

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS AMBIENTAIS**

JHENIFER ALINE BASTOS

**PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM RESPOSTA AO PRÉ-
TRATAMENTO QUÍMICO E REUSO DO LICOR NEGRO
APLICADO AOS RESÍDUOS DE APARAS DE GRAMA**

DISSERTAÇÃO

**MEDIANEIRA
2020**

JHENIFER ALINE BASTOS

**PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM RESPOSTA AO PRÉ-
TRATAMENTO QUÍMICO E REUSO DO LICOR NEGRO
APLICADO AOS RESÍDUOS DE APARAS DE GRAMA**

Dissertação apresentada como requisito parcial 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 – Câmpus Medianeira.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Edwiges

Co-orientador: Prof. Dr. Laércio Mantovani Frare

MEDIANEIRA
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Bastos, Jhenifer Aline

Produção de biogás em resposta ao pré-tratamento químico e reuso do licor negro aplicado aos resíduos de aparas de grama / Jhenifer Aline Bastos. – Medianeira, 2020.
1 arquivo de texto (69 f):PDF/A ; 2,39 MB.

Orientador: Thiago Edwiges

Coorientador: Laercio Mantovani Frare

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Medianeira, 2020.

Inclui bibliografias.

1. Metano. 2. Resíduos orgânicos. 3. Tecnologias Ambientais - Dissertações I. Edwiges, Thiago, orient. II. Frare, Laercio Mantovani, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. IV. Título.

Biblioteca da UTFPR - Câmpus Medianeira

Bibliotecária/Documentalista:

Marci Lucia Nicodem Fischborn – CRB-9/1219

TERMO DE APROVAÇÃO

PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM RESPOSTA AO PRÉ- TRATAMENTO QUÍMICO E REUSO DO LICOR NEGRO APLICADO AOS RESÍDUOS DE APARAS DE GRAMA

Por

JHENIFER ALINE BASTOS

Essa dissertação foi apresentada às 09 horas, do dia 18 de agosto de dois mil e vinte, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologias Ambientais, Linha de Pesquisa Tecnologias de Tratamento e Valorização de Resíduos, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O(A) candidato(a) foi arguido(a) pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. Thiago Edwiges (Orientador – PPGTAMB)

Prof. Dr. Laércio Mantovani Frare (Coorientador – PPGTAMB)

Profa. Dra. Priscila Vaz de Arruda (Membro Externo – UTFPR/TD)

Profa. Dra. Mônica Sarolli Silva de Mendonça Costa (Membro Externo –
UNIOESTE)

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa

*Dedico aos meus pais, Antônio e Maria Inês,
meu irmão Bruno Bastos e meu namorado
João Henrique Alino.*

AGRADECIMENTOS

Acredito que toda conquista é alcançada quando o trabalho é coletivo. Portanto, quero agradecer aos meus pais, Antônio e Maria Inês, que apesar das dificuldades nunca desistiram dos meus sonhos e sempre me apoiaram em todas as decisões da minha vida. Ao meu irmão Bruno pelo apoio e carinho fornecido durante a minha trajetória e por sempre partilhar do meu sonho.

Agradeço a família formada pelos meus avós (João e Rosária; Antônio e Maria *in memoriam*), tios (Paulo, Celso, Thiago, João Victor e Marcelino), tias (Meire, Josi e Dóris) e primos e prima (Caio, Nicolas, Miguel, Vincenzo e Camili), por sempre me receberem de braços abertos e partilharem das minhas angústias e conquistas.

Agradeço ao meu namorado, amigo e companheiro de laboratório, João Henrique Alino, por caminhar ao meu lado e transformar os momentos difíceis em momentos de muito amor e aprendizado.

Agradeço aos meus companheiros do laboratório I33, Paula Rêmor, Anmoran Cardoso e Felipe Damaceno, pela amizade e troca de experiências ao longo de toda a trajetória. Vocês e todos os outros que passaram pelo laboratório tornaram essa caminhada mais leve e construtiva.

Agradeço aos meus amigos, Amanda Ortega, Alexandre Marzochi, Carolina Deina, Luís Fernando, Jordan, Kwong, Alexssander Tavares, Jadiane Cavaler, Eduardo Ziglioli, Allan Oliveira, Matheus Marchesi, Lucas Alino, Francine Machado, Andressa Corso, Caliandra Zanetti e a todos os demais amigos pelo apoio e por transformar meus finais de semana mais divertidos.

Agradeço ao meu orientador, Thiago Edwiges, pela amizade, orientação e confiança ao longo de todos esses anos de trabalho. Agradeço ao meu co-orientador, Laércio Mantovani Frare, pelo apoio, paciência e pela oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa desde 2012.

Agradeço a todos os técnicos de laboratório, professores e servidores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Medianeira, pelo apoio fornecido para a execução deste trabalho.

Agradeço ao Centro Internacional de Energias Renováveis – Cibogás, pelo apoio financeiro que contribuiu para a execução deste trabalho.

“Se cheguei até aqui foi porque me
apoei no ombro dos gigantes.”

(Isaac Newton)

RESUMO

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.

O pré-tratamento alcalino é comumente aplicado em biomassas lignocelulósicas para solubilizar a lignina e liberar compostos de fácil degradação na digestão anaeróbia. A principal desvantagem desse método é a geração de efluente tóxico e alcalino (licor negro) que encarece o pré-tratamento. O reuso do licor negro como solução para pré-tratamentos alcalinos surge como alternativa para reduzir o consumo de água e de reagentes químicos no processo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do pré-tratamento alcalino aplicado aos resíduos de aparas de grama (RAG) e a eficiência do reuso do licor negro para pré-tratamentos subsequentes, com foco na produção de biogás. Foram utilizadas soluções de hidróxido de potássio (KOH) e hidróxido de sódio (NaOH) com concentrações de 1% e 5% que foram combinadas com RAG por 12 horas em temperatura ambiente (25 °C). A coleta do licor negro foi realizada após a separação das fases (sólida e líquida) e os RAG pré-tratados foram lavados até pH neutro para serem utilizados nos ensaios de Potencial Bioquímico de Metano (PBM). O PBM dos RAG foi de 245 L_N CH₄ kg SV⁻¹ e após o pré-tratamento com KOH 1% e 5% foi para 294 e 362 L_N CH₄ kg SV⁻¹. O mesmo efeito foi obtido com a aplicação das soluções de NaOH 1% e 5% que resultaram em PBM de 332 e 323 L_N CH₄ kg SV⁻¹, respectivamente. Com reuso do licor negro foi possível realizar seis novos pré-tratamentos e a soma do potencial de produção de biogás (PPB) do KOH 1% e 5% foi de 2.650 e 3.018 L_N biogás kg SV⁻¹. Do mesmo modo, a soma do PPB do pré-tratamento com NaOH 1% e 5% foi de 2.739 e 3.106 L_N biogás kg SV⁻¹ e indicou redução de 83% na demanda por reagente. Com base nisso, estima-se que o reuso do licor negro dos pré-tratamentos a 1% teria capacidade para gerar 93 a 140 L_N biogás kg reagente⁻¹ enquanto os pré-tratamentos a 5% seriam de 43 a 57 L_N biogás kg reagente⁻¹. Neste sentido, o licor negro proveniente dos pré-tratamentos a 1% tem maior PPB com apenas 1/5 da massa de reagente adicionada no processo, o que reduz os custos do pré-tratamento dos RAG para a produção de biogás. Dentre os pré-tratamentos, o NaOH apresentou maior potencial de produção de biogás e menor custo de aplicação do método.

Palavras-chave: hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, metano, potencial bioquímico de metano.

ABSTRACT

BASTOS, Jhenifer Aline. **Biogas production in response to chemical pretreatment and reuse of black liquor applied to grass clippings.** Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira – PR, 69 f., 2020.

Alkaline pretreatment is commonly applied to lignocellulosic biomasses to solubilize lignin and release compounds that are easily degraded in anaerobic digestion. The main disadvantage of this method is the generation of toxic and alkaline effluent (black liquor) that makes pre-treatment more expensive. The reuse of black liquor as a solution for alkaline pre-treatments appears as an alternative to reduce the consumption of water and chemical reagents in the process. The objective of this work was to evaluate the effect of the alkaline pretreatment applied to the waste grass clippings (WCG) and the efficiency of the reuse of black liquor for subsequent pretreatments, focusing on the production of biogas. Solutions of potassium hydroxide (KOH) and sodium hydroxide (NaOH) with concentrations of 1% and 5% were used, which were combined with RAG for 12 hours at room temperature (25 ° C). The collection of the black liquor was carried out after the separation of the phases (solid and liquid) and the pre-treated WCG were washed to neutral pH to be used in the Methane Biochemical Potential (BMP) assays. The PBM of WCG was 245 L_N CH₄ kg VS⁻¹ and after pretreatment with 1% and 5% KOH it went to 294 and 362 L_N CH₄ kg VS⁻¹. The same effect was obtained with the application of 1% and 5% NaOH solutions that resulted in BMP of 332 and 323 L_N CH₄ kg VS⁻¹, respectively. With the reuse of the black liquor, it was possible to carry out six new pretreatments and the sum of the biogas production potential (BPP) of KOH 1% and 5% was 2.650 and 3. L_N CH₄ kg VS⁻¹. Likewise, the sum of the BPP of the pretreatment with 1% and 5% NaOH was 2.739 and 3.106 L_N CH₄ kg VS⁻¹ and indicated an 83% reduction in the demand for reagent. Based on this, it is estimated that the reuse of black liquor from 1% pre-treatments would have the capacity to generate 93 to 140 L_N biogas kg reagent⁻¹ whereas the 5% pre-treatments would be from 43 to 57 L_N biogas kg reagent⁻¹. In this sense, the black liquor from the 1% pretreatments results in a higher PPB with only 1/5 of the reagent mass added in the process, which reduces the costs of pretreating the RAGs for the production of biogas. Among the pretreatments, NaOH showed greater potential for biogas production and lower cost of applying the method.

Keywords: sodium hydroxide, potassium hydroxide, methane, biochemical methane potential.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Enzimas hidrolíticas e produto final	23
Quadro 2 - Componentes para aclimação do inóculo.....	38
Quadro 3 - Parâmetros de caracterização do inóculo, substrato e licor negro .	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização do inóculo e amostra controle	43
Tabela 2 - Concentração de sódio e potássio da amostra controle e licor negro	47
Tabela 3 - Produção de biogás das amostras controle e pré-tratada com NaOH	54
Tabela 4 - Produção de metano das amostras controle e pré-tratada com KOH	58
Tabela 5 - Estimativa do potencial de produção de biogás e custos com reutilização e sem reutilização do licor negro	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama das fases da digestão anaeróbia.....	22
Figura 2 - Equações de degradação de monômeros	24
Figura 3 - Transferência de hidrogênio entre espécies	25
Figura 4 - Estrutura da biomassa lignocelulósica	18
Figura 5 - Estrutura da celulose	19
Figura 6 - Bioconversão da hemicelulose.....	20
Figura 7 - Três principais monômeros precursores da lignina.....	20
Figura 8 - Alteração estrutural da molécula com aplicação de pré-tratamentos	27
Figura 9 - Macro localização da UTFPR – Campus Medianeira.....	37
Figura 10 - Resíduos de aparas de grama.....	39
Figura 11 - Fluxograma ilustrativo do reuso do licor negro.....	40
Figura 12 - Teor de lignina do substrato pré-tratado com NaOH e KOH a 1% e 5%	44
Figura 13 - Imagem de MEV dos substratos controle (a e b); pré-tratados com KOH a 1% (c) e 5% (d) e; pré-tratados com NaOH a 1% (e) e 5% (f).....	46
Figura 14 - Variação do pH durante as bateladas	48
Figura 15 - Teor de polifenóis do licor negro obtido pelo pré-tratamento com KOH e NaOH	49
Figura 16 - Demanda química de oxigênio do licor negro obtido pelo pré-tratamento com KOH e NaOH.....	50
Figura 17 - Produção diária de biogás das amostras pré-tratadas com NaOH a 1%(a) e 5% (b)	51
Figura 18 - Produção acumulada de biogás das amostras com NaOH a 1% (a) e 5% (b).....	53
Figura 19 - Produção específica diária de biogás do pré-tratamento de KOH a 1% (a) e 5% (b)	55
Figura 20 - Produção acumulada de biogás com pré-tratamento de KOH a 1% (a) e 5% (b)	Erro! Indicador não definido.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA	17
2.1.1 Celulose	18
2.1.2 Hemicelulose	19
2.1.3 Lignina.....	20
2.2 RESÍDUOS DE APARAS DE GRAMA	21
2.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA	21
2.3.1 Hidrólise	22
2.3.2 Acidogênese.....	23
2.3.3 Acetogênese	24
2.3.4 Metanogênese.....	26
2.3 APLICAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTOS	27
2.3.1 Físico.....	28
2.3.2 Biológico.....	30
2.3.3 Químico.....	31
2.4 LICOR NEGRO	34
3. OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO GERAL.....	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO	37
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO E SUBSTRATO.....	38
4.3 PRÉ-TRATAMENTO DO SUBSTRATO.....	39
4.4 ENSAIO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO	40
4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS	41
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO E SUBSTRATO.....	43
5.2 EFEITOS DO PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO E REUSO DO LICOR NEGRO	44

5.3 CARACTERIZAÇÃO DO LICOR NEGRO	47
5.4 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)	51
5.4.1 Efeito do pré-tratamento com NaOH	51
5.4.2. Efeito do pré-tratamento com KOH	54
5.5 INDICADORES DE COMPARAÇÃO ENTRE OS PRÉ-TRATAMENTOS ..	58
7 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

O processo de urbanização no Brasil impulsiona a criação de áreas verdes em centros urbanos para melhorar a qualidade de vida da população e minimizar os impactos ambientais causados pela retirada da cobertura vegetal. As praças, parques, jardins, canteiros ou qualquer área composta por uma vegetação arbórea, arbustiva ou rasteiras (gramíneas) ganham cada vez mais espaços em grandes cidades e contribuem de forma significativa para o bem estar da população.

A manutenção dessas áreas é uma atividade importante para garantir a funcionalidade adequada do local e evita custos relacionados a problemas estruturais, como o acúmulo de folhas e galhos, quebra de calçamento, aparecimento de vetores e outros. A quantidade de resíduos gerados por essas atividades, como os resíduos de aparas de grama (RAG), pode causar impactos econômicos e ambientais quando dispostos de forma inadequada e pode ocupar grandes áreas em aterros sanitários. Por outro lado, o teor de matéria orgânica presente nesses resíduos possibilita a recuperação energética por meio da digestão anaeróbia (D.A.) e desperta o interesse de transformar um passivo ambiental em ativo econômico.

O processo de D.A. é utilizado como um tratamento alternativo de resíduos orgânicos e gera como produto final o biogás e o digestato. No Brasil, a produção de biogás é predominantemente de resíduos da pecuária e agroindústrias, mas vem despertando interesse da área da pesquisa com a utilização de resíduos lignocelulósicos como substrato, por exemplo os RAG. O potencial de produção de biogás desses resíduos concentra-se na grande quantidade de monômeros de açúcares disponíveis na estrutura dessa biomassa e que contribuem para a rápida degradação na D.A. Contudo, a presença da lignina como agente protetor do vegetal, impede a máxima conversão desses monômeros em biogás devido a característica de rigidez e recalcitrância.

Como solução, a aplicação de pré-tratamentos tem se mostrado interessante para a quebra ou remoção da lignina. Esse método promove mudanças na estrutura química e morfológica do substrato e facilita o contato dos microrganismos presentes na D.A. com os monômeros de açúcares

disponíveis (celulose e hemicelulose). Dentre eles, o pré-tratamento químico tem sido o mais estudado e as soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e potássio (KOH) demonstram maior capacidade de solubilização da lignina quando estão em condições menos severas. Uma das vantagens do pré-tratamento químico é a eficiência da solubilização da lignina quando aplicado em temperatura ambiente e pressão.

Como desvantagem, a formação de um efluente tóxico e corrosivo tem sido uma barreira tecnológica para o tratamento desse efluente em sistemas convencionais, visto que a corrosão de equipamentos em estações de tratamento torna o processo inviável. Além disso, a elevada demanda por água potável e reagentes químicos encarecem o pré-tratamento da biomassa para a produção de biogás e se torna o oposto do princípio de sustentabilidade do processo.

Por esta razão, o reuso do licor negro proveniente dos pré-tratamentos alcalinos surgem como alternativa para pré-tratar resíduos lignocelulósicos, em especial RAG, e minimizam os custos para a produção de biogás. A presença de sais orgânicos dissolvidos no licor negro, como o potássio, mesmo após a saturação como solução alcalina promove a ciclagem do sal no ecossistema e contribui para o desenvolvimento das plantas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

A crescente preocupação da população mundial com as novas regulamentações ambientais, questões socioambientais e alta taxa de esgotamento dos recursos petrolíferos e minerais intensifica o uso da biomassa como matéria-prima alternativa para a produção de biocombustíveis e energia (Jawaid et al., 2017). Essa fonte de energia ocupa o quarto lugar na matriz energética do mundo e fica atrás apenas do carvão mineral, petróleo e gás natural (EIA, 2020). No Brasil, a energia elétrica advinda da biomassa representa 8,4% dessa matriz e contribuiu com 52.543 GWh no ano de 2019 (EPE, 2020).

