; L: termo linear; Q: termo quadrático

### 3.4.2 Modelo Matemático para Pré-tratamento com NaOH e KOH

Os modelos matemáticos representativos para otimização do pré-tratamento de BC com NaOH e KOH, para as faixas e variáveis estudadas codificadas, são apresentados nas equações 5 e 6, respectivamente.

$$V_{\text{CH}_4}(\text{NaOH}) = 340,3833 + 11,1007 X_1 - 7,7363 X_1^2 + 10,4126 X_2 + 7,5527 X_2^2 \quad (5)$$

$$V_{\text{CH}_4}(\text{KOH}) = 340,9415 + 21,6035 X_1 - 12,2451 X_1^2 + 8,4262 X_2 - 3,0736 X_2^2 \quad (6)$$

Em que:

$V_{\text{CH}_4}$ : Volume de  $\text{CH}_4$  ( $\text{LN CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ );

$X_1$ : valor codificado para a variável concentração;

$X_2$ : valor codificado para a variável tempo de contato.

Já as equações 7 e 8 representam os modelos para as variáveis com valores reais.

$$V_{CH_4}(NaOH) = 302,0726 + 11,8242 CA - 0,7555 CA^2 - 3,8254 TC + 0,4966 TC^2 \quad (6)$$

$$V_{CH_4}(KOH) = 244,8910 + 19,9758 CA - 1,1958 CA^2 + 4,8038 TC - 0,2021 TC^2 \quad (8)$$

Em que:

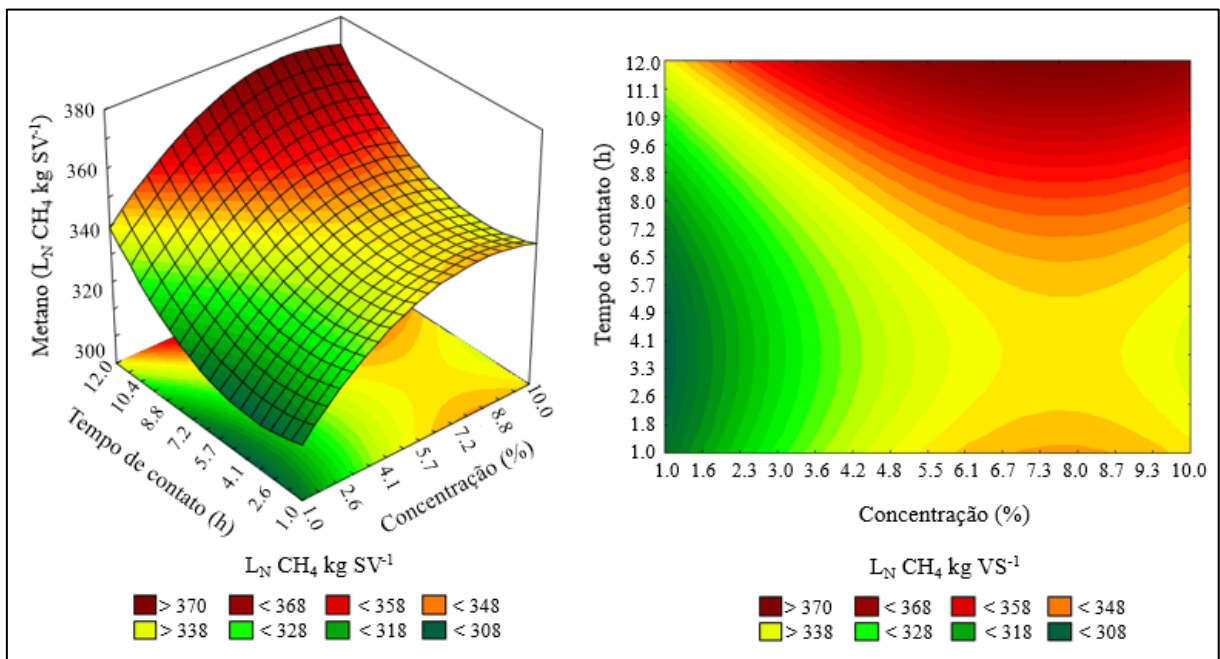
$V_{CH_4}$ : Volume de  $CH_4$  ( $L_N CH_4 kg SV^{-1}$ );

CA: valor real para a variável concentração (%);

TC: valor real para a variável tempo de contato (h).

A partir da análise das superfícies de resposta (Figura 19) foi possível determinar as condições para a otimização do pré-tratamento alcalino com NaOH e KOH no intervalo investigado para as variáveis CA e TC. A maior produção de metano prevista pela superfície de resposta para o NaOH ( $374 L_N CH_4 kg SV^{-1}$ ) foi obtida pela CA de 7,7% (0,69) e TC de 12 h (1,41). Apesar disso, a superfície de resposta indica que há uma região ótima de valores para as variáveis, que podem ser utilizadas sem influenciar negativamente na produção de metano. Mantendo-se o tempo de contato ótimo em 12 h, a concentração de NaOH pode variar de 4% a 10% sem que haja diferença estatisticamente significativa na produção de metano.

