

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL**

JHENIFER ALINE BASTOS
JOÃO HENRIQUE LIMA ALINO

**INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO TERMOQUÍMICO DE
GRAMA NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA

2017

JHENIFER ALINE BASTOS
JOÃO HENRIQUE LIMA ALINO

INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO TERMOQUÍMICO DE GRAMA NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental, do curso de Engenharia Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira.

Orientador: Prof. Dr. Laercio Mantovani Frare

Co-orientador: Prof. Me. Thiago Edwiges

MEDIANEIRA
2017



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Medianeira

Diretoria de Graduação e Educação profissional
Coordenação do Curso de Engenharia Ambiental



TERMO DE APROVAÇÃO
AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO TERMOQUÍMICO DE GRAMA NA
PRODUÇÃO DE BIOGÁS
por

JHENIFER ALINE BASTOS
JOÃO HENRIQUE LIMA ALINO

Este trabalho de conclusão de curso (TCC) foi apresentado às 08:00 h do dia 23 de junho de 2017 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental. Os candidatos foram arguidos pela banca examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho _____.

Dr. Laercio Mantovani Frare
Orientador

Me. Thiago Edwiges
Coorientador

Dr. Eduardo Eyng
Membro

Dr. Fábio Orssatto
Membro

(O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus por nos ter dado saúde e condições para enfrentar as dificuldades, buscando melhorar a cada dia.

Agradecemos a UTFPR por fornecer condições para elaborar nossas pesquisas.

Aos nossos pais que nos ampararam em momentos de tristeza e dificuldade, nos dando forças para continuar a longa caminhada mesmo quando a saudade de casa apertava.

Agradecemos aos nossos amigos por se tornaram uma família e estarem presentes em todos os momentos, seja nos esforços de um trabalho acadêmico ou em festas universitárias.

Agradecemos também aos colegas Amanda Ortega e Lucas D'Avila pela ajuda quando estávamos longe, sem eles a execução deste trabalho não seria possível.

Agradecemos em especial ao professor Thiago Edwiges que se tornou um grande amigo e nos auxiliou em todo o projeto de pesquisa, nos ensinando parâmetros técnicos para sermos ótimos profissionais, além dos ensinamentos sobre a vida, orientando que sempre precisamos uns dos outros e que sozinhos andamos, mas juntos podemos chegar sempre mais longe.

Agradecemos ao professor Laercio Mantovani Frare pelo apoio e paciência durante toda a graduação, seja para nos orientar em projetos de pesquisa quanto para nos auxiliar em momentos de decisões, sempre mostrando que humildade é o caminho para alcançar nossos objetivos.

Por fim, agradecemos a equipe do Labiogás pela parceria e por acreditar neste trabalho, nos ajudando a contribuir para o avanço de pesquisas na área ambiental.

Se cheguei até aqui foi porque me apoiei
no ombro dos gigantes.

(Isaac Newton)

RESUMO

BASTOS, J.A.; ALINO, J.H.L. **Influência do pré-tratamento termoquímico de grama na produção de biogás**. 2017. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2017.

A busca por fontes de energias renováveis é um cenário que está cada vez mais ganhando destaque. O biogás surge como alternativa para minimizar os impactos causados por dejetos de criação animal contribuindo para o aumento de energia na matriz energética. Existem resíduos que podem ser incorporados ao processo anaeróbio para potencializar a produção de biogás, denominados como substratos. Dentre eles destacam-se os lignocelulósicos que são compostos principalmente por celulose, hemicelulose e lignina. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a influência do pré-tratamento termoquímico aplicado a resíduos de grama para a produção de biogás, utilizando três concentrações de NaOH (1%, 3% e 5%) e duas faixas de temperaturas (28 e 100°C). A composição da grama utilizada nos ensaios apresentou, em média, teores de celulose, hemicelulose e lignina de 34%, 24% e 11%, respectivamente, e baixa relação C/N (15/1) para digestão anaeróbia. Os resultados obtidos indicaram que o aumento da temperatura influenciou negativamente na produção de biogás devido, de acordo com dados obtidos na literatura, à liberação de antioxidantes polifenólicos. Os resultados indicaram que a maior produção específica, com 340 mL_{NgSV}⁻¹ de biogás e 55% de metano, foi obtida a uma temperatura de 28 °C e concentração de 3% de NaOH.

Palavras-chave: Biodigestão. Biomassa. Lignina.

ABSTRACT

BASTOS, J.A.; ALINO, J.H.L. **Influence of thermochemical pre-treatment for biogas production from grass.** 2017. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2017.