A biomassa é definida como material biológico não fossilizado derivado de organismos vivos ou recentemente vivos e material orgânico biodegradável a base de carbono que são originados de plantas, animais, resíduos vegetais e de microrganismos (Jawaid et al., 2017). Existem vários tipos de biomassa que podem ser utilizadas como matéria-prima no processo de digestão anaeróbia para a produção de biogás que inclui produtos, subprodutos e resíduos gerados durante o processamento ou operação da agricultura, silvicultura, agropecuária, frações orgânicas industriais e resíduos sólidos urbanos (Adekunle, Okolie, 2015; Jawaid et al., 2017). Dentre elas, a biomassa lignocelulósica está sendo cada vez mais exploradas por apresentarem potencial energético, baixos custos, não toxicidade e são renováveis (Ibrahim et al., 2012).

A biomassa lignocelulósica apresentam uma estrutura morfológica formada por matrizes complexas de celulose, polímeros de glicose, hemicelulose, pectinas e outros elementos. Além dessa matriz, existe a lignina, no qual pode ser considerada como uma cobertura de resina plástica que cobre toda a matriz complexa desses materiais (Brodeur et al., 2011). Segundo Sawatdeenarunat, et al. (2015), a biomassa lignocelulósica é formada por 35% a 50% de celulose, cerca de 20% a 35% de hemicelulose e 10% a 25% de lignina,

sendo que ainda fazem parte dessa biomassa uma pequena quantidade de cinzas e extrativos (Figura 1).

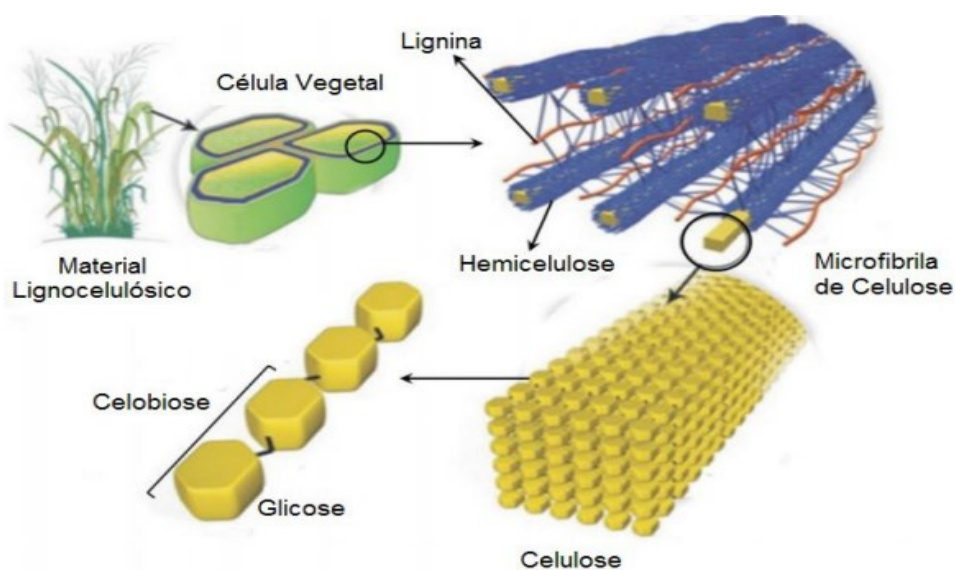


Figura 1 - Estrutura da biomassa lignocelulósica
Fonte: Santos et al. (2012).

2.1.1 Celulose

A celulose tem um papel importante em organismos vegetais, correspondem cerca de 40% de toda a reserva de carbono que está disponível para a síntese de nutrientes (Zheng et al., 2014). A cadeia da celulose é formada por unidades de β -glicose, o que garante um polímero de alto peso molecular, além de conter uma estrutura linear e ser constituída por um único tipo de açúcar. Tais cadeias na parede celular das plantas, são arranjadas compactamente através de ligações de ponte de hidrogênio, o que resulta numa forte interação entre suas moléculas, apresentando fibras com regiões nitidamente cristalinas e algumas regiões amorfas (Mood et al., 2013) (Figura 2).

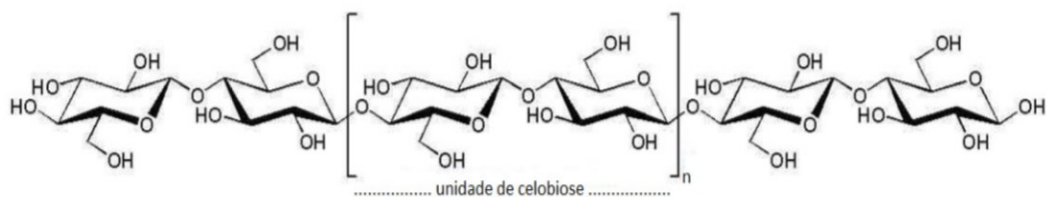


Figura 2 - Estrutura da celulose
Fonte: Adaptado de Henriksson e Lennholm (2009).

2.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose também é formada por polissacarídeos e possui a maior variabilidade de tipos de açúcares quando comparada a celulose. A ramificação na cadeia da hemicelulose e o menor grau de polimerização proporciona o baixo peso molecular dessa componente quando comparado com a celulose. Entretanto, a estrutura da hemicelulose apresenta semelhança com a celulose do que a lignina, além de estar depositada na parede celular antes da etapa de lignificação (Hendriks, Zeeman, 2009).

Segundo Peng et al. (2012) e Rasmussen et al. (2014) a hemicelulose apresenta características importantes para ser utilizada como biomassa. A abundancia desta componente no meio ambiente e a facilidade para ser hidrolisada em pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (glicose, galactose e manose), permite a transformação desses subprodutos em biocombustíveis e produtos químicos de valor agregado, como 5-hidromeximetilfurfural (HMF), furfural, ácido levulínico e xilitol (Figura 3).

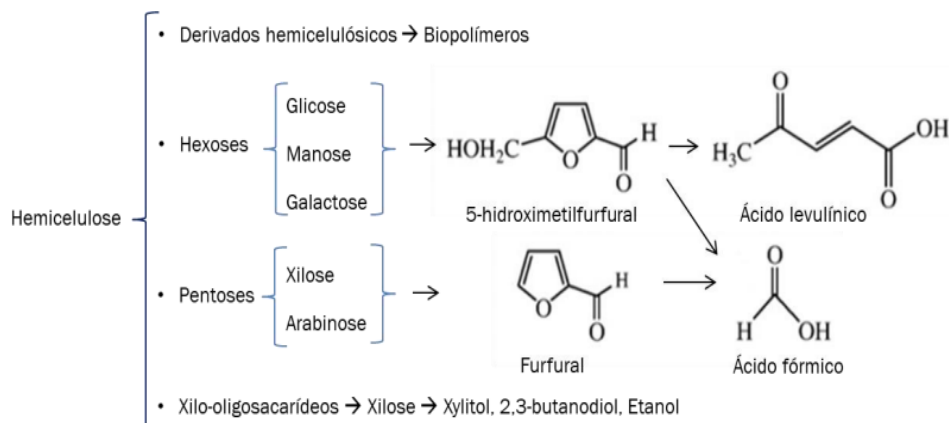


Figura 3 - Bioconversão da hemicelulose
 Fonte: Adaptado de Rabelo (2018).

2.1.3 Lignina

A estrutura da lignina é composta por moléculas amorfas, extremamente complexas e formada por unidades aromáticas de fenilproprano (Rowell et al., 2005). A formação dessa estrutura é resultante da polimerização enzimática desidrogenativa de três álcoois aromáticos (monolignóis): álcool sinapílico, álcool coniferílico e álcool p-coumarílico. Com base no padrão de substituição desses álcoois, as ligninas também podem ser designadas como p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) (Laurichesse, Avérous, 2013) (Figura 4).

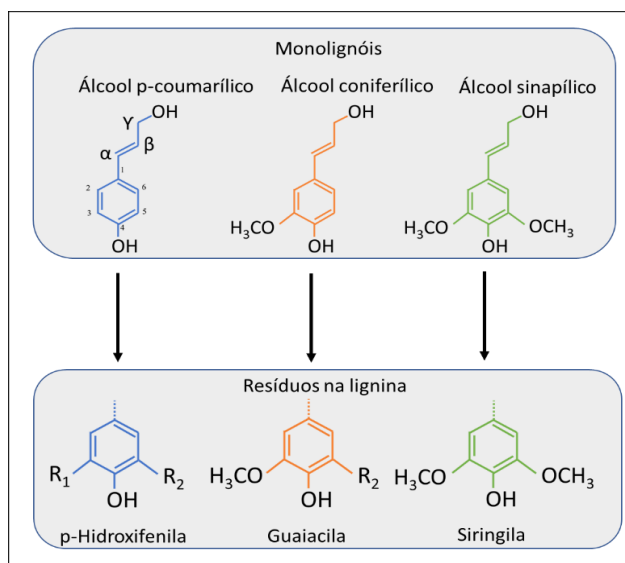


Figura 4 - Três principais monômeros precursores da lignina
 Fonte: Adaptado de Laurichesse, Avérous (2014).

A relação entre as unidades monoméricas na constituição da lignina pode variar de acordo com o tipo de planta e espécie. A lignina presente em gramíneas (monocotiledôneas) possuem quantidades semelhantes de G e S e quantidades maiores de H quando comparadas a dicoledôneas (Azadi et al., 2013). Sendo assim, o formato tridimensional da estrutura da lignina garante rigidez e resistência a forças de compressão e não permite a quebra da parede celular, além de ser responsável pela ligação entre uma célula e outra (Zheng et al., 2014).

2.2 RESÍDUOS DE APARAS DE GRAMA

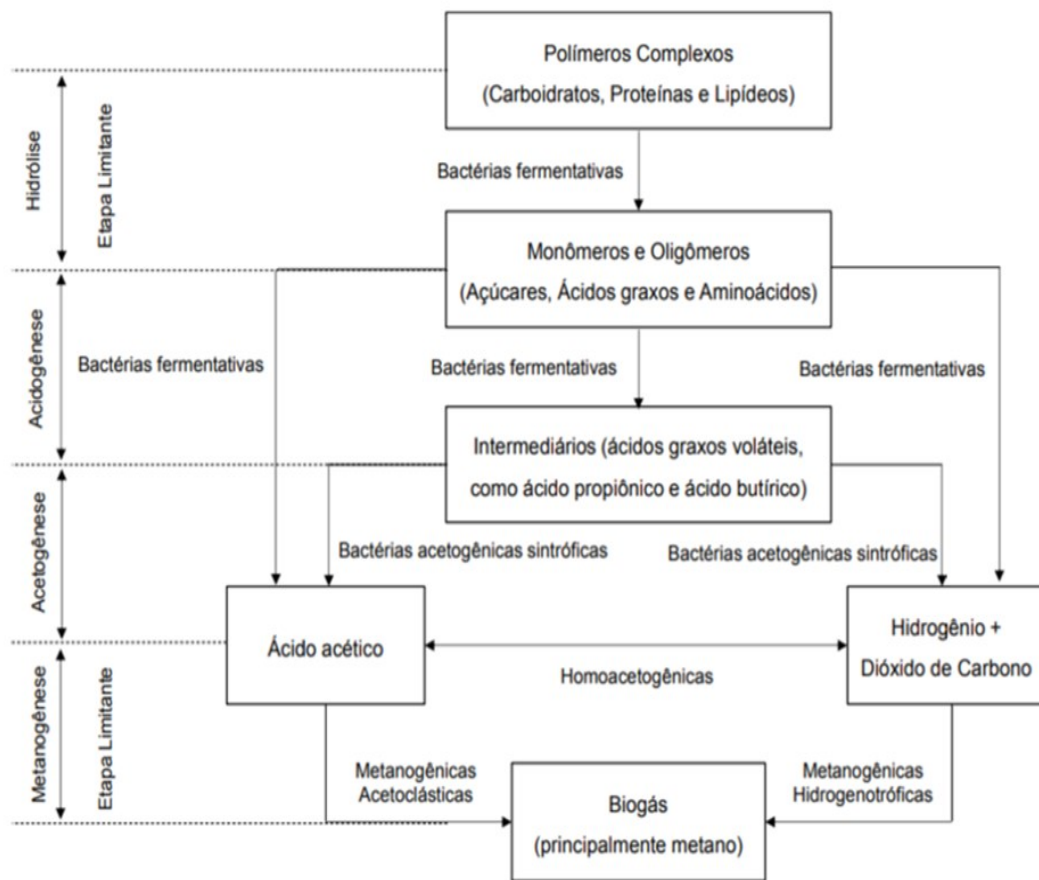
No Brasil, foram destinados para lixões, aterros sanitários e controlados cerca de 1,3 bilhões de toneladas de resíduos de varrição e poda no ano de 2017 (SNIS, 2018). Esses resíduos são compostos principalmente por folhas, grama e pequenos galhos e apresentam baixa densidade ($50 - 75 \text{ kg/m}^3$) e incluem os resíduos de aparas de grama (RAG). Portanto, a disposição em aterros sanitários requer espaços maiores para serem depositados e, quando mal gerenciado, podem provocar impactos ao meio ambiente (Gupta et al., 2018).

A Política Nacional de Resíduos Sólidos (Lei Nº 12.305 de 2 agosto de 2010) reforça a premissa de desenvolver meios de recuperação energética de resíduos sólidos. Deste modo, essa biomassa vem sendo estudada como uma matéria-prima renovável, sustentável e de baixo custo para a produção de energia (Grycova et al., 2018). Para Sullivan (2010) o uso de resíduos de poda de grama e jardins para a produção de biocombustíveis pode reduzir o custo de descarte em aterros sanitários e aumentar a matriz energética do país, além de evitar a emissão de gases do efeito estufa.

2.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A DA tem como objetivo converter a maior parte da carga orgânica presente no substrato em biogás e um material estabilizado (digestato). O processo ocorre por meio de uma diversidade de microrganismos que realizam reações bioquímicas complexas divididas em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Figura 5) (Montgomery, Bochmann, 2014).

Figura 5 - Diagrama das fases da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Edwiges et al. (2018).

2.3.1 Hidrólise

A hidrólise é considerada a primeira etapa da DA e tem como objetivo degradar macromoléculas (polímeros) em unidades menores (monômeros), ou seja, as moléculas de carboidratos, lipídeos e proteínas são convertidas em

glicose, glicerol, purinas e piridinas por meio de enzimas hidrolíticas e bactérias fermentativas. Para isso, uma variedade de microrganismos e enzimas são utilizadas para decompor o material particulado não dissolvido em produtos que serão utilizados na próxima etapa ou para o próprio metabolismo celular (Quadro 1) (Al Seadi et al., 2008).

Quadro 1 - Enzimas hidrolíticas e produto final

Enzima	Componente	Produto final
Celulase	Polissacarídeos (carboidratos)	Monossacarídeos (açúcares)
Celobiase		
Xilanase		
Amilase		
Lipase	Lipídeos	Ácidos graxos e glicerol
Protease	Proteínas	Aminoácidos

Fonte: Adaptado de Al Sead et al. (2008)

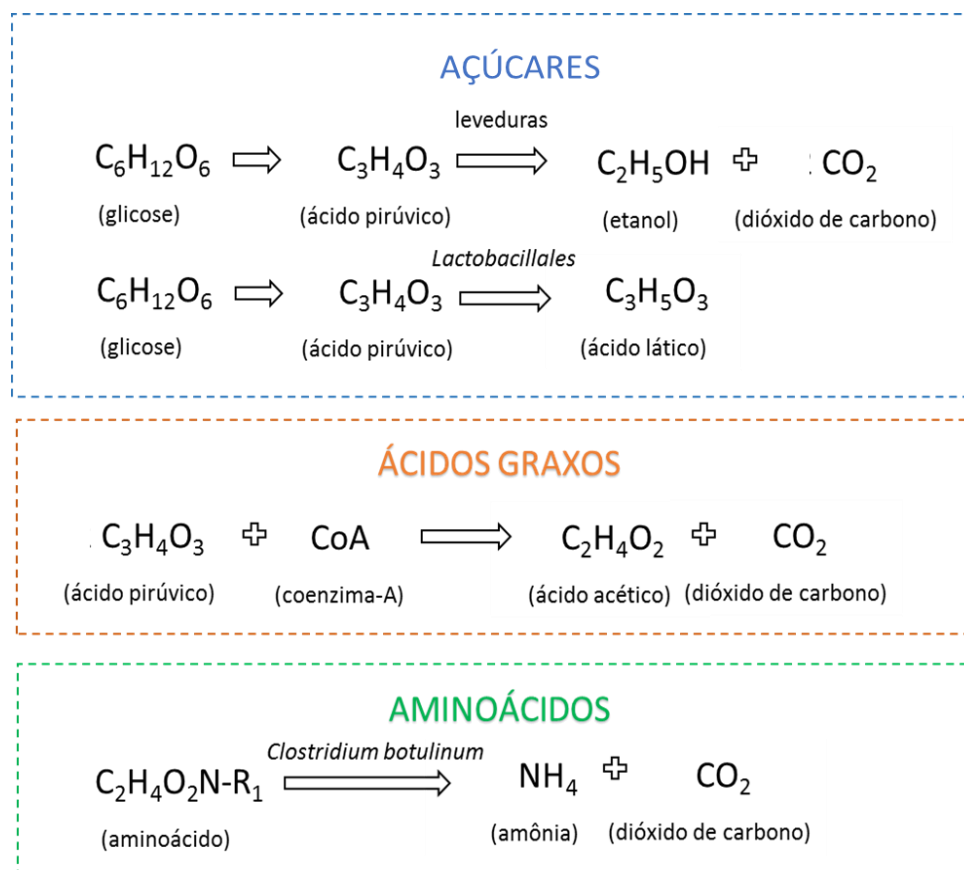
Como fator limitante, a hidrólise pode influenciar na velocidade da DA devido à composição química do substrato, visto que os carboidratos são degradados em poucas horas enquanto os lipídeos e proteínas levam alguns dias. No caso da lignina, a degradação pode ocorrer lentamente e, muitas vezes, de maneira incompleta (Kunz et al., 2016).