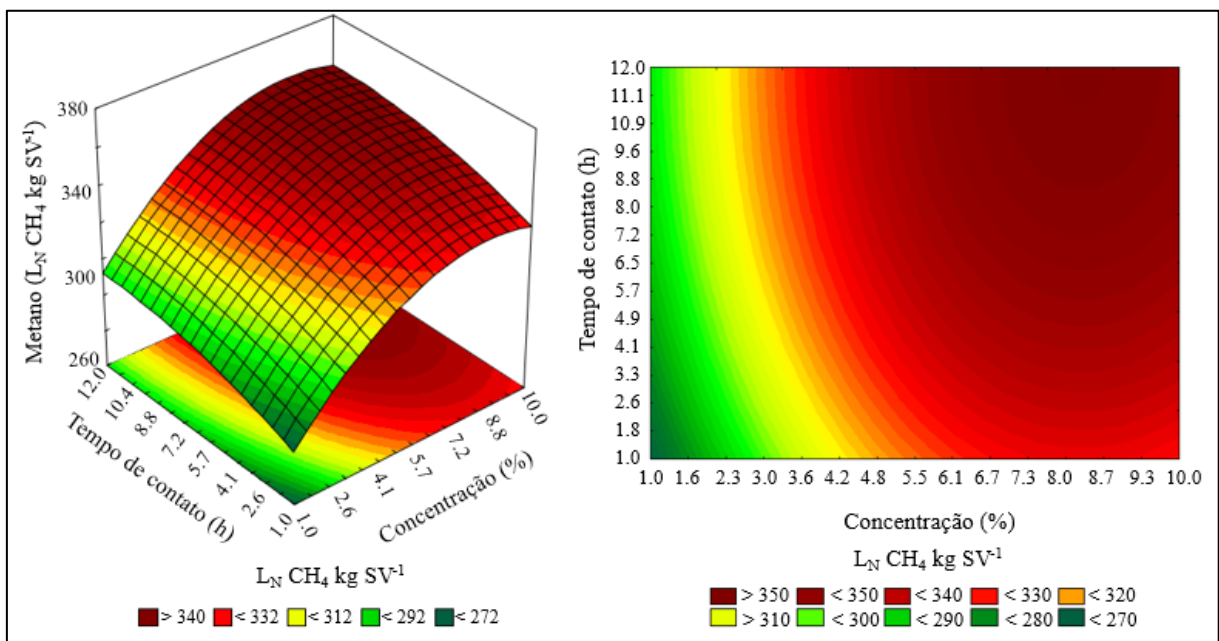
Figura 19 - (a) Superfície de resposta e (b) Gráfico de Contorno para produção de metano das amostras pré-tratadas com NaOH



Fonte: Autoria própria (2020).

Para o KOH, o ponto ótimo obtido foi de 8,3% (0,88) para CA e de 11,8 h (1,37) para TC, com uma produção de metano de 356  $L_N CH_4 kg SV^{-1}$  (Figura 20). Para o pré-tratamento com KOH a superfície de resposta também indica uma região ótima para o processo, onde mantendo-se o tempo de contato (11,8 h), a concentração de KOH pode variar de 6% a 10%, sem diferenças significativas na produção de metano.

Figura 20 - (a) Superfície de resposta e (b) Gráfico de Contorno para produção de metano das amostras pré-tratadas com KOH



Fonte: Autoria própria (2020).

Edwiges et al. (2019) também reportaram valores de PBM sem diferença estatística significativa (416 e 434  $L_N CH_4 kg VS^{-1}$ ) após o pré-tratamento de resíduos de jardim com NaOH (5% e 10%) e 12 h de tempo de contato, sendo estes valores adotados de forma arbitrária. O uso de menores quantidades de produtos químicos pode tornar o processo menos custoso, além de diminuir a produção de passivos ambientais. Além disto, You et al., (2019) estudaram o pré-tratamento de resíduos de milho com NaOH (0% a 6%) utilizando tempo de contato de 6 h a 12 h e reportaram que tempos de contato superiores a 9 h não foram tão eficientes e apenas elevariam os custos operacionais.

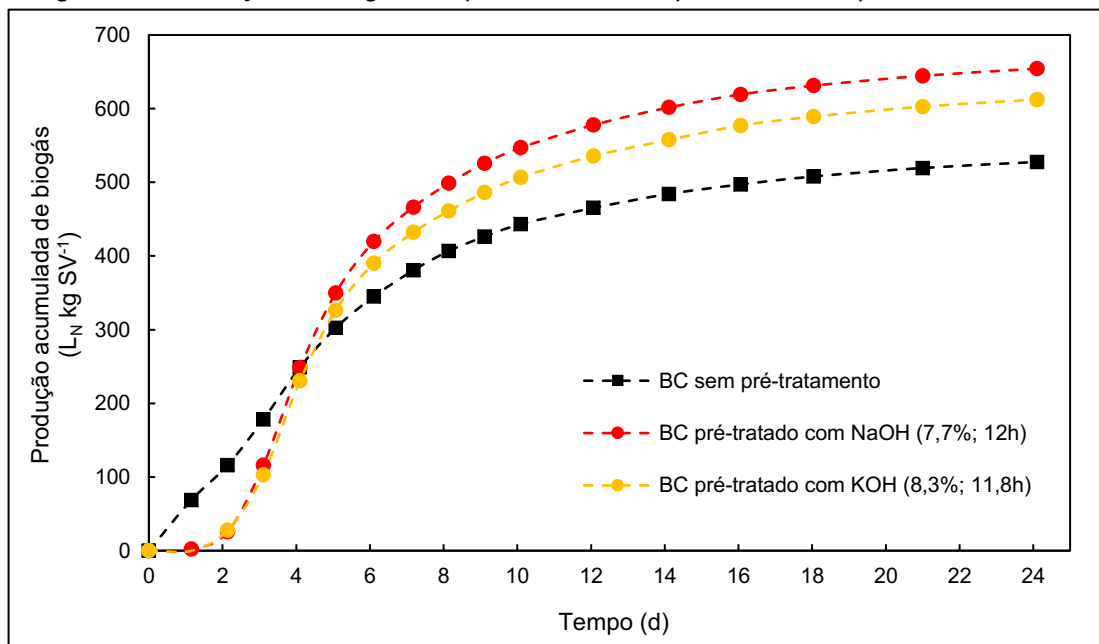
### 3.4.3 Validação dos Modelos Matemáticos

As condições operacionais dos pontos ótimos de cada pré-tratamento foram utilizadas para validar os modelos matemáticos. Para o NaOH foram utilizados os pontos 7,7% (0,69) para CA e 12 h (1,41) para o TC. Para o KOH os pontos utilizados foram 8,3% (0,88) para CA e 11,8 h (1,37) para TC.