The search for renewable energy sources is a scenario that is increasingly gaining prominence. Biogas appears as an alternative to minimize the impacts caused by animal husbandry waste contributing to the increase of energy in the energy matrix. There are residues that can be incorporated to the anaerobic process to potentiate the biogas production, denominated as substrates. Among them are the lignocellulosics that are mainly composed of cellulose, hemicellulose and lignin. The objective of this work was to evaluate the influence of thermo-chemical pre-treatment applied to grass residues for biogas production using three NaOH concentrations (1%, 3% and 5%) and two temperature ranges (28 and 100°C). The composition of the grass used in the tests showed, on average, cellulose, hemicellulose and lignin contents of 34%, 24% and 11%, respectively, and low C/N ratio (15/1) for anaerobic digestion. The results indicated that the increase in temperature had a negative influence on the production of biogas due, according to data obtained in the literature, to the release of polyphenolic antioxidants. The results indicated that the highest specific production, with 340 mLNgSV⁻¹ of biogas and 55% of methane, was obtained at a temperature of 28 °C and 3% of NaOH concentration.

Keywords: Biodigestion. Biomass. Lignin.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag – Água

C1, C2 e C3 – Concentração de solução de NaOH

CC – Celulose microcristalina

CH₄ – Metano

CO – Carbono orgânico

CO₂ – Dióxido de Carbono

DQO – Demanda Química de Oxigênio

H₂S – Sulfeto de Hidrogênio

NaOH – Hidróxido de sódio

NTK - Nitrogênio Total Kjeldahl

ST – Sólidos totais

STF – Sólidos Totais Fixos

STV – Sólidos Totais Voláteis

Ta – Temperatura Ambiente

T1 – Temperatura a 100°C

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sequência da biodigestão anaeróbia.	16
Figura 2 - Estrutura molecular da lignina.	24
Figura 3 - Estrutura fisiológica da célula da grama.	25
Figura 4 - Alteração estrutural da molécula devido ao emprego de pré- tratamentos.	26
Figura 5 - Vista Aérea da Usina Hidrelétrica Itaipu Binacional	29
Figura 6 - Grama Esmeralda (I), grama Santo Agostinho (II), grama São Carlos (III) e substrato in natura (IV)	30
Figura 7 - Substrato seco e triturado	32
Figura 8 – Solução alcalina com o substrato seco e triturado	33
Figura 9 - Frascos com amostras pré-tratadas.	34
Figura 10 - Fluxograma de identificação dos pré-tratamentos.	34
Figura 11 - Processo de filtração da amostra (I) e líquido filtrado (II)	35
Figura 12 - Representação esquemática de reator e eudiômetros.	36
Figura 13 - Cromatógrafo PerkinElmer Clarus 680.	39
Figura 14 - Seringa de vidro gastight (A), transferência (B) e vedação do ar da seringa (C).	40
Figura 15 - Teor de sólidos totais das amostras submetidas ao pré-tratamento	44
Figura 16 - Teor de sólidos fixos e voláteis das amostras submetidas ao pré-tratamento.	44
Figura 17 - Análise de DQOs para cada pré-tratamento.	45
Figura 18 - Produção específica de biogás do inóculo, celulose microcristalina, T _a A _g e grama bruta.	47
Figura 19 - Produção específica da amostra de grama bruta e pré-tratamentos T _a C ₁ e T ₁ C ₁	48
Figura 20 - Produção específica das amostras pré-tratadas T _a C ₂ e T ₁ C ₂	49
Figura 21 - Produção específica das amostras pré-tratadas T _a C ₃ e T ₁ C ₃	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Relação C/N de materiais utilizados como substrato para produção de biogás.....	20
Quadro 2 – Metodologias para caracterização das amostras.....	31
Quadro 3 - Componentes de aclimação do inóculo e suas proporções.	32
Quadro 4 – Identificação dos frascos.	33
Quadro 5 – Diluição das amostras pré-tratadas.	36
Quadro 6 - Especificações segundo a VDI 4630.....	37
Quadro 7 - Produção específica de CH ₄ de cada pré-tratamento.	51

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 ENERGIAS RENOVÁVEIS.....	15
3.2 BIODIGESTÃO ANAERÓBIA	16
3.2.1. Hidrólise.....	16
3.2.2 Acidogênese	17
3.2.3 Acetogênese.....	18
3.2.4 Metanogênese	18
3.3 BIOGÁS.....	19
3.4 SUBSTRATO.....	19
3.4.1 Composição de substratos lignocelulosicos	21
3.4.2 Utilização da grama como substrato.....	24
3.5 PRÉ-TRATAMENTOS APLICADOS A SUBSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS	25
3.5.1 Pré-tratamento físico	26
3.5.2 Pré-tratamento químico	27
3.5.3 Pré-tratamento biológico.....	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	29
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO	30
4.3 CARACTERIZAÇÃO E ACLIMATAÇÃO DO INÓCULO	31
4.4 PRÉ-TRATAMENTO DO SUBSTRATO	32
4.4.1 Demanda Química de Oxigênio solúvel.....	35
4.5 POTENCIAL METANOGENÉTICO ESPECÍFICO	36

4.4.2 Análise da composição do biogás	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO	41
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO	42
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE GRAMA PRÉ-TRATADAS COM SOLUÇÃO ALCALINA.....	43
5.4 POTENCIAL METANOGÊNICO ESPECÍFICO	46
5.5 COMPOSIÇÃO DO BIOGÁS.....	50
6 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS.....	53
ANEXO A	58

1 INTRODUÇÃO

A busca por fontes alternativas de energia é um cenário que está cada vez mais ganhando destaque. Atualmente, surgem iniciativas que agregam valores á resíduos que poderiam ser descartados, transformando-os em matéria prima para a produção de energia, como por exemplo, a utilização da biomassa vegetal ou animal para produção de biogás.