2.3.2 Acidogênese

Os monômeros resultantes da fase de hidrólise são absorvidos por bactérias anaeróbias facultativas e obrigatórias e são degradadas em compostos orgânicos de cadeia curta, como ácido acético, ácido propiônico, ácido lático, etanol, hidrogênio e ácido carbônico. Os compostos formados dependem das condições ambientais e do substrato, bem como o tipo de microrganismo presente na reação (Schnurer; Jarvis, 2010).

A molécula de glicose (carboidrato) é degradada em piruvato. Esse produto é convertido em ácido láctico por bactérias *Lactobacillales* ou etanol pelas leveduras. Os ácidos graxos são degradados por *Acetobacter* pela reação de β -oxidação. Para isso, a molécula de ácido graxo deve estar ligada a coenzima-A e a oxidação ocorre passo a passo através da remoção de duas unidades de carbono que são liberadas na forma de acetato. Já os aminoácidos são degradados aos pares por *Clostridium botulinum* por meio da reação de Stickland. Nesta etapa, um aminoácido serve como doador de hidrogênio e o outro como aceitador, resultando em acetato, amônia e dióxido de carbono (CO_2) (Deublein; Steinhauser, 2011) (Figura 6).

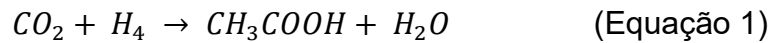
Figura 6 - Equações de degradação de monômeros



Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser (2011)

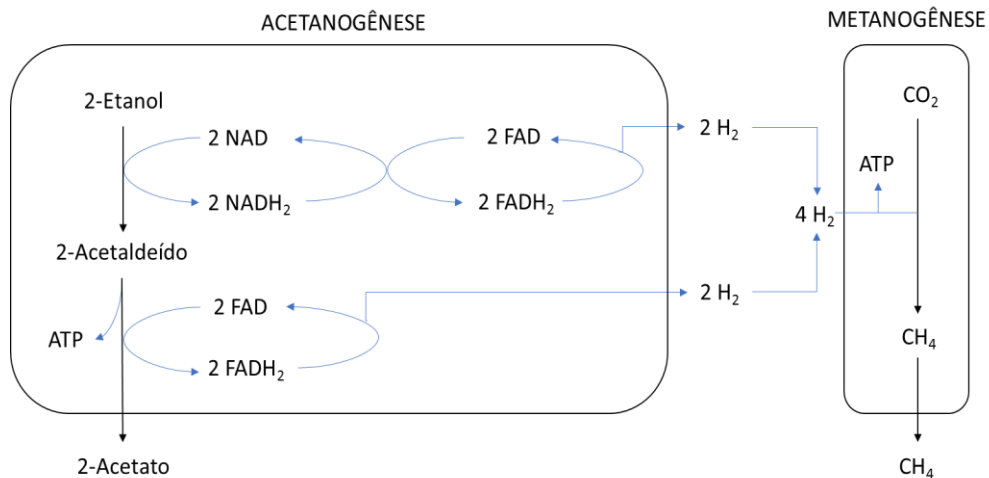
2.3.3 Acetogênese

As bactérias acetanogênicas são responsáveis pela oxidação dos produtos gerados na fase acidogênica para fornecer substratos as bactérias metanogênicas. Os ácidos graxos voláteis (AGV) e álcoois são oxidados em acetato, hidrogênio (H₂) e dióxido de carbono (CO₂) por meio de dois grupos de bactérias denominadas acetogênicas e as homoacetogênicas. O primeiro grupo é composto por bactérias do gênero *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*. Já as homoacetogênicas são compostas *Acetobacterium*, *Acetoanaerobium*, *Acetogenium*, *Butribacterium*, *Clostridium* e *Pelobacter* que também reduzem constantemente H₂ e CO₂ em acetato (Gerardi, 2003) (Equação 1).



Nesta etapa, a formação de ácido acético e propriônico gera a maior quantidade de H⁺ e faz com que o pH do meio diminua. No entanto, existem duas maneiras pelo qual o H⁺ seja consumido: (i) por meio de microrganismos metanogênicos que usam esse elemento e carbono para gerar metano (CH₄), visto que as bactérias da etapa de acetanogênese ocorre em simbiose com as bactérias metanogênicas (transferência de H⁺ entre espécies); (ii) por meio da formação de ácidos orgânicos como o propriônico e butírico (Chernicharo, 2007) (Figura 7).

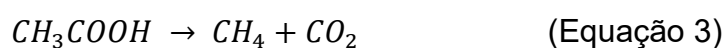
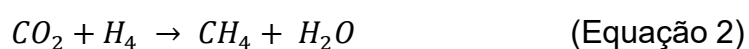
Figura 7 - Transferência de hidrogênio entre espécies



Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser (2011).

2.3.4 Metanogênese

A etapa final do processo de DA, um grupo de archaeas metanogênicas são responsáveis por gerar CH_4 a partir dos produtos formados na acetanogênese, bem como o uso de alguns produtos intermediários formados na hidrólise e acidogênese. Essa reação pode ocorrer de duas maneiras e envolvem os dois principais produtos gerados nas etapas anteriores, sendo o ácido acético e CO_2 (Equação 2 e 3) (Raja; Wazir, 2017).



As bactérias do grupo acetoclástico são responsáveis por converter o acetato em metano, já as hidrogenotróficas convertem hidrogênio e dióxido de carbono em CH_4 . O primeiro grupo é composto por bactérias do gênero *Methanosarcina*, já o segundo grupo é formado por bactérias do gênero *Methanobacterium* e *Methanospirillum*. Também é encontrado na literatura que 70% da conversão em metano é realizada pelas bactérias acetoclásticas e 30% pelas bactérias hidrogenotrófica (Liu, Withman, 2008).

A taxa de crescimento desses microrganismos é um fator limitante no processo de DA, visto que as bactérias metanogênicas demoram entre 1 a 12 dias para se multiplicarem. Portanto, um tempo de retenção inferior a 12 dias pode aumentar o risco da eliminação desses microrganismos e, conseqüentemente, o acúmulo de compostos gerados nas etapas anteriores. Esse efeito, favorece a acidificação do meio e o processo de formação de metano é inibido (Kim et al, 2006).

A medida em que a biota das bactérias produtoras de ácido e as metanogênicas se tornam similares, a atividade metabólica desta etapa é retomada. Contudo, os ácidos produzidos na fase acetanogênica são degradados e torna o meio ligeiramente alcalino com a formação de amônia (NH_3). A reação dessa componente com o CO_2 e água (H_2O), resulta na produção de carbonato de amônia (NH_4HCO_3) que funciona como efeito

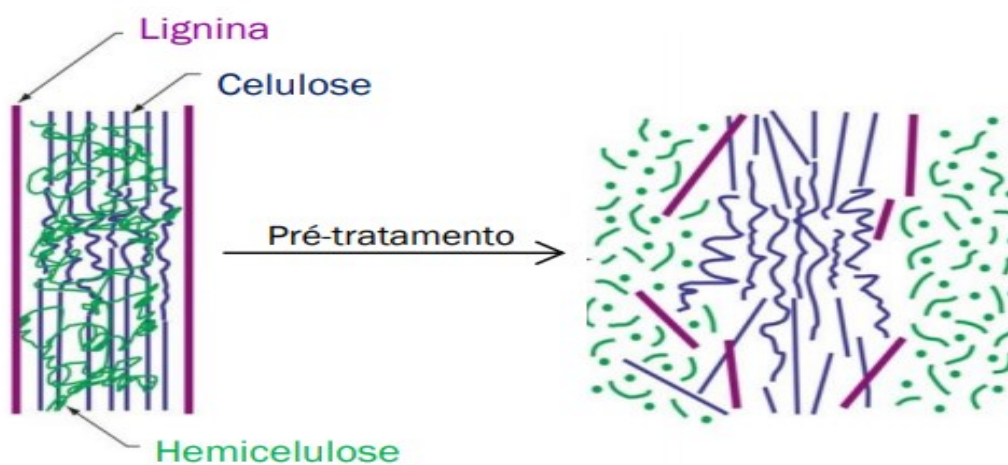
regulatório do pH no processo, visto que as bactérias metanogênicas apresentam boa atividade metabólica com pH entre 6,8 – 7,2 (Sheng et al., 2013) (Equação 4).



2.3 APLICAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTOS

A aplicação do pré-tratamento tem como objetivo melhorar o aproveitamento da biomassa lignocelulósica por meio da separação dos principais componentes: celulose, hemicelulose e lignina. A exposição da celulose permite o acesso dos agentes hidrolíticos, sejam eles enzimáticos ou ácidos, para que o processo de transformação da celulose em glicose possa ocorrer facilmente (Manochio et al., 2017). Os tipos de pré-tratamentos podem ser realizados a partir de ácidos, bases, vapor, pressão ou até mesmo a combinação entre eles, o que possibilita a quebra ou separação da lignina dos demais componentes (Sun, Cheng, 2005) (Figura 8).

Figura 1 - Alteração estrutural da molécula com aplicação de pré-tratamentos



Fonte: Adaptado de Mood et al. (2002).

2.3.1 Físico

O pré-tratamento físico tem como objetivo modificar a estrutura da biomassa para aumentar a acessibilidade das enzimas à celulose através da área superficial, desfibrilação e algumas vezes a redução do grau de polimerização e cristalização, sem interferir na composição química da biomassa (Alvira et al., 2010). Os tipos de pré-tratamentos físicos incluem métodos mecânicos e térmicos.

a) Mecânico

O pré-tratamento mecânico é realizado por meio de equipamentos que alteram a estrutura física dos substratos, reduzindo o diâmetro das partículas. Este efeito contribui para o aumento da superfície de contato entre o substrato e os microrganismos e reduz o grau de cristalização da celulose, o que resulta na maior produção acumulada de biogás e velocidade de produção durante a fase de hidrólise (Ortiz, Quintero, 2014). Os fatores mais importantes a serem considerados para aplicação deste pré-tratamento são: (i) o tipo de biomassa; (ii) teor de umidade; (iii) tamanho final da partícula desejada (iv) e a quantidade de energia consumida no processo (Agbor et al., 2011).

Após a redução na dimensão da partícula (< 2 mm) utilizando trituradores convencionais de cozinha, a produção de metano de dejetos bovinos pode aumentar em até 8% (Bruni et al., 2010). Apesar do tamanho da partícula ser considerado um fator importante na digestão anaeróbia de alguns substratos, a redução excessiva pode não apresentar diferença significativa na produção de metano. O consumo de energia pelos equipamentos também é um fator negativo para substratos com diâmetros inferiores a 0,2 mm, visto que a eficiência da produção de metano não é economicamente viável quando comparado ao custo da energia utilizada (Kang et al., 2019).

Estudos foram realizados para avaliar a influência do diâmetro da partícula na produção de metano de amostras agrícolas e dejetos de animais. De acordo com Hjorth et al. (2011), o método de extrusão aplicado em diferentes

tipos de biomassa agrícola (palhadas, grama e dejetos de bovinocultura) apresentou rendimento entre 18-70% na produção de metano após 28 dias de digestão. Já Tsapekos et al. (2016) reportaram rendimento de metano entre 15-45% quando comparado ao substrato não pré-tratado de palha de trigo, utilizando três tipos de colheitadeiras comerciais. O uso do equipamento extrusor foi mais eficiente devido a capacidade de cortar e aquecer o substrato simultaneamente, o que reduz parâmetros cinéticos e aumenta a produção de metano.

b) Térmico

O pré-tratamento térmico vem sendo aplicado para aumentar a biodegradabilidade da biomassa lignocelulósica e a eficiência quanto à conversão em metano (CH₄). Os principais fatores que influenciam o resultado final após o pré-tratamento são: (I) concentração dos diferentes compostos de lignocelulose (celulose, hemicelulose e lignina) na biomassa pré-tratada; (II) faixa de temperatura e pressão adotada; (III) tempo de exposição durante o pré-tratamento e (IV) teor de umidade da biomassa (Hendriks; Zeeman, 2009).

Em temperaturas superiores a 160-180°C e condições neutras de pH, a hemicelulose e parte da lignina são solubilizadas, tornando a celulose mais acessível ao ataque enzimático para a bioconversão em metano. A solubilidade dos diversos compostos que formam a hemicelulose (manose, xilose, glucose, arabinose e galactose) aumenta com o aumento da temperatura, o que permite maiores rendimentos de metano após o pré-tratamento (Hendriks; Zeeman, 2009). Durante o processo de pré-tratamento térmico, parte da hemicelulose solubilizada proporciona a formação de furanos como furfural (C₅H₄O₂) e hidroximetilfurfural (5-HMF) (C₆H₆O₃) que, dependendo da concentração, podem contribuir para a hidrólise da própria hemicelulose durante a digestão anaeróbia (Liu; Wyman, 2003).

Fernández-Cegrí et al. (2012) submeteram amostras de torta de óleo de girassol ao pré-tratamento hidrotérmico (25 - 200°C e 1 - 4h) e reportaram alterações na concentração da lignocelulose após o tratamento. O melhor resultado foi obtido a 100°C por 4 horas com produção de metano 6,5% superior

à biomassa não pré-tratada. Já López-González et al. (2014) aplicaram pré-tratamento termoquímico em amostras de lodo prensado de cana-de-açúcar com temperaturas entre 140 - 210°C e tempo entre 5 - 20min, com resultado 63% superior à biomassa não pré-tratada para 150°C e 20min.

2.3.2 Biológico

O pré-tratamento biológico é realizado por meio de microrganismos específicos que solubilizam componentes recalcitrantes da biomassa durante as reações metabólicas. As técnicas aplicadas incluem microrganismos que se desenvolvem naturalmente (isolados ou meio de cultura), alguns fungos (lignolíticos) ou enzimas específicas (Kucharska et al., 2018). Para a aplicação deste pré-tratamento biológico é preciso levar em consideração alguns fatores importantes, como: i) temperatura do meio; ii) tipo e concentração do substrato; iii) controle do pH e iv) teor de umidade do substrato (Wan, Li, 2012). Entre as principais técnicas destacam-se:

a) Fungos

São utilizadas algumas espécies de fungos lignolíticos (white rot funghi) que produzem enzimas capazes de degradar a lignina e alguns compostos fenólicos. A aplicação desse método é baseada na inoculação da biomassa com culturas de fungos por um longo período (vários dias) e depois avaliado a taxa de hidrólise ao adicionar a biomassa pré-tratada em reatores anaeróbios. Contudo, a ação de deslignificação realizada por fungos, geralmente, é acompanhada pela perda de celulose ou hemicelulose durante o pré-tratamento devido ao consumo dessas componentes nas reações metabólicas (Zheng et al., 2014).

O pré-tratamento biológico a partir da utilização de fungos *Aspergillus fumigatus* SL1 com diferentes tempos de contato (4, 6 e 8 dias) aplicado a macroalgas *Ulva* sp resultou em aumento de 21% na produção de metano após

oito dias de fermentação (Yahmed et al., 2017). A inserção do micélio (estrutura vegetativa) de fungos na estrutura da biomassa pode aumentar o tamanho dos poros e a área da superfície de contato, o que facilita o ataque enzimático na digestão anaeróbia.

b) Consórcio de microrganismos

O uso de consórcios microbianos vem sendo utilizado como forma de replicar as reações químicas que ocorrem na natureza. A sinergia entre diferentes comunidades de microrganismos que degradam naturalmente uma matéria orgânica recalcitrante (ex. folhas e troncos) pode ser aplicada como estratégia para degradar a biomassa lignocelulósica antes da digestão anaeróbia. Como vantagem, esse método apresenta menor tempo de contato, melhor controle do pH e a facilidade dos microrganismos de se adaptarem com a biomassa e o meio inserido (Zabed et al., 2019).

Zhang et al. (2011) avaliaram a produção de metano de resíduos de mandioca que foram incorporados a um consórcio de microrganismos termofílicos (55°C) e efluente de destilaria por um período de 12 horas. Esse consórcio foi obtido por meio de amostras de solo contendo resíduos lignocelulósicos em decomposição (palhadas, dejetos bovinos, lodo de arrozal e aterro sanitário termofílico) e foram incubados a 55°C sob condições estáticas. Os resultados experimentais mostraram um rendimento de metano de 259,6 mL/g SV da biomassa pré-tratada e uma eficiência de 96,6% quando comparado ao resíduo não pré-tratado. De acordo com os autores, a cooperação e simbiose dos microrganismos aumentaram a capacidade de degradação da celulose e contribuiu para a maior taxa de hidrólise na digestão anaeróbia.

2.3.3 Químico

Os pré-tratamentos químicos diferem-se pelos compostos orgânicos ou inorgânicos utilizados, assim como nos mecanismos responsáveis pelas modificações estruturais e químicas da parede celular. Os mesmos podem

utilizar ácidos, bases ou solventes orgânicos (Brodeur et al., 2011). Segundo Shen et al. (2014), o pré-tratamento promove a hidrólise da hemicelulose e outros polissacarídeos a monossacarídeos, como xilose, manose, galactose, glicose, entre outros. Como a hemicelulose é constituída principalmente de xilana, o principal produto do tratamento ácido é a xilose.

a) Ácido

O pré-tratamento utilizando uma solução ácida é um método que promove a hidrólise completa da hemicelulose em açúcares simples e é usualmente utilizado com ácidos concentrados ou diluídos. Para aumentar a eficiência do pré-tratamento são aplicadas duas estratégias: i) a adição de ácidos concentrados (ex. 30 - 70%) em baixa temperatura (ex. 40°C) ou ii) a adição de ácidos diluídos (ex. 0,1%) em alta temperatura (ex. 250°C). Dentre os reagentes mais utilizados destacam-se o ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido clorídrico (HCl), ácido nítrico (HNO₃), ácido fosfórico (H₃PO₄) e ácido acético (CH₃COOH) (Zheng et al., 2014).