O valor de metano predito (calculado pelo modelo) para a validação com NaOH foi de  $374 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$  e o valor de PBM observado no novo experimento com o BC pré-tratado nas mesmas condições foi de  $358 \pm 1,2 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ . Para a validação com KOH o metano predito foi de  $356 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ , enquanto o valor de PBM observado foi de  $338 \pm 3,3 \text{ L}_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ . O erro médio entre as produções preditas e observadas para NaOH e KOH foi de apenas 4,5% e 5,3%, respectivamente, indicando um bom ajuste dos modelos à prática experimental.

O BC pré-tratado com NaOH e KOH nas condições operacionais ótimas resultou em valores 23% e 16% superiores ao BC sem pré-tratamento. Os maiores valores para as amostras pré-tratadas evidenciam a eficiência na aplicação dos pré-tratamentos na diminuição da recalcitrância do substrato (Figura 21).

Figura 21 - Produção de biogás nos pontos ótimos de pré-tratamento para NaOH e KOH

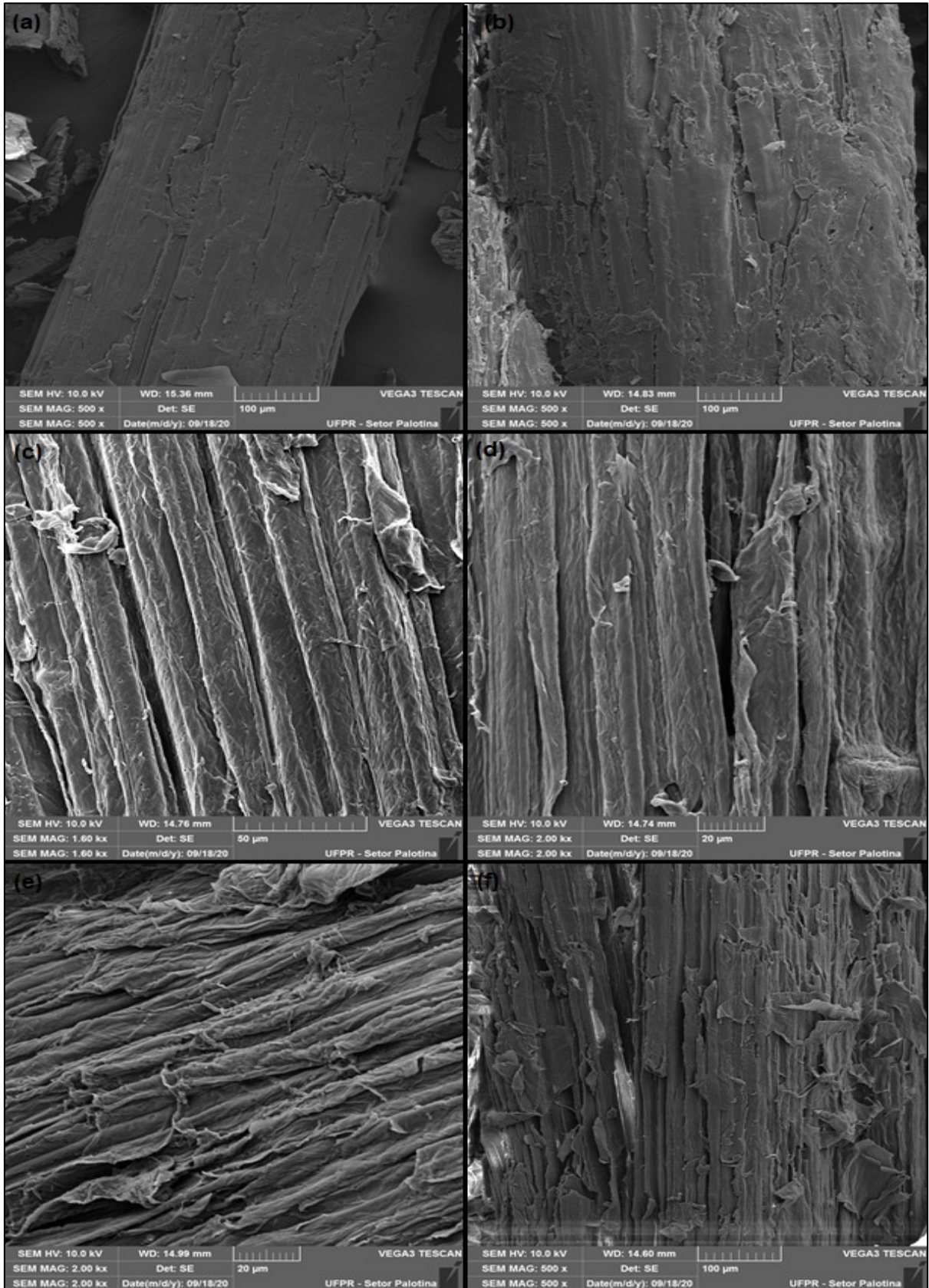


Fonte: Autoria própria (2020)  
BC: Bagaço de cana-de-açúcar

### 3.5 ANÁLISE DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A estrutura superficial das amostras de BC sem pré-tratamento e pré-tratadas nas condições ótimas para NaOH e KOH foram comparadas pela análise de MEV (Figura 22). As imagens mostram que houve alteração na estrutura morfológica da biomassa após a aplicação do pré-tratamento. O BC é composto por uma estrutura ordenada com longas fibras suaves (Figuras 22a e 22b) que dificultam o acesso dos microrganismos anaeróbios para a decomposição do material com potencial para conversão em metano. Quando o pré-tratamento alcalino é aplicado, a estrutura do BC incha, aumentando a área de superfície interna e diminuindo o grau de polimerização dos compostos, causando a ruptura das ligações e resultando em uma estrutura desordenada e mais acessível (Figuras 22b-22f) (KAUR et al., 2020).