A solubilização da hemicelulose e a precipitação da lignina solubilizada são facilmente obtidas quando aplicado pré-tratamento com ácidos concentrados, como o sulfúrico, e apresentam alto rendimento na produção de metano em substratos com baixo teor de lignina. Contudo, a aplicação desse método requer reatores e equipamentos resistentes à corrosão e toxicidade, além do monitoramento constante de compostos inibitórios gerados ao final do processo (Zheng et al., 2014).

Ao avaliar o rendimento de metano do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com H₂SO₄ a 2% e temperatura de 121 °C observou-se aumento de 166%, quando comparado ao controle, e ausência de inibição no processo (Badash et al., 2012). Já Monlau et al. (2013) não obteve melhora no rendimento de metano ao aplicar um pré-tratamento com H₂SO₄ a 1% e temperatura de 170°C em torta de óleo de girassol. De acordo com o autor, a combinação do pré-tratamento ácido e térmico resultou na formação de compostos recalcitrantes que inibiram os microrganismos na digestão anaeróbia.

b) Alcalino

O pré-tratamento alcalino tem como objetivo aumentar a porosidade da celulose e reduzir o seu grau de polimerização e cristalinidade (ZHANG et al., 2012), proporcionando a acessibilidade da celulose através da remoção da lignina (Balat et al., 2008). As bases mais empregadas para este tipo de pré-tratamento são: hidróxido de sódio, hidróxido de cálcio, amônia e uréia, sendo o hidróxido de cálcio diluído o mais utilizado e o mais vantajoso devido a sua fácil manipulação e baixo custo. Entretanto, o hidróxido de sódio apresenta um resultado mais eficiente em biomassas com baixo teor de lignina (10 a 18%) (Zhang et al., 2012).

O pré-tratamento químico utilizando NaOH em concentração de 4 % (m/v) aplicado a resíduos de palha de trigo gerou aumento na produção de biogás da ordem de 87% (Chandra et al., 2012). Porém a elevada carga desse reagente pode ocasionar em problemas de toxicidade dos microrganismos em meio anaeróbio e dificuldade para o descarte do efluente final, visto os custos de tratamento. A aplicação do pré-tratamento com NaOH a 1,6 % em resíduos de palha de trigo aumentou a produção de metano em 15% quando comparado ao substrato não pré-tratado (mancini et al., 2018).

Uma alternativa para o uso de NaOH pode ser a aplicação de KOH (hidróxido de potássio), já que esta solução química promove a degradação da biomassa lignocelulósica e ao mesmo tempo contribui para a reciclagem de nutrientes no solo quando disposto na forma de digestato (Mustafa et al, 2018). Liu et al. (2015) aplicou o pré-tratamento utilizando KOH em 2% em palha de trigo e observou aumento de 98% na produção de biogás. O autor ainda afirma que o efluente gerado ao final do processo de pré-tratamento tem potencial para ser utilizado como nova solução para demais bateladas.

Quanto ao uso do $\text{Ca}(\text{OH}_2)$ (hidróxido de cálcio) para o pré-tratamento, observa-se baixa eficiência devido a força de ionização (base fraca), necessitando de combinação com outras soluções adicionais ou tratamentos combinados. Um estudo realizado com pré-tratamento combinado de $\text{Ca}(\text{OH}_2)$ em 8,5% e temperatura de 180°C aplicado ao bagaço de cana-de-açúcar

apresentou o maior volume acumulado de biogás (318 L/kg SV) e foi 47% superior ao substrato não pré-tratado (Mustafa et al., 2018).

c) Solventes

O pré-tratamento com solventes orgânicos é utilizado para separar a fração lignocelulósica em macromoléculas (celulose, hemicelulose e lignina) com uma pureza relativamente alta (Abraham et al., 2020). Os solventes orgânicos com baixo ponto de ebulição, como etanol e metanol, são os mais empregados devido ao baixo custo e a facilidade para recuperação do solvente ao final do pré-tratamento. Já os álcoois de alto ponto de ebulição (etileno glicol e glicerol) demandam um consumo de energia elevado para a recuperação do solvente, mas não necessitam de condições severas de temperatura e pressão (Zhao et al., 2009).

Para aumentar a eficiência do pré-tratamento são aplicadas soluções ácidas (HCl e H₂SO₄) ou alcalinas (NaOH, NH₃ e CaCO₃) que servem de catalisadores no processo e aceleram as reações de deslignificação. O pré-tratamento com etanol em diferentes concentrações, tempo de contato e temperatura na produção de metano de resíduos de indústria cítrica (casca de laranja) apresentou resultados positivos. O maior rendimento (381 L CH₄ / kg SV) foi alcançado em condições mais severas de pré-tratamento (concentração = 1 mol; tempo = 16 horas; temperatura = 90 °C) com eficiência de 46% quando comparado ao substrato bruto (Pellera, Gidakos, 2018).

2.4 LICOR NEGRO

O licor negro é um tipo de água residual gerada durante o processo de polpação química na fabricação de papel e representa cerca de 10% a 15% do volume total de descarte de resíduos da indústria de papel e celulose. Esse licor também contribui com quase 90% da carga orgânica total do efluente gerado no processamento do papel e possui componentes orgânicos como a lignina,

hemicelulose, ácido orgânico, amido, açúcar, proteína, tanino e compostos aromáticos, além da alta concentração de sais inorgânicos como o sódio (Xu et al., 2020). Atualmente, o licor negro é utilizado em caldeiras de recuperação denominadas *Tomlinson* que geram vapor e alimentam os sistemas de operação das fábricas de celulose. Além disso, também é realizada a recuperação de sais orgânicos do licor negro que são oriundos do processo de polpação da madeira (Kraft) e utilizam o hidróxido de sódio e sulfeto de sódio para remover as fibras lignocelulósicas (Andersson; Harvey, 2006).

No pré-tratamento alcalino, a fração líquida resultante da deslignificação da biomassa vegetal também é denominada como licor negro e possui grande quantidade de reagentes alcalinos e compostos fenólicos derivados da degradação da lignina e hemicelulose (Muryanto et al., 2015). O tratamento do licor negro por meio de sistemas convencionais gera problemas operacionais nas estações e, quando dispostos de forma irregular, causam impactos negativos na vida aquática de rios e lagos (Kamali; Khodaparast, 2015).

Por este motivo, a reutilização do licor negro após o pré-tratamento alcalino pode ser uma alternativa para minimizar a geração de efluentes e o descarte de produtos químicos em sistemas de tratamentos, além de reduzir o consumo de reagentes alcalinos e trazer benefícios econômicos para o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica (Sari et al., 2015; Xu et al., 2012). No estudo realizado por Liu et al. (2020), o uso do licor negro proveniente do pré-tratamento com hidróxido de potássio (2%) e palha de trigo diminuiu em 75% do uso de água e 25% do reagente alcalino quando comparado a um pré-tratamento alcalino similar.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do pré-tratamento alcalino aplicado à resíduos aparas de grama na produção de biogás e a eficiência do reuso do licor negro como solução para pré-tratamentos subsequentes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar as amostras *in natura* e pré-tratadas de aparas de grama por meio de parâmetros físico-químicos;
- b) Avaliar o Potencial Bioquímico de Metano (PBM) das amostras *in natura* e pré-tratadas de aparas de grama com soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH) em diferentes concentrações;
- c) Comparar o efeito do reuso do licor negro como solução para pré-tratamentos subsequentes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

Os resíduos de aparas de grama foram coletados na área verde da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Medianeira, localizada na rua Brasil, 4232, sob as coordenadas 25°18'02" S e 54°06'51" O. O campus possui 122.165 metros quadrados de área disponível com 34.758 metros quadrados de área construída (Figura 4). O município de Medianeira possui 11% da cobertura vegetal original composta por 22% de Floresta Araucária ou Floresta Ombrófila Mista e 78% de Floresta Estacional Semidecidual.

Figura 2 - Macro localização da UTFPR – Campus Medianeira



Fonte: Adaptado de Google Earth (2019) e Cidade Brasil (2019)

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO E SUBSTRATO

O inóculo utilizado para testes em batelada foi coletado no Centro Internacional de Energias Renováveis – Cibogás e possui dois diferentes tipos de digestato: lodo de biodigestor suíno e bovino e dejetos bovinos na proporção de 2:1:1 em base úmida, respectivamente. A aclimação foi realizada com substratos ricos em proteínas, carboidratos, lipídeos e resíduos lignocelulósicos para desenvolver bactérias habituadas a degradar diferentes tipos de resíduos (Quadro 2).

Quadro 2 - Componentes para aclimação do inóculo

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

Fonte: Autoria própria (2020)

A amostra de substrato pertence à família das gramíneas e da classe monocotiledoneas, conhecida popularmente como grama, além de folhas de árvores (Figura 10). A coleta foi realizada em abril/2019 e permaneceu por 36 horas em temperatura ambiente (26 °C) para diminuir o teor de umidade. O diâmetro do substrato foi mensurado com o auxílio de um paquímetro digital (FOM/DC5012) e teve média inferior a 15 centímetros.

Figura 3 - Resíduos de aparas de grama



Fonte: Autoria própria

4.3 PRÉ-TRATAMENTO DO SUBSTRATO

O pré-tratamento foi realizado com dois tipos de soluções alcalinas: hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH) com concentrações de 1% e 5%. Para a mistura inicial (solução alcalina e RAG) foi fixado o teor de sólidos totais (ST) de 10% (Shen et al., 2013) e utilizado 250 mL de solução com 24,5 g de substrato (Equação 5). A mistura permaneceu em temperatura ambiente (25°C) por um período de 12 horas. Após esse tempo de contato separou-se a fração líquida (licor negro) por meio de uma peneira com granulometria de 2 mm e o licor negro foi reservado como meio alcalino para uma nova bateria de pré-tratamento.

$$ST_{mis} = \frac{M_{sub} * ST_{sub}}{M_{sub} + M_{sol}} \quad (\text{Equação 5})$$

Em que:

ST_{mis} : teor de sólidos totais da mistura (fixado em 10%);

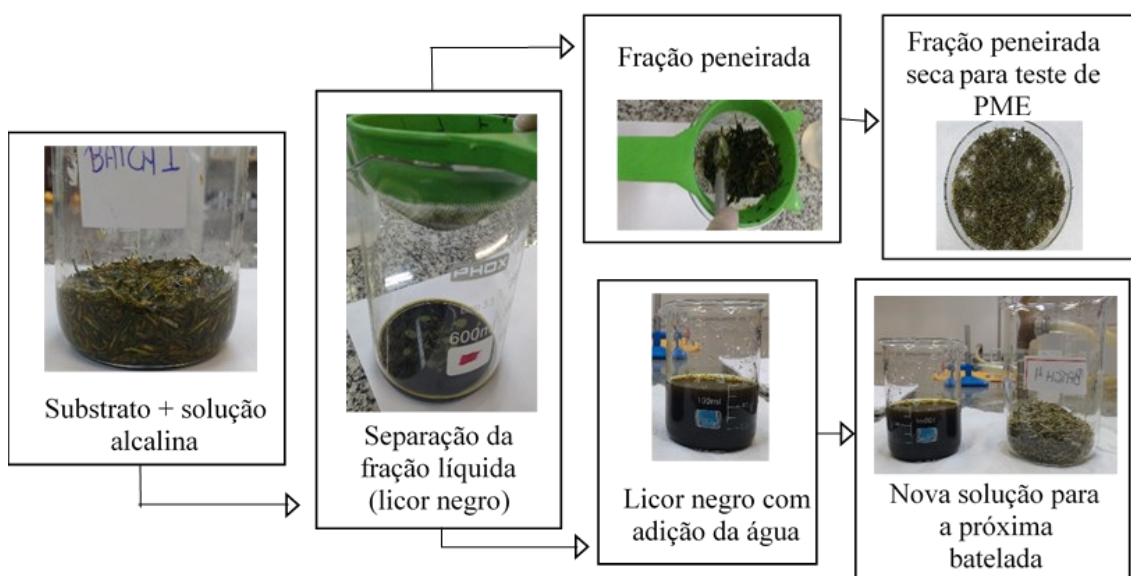
ST_{sub} : teor de sólidos totais do substrato, %;

M_{sub} : massa de substrato, g;

M_{sol} : massa da solução alcalina, g;

A fração peneirada (substrato pré-tratado) foi lavada com, aproximadamente, 100 mL de água destilada e o líquido recuperado foi combinado com o licor negro para obter o volume de 250 mL. A proporção de substrato e licor negro foi a mesma da batelada inicial e a fração peneirada foi lavada novamente com água corrente até pH neutro e seca a 60°C em estufa de recirculação por 24 horas (Figura 11). O processo de reuso do licor negro foi realizado por cinco vezes consecutivas (6 bateladas) sem adição de hidróxido de sódio ou potássio, sendo avaliado o pH em cada batelada.

Figura 4 - Fluxograma ilustrativo do reuso do licor negro



Fonte: Autoria própria (2020).

4.4 ENSAIO DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO

O Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foi realizado com o substrato sem pré-tratamento e pré-tratados com a solução alcalina e licor negro (B1 até B6). Para o ensaio foi utilizado frascos de *penicilina* com volume total de 125 mL, lacrados com rolha espessa de borracha butílica e lacres de alumínio e mantidos a 37°C. Foi recirculado nitrogênio gasoso (N₂) para expulsar o oxigênio presente

no interior dos frascos a fim de manter o meio estritamente anaeróbio. A massa de inóculo e substrato adicionada em cada frasco foi calculada com base no teor de sólidos voláteis e na relação de inóculo e substrato igual a 3 (RIS).

A leitura da produção de biogás foi realizada por meio do deslocamento do gás em uma seringa de vidro com capacidade para 100 mL até que a pressão interna dos frascos fosse igual a pressão atmosférica. O monitoramento foi encerrado quando o incremento do volume diário de biogás foi inferior a 1% do volume acumulado (VDI 4630, 2006). Os volumes gerados de biogás foram expressos e L_N kg SV^{-1} e padronizados conforme as condições normais de temperatura e pressão.

4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS

A caracterização físico-química do inóculo, substrato e licor negro foi realizada conforme os métodos analíticos descritos no Quadro 3.

Quadro 3 - Parâmetros de caracterização do inóculo, substrato e licor negro

Parâmetros	Unidade	Método Analítico	Referência
pH	---	4500 H ⁺	APHA (2005)
Sólidos totais (ST)	%	2540 G	APHA (2005)
Sólidos voláteis (SV)	% ST	2540 G	APHA (2005)
Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)	% ST	Micro-Kjeldahl	Malavolta <i>et al.</i> (1997)
Proteína	% ST	Composição centesimal	Hall & Schonfeldt (2013)
Lipídeo	% ST	Extração Soxhlet	Cecchi (1999)
Lignina	% ST	Método sequencial	Klason <i>et al.</i> (1991)
Polifenóis totais	mg AG/100 mL	Composição centesimal	Folin Ciocalteu (1927)
Demanda química de oxigênio (DQO)	mg/L	5220 D	Standart Methods (2005)
Concentração de sódio (Na ⁺) e potássio (K ⁺)	mg/L	Espectroscopia de emissão atômica	Mendhan <i>et al.</i> (2002)

Fonte: Autoria própria (2020)

As análises de composição centesimal são expressas a partir da análise de sólidos voláteis em base seca (% SV_{bs}). A determinação da lignina de Klason foi obtida por meio da digestão da amostra em ácido sulfúrico a 72% por 24 horas. Os valores de proteína foram expressos a partir da análise de Nitrogênio total Kjeldahl (NTK) multiplicado pelo fator de conversão igual a 6,25.

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, utilizando hélio como gás de arraste com fluxo de 30 mL min⁻¹. A rampa de temperatura do forno foi programada para aumentar de 32 a 200 °C com taxa de 10 °C min⁻¹ e tempo de espera final de 2 minutos. Para obter o teor de metano seco, foi considerado a concentração de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) como os gases que compõe o biogás.

As fotomicrografias dos RAG e pré-tratados foram obtidas pelo microscópio Zeiss (modelo EVO – MA10) com detector SE1 a uma potência de luz do feixe de elétrons de 20.000 kV. Para a obtenção das imagens, as amostras foram previamente secas a 50°C por 6 horas e submetidas ao recobrimento metálico com ouro e paládio por 60 segundos.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para avaliar o efeito dos pré-tratamentos e identificar as diferenças significativas entre as médias de produção de metano e o teor de lignina. O teste Tukey foi aplicado com 5% de significância após a verificação de normalidade, para avaliar o agrupamento das médias com os resultados estatisticamente semelhantes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO E SUBSTRATO

O teor de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) do inóculo foi de 2,6% e 61,8%, respectivamente. Esses valores indicam que o inóculo atende aos parâmetros destacados pela VDI 4630 (2005) para garantir qualidade do ensaio. Os RAG apresentaram baixo teor de umidade (ST = 90,2%) e alto teor de sólidos voláteis (SV = 90,0%) (Tabela 1). O elevado teor de SV ressalta o potencial de transformação da matéria orgânica a partir da digestão anaeróbia e contribui para a produção de biogás (Kunz et al., 2019).