Figura 22 - Imagens de MEV para (a) e (b) BC sem pré-tratamento; (c) e (d) BC pré-tratado com NaOH (7,7% e 12 h); (e) e (f) BC pré-tratado com KOH (8,3% e 11,8 h)



Fonte: Autoria própria (2020).



Além disto, as camadas protetivas de hemicelulose e lignina são degradadas e a celulose é exposta (WANG, 2015). Estas características provocam fissuras na estrutura da biomassa que levam ao aumento na porosidade da parede celular (SHETTY et al., 2017), evidenciado pelos furos na estrutura do BC visíveis principalmente no pré-tratamento com NaOH (Figura 22b e 22c), o que torna a biomassa mais biodegradável e aumenta sua digestibilidade.

É possível ainda notar espaços vazios entre as fibras do BC pré-tratado, que podem ser consequência da remoção da hemicelulose e flocos de celulose de baixa cristalinidade (CANILHA et al., 2012). As alterações nas características físicas do BC causadas pelo pré-tratamento alcalino tornaram os carboidratos mais acessíveis para os microrganismos anaeróbios, por esta razão a produção de biogás e metano para estas amostras foi evidenciado.

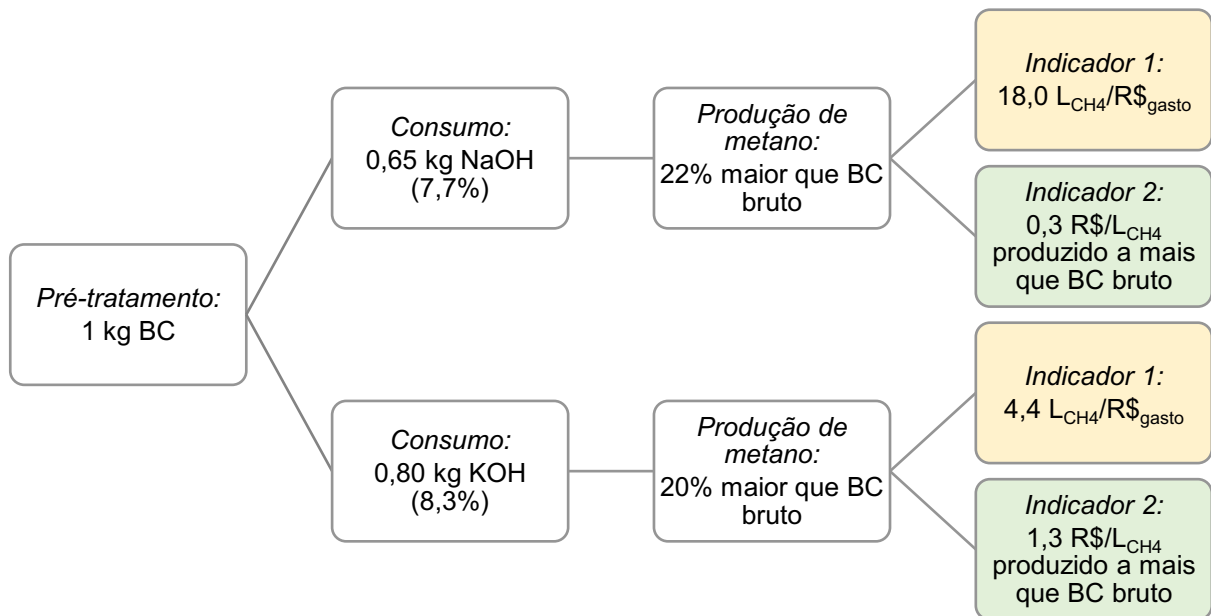
### 3.6 ANÁLISE COMPARATIVA E APLICAÇÃO EM ESCALA REAL

Diversos estudos indicam que há relação direta no aumento da produção de metano com o aumento da concentração da solução alcalina (MICHALSKA et al., 2015). Contudo, ao contrário do esperado, a produção de metano para o BC não aumentou especificamente com o aumento da concentração das bases. Isso porque em concentrações alcalinas muito altas, pode ocorrer dissolução, descascamento e degradação de polissacarídeos dissolvidos. Estas características podem tanto atrasar a conversão da biomassa, quanto favorecer a perda de carbono e consequente diminuição da produção de biogás (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009).

Os valores de produção de metano do BC pré-tratado com as duas bases estudadas foram similares entre si. Yang et al. (2009) e Zheng et al. (2014) também afirmam em seus estudos que a efetividade das duas bases pode ser semelhante. Pela análise das superfícies de resposta dos dois pré-tratamentos estudados, a maior produção para o NaOH de 374 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup> (7,7% e 12 h) foi apenas 5% superior ao melhor resultado obtido pelo KOH (8,3% e 11,8 h) de 356 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>. O NaOH e o KOH são considerados duas bases fortes, contudo o KOH exigiu condições mais altas de concentração para o pré-tratamento para atingir resultados similares ao NaOH.