Tabela 1 - Caracterização do inóculo e amostra controle

Parâmetros	RAG	Inóculo
ST (%)	90,2 ± 0,1	2,6 ± 0,0
SV (%bs)	90,0 ± 0,5	61,8 ± 0,5
NTK (%)	1,5 ± 0,1	nd
PT (%SV)	9,2 ± 0,3	nd
LP (%SV)	1,4 ± 0,1	nd
COT (%SV)	45,1 ± 0,3	nd
C/N	27,2 ± 0,2	nd

ST = sólidos totais; SV = sólidos voláteis; NTK = Nitrogênio Total Kjeldahl; N = nitrogênio; PT = proteína bruta; LP = lipídeos; COT = carbono orgânico total; RAG = resíduos de aparas de grama; bs = base seca; nd = não definido.

O teor de proteínas e lipídeos dos RAG foi de 9,2% e 1,4%, respectivamente, e são similares aos valores encontrados por Lin et al. (2014) para proteínas (8,8%) com resíduos de jardim composto por folhas de grama. O alto teor de carbono orgânico total contribuiu para o aumento da relação C/N (31,3) e foi superior ao valor encontrado por Bedoic et al. (2019) com diferentes resíduos de grama (média de 20,3). Segundo Kunz et al. (2019) a alta relação C/N inibe a produção de enzimas necessárias para assimilar o carbono devido à falta de nitrogênio no metabolismo celular. Contudo, valores abaixo de 35 ainda são considerados ideais para a digestão anaeróbia.

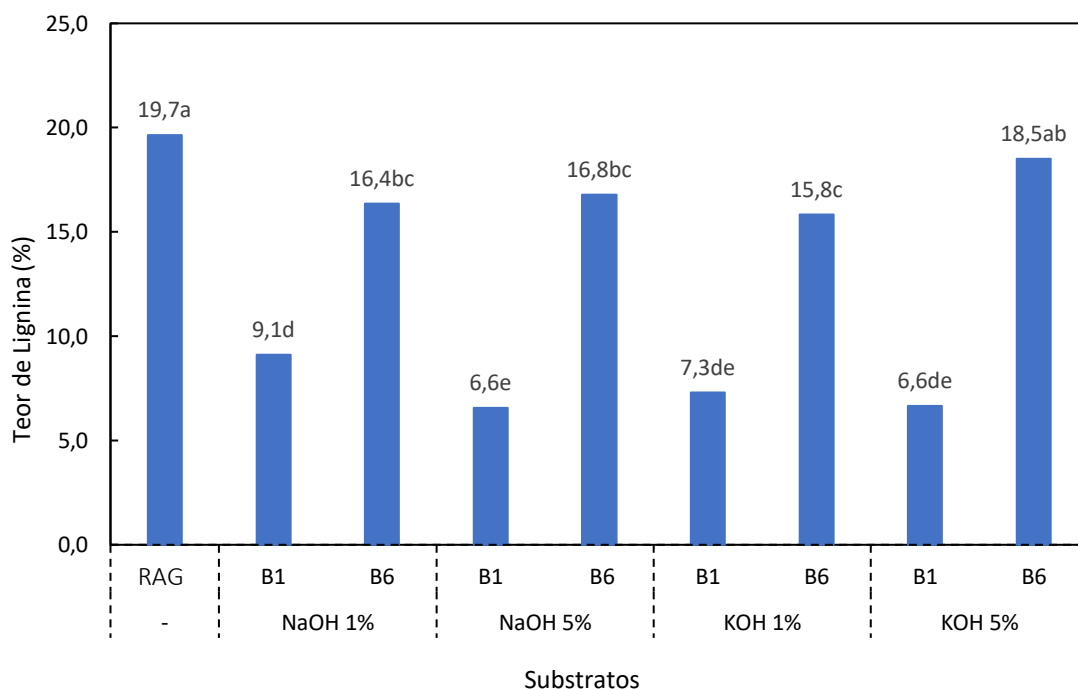
Quanto ao teor de lignocelulose, os RAG apresentaram 19,1% de lignina e foi semelhante ao valor encontrado por Panigrahi et al. (2019) para resíduos de jardim composto, predominantemente, de podas de grama e folhagens

(19,77±1,9 %ST). Neste contexto, a conversão dos RAG em biogás se torna um fator limitante devido a incapacidade dos microrganismos e enzimas da etapa de hidrólise em converter a lignina em compostos de fácil degradação.

5.2 EFEITOS DO PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO E REUSO DO LICOR NEGRO

O teor de lignina das bateladas iniciais variou entre 6,6% a 9,1% para todos os pré-tratamentos e foram, em média, 60,3% menores quando comparados aos RAG (Figura 12). O pré-tratamento alcalino contribui para o aumento significativo da porosidade da biomassa e da componente celulose por meio da saponificação das ligações de ésteres entre a lignina e hemicelulose, além de romper as ligações de carbono-carbono das moléculas de lignina (Kim et al., 2016).

Figura 5 - Teor de lignina do substrato pré-tratado com NaOH e KOH a 1% e 5%



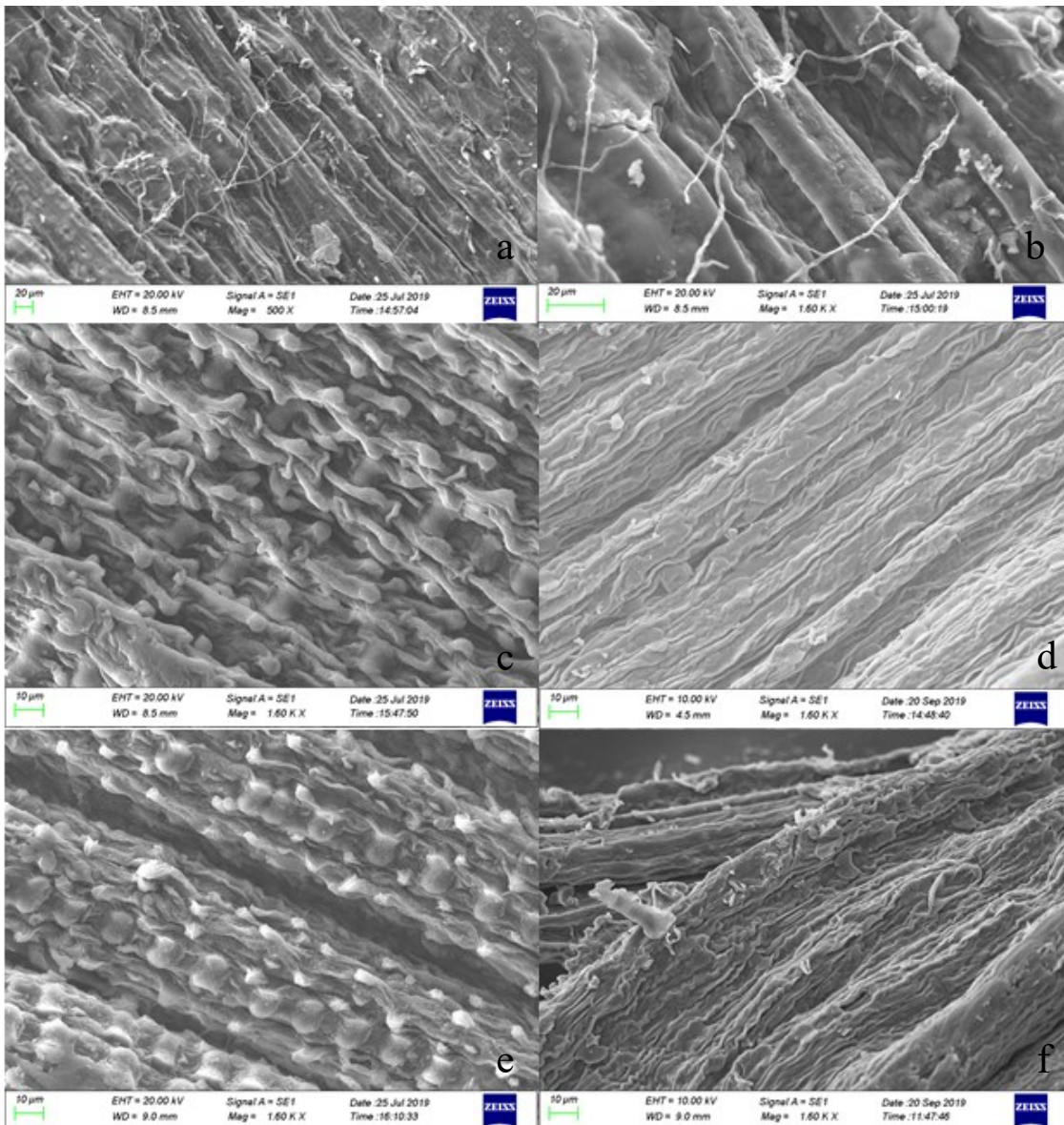
Fonte: Autoria própria (2020).

Já o teor de lignina das bateladas finais variou entre 15,8% a 18,5% para todos os pré-tratamentos e foram semelhantes ao teor de lignina dos RAG. Esse resultado indica que o licor negro perde eficiência após cinco vezes de reuso, visto que os valores da última batelada (B6) foram estatisticamente iguais ($p < 0,05$) com o teor de RAG (Figura 12). Um fator que pode justificar a perda de efeito do licor negro na última batelada, é a diluição dos sais inorgânicos (sódio e potássio) oriundos das soluções alcalinas e o acúmulo de componentes recalcitrantes provenientes da degradação da lignina.

Segundo Goshadrou (2019), o mesmo comportamento foi observado ao reutilizar o licor negro por dez vezes consecutivas (8,5 - 15,3%) com a solução de NaOH 2% e aplicado a resíduos de grama. O autor afirma que a diminuição da eficiência de deslignificação com o reuso do licor negro pode estar relacionada ao acúmulo de produtos originados pela degradação da lignina da biomassa residual. Liu et al. (2015) aplicaram o reuso do licor negro proveniente do pré-tratamento com solução de NaOH a 2% e obtiveram eficiência na remoção da lignina da palha de trigo após quatro vezes de reuso (12,2 – 14,0). Com base nisso, os autores afirmam que o reuso do licor negro não é tão eficaz como o tratamento com KOH fresco, mas ainda atinge bom desempenho de pré-tratamento com a capacidade de solubilizar as ligações de éster no complexo lignina e carboidrato fenólico.

Já as imagens de superfície dos resíduos de aparas de grama e pré-tratadas foram obtidas apenas da batelada inicial (B1) para cada pré-tratamento. A imagem da RAG apresentou superfície com poucas deformações e micro tubos definidos, enquanto as amostras pré-tratadas com soluções a 1% mostraram superfícies danificadas e efeitos de dobras na estrutura micro fibrilar (Figura 13). Segundo Stout e Griffingl (2001) as células vegetais absorvem água pelo processo de osmose (transporte passivo) e controlam a pressão hidrostática (pressão de turgor) para manter o equilíbrio osmótico com o meio. Em situações adversas, as células absorvem grande quantidade de água que causam inchaço nas fibras estruturais.

Figura 6 - Imagem de MEV dos substratos controle (a e b); pré-tratados com KOH a 1% (c) e 5% (d) e; pré-tratados com NaOH a 1% (e) e 5% (f)



Fonte: Autoria própria (2020).

Com relação os substratos pré-tratados com soluções a 5%, foi observado superfícies fortemente danificadas e com aspecto de derretimento dos microtúbulos. Esse efeito pode ser explicado pela alta concentração de KOH e NaOH na solução inicial que causou a desestruturação das fibras (Figura 13). De acordo com Liao et al (2004) as mudanças estruturais das fibras melhoram a etapa metanogênica na digestão anaeróbia, visto que os compostos biodegradáveis (celulose e hemicelulose) estão facilmente acessíveis.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DO LICOR NEGRO

Os RAG apresentaram teores de sódio (Na^+) e potássio (K^+) de 0,1 e 0,8 g/kg de matéria seca, respectivamente (Tabela 2). A maior proporção de potássio pode ser explicada pela afinidade das células vegetais com este sal devido ao uso como principal soluto osmótico e ativador de enzimas citoplasmáticas no meio intracelular. Já os íons Na^+ são encontrados em baixa concentração e possuem efeito tóxico no metabolismo celular quando estão em grande quantidade (Stout; Griffing, 2001).

Tabela 2 - Concentração de sódio e potássio da amostra controle e no licor negro

Amostras	Concentração de Na^+		Concentração de K^+	
	(g/L)		(g/L)	
	NaOH 1%	NaOH 5%	KOH 1%	KOH 5%
RAG	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0
B1	17,1 ± 0,1	104,4 ± 1,1	6,3 ± 0,1	40,9 ± 0,7
B2	9,3 ± 0,0	80,3 ± 0,2	3,7 ± 0,1	26,3 ± 0,7
B3	6,5 ± 0,0	68,5 ± 0,6	4,2 ± 0,2	20,5 ± 0,3
B4	6,5 ± 0,1	12,3 ± 0,2	4,2 ± 0,1	11,9 ± 0,0
B5	1,7 ± 0,0	9,4 ± 0,4	1,0 ± 0,1	16,0 ± 0,1
B6	2,6 ± 0,0	11,0 ± 0,0	1,9 ± 0,0	13,7 ± 0,1

RAG: resíduos de aparas de grama; B1 – B6: bateladas; Na^+ : sódio; K^+ : potássio; g: grama; L: litro; NaOH: hidróxido de sódio; KOH: hidróxido de potássio.

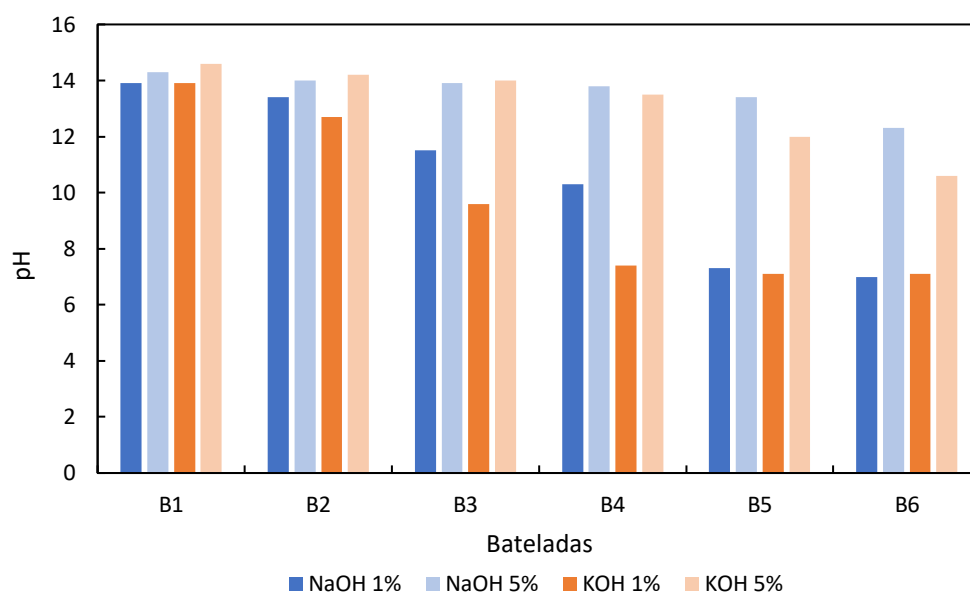
O teor de K^+ no licor negro variou entre 1 a 6 g/L para o pré-tratamento com KOH a 1% e 11 a 41 g/L com o pré-tratamento de KOH a 5% (Tabela 2). Apesar da tendência decrescente durante as bateladas, as médias não foram lineares após a quarta batelada para ambos pré-tratamentos, visto que o processo de separação da fração líquida foi realizado manualmente e pode ter causado a perda desses componentes entre as bateladas. Entretanto, ainda foi observado a diluição desses íons com o acréscimo de água no decorrer do reuso do licor negro.

Da mesma forma, também ocorreu para o teor de Na^+ no licor negro com variação entre 2 a 17 g/L para o pré-tratamento com NaOH a 1% e 9 a 104 g/L

para o pré-tratamento a 5% (Tabela 2). A maior quantidade desses íons quando comparados ao K^+ reforçam a premissa que Na^+ possui efeito tóxico no metabolismo celular enquanto o potássio é considerado como soluto osmótico dentro da célula.

Já os valores de pH foram decrescentes para ambos pré-tratamentos (NaOH e KOH), com exceção das bateladas 4 a 6 com concentração a 1% que mantiveram valor igual a 7,0 (Figura 14). O acréscimo de água no licor negro a cada batelada contribuiu para a solubilização dos íons K^+ e Na^+ e no rápido decréscimo do pH para os pré-tratamentos a 1%, visto que a presença desses íons no licor negro estava em menor quantidade na batelada inicial quando comparados ao pré-tratamento a 5%.

Figura 7 - Variação do pH durante as bateladas

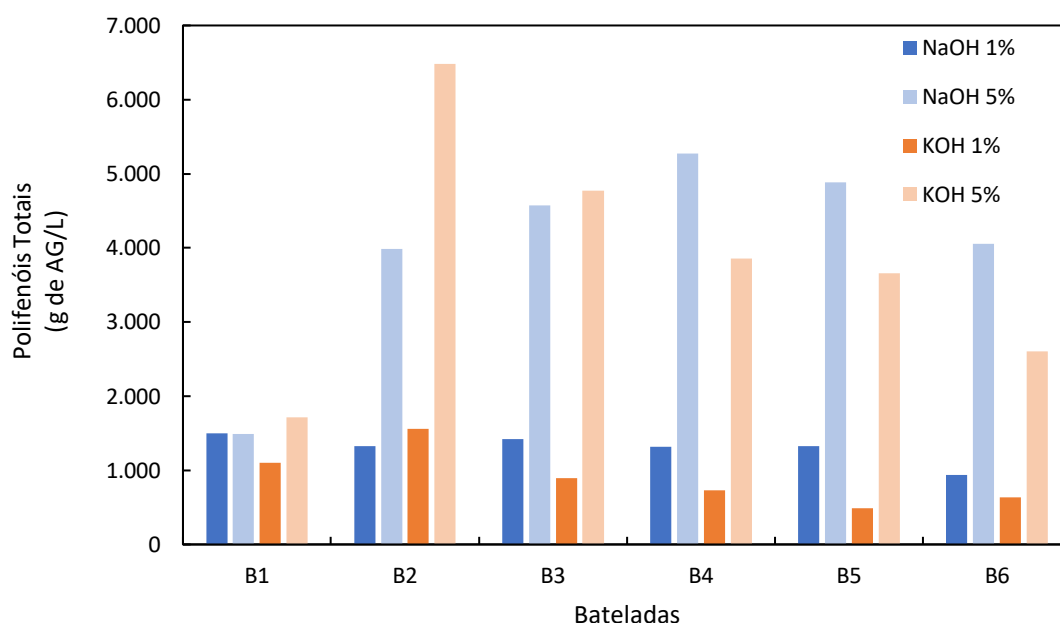


Fonte: Autoria própria (2020).

Com relação ao teor de polifenóis totais do licor negro, os pré-tratamentos com concentração de 1% variaram entre 936 a 1.497 g de AG/L para NaOH e 636 a 1.097 g de AG/L para o KOH (Figura 15). A tendência decrescente dos teores durante as bateladas pode ser explicada pela perda de eficiência do licor negro na solubilização da componente lignina. Segundo Chen et al. (2017) os polifenóis totais são polímeros pertencentes a cadeia da lignina e possuem estruturas de fenilpropano com ligações de éter e carbono. A remoção dessa

matriz garante que tais compostos não entrem em contato com os microrganismos na digestão anaeróbia e possa causar inibição no processo, comprometendo o rendimento de produção de biogás.

Figura 8 - Teor de polifenóis do licor negro obtido pelo pré-tratamento com KOH e NaOH



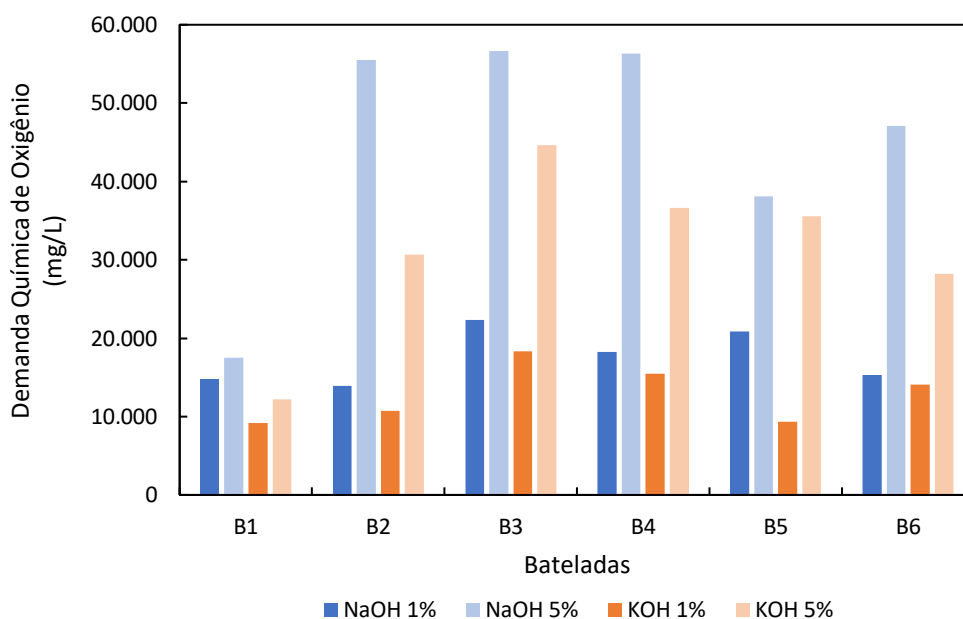
Fonte: Autoria própria (2020).

Já o teor de polifenóis totais do pré-tratamento a 5% variou entre 1.490 a 4.056 g de AG/L para NaOH e 1.715 a 2.060 g de AG/L para o KOH (Figura 15). A tendência decrescente dos teores de polifenóis no licor negro não foi observada para esta concentração, visto que a diluição dos componentes presentes no licor negro ocorreu após a segunda batelada para o NaOH e após a quinta batelada para o KOH. Essa diferença de efeito entre os pré-tratamentos pode ser explicada pela capacidade da planta em

Quanto aos valores da demanda química de oxigênio (DQO) do licor negro, o pré-tratamento com 1% variou entre 14.699 a 15.264 mg/L para o NaOH e 9.193 a 14.061 mg/L para o KOH (Figura 16). Esse comportamento mostrou que a solubilização da matéria orgânica medida pela DQO foi acumulada até a quinta batelada e, posteriormente, foi solubilizada com o acréscimo de água no processo. No estudo realizado por Liu et al. (2015), efeito semelhante também

foi observado ao reutilizar o licor negro do pré-tratamento com KOH a 2% até a B5 e os autores afirmaram que a adição de 25% do volume de água a cada batelada seria suficiente para repor toda a água utilizada no início do processo, ou seja, o efeito do alcali no licor negro, após essa batelada, seria quase nulo e não removeria grande quantidade de DQO.

Figura 9 - Demanda química de oxigênio do licor negro obtido pelo pré-tratamento com KOH e NaOH.



Fonte: Autoria própria

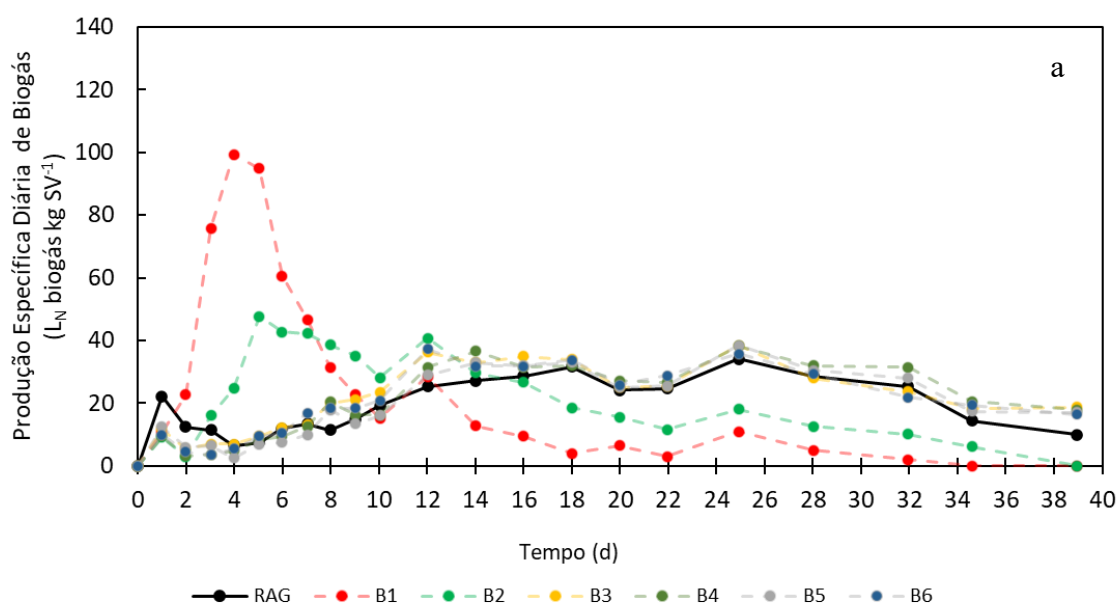
Já a DQO do pré-tratamento a 5% variou entre 17.535 a 47.059 mg/L para NaOH e 12.236 a 28.189 mg/L para KOH (Figura 16). O efeito de acúmulo de matéria orgânica medida pela DQO ocorreu após a segunda batelada para ambos pré-tratamentos e a diluição foi gradativa após a terceira batelada para o pré-tratamento com KOH. Para Narron et al. (2016), o principal efeito do pré-tratamento alcalino é a deslignificação pela dissolução de ésteres, ácidos, hemicelulose, lignina e sílica, o que aumenta a reatividade com os carboidratos presentes na biomassa.

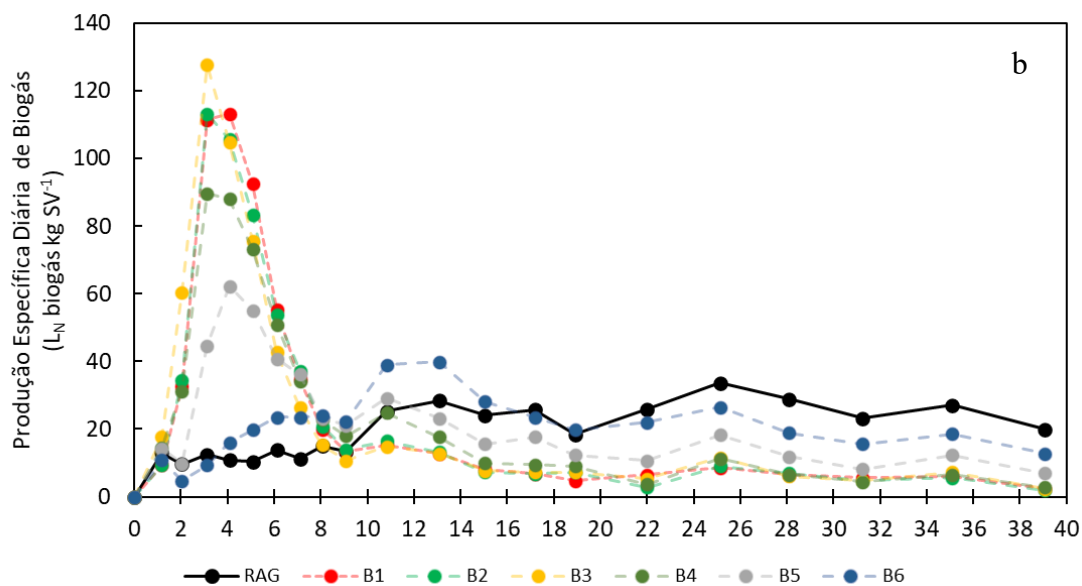
5.4 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

5.4.1 Efeito do pré-tratamento com NaOH

O pico de produção diária de biogás dos RAG ocorreu no vigésimo sexto dia com $22 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1}\text{dia}^{-1}$ (Figura 15ab). A presença da lignina na estrutura do substrato foi um fator limitante na digestão anaeróbia, visto que a degradação dessa componente na etapa de hidrólise é considerada lenta e incompleta (Deublein; Steinhauser, 2008). Em contrapartida, a máxima produção de biogás do pré-tratamento a 1% ocorreu no terceiro dia com $99 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ para a primeira batelada e foi 78% superior ao volume diário de RAG (Figura 17a). O pré-tratamento com NaOH melhora a etapa de hidrólise por meio do rompimento da estrutura da lignina e, conseqüentemente, promove a liberação de componentes biodegradáveis como celulose e hemicelulose (Chandra et al, 2012).

Figura 10 - Produção diária de biogás das amostras pré-tratadas com NaOH a 1%(a) e 5% (b)



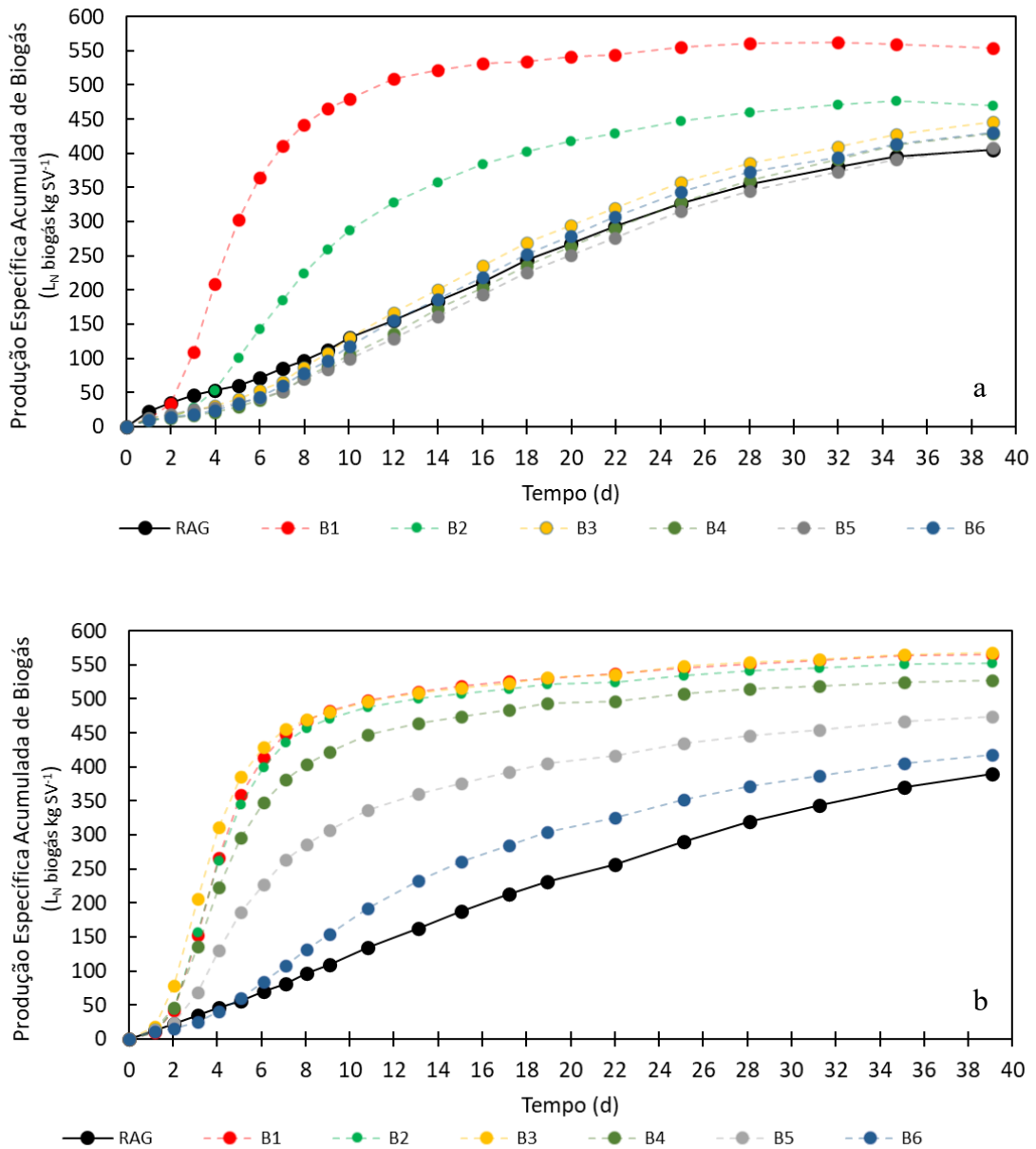


Fonte: Autoria própria (2020).

O maior pico de produção de biogás do pré-tratamento a 5% foi no terceiro dia para B3 ($128 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) e B2 ($113 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) e no quarto dia para B1 ($113 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) (Figura 17b). Essa diferença dos volumes diários de biogás pode estar relacionada a erros cometidos durante a separação das frações, visto que a primeira e segunda batelada obtiveram volumes de produção iguais. Entretanto, a média de eficiência do pré-tratamento foi de 81,6% quando comparado ao volume diário do RAG e indicou influência do licor negro na liberação de componentes facilmente degradáveis nos primeiros cinco dias.

A média de produção acumulada de biogás do RAG variou entre 390 a $405 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1}$ e foi superior ao volume encontrado por Jin et al. (2015) com resíduos aparas de grama ($115 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1}$). Os maiores volumes de produção de biogás do pré-tratamento a 1% foram de $555 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1}$ para a primeira batelada e $470 \text{ L}_N \text{ kg SV}^{-1}$ para a segunda batelada, com eficiência de 26,2% e 10,6% quando comparados ao RAG, respectivamente (Figura 18a). Essa tendência decrescente na eficiência da produção de biogás, destaca a diminuição do efeito do reuso do licor negro na remoção de componentes lignocelulósicos após ser reutilizado por uma vez.

Figura 11 - Produção acumulada de biogás das amostras com NaOH a 1% (a) e 5% (b)



Fonte: Autoria própria (2020).

Já os maiores volumes de produção acumulada de biogás do pré-tratamento a 5% variaram entre 567 L_N kg SV⁻¹ para a primeira e terceira batelada até 473 L_N kg SV⁻¹ para a quinta batelada. A média de eficiência da produção de biogás foi de 31,2% a 17,5% quando comparado ao volume acumulado de RAG (390 L_N kg SV⁻¹) e mostrou efeito positivo na produção de biogás após quatro vezes de reuso do licor negro (Figura 18b).

A produção acumulada de metano do RAG para as concentrações de 1% e 5% foi de 227 a 264 L_N kg SV⁻¹ e não mostraram diferença significativa (p>0,05) quando comparadas a produção de metano da última batelada para ambos pré-tratamentos (Tabela 3). O mesmo comportamento também é observado entre as médias das três primeiras bateladas do pré-tratamento a 5% e mostra que a eficiência do licor negro foi igual a solução alcalina utilizada na primeira batelada. Já os volumes de produção de metano do pré-tratamento a 1% mostram que a primeira batelada é diferente das demais.