Considerando o uso do pré-tratamento para escala real, em termos econômicos, o uso do NaOH é mais vantajoso, pois é relativamente mais barato. O preço do quilograma do NaOH (P.A.) é de cerca de R\$ 32,00, enquanto o KOH (P.A.) custa em torno de R\$ 100,00 (outubro, 2020). Tendo como base as melhores condições de cada pré-tratamento, para o NaOH (7,7% e 12 h) são necessários 0,65 kg de NaOH (98% de pureza) para pré-tratar 1 kg de BC, resultando no gasto de R\$ 20,80. Já para o KOH (8,3% e 11,8 h) são necessários 0,80 kg (85% de pureza) para pré-tratar 1 kg de biomassa, totalizando em cerca de R\$ 80,00, valor 284% superior se comparado ao NaOH (Figura 23).

Figura 23 - Comparação de indicadores de NaOH e KOH



Fonte: Autoria própria (2020).  
BC: Bagaço de cana-de-açúcar

O custo do pré-tratamento pode ainda ser reduzido com a reutilização do licor negro remanescente do processo para pré-tratar bateladas subsequentes. Bastos et al. (2019) estudaram o pré-tratamento de resíduos de jardim com KOH e reuso do licor negro. Em seu estudo constataram a redução em até três vezes no uso de produtos químicos para o pré-tratamento. Liu et al. (2015) investigaram o reuso do licor negro em pré-tratamento de palha de trigo e constataram que o reuso foi eficiente na deslignificação e houve economia de 75% no uso de água e 25% no uso de nova base. Siddhu et al. (2016) estudaram o reuso do licor negro em pré-tratamento de



resíduos de milho e também registraram viabilidade no processo e a diminuição de 56% no uso de água e 57% no uso de base.

Apesar de mais caro, o KOH pode apresentar outros benefícios. A principal vantagem do KOH é ambiental, pois o potássio é menos danoso ao ambiente quando comparado ao sódio. Além disso, o KOH pode ser recuperado do licor negro resultante do processo de pré-tratamento, e assim como o digestato da DA, pode ser utilizado como biofertilizante no solo (PAIXÃO et al., 2016; BENSAH et al., 2019). Jaffar et al. (2016) cita que a presença de potássio em fertilizantes melhora o perfil do solo em termos de características físicas, resistência a doenças e na vida útil de frutas e vegetais.

## 6 CONCLUSÃO

O pré-tratamento alcalino de BC com NaOH e KOH demonstrou eficiência em termos de biodegradabilidade e volume acumulado de metano. O maior valor de PBM para o NaOH foi obtido com 5,5% e durante 12 h, com rendimento de 20% superior comparado ao BC sem pré-tratamento. Para o KOH, o maior valor de PBM foi obtido com 8,7% e 10,4 h e 10,0% e 6,5 h, superando o BC sem pré-tratamento em 19%. Além disto, os picos de produção das amostras pré-tratadas com NaOH e KOH foram 131% e 120% superiores ao BC sem pré-tratamento.

A identificação das condições ideais de pré-tratamento possibilitou a otimização do processo. Os pontos ótimos identificados pela superfície de resposta foram de NaOH 7,7% por 12 h e de KOH 8,3% por 11,8 h. Apesar dos pontos ótimos identificados, observou-se ainda que é possível utilizar concentrações de 4% a 10% de NaOH e 6% a 10% para KOH sem diferença estatisticamente significativa na produção de metano. O uso de menores concentrações de reagentes favorece o aumento de escala do pré-tratamento, pois reduz a demanda de reagentes para o processo em escala real.

Os modelos matemáticos gerados a partir do DCCR apresentaram baixo erro médio entre os valores preditos e observados de apenas 4,5% (NaOH) e 5,2% (KOH). Estas condições garantem um excelente ajuste teórico para o cálculo da produção de metano para BC pré-tratado com NaOH e KOH nas condições estudadas.

Sob o ponto de vista econômico, o NaOH é mais eficiente que o KOH para pré-tratamento de BC, visto que o custo global de pré-tratamento por kg de BC representa apenas 32% do custo com o KOH. A aplicação de uma ferramenta empírica de modelagem foi importante para determinar as condições ótimas de concentração e tempo de contato e otimizar a demanda de reagentes necessários a fim de reduzir custos no pré-tratamento e aumentar a produção de metano.

## REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K.; PARK, H.; et al. Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 301, 2020. Elsevier Ltd.
- ADEKUNLE, K. F.; OKOLIE, J. A. A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 06, n. 03, p. 205–212, 2015. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/abb.2015.63020>>. .
- AKUNNA, J. C. **Anaerobic Waste-Wastewater Treatment and Biogas Plants: A Practical Handbook**. 1o ed. CRC Press, 2019.
- AMIN, F. R.; KHALID, H.; ZHANG, H.; et al. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. **AMB Express**, v. 7, n. 1, 2017. Springer Berlin Heidelberg. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13568-017-0375-4>>. .
- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (23rd ed.). **American Public Health Association**. AWWA Water Environmental Federation, 2017.
- ARNI, S. AL. Extraction and isolation methods for lignin separation from sugarcane bagasse: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 115, n. May 2017, p. 330–339, 2018. Elsevier.
- ASHTER, S. A. Chemistry of cellulosic polymers. **Technology and Applications of Polymers Derived from Biomass**. p.57–74, 2018. Elsevier.
- ATELGE, M. R.; ATABANI, A. E.; BANU, J. R.; et al. A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery. **Fuel**, v. 270, n. February, p. 117494, 2020. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117494>>. .
- BAÊTA, B. E. L.; LIMA, D. R. S.; ADARME, O. F. H.; GURGEL, L. V. A.; AQUINO, S. F. DE. Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolyzates in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 137–146, 2016. Elsevier Ltd.
- BAJPAL, P. **Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production**. India: Springer, 2016.
- BASTOS, Jhenifer Aline. **Produção de biogás em resposta ao pré-tratamento químico e reuso do licor negro aplicado aos resíduos de aparas de grama**. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira – PR, 69 f., 2020.
- BASTOS, J. A.; REMOR, P. V.; LOFHAGEN, J. C. P.; HAWKINS, C. A.; EDWIGES, T. Sustainable research methodology on the effect of the reuse of black liquor in the alkaline pre-treatment of garden residues for the production of biogas. **Revista de Gestao Ambiental e Sustentabilidade**, v. 8, n. 3, p. 554–567, 2019.
- BENSAH, E. C.; KÁDÁR, Z.; MENSAH, M. Y. Alkali and glycerol pretreatment of West African biomass for production of sugars and ethanol. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, n. January, p. 123–130, 2019.

BOLADO-RODRÍGUEZ, S.; TOQUERO, C.; MARTÍN-JUÁREZ, J.; TRAVAINI, R.; GARCÍA-ENCINA, P. A. Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 201, p. 182–190, 2016.

BORJA, R.; RINCÓN, B. Reference Module in Life Sciences. **Reference Module in Life Sciences**, n. April 2016, p. 1–24, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128096338091056>>. .

CANILHA, L.; CHANDEL, A. K.; SUZANE DOS SANTOS MILESSI, T.; 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**, 2012.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de Alimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 1999. 208p.

CHANDRA, R.; TAKEUCHI, H.; HASEGAWA, T.; KUMAR, R. Improving biodegradability and biogas production of wheat straw substrates using sodium hydroxide and hydrothermal pretreatments. **Energy**, v. 43, n. 1, p. 273–282, 2012. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2012.04.029>>. .

CHEN, C.; GUO, W.; NGO, H. H.; et al. Challenges in biogas production from anaerobic membrane bioreactors. **Renewable Energy**, v. 98, p. 120–134, 2016. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.095>>. .

CHEN, H.; LIU, J.; CHANG, X.; et al. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. **Fuel Processing Technology**, v. 160, p. 196–206, 2017. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.007>>. .

CHEN, Y.; STEVENS, M. A.; ZHU, Y.; HOLMES, J.; XU, H. Understanding of alkaline pretreatment parameters for corn stover enzymatic saccharification. **Fuel Production from Non-Food Biomass: Corn Stover**, p. 131–153, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Monitoramento Agrícola - Cana-de-Açúcar Safra 2018/19**. 5. ed. Brasília: CONAB, 2018. 66 p. ISBN 2318-7921.

DELL'OMO, P. P.; SPENA, V. A. Mechanical pretreatment of lignocellulosic biomass to improve biogas production: Comparison of results for giant reed and wheat straw. **Energy**, v. 203, p. 117798, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117798>>. .

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources**. 2nd ed. Wiley-VCH, 2011.

EDWIGES, T. **Biodigestão anaeróbia de resíduos vegetais provenientes de central de abastecimento**. 2017. 81 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2017.

EDWIGES, T.; BASTOS, J. A.; LIMA ALINO, J. H.; et al. Comparison of various pretreatment techniques to enhance biodegradability of lignocellulosic biomass for methane production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 6, p. 103495, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103495>>. .

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT Crops - Production quantities of Sugar cane by country. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 8/8/2020.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Energy and protein requirements. **World Health Organization - Technical Report Series**, 1973. Geneva: FAO and WHO. Disponível em: <[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41042/WHO\\_TRS\\_522.pdf;jsessionid=7A1DCBDBCF274854850D29CE5667FD62?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41042/WHO_TRS_522.pdf;jsessionid=7A1DCBDBCF274854850D29CE5667FD62?sequence=1)>. .

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 10–18, 2009.  
HERNÁNDEZ-BELTRÁN, J. U.; HERNÁNDEZ-DE LIRA, I. O.; CRUZ-SANTOS, M. M.; et al. Insight into pretreatment methods of lignocellulosic biomass to increase biogas yield: Current state, challenges, and opportunities. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 9, n. 18, 2019.

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; et al. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016. Disponível em: <<https://iwaponline.com/wst/article/74/11/2515/18930/Towards-a-standardization-of-biomethane-potential>>. .

HORAN, N.; YASER, A. Z.; WID, N. **Anaerobic Digestion Processes - Applications and Effluent Treatment**. Singapura: Springer, 2018.

HUANG, H.; MOREAU, R. A.; POWELL, M. J.; et al. Evaluation of the quantity and composition of sugars and lipid in the juice and bagasse of lipid producing sugarcane. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 148–155, 2017. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.03.003>>. .

JAFFAR, M.; PANG, Y.; YUAN, H.; et al. Wheat straw pretreatment with KOH for enhancing biomethane production and fertilizer value in anaerobic digestion. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 24, n. 3, p. 404–409, 2016. Elsevier B.V.

JAMSHIDNEZHAD, M. **Experimental Design in Petroleum Reservoir Studies**. Oxford: Elsevier, 2015.

JANKE, L.; LEITE, A.; NIKOLAUSZ, M.; et al. Biogas Production from Sugarcane Waste: Assessment on Kinetic Challenges for Process Designing. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 9, p. 20685–20703, 2015.

JAWAID, M.; PARIDAH, M. T.; SABA, N. **Thermal Properties of Oil Palm Biomass Based Composites**. 2017.