Tabela 3 - Produção de biogás das amostras controle e pré-tratada com NaOH

Substrato	1%			5%		
	PBM (L _N kg SV ⁻¹)	*Eficiência (%)	Metano seco (%)	PBM (L _N kg SV ⁻¹)	*Eficiência (%)	Metano Seco (%)
RAG	264 ± 28 ^{bc}	ND	63 ± 4	227 ± 28 ^d	ND	63 ± 4
B1	332 ± 10 ^a	21	59 ± 0	323 ± 1 ^a	30	57 ± 0
B2	277 ± 16 ^b	5	62 ± 4	321 ± 1 ^a	29	57 ± 0
B3	269 ± 12 ^{bc}	2	62 ± 4	322 ± 1 ^a	29	57 ± 1
B4	266 ± 6 ^{bc}	5	62 ± 5	300 ± 1 ^b	24	57 ± 0
B5	257 ± 21 ^c	1	62 ± 4	262 ± 1 ^c	13	56 ± 1
B6	260 ± 17 ^c	-2	63 ± 4	230 ± 1 ^d	2	56 ± 2

RAG = controle; L_N = litro normalizado; g = grama; SV = sólidos voláteis; ND = não determinado. Letras diferentes indicam diferenças significativas com p<0,05.

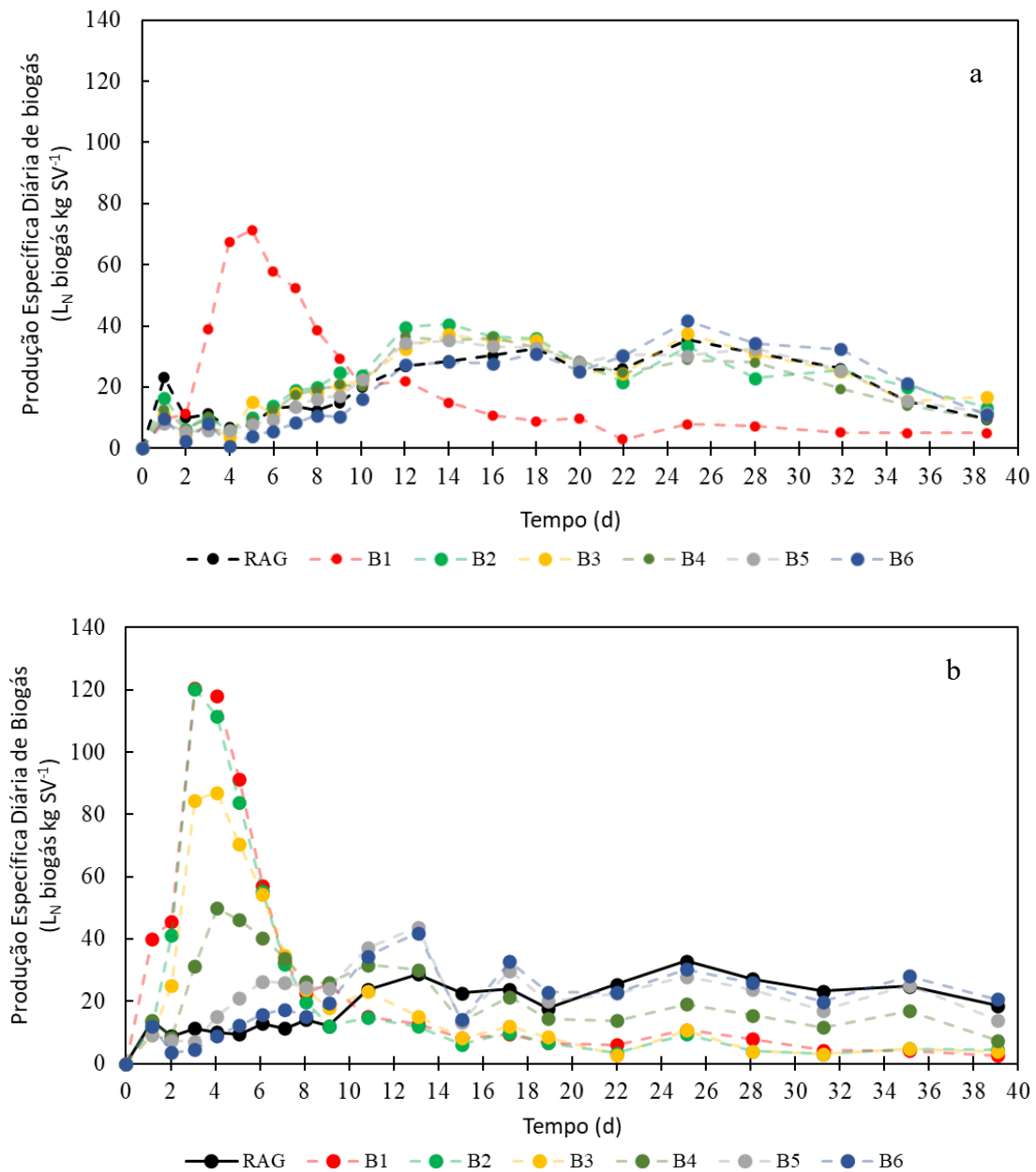
*Eficiência em termo de volume de metano comparada ao substrato sem pré-tratamento.

5.4.2. Efeito do pré-tratamento com KOH

O pico de produção diária de biogás do pré-tratamento a 1% ocorreu no quinto dia com 71 L_N kg SV⁻¹ dia⁻¹ para a primeira batelada e foi 69,1% superior ao volume diário do RAG obtido no vigésimo quinto dia (22 L_N kg SV⁻¹ dia⁻¹) (Figura 19a). Esse atraso para a conversão de compostos de fácil degradação em biogás pode estar relacionado a eficiência do reagente utilizado no pré-tratamento, visto que o pico de produção diária do NaOH foi no terceiro dia de digestão com 99 L_N kg SV⁻¹ dia⁻¹. De acordo com Signh et al (2015), pré-tratamentos com hidróxido de sódio possuem excelente capacidade de

designificação, quando comparados a outros reagentes, e alta digestibilidade da biomassa.

Figura 12 - Produção específica diária de biogás do pré-tratamento de KOH a 1% (a) e 5% (b)



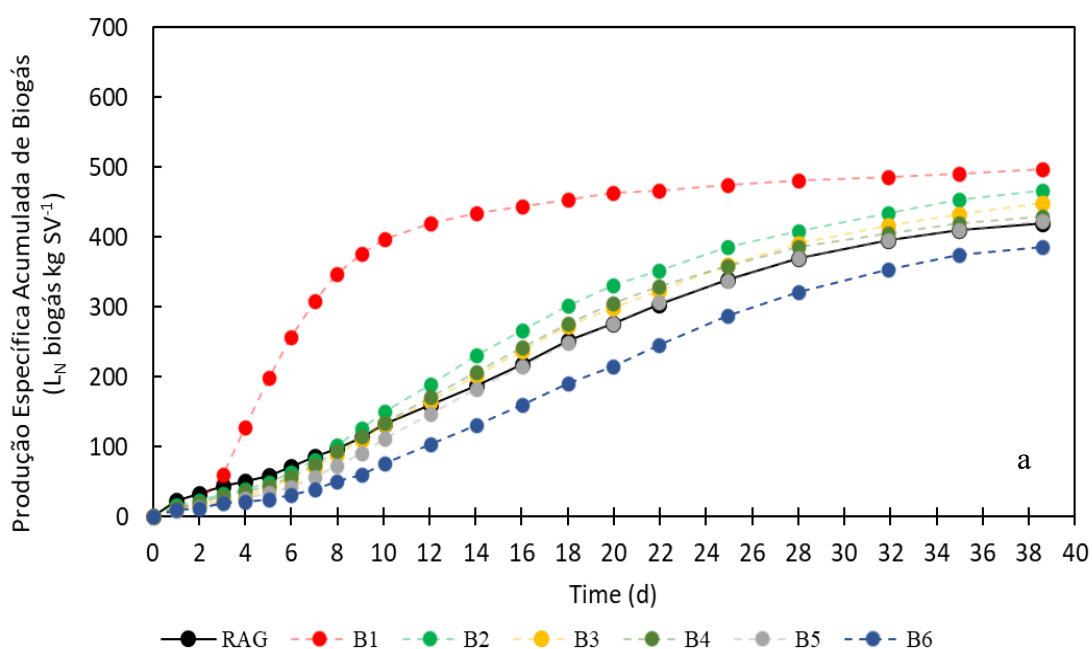
Fonte: Autoria própria (2020).

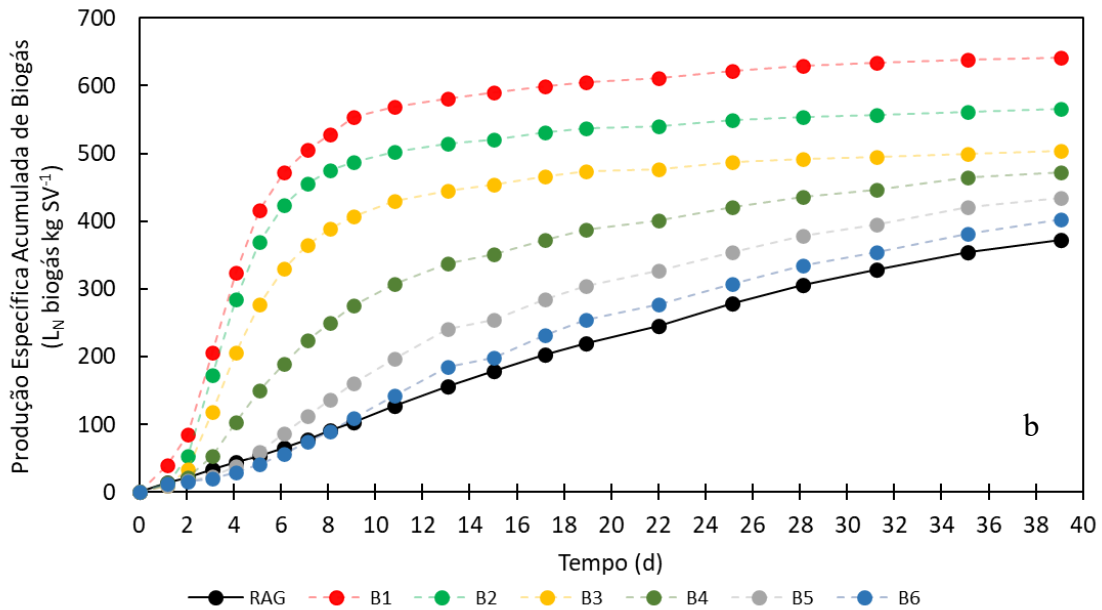
Para as demais bateladas do pré-tratamento a 1% foram observadas curvas com comportamentos semelhantes ao pré-tratamento com NaOH e picos de produção diária de biogás inferiores a 42 L_N kg SV⁻¹ d⁻¹ (Figura 16a). Em

contrapartida, o pré-tratamento com KOH a 5% obteve maiores picos de produção de biogás no terceiro e quarto dia com variação entre 121 L_N kg SV⁻¹ para B1 e 50 L_N kg SV⁻¹ para B4 (Figura 19b). Esses resultados indicam o efeito da solução alcalina e do licor negro para disponibilizar compostos facilmente biodegradáveis dentro de cinco dias de digestão.

O maior volume de biogás do pré-tratamento a 1% foi de 496 L_N kg SV⁻¹ para a primeira batelada e foi 15,4% superior aos RAG (420 L_N kg SV⁻¹) (Figura 15^a). Valor próximo foi encontrado por Korai e Li (2020) ao combinar o pré-tratamento com KOH a 6% e ultrassom para a produção de biogás de resíduos de palha de trigo (462 L_N kg SV⁻¹). Já as demais bateladas foram próximas ao volume acumulado de biogás dos RAG com variação entre 467 L_N kg SV⁻¹ para a segunda batelada e 395 L_N kg SV⁻¹ para a sexta batelada (Figura 20a). Portanto, o efeito do licor negro na produção de biogás não mostrou eficiente após a primeira batelada e pode ser justificado pela diluição do licor negro durante o processo de reutilização.

Figura 20 - Produção específica diária de biogás do pré-tratamento de KOH a 1% (a) e 5% (b)





Fonte: Autoria própria (2020).

A produção acumulada de biogás do pré-tratamento a 5% foi de 641 L_N kg SV^{-1} para a primeira batelada e 403 L_N kg SV^{-1} para a sexta batelada (Figura 120b). A eficiência na produção de biogás variou entre 39,2 e 3,2% quando comparada aos RAG e mostrou que o licor negro pode ser reutilizado por até três vezes. Resultado semelhante foi observado por Liu et al. (2015) ao reutilizar o licor negro gerado no pré-tratamento com KOH a 2% por quatro vezes consecutivas (B5 = 460 L_N kg SV^{-1}) em resíduos de palha de trigo. Entretanto, nesse estudo foi adicionado reagente a cada batelada de reuso do licor negro para manter o pH semelhante a fase inicial.

Já a média da produção de metano dos resíduos de aparas de grama não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparadas com os volumes da quinta e sexta batelada para ambos pré-tratamentos (Tabela 4). Em contrapartida, as médias do pré-tratamento a 5% foram estatisticamente diferentes entre as quatro primeiras bateladas e mostraram eficiência do licor negro na produção de biogás após três vezes de reuso (B4 > 10%). Já o licor negro do pré-tratamento a 1% foi eficiente por apenas uma vez após o reuso na produção de metano (Tabela 4).

Tabela 4 - Produção de metano das amostras controle e pré-tratada com KOH

Substrato	1%			5%		
	PBM (L _N CH ₄ kg SV ⁻¹)	*Eficiência (%)	Metano %	PBM (L _N CH ₄ kg SV ⁻¹)	*Eficiência (%)	Metano Seco (%)
RAG	264 ± 28 ^{cd}	ND	63 ± 4	227 ± 28 ^e	ND	63 ± 4
B1	294 ± 10 ^a	10	59 ± 0	362 ± 1 ^a	37	56 ± 2
B2	288 ± 16 ^{ab}	9	62 ± 4	323 ± 1 ^b	30	57 ± 0
B3	277 ± 12 ^{abc}	5	62 ± 4	286 ± 1 ^c	21	57 ± 1
B4	268 ± 6 ^{bcd}	5	62 ± 5	264 ± 1 ^d	14	56 ± 2
B5	261 ± 21 ^{cd}	2	62 ± 4	246 ± 1 ^{de}	8	57 ± 0
B6	253 ± 17 ^d	-4	63 ± 4	234 ± 1 ^e	3	56 ± 1

RAG = resíduos de aparas de grama; L_N = litro normalizado; kg = quilograma; SV = sólidos voláteis; ND = não aplicável. Letras diferentes indicam diferenças significativas com p<0,05.

*Eficiência em termo de volume de metano comparada ao substrato sem pré-tratamento.

5.5 INDICADORES DE COMPARAÇÃO ENTRE OS PRÉ-TRATAMENTOS

A soma do potencial de produção de biogás (PPB) das seis bateladas com o reuso do licor negro do pré-tratamento de NaOH 1% e 5% foi de 2.739 e 3.106 L_N kg SV⁻¹, respectivamente. A eficiência do licor negro para remover a lignina pode justificar o aumento da produção de biogás para o pré-tratamento a 5%, visto que o efeito da diluição do NaOH entre as bateladas foi menor quando comparado a concentração de 1%. O mesmo comportamento também foi observado para o pré-tratamento com KOH, sendo 2.650 e 3.018 L_N kg SV⁻¹ para as concentrações de 1% e 5%, respectivamente. Essa semelhança entre os pré-tratamentos pode estar relacionada a massa de reagente adicionada nas bateladas iniciais (B1) que foram idênticas tanto para o NaOH quanto para o KOH nos pré-tratamentos com reuso (Tabela 5).

Tabela 5 - Estimativa do potencial de produção de biogás e custos com reutilização e sem reutilização do licor negro

Indicadores	Sem reuso				Com reuso			
	KOH		NaOH		KOH		NaOH	
	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%
Potencial de produção de biogás (L _N kg SV ⁻¹)	2.978	3.845	3.330	3.393	2.650	3.018	2.739	3.106

(continuação)

Indicadores	Sem reuso				Com reuso			
	KOH		NaOH		KOH		NaOH	
	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%
Massa de reagente (g)	17,6	88,2	15,6	77,4	2,9	14,7	2,6	12,9
Custo do reagente por kg de substrato (R\$ de reagente kg de RAG ⁻¹)*	74,88	374,64	20,88	104,16	12,48	62,44	3,48	17,36
Volume de água gasto (mL)	1.500	1.500	1.500	1.500	590	612	586	658
Potencial de produção de biogás por kg de reagente (L _N biogás kg reagente ⁻¹)	34,15	16,65	61,63	13,15	93,11	43,7	140,6	57,0

RAG = resíduos de aparas de grama; NaOH = hidróxido de sódio; KOH= hidróxido de potássio; L_N = litro normalizado; g = grama; kg = quilograma.

*Custo baseado no quilograma de NaOH = R\$33,00 e KOH = 104,00.

Ao avaliar a estimativa do PPB com a aplicação do pré-tratamento sem a reutilização do licor negro, observou-se que o NaOH a 1% e 5% tem potencial para produzir 3.330 e 3.393 L_N kg SV⁻¹, respectivamente, enquanto que o KOH seria de 2.978 e 3.845 L_N kg SV⁻¹ para 1% e 5%, respectivamente. Com base nisso, nota-se que o aumento da concentração da solução para 5% resultaria em 63 L_N kg SV⁻¹ a mais para o NaOH e 867 L_N kg SV⁻¹ para o KOH, o que pressupõe que o hidróxido de potássio seria a melhor opção para o pré-tratamento dos RAG quando relacionado ao rendimento de produção de biogás.