KAINTHOLA, J.; KALAMDHAD, A. S.; GOUD, V. V.; GOEL, R. Fungal pretreatment and associated kinetics of rice straw hydrolysis to accelerate methane yield from anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 286, n. March, p. 121368, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121368>>. .

KANDYLIS, P.; BEKATOROU, A.; PISSARIDI, K.; et al. Acidogenesis of cellulosic hydrolysates for new generation biofuels. **Biomass and Bioenergy**, v. 91, p. 210–216, 2016. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.05.006>>. .

KAUR, M.; NEETU; VERMA, Y. P.; CHAUHAN, S. Effect of chemical pretreatment of sugarcane bagasse on biogas production. **Materials Today: Proceedings**, v. 21, p. 1937–1942, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.278>>. .

KHAN, M. T.; KHAN, I. A. **Sugarcane Biofuels - Status, Potential, and Prospects of the Sweet Crop to Fuel the World**. Cham: Springer, 2019.

KOUPAIE, H. E.; DAHADHA, S.; BAZYAR LAKEH, A. A.; AZIZI, A.; ELBESHBISHY, E. Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review. **Journal of Environmental Management**, v. 233, n. September 2018, p. 774–784, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.106>>. .

KUILA, A.; SHARMA, V. **Lignocellulosic Biomass Production and Industrial Applications**. EUA: Scrivener Publishing, 2017.

KUMAR, A.; SAMADDER, S. R. Performance evaluation of anaerobic digestion technology for energy recovery from organic fraction of municipal solid waste: A review. **Energy**, v. 197, p. 117253, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117253>>. .

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. 1st ed. Concórdia: Sbera - Embrapa Suínos e Aves, 2019.

LAINE, C. Structures of hemicelluloses and pectins in wood and pulp. **Department of Chemical Technology**, v. Doctor of, n. January 2005, p. 63, 2005. Disponível em: <<http://lib.tkk.fi/Diss/2005/isbn9512276909/>>. .

LALUCE, C.; ROLDAN, I. U.; PECORARO, E.; IGBOJIONU, L. I.; RIBEIRO, C. A. Effects of pretreatment applied to sugarcane bagasse on composition and morphology of cellulosic fractions. **Biomass and Bioenergy**, v. 126, n. November 2018, p. 231–238, 2019. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.03.002>>. .

LI, C.; KNIERIM, B.; MANISSERI, C.; et al. Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: Biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4900–4906, 2010. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.066>>. .

LI, L.; CHEN, C.; ZHANG, R.; et al. Pretreatment of Corn Stover for Methane Production with the Combination of Potassium Hydroxide and Calcium Hydroxide. **Energy and Fuels**, v. 29, n. 9, p. 5841–5846, 2015.

LIMA, D. R. S.; ADARME, O. F. H.; BAÊTA, B. E. L.; GURGEL, L. V. A.; DE AQUINO, S. F. Influence of different thermal pretreatments and inoculum selection on the biomethanation of sugarcane bagasse by solid-state anaerobic digestion: A kinetic analysis. **Industrial Crops and Products**, v. 111, n. November 2017, p. 684–693, 2018.

LIU, X.; ZICARI, S. M.; LIU, G.; LI, Y.; ZHANG, R. Improving the bioenergy production from wheat straw with alkaline pretreatment. **Biosystems Engineering**, v. 140, p. 59–66, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2015.09.006>>. .

LO, S. L.; HUANG, Y. F.; CHIUEH, P. TE; KUAN, W. H. Microwave Pyrolysis of Lignocellulosic Biomass. **Energy Procedia**, v. 105, p. 41–46, 2017. The Author(s). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.277>>. .

MAHMOOD, Z.; YAMEEN, M.; JAHANGEER, M.; et al. Lignin as Natural Antioxidant Capacity. **Lignin - Trends and Applications**, 2018.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. 5ª ed. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1989. 292 p.

MANATURA, K. Inert torrefaction of sugarcane bagasse to improve its fuel properties. **Case Studies in Thermal Engineering**, v. 19, n. December 2019, p. 100623, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.csite.2020.100623>>. .

MICHALSKA, K.; BIZUKOJC, M.; LEDAKOWICZ, S. Pretreatment of energy crops with sodium hydroxide and cellulolytic enzymes to increase biogas production. **Biomass and Bioenergy**, v. 80, p. 213–221, 2015.

MOKOMELE, T.; DA COSTA SOUSA, L.; BALAN, V.; et al. Incorporating anaerobic co-digestion of steam exploded or ammonia fiber expansion pretreated sugarcane residues with manure into a sugarcane-based bioenergy-livestock nexus. **Bioresource Technology**, v. 272, n. October 2018, p. 326–336, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.049>>. .

MONLAU, F.; BARAKAT, A.; TRABLY, E.; 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.

MOOD, S. H.; GOLFESHAN, A. H.; TABATABAEI, M.; et al. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 77–93, 2013.

NIE, Y. Q.; LIU, H.; DU, G. C.; CHEN, J. Enhancement of acetate production by a novel coupled syntrophic acetogenesis with homoacetogenesis process. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 4, p. 599–605, 2007.

PAIXÃO, S. M.; LADEIRA, S. A.; SILVA, T. P.; et al. Sugarcane bagasse delignification with potassium hydroxide for enhanced enzymatic hydrolysis. **RSC Advances**, v. 6, n. 2, p. 1042–1052, 2016.

RAPOSO, F.; DE LA RUBIA, M. A.; FERNÁNDEZ-CEGRÍ, V.; BORJA, R. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 861–877, 2012. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.008>>. .