Ao estimar a quantidade de reagente gasta no pré-tratamento com KOH e NaOH a 5% sem a reutilização de licor negro, observou-se que seria utilizado 88,2 g de KOH e 77,4 g de NaOH. Logo, o custo operacional para a produção de biogás aumentaria com a aplicação do pré-tratamento e os gastos seriam de R\$374,64 e R\$104,16 para cada quilograma de RAG pré-tratado com KOH e NaOH, respectivamente. Em contrapartida, os pré-tratamentos com concentração de 1% necessitam apenas de 1/5 dessa massa e reduziria cerca de 80% dos custos para cada pré-tratamento (Tabela 5). Contudo, os custos com

a aplicação dos pré-tratamentos sem a reutilização do licor negro ainda é um desafio para as plantas de biogás em escala real e tornam o processo ainda mais desvantajoso quando o tratamento do licor negro não pode ser realizado por sistemas de tratamento de efluentes convencionais.

A reutilização do licor negro durante a sequência de pré-tratamentos dos RAG reduziria cerca de 83,3% da quantidade de reagentes químicos e dos custos com a aplicação dos pré-tratamentos por quilograma dos RAG. O consumo de água no processo também seria um fator chave para destacar a relevância do reuso do licor negro, visto que a média de redução de água no processo seria de 60% do volume gasto em pré-tratamentos convencionais com soluções de NaOH e KOH a 1% e 5% (Tabela 5). No estudo realizado por Liu et al. (2020), o reuso do licor negro por cinco vezes consecutivas do pré-tratamento com hidróxido de potássio (2%) e palha de trigo, diminuiu em 75% do consumo de água no processo e 25% do reagente alcalino quando comparado a um pré-tratamento alcalino similar.

Ao comparar os indicadores do potencial de produção de biogás por massa de reagente adicionado foi observado que as concentrações a 1% foram maiores para todos os pré-tratamentos. Dentre eles, o pré-tratamento com NaOH e reuso do licor negro resultou em 140,5 L_N de biogás por kg de reagente e foi 33,7% superior ao pré-tratamento com KOH (93,1 L_N de biogás kg reagente⁻¹). Esse acréscimo pode ser justificado pelo efeito do licor negro na remoção de compostos recalcitrantes durante as quatro primeiras bateladas, visto que a soma da produção de biogás acumulada para o NaOH foi superior ao valor encontrado para o KOH (Tabela 5).

Já os pré-tratamentos sem o reuso do licor negro foram 63,3% (KOH) e 56,2% (NaOH) inferiores aos pré-tratamentos com reuso e reforçaram o efeito positivo do uso do licor negro como solução alcalina (Tabela 5). O mesmo comportamento também foi observado para os pré-tratamentos com concentração de 5%, que resultaram em 43,7 e 57,0 L_N de biogás kg reagente⁻¹ para KOH e NaOH, respectivamente, e foram 61,8 e 76,9% superiores aos valores encontrados para os pré-tratamentos sem reutilização.

Sendo assim, ao comparar os pré-tratamentos que reutilizaram o licor negro é possível afirmar que o custo pra aplicação está pautado na quantidade

de reagente adicionada no início do processo. Os pré-tratamentos com concentrações a 5% apresentam maior potencial de produção de biogás, porém, necessitam de cinco vezes mais da quantidade de reagente. Já os pré-tratamentos a 1% requerem 1/5 dessa massa e são 12% menos eficientes quando comparados ao pré-tratamento a 5%. Logo, o reuso do licor negro proveniente de pré-tratamentos com baixas concentrações despertam o interesse econômico e ambiental devido ao baixo impacto causado pelo tratamento ou disposição do licor negro após atingir o nível de saturação. Dentre os pré-tratamentos, o NaOH apresentou o maior potencial de produção de biogás e menor custo para aplicação do método de reuso do licor negro.

7 CONCLUSÕES

Os resíduos de aparas de grama são promissoras para a produção de biogás desde que sejam submetidos a processos de pré-tratamento. O alto teor de lignina (19,7 %) é considerado um fator limitante na digestão anaeróbia desses resíduos e quando submetidos a pré-tratamentos alcalinos podem reduzir em até 66,5% do teor de lignina. Com isso, o acesso dos microrganismos a compostos facilmente degradáveis contribuiu para o aumento produção de biogás dos resíduos pré-tratados com NaOH e KOH.

A maior produção de biogás do pré-tratamento com NaOH foi obtida para as bateladas iniciais de cada concentração com 555 L_N kg SV⁻¹ para 1% e 566 L_N kg SV⁻¹ para 5%. Esses valores indicaram uma média de aumento de 28,3% na produção de biogás quando comparado aos RAG sem pré-tratamento (398 L_N kg SV⁻¹). O pré-tratamento com KOH também apresentou a maior produção de biogás nas bateladas iniciais com 496 L_N kg SV⁻¹ para 1% e 641 L_N kg SV⁻¹ para 5%. A eficiência do pré-tratamento foi maior para a concentração de 5% e mostrou que o KOH pode aumentar em 37,9% na produção de biogás dos RAG.

Contudo, a soma do potencial de produção de biogás de todas as bateladas demonstrou que o reuso do licor negro poderia reduzir em até 83,3% da quantidade de reagentes químicos e 60% do volume de água gasto no processo. A soma do potencial de produção de biogás das bateladas com a concentração de 1% foi próximo a 2.739 L_N biogás kg SV⁻¹ enquanto a concentração a 5% foi de 3.106 L_N biogás kg SV⁻¹. Essa diferença mostrou que elevar a concentração da solução na batelada inicial resultaria em 367 L_N biogás kg SV⁻¹ a mais para cada pré-tratamento, porém, o potencial de produção de biogás por quilograma de regeante adicionado não compensaria os gastos obtidos para esse aumento (93 a 140 L_N biogás kg reagente⁻¹ para 1% e 43 a 57 L_N biogás kg reagente⁻¹).

Neste sentido, o reuso do licor negro é uma alternativa para diminuir os custos com o pré-tratamento dos RAG e a concentração a 1% mostrou ser mais vantajosa no quesito de produção de biogás por quantidade de reagente adicionado. Dentre os pré-tratamentos, o NaOH possui maior potencial de produção de biogás e menor custo para o método de reuso do licor negro.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K.; PARK, H.; CHOI, O.; SINDHU, R.; PARAMESWARAN, B.; PANDEY, A.; PARK, J. H.; SANG, B. **Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass**. *Bioresource Technology*, V. 301, p.122 – 725, 2020.

AL SEADI, T., RUTZ, D., PRASSL, H., KOTTNER, M., FINSTERWALDER, T., VOLK, S., JANSSEN, R. **Biogas handbook**. Esbjerg: University of Southern Denmark, 2008. 126 p.

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M. J. **Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review**. *Bioresource Technology*, v.101, p. 4851–4861, 2010.

ANDERSSON, E.; HARVEY, S. **System analysis of hydrogen production from gasified black liquor**. *Energy*, v.31, ed. 15, p. 3426 – 3434, 2006.

ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J.L.; GUWY, A.J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J.B. **Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wates and energy crops: a proposed protocol for batch assays**. *Water Science & Technology*, p. 927-934, 2009.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21 ed. Washington: American Water Works Association, p. 1368, 2005.

ARBOR, V., B.; CICEK, N.; SPARLING, R.; BERLIN, A.; LEVIN, D. B. **Biomass pretreatment: Fundamentals toward application**. *Biotechnology Advances*, v. 29, p. 675 – 685, 2011.

ATELGE, M., R.; ATABANI, A. E.; BANI, A. E.; KRISA, D.; KAYA, M.; ESKICIOGLU, C.; KUMAR, G.; LEE, C.; YILDIZ, Y. S.; UNALAN, S.; MOHANASUNDARAM, R.; DUMAN, F. **A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery**. *Fuel*, v. 270, p. 117 – 494, 2020.

AZADI, P.; INDERWILDI, O.R.; FARNOOD, R.; KING, D.A. **Liquid fuels, hydrogen and chemicals from lignin: A critical review**. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 21, p. 506–523, 2013.

BALAT, M.; BALAT, H.; ÖZ, C. **Progress in bioethanol processing**. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 34, p. 551–573, 2008.

BEHERA, S.; ARORA, R.; NANDHAGOPAL, N.; KUMAR, S. **Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass**. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 36, p. 91–106, 2014.

BRODEUR, G.; YAU, E.; BADAL, K.; COLLIER, J.; RAMACHANDRAN, K. B.; RAMAKRISHNAN, S. **Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: a review**. *Enzyme Research*, p. 787-532, 2011.

CHEN, H., LIU, J., CHANG, X., CHEN, D., XUE, Y., LIU, P., LIN, H., HAN, S. **A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals**. *Fuel Processing Technology*. Ed. 160, v. 150, p. 196 – 206, 2017.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 188 p., 2007.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources**. Weinheim: Wiley-VCH, 450 p, 2008.

DIN - DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG. DIN 38414: **Determination of the amenability to anaerobic digestion: Sludge and Sediments (group S)**. Berlin, 1985.

EDWIGES, T.; BASTOS, J.A.; ALINO, J. H. L.; D'AVILA, L.; FRARE, L. M.; SOMER, J. G. **Comparison of various pretreatment techniques to enhance biodegradability of lignocellulosic biomass for methane production**. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 7, ed.6, p. 103 – 495, 2019.

FAN, Z.; LIN, J.; WU, J.; ZHANG, L.; LYU, X.; XIAO, W.; GONG, Y.; XU, Y.; LIU, Z. **Vacuum-assisted black liquor-recycling enhances the sugar yield of sugarcane bagasse and decreases water and alkali consumption**. *Bioresource Technology*, v. 303, 2020.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. **Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass**. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 10–18, 2009.

HOSSEINI K. E.; DAHADHA, S., BAZYAR L. A. A.; AZIZI, A., ELBESHBISHY, E. **Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production: A review**. *Journal of Environmental Management*, v. 233, p.774–784, 2018.

GERARDI, M. H. **The microbiology of anaerobic digesters**. New Jersey: Wiley- Interscience, 177 p. 2003.

GRYVOCA, B.; PRYSZCZ, A.; LESTINSK, P.; CHAMRADOVA, K. **Influence of potassium hydroxide and method of carbonization treatment in garden and corn waste microwave pyrolysis**. *Bioresource Technology*, v. 118, p. 40 – 45, 2018.

GOSHADROU, A. **Bioethanol production from *Cogongrass* by sequential recycling of black liquor and wastewater in a mild-alkali pretreatment**. *Fuel*, v. 258, p. 116 – 141, 2019.

GUPTA, A.; THENGANE, S. K.; MAHAJANI, S. **CO₂ gasification of char from lignocellulosic garden waste: Experimental and kinetic study**. *Bioresource Technology*, v. 187, p. 37 – 45, 2018.

JIN, S.; ZHANG, G.; ZHANG, P.; JIN, L.; FAN, S.; LI, F. **Comparative study of high-pressure homogenization and alkaline-heat pretreatments for enhancing enzymatic hydrolysis and biogas production of grass clipping**. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 104, p. 477 – 481, 2015.

KAMALI, M.; KHODAPARAST, Z. **Review on recent developments on pulp and paper mill wastewater treatment**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 114, p. 326 – 342, 2015.

KIM, J. K.; Oh, B. R.; CHUN, Y. N.; KIM, S. W. **Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic digestion of food waste**. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 102, p. 328-332, 2006.

KIM, J. S.; LEE, Y. Y.; KIM, T. H. **A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass**. *Bioresource Technology*, v. 199, p. 42–48, 2016.

KORAI, R. M.; LI, X. **Effect of ultrasonic assisted KOH pretreatment on physiochemical characteristic and anaerobic digestion performance of wheat straw**. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. Available online, 2020.

KUCHARSKA, K.; RYBARCZYK, P.; HOLOWACZ, I.; LUKAJTIS, R.; GLINKA, M.; KAMINSKI, M. Pretreatment of Lignocellulosic Materials as Substrates for Fermentation Processes. *Molecules*, v. 23, p. 29 – 37, 2018.

KUNZ, A.; AMARAL, A. C.; STEINMTEZ, R. L. R. **Curso de Operacionalização de Biodigestores**. – Foz do Iguaçu - PR: CIBiogás; Concórdia – SC: Embrapa, p.1 – 22, 2016.

KUNZ, A.; AMARAL, A. C.; STEINMTEZ, R. L. R. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Sbera. Concórdia – SC: Embrapa, 209 p., 2019.

LAURICHESSE, S.; AVÉROUS, L. **Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers**. *Progress in Polymer Science*, v. 39, n. 7, p. 1266–1290, 2014.

LIAO, W., LIU, S., CHEN, S. **Optimizing dilute acid hydrolysis of hemicellulose in a nitrogen-rich cellulose material-dairy manure**. *Bioresource Technology*, v. 94, p. 33 – 41, 2004.

LIN, L.; YANG, L.; XU, F.; MICHAEL JR, F. C.; LI, Y. **Comparison of solid-state anaerobic digestion and composting of yard trimmings with effluent from liquid anaerobic digestion**. *Bioresource Technology*, v. 169, p. 439 – 446, 2014.

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.

LIU, Y., WHITMAN, W.B. **Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea**. *Annual New York Academy of Sciences*, v. 1125, p. 171-189, 2008.

LIU, C., WYMAN, C.E. **The effect of flow rate of compressed hot water on xylan, lignin and total mass removal from corn stover.** Industrial & Engineering Chemistry Research, v.42, p.5409– 5416, 2003.

MANOCHIO, C.; ANDRADE, B. R.; RODRIGUEZ, R. P.; MORAES, B. S. **Ethanol from biomass: a comparative overview.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 80, p.743–755, 2017.

MONTGOMERY, L. F. R.; BOCHMANN, G. **Pretreatment of feedstock for enhanced biogás production.** Energy Technology Network, p.1 – 24, 2014.

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

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y. Y.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. **Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass.** Bioresource Technology, v. 96, p. 673–686, 2005.

MURYANTO, T. E.; HENDARSYAH, H.; ABIMANYU, H. **Reuse black liquor of alkali pretreatment in bioethanol production.** Energy Procedia, v. 68, p. 236–243, 2015.

MUSSATO, S. I. **Chapter 8 - Biomass Pretreatment With Acids.** Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery. p. 169 – 185, 2016.

NARRON, R.H.; KIM, H.; CHANG, H. M.; JAMEEL, H.; PARK, S. **Biomass pretreatments capable enabling lignin valorization in a biorefinery process.** Current Opinion in Biotechnology, v. 38, p. 39 – 46, 2016.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. **Hidrólise Enzimática de Biomassa.** Química Nova, v.33, n.7, p.1549-1558, 2010.

ORTÍZ, I.; QUINTERO, R. **Avanços recentes nas tecnologias de pré-tratamento de biomassa para produzir bioenergia.** Pesquisa em Bioenergia: Avanços e Aplicações, p. 57–69, 2014.

PANIGRAHI, S.; SHARMA, H. B.; DUBEY, B. K. **Overcoming yard waste recalcitrance through four different liquid hot water pretreatment techniques – Structural evolution, biogas production and energy balance.** *Biomass and Bioenergy*, v. 127, p. 105 – 268, 2019.

Política Nacional de Resíduos Sólidos – PNRS. Lei nº 12.305/2010. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm. Acesso em: agosto de 2019.

RAJA, I. A., WAZIR, S. **Biogas production: The fundamental process.** *Universal Journal of Engineering Science*, v. 5, p. 29 -37, 2017.

ROWELL, R. M.; PETTERSON, R.; HAN, J. S.; ROWELL, J. S.; TSHABALALA, M. A. **Biological properties of wood.** *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*, ed. 2, 2005.

SAWATDEENARUNAT, C., SURENDRA, K. C., TAKARA, D., OECHSNER, H., & KHANAL, S. K. **Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities.** *Bioresource Technology*, v. 178, 2015.

SCHNÜRER, A.; JARVIS, A. **Microbiological Handbook for Biogas Plants.** Malmö: Swedish Gas Centre, 138 p., 2010.

SHENG, K., CHEN, X., PAN, J., KLOSS, R., WEI, Y., YING, Y. **Effect of ammonia and nitrate on biogas production from food waste via anaerobic digestion.** *Biosystems Engineering*, v. 116, p. 205 – 212, 2013.

Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS. Diagnóstico anual de resíduos sólidos. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/diagnostico-residuos-solidos>. Acesso em: agosto de 2019.

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.

STOUT, R. G., GRIFFING, L. R. **Cell Source Physiology Source Book.** Ed. Vol. 3, p. 1079 – 1095, 2001.

SULLIVAN, D. **Florida trashes yard trimmings ban.** Biocycle, v. 51, p. 20-21, 2010.

SUN, YE; CHENG, J. J. **Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production.** Bioresource technology. v. 96, p. 1599-606, 2005.

WANG, W.; CHEN, X.; TAN, X.; WANG, Q.; LIU, Y.; HE, M.; YUAN, Z. **Feasibility of reusing the black liquor for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation.** Bioresource Technology, v. 228, p. 235–240, 2017.

XU, H.; LI, Y.; HUAN, D.; ZHAO, Y.; MU, H.; CHEN, H.; CHEN, G. **Enhancing the anaerobic digestion of corn stover by chemical pretreatment with the black liquor from the paper industry.** Bioresource Technology, v. 306, 2020.

ZHANG, S., KESHWANI, D. R., XU, Y., & HANNA, M. A. **Alkali combined extrusion pretreatment of corn stover to enhance enzyme saccharification.** Industrial Crops and Products, v.37, p. 352–357, 2012.

ZHAO, X.; CHENG, K.; LIU, D. **Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis.** Applied microbiology and biotechnology, v. 82, p. 815 – 827, 2009.

ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. **Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production.** Progress in Energy and Combustion Science, v. 42, p. 35–53, 2014.