ROCHA, G. J. DE M.; MARTIN, C.; SOARES, I. B.; et al. Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 1, p. 663–670, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.10.018>>. .

SAHOO, P.; BARMAN, T. K. ANN modelling of fractal dimension in machining. **Mechatronics and Manufacturing Engineering**. p.159–226, 2012. Elsevier.

SANTOS, F.; RABELO, S. C.; MATOS, M. DE; EICHLER, P. **Sugarcane Biorefinery, Technology and Perspectives**. Londres: Elsevier, 2020.

SAWATDEENARUNAT, C.; SURENDRA, K. C.; TAKARA, D.; OECHSNER, H.; KHANAL, S. K. **Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities**. Elsevier Ltd, 2015.

SEADI, T. AL; RUTZ, D.; PRASSL, H.; et al. **Biogas Handbook**. Denmark: University of Southern Denmark, 2008.

SHEN, F.; TIAN, L.; YUAN, H.; et al. Improving the mixing performances of rice straw anaerobic digestion for higher biogas production by computational fluid dynamics (CFD) simulation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, n. 3, p. 626–642, 2013.

SHETTY, D. J.; KSHIRSAGAR, P.; TAPADIA-MAHESHWARI, S.; et al. Alkali pretreatment at ambient temperature: A promising method to enhance biomethanation of rice straw. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 80–88, 2017. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.003>>. .

SIDDHU, M. A. H.; SIDDHU; LI, J.; et al. Potential of Black Liquor of Potassium Hydroxide to Pretreat Corn Stover for Biomethane Production. **Bioresources**, v. 11, n. 2, p. 4550–4563, 2016.

SIKORA, A.; DETMAN, A.; CHOJNACKA, A.; BLASZCZYK, M. K. Anaerobic Digestion: I. A Common Process Ensuring Energy Flow and the Circulation of Matter in Ecosystems. II. A Tool for the Production of Gaseous Biofuels. **Fermentation Processes**, 2017.

SINGH, J.; SUHAG, M.; DHAKA, A. Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 624–631, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.012>>. .

SONG, Z.; YANG, G.; LIU, X.; et al. Comparison of seven chemical pretreatments of corn straw for improving methane yield by anaerobic digestion. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. 1–8, 2014.

SUPORTE GEOGRÁFICO. Mapa de Medianeira - PR. Disponível em: <<https://suportegeografico77.blogspot.com/2019/11/mapa-de-medianeira-pr.html>>. Acesso em: 8/8/2020.

Sun, Ye, & Cheng, Jay J.. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. **Bioresource technology**. 2005. 96. 1599-606. 10.1016/j.biortech.2004.12.022.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. **Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review**. 2008.

TALHA, Z.; DING, W.; MEHRYAR, E.; HASSAN, M.; BI, J. Alkaline Pretreatment of Sugarcane Bagasse and Filter Mud Codigested to Improve Biomethane Production. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.

TAPPI. **T 211 om-02**. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C, 2002.

TAPPI. **T 222 om-02**. Acid-insoluble lignin in wood and pulp, 2006.

TAPPI. **T 204 cm-97**. Solvent extractives of wood and pulp, 2007.

TEGHAMMAR, A.; KARIMI, K.; SÁRVÁRI HORVÁTH, I.; TAHERZADEH, M. J. Enhanced biogas production from rice straw, triticale straw and softwood spruce by NMMO pretreatment. **Biomass and Bioenergy**, v. 36, p. 116–120, 2012.



- TSAPEKOS, P.; KOUGIAS, P. G.; ANGELIDAKI, I. Biogas production from ensiled meadow grass; effect of mechanical pretreatments and rapid determination of substrate biodegradability via physicochemical methods. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 329–335, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.025>>. .
- UNICA. (2020). Produção da Cana-de-açúcar - Por Safra. **União da indústria de cana-de-açúcar**. <http://unicadata.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4>
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- VATS, N.; KHAN, A. A.; AHMAD, K. Observation of biogas production by sugarcane bagasse and food waste in different composition combinations. **Energy**, v. 185, p. 1100–1105, 2019. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.07.080>>. .
- VOLYNETS, B.; EIN-MOZAFFARI, F.; DAHMAN, Y. Biomass processing into ethanol: Pretreatment, enzymatic hydrolysis, fermentation, rheology, and mixing. **Green Processing and Synthesis**, v. 6, n. 1, p. 1–22, 2017.
- WANG, D.; AI, P.; YU, L.; TAN, Z.; ZHANG, Y. Comparing the hydrolysis and biogas production performance of alkali and acid pretreatments of rice straw using two-stage anaerobic fermentation. **Biosystems Engineering**, v. 132, n. 1, p. 47–55, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2015.02.007>>. .
- WHITFORD, W. G.; LUNDGREN, M.; FAIRBANK, A. Cell Culture Media in Bioprocessing. **Biopharmaceutical Processing: Development, Design, and Implementation of Manufacturing Processes**. p.147–162, 2018. Elsevier.
- YANG, D.; ZHENG, Y.; ZHANG, R. Alkali Pretreatment of Rice Straw for Increasing the Biodegradability. **ASABE Annual International Meeting**, v. 0300, n. 09, 2009.
- YOU, Z.; PAN, S. Y.; SUN, N.; KIM, H.; CHIANG, P. C. Enhanced corn-stover fermentation for biogas production by NaOH pretreatment with CaO additive and ultrasound. **Journal of Cleaner Production**, v. 238, p. 117813, 2019. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117813>>. .
- YOUSUF, A.; PIROZZI, D.; SANNINO, F. **Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels**. Londres: Elsevier, 2020.
- ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, n. 1, p. 35–53, 2014. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001>>. .