O biogás pode ser usado como fonte de energia direta através de sua energia térmica, sendo utilizado em caldeiras, secadores, motores para geração de energia elétrica e mecânica, aquecedores e muitos outros. Entretanto, sua principal vantagem é a minimização dos impactos causados por dejetos de criação de animais, o que é considerado como um grande problema ambiental do agronegócio (COLDEBELLA *et al.*, 2008).

Além da utilização de dejetos de animais para produção de biogás, existem resíduos considerados como substratos que podem ser incorporados ao processo para aumentar sua eficiência energética, como por exemplo, a poda de grama, restos de alimentos, palha de arroz e trigo, silagem e outros. Dentre eles destacam-se os lignocelulósicos, que são compostos principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, sendo esta última considerada de difícil degradação devido sua estrutura rígida e complexa.

De acordo com Quirino (2003) diversas opções podem ser mencionadas para o aproveitamento de resíduos lignocelulósicos, como sua disposição em granjas, em indústrias de painéis de madeira reconstituída, compostagem e na geração de energia, seja esta através da queima direta (carvão vegetal) ou da transformação do resíduo em outras formas de combustível.

Neste contexto, a aplicação de pré-tratamentos (físico, químico, biológico ou físico-químico) se tornam viáveis, devido a capacidade de desestruturar a lignina e facilitar a solubilização da celulose e hemicelulose, o que aumenta a taxa de hidrólise no processo de digestão anaeróbia.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Influência do pré-tratamento termoquímico aplicado a resíduos de grama para produção de biogás utilizando diferentes concentrações de NaOH.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o substrato de acordo com as análises físico-químicas;
- Submeter o substrato em diferentes concentrações de solução alcalina;
- Analisar o comportamento da DQOs para cada pré-tratamento;
- Submeter o substrato pré-tratado em testes de batelada;
- Determinar a produção metanogênica específica para cada pré-tratamento;
- Analisar a composição do biogás;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ENERGIAS RENOVÁVEIS

O crescente nível tecnológico e a elevada atividade industrial da sociedade moderna tornaram-se possíveis graças às diversas formas de energia disponíveis. A dependência energética do setor agrícola em relação aos combustíveis fósseis é uma questão que merece ser discutida (PRADO *et al.*, 2007).

Com base no relatório final sobre o Balanço Energético Nacional de 2015, a produção nacional de petróleo cresceu 8% em 2015, atingindo a média de 2,44 milhões de barris diário, dos quais 93,4% são de origem marítima. Sendo assim, a geração elétrica a partir de energias não renováveis representou 26,0% do total nacional (BRASIL, 2015).

No caso das fontes renováveis, os biocombustíveis possuem como características baixa emissão de resíduos e poluição atmosférica. No caso do etanol sua maior contribuição é a quantidade de água presente na sua composição (0,7 a 7%). As fontes de energia de hidrelétricas, eólica e solar são consideradas fontes de energia limpas. Por outro lado, as hidrelétricas e eólicas, embora em queda possuem alto custo de implantação. A biomassa, oriunda de matéria orgânica (dejetos animais, resíduos vegetais, lixo industrial ou residencial) gera o biogás (BULHÕES; MUSSOLIN, 2008).

Atualmente a produção de energia elétrica a partir da biomassa, é defendida como uma alternativa importante para países que se encontram em situações de desenvolvimento, e até mesmo para países que necessitam ampliar a matriz energética, e consolidar uma fonte renovável de energia. Ainda o biogás minimiza impactos dos dejetos da criação de animais que é considerado um dos principais problemas ambientais do agronegócio. Estes dejetos são utilizados como insumos para a produção de gás combustível e fertilizante (COLDEBELLA *et al.*, 2008).

3.2 BIODIGESTÃO ANAERÓBIA

A biodigestão anaeróbia é um processo de tratamento biológico de degradação da matéria orgânica que ocorre na ausência de oxigênio. Uma das vantagens do processo é a conversão da maior parte da carga orgânica do dejetos bruto em biogás. A digestão anaeróbia se realiza através de reações bioquímicas que se integram em diversas etapas de conversão e produções de vários compostos até se obter o metano (CH_4). Para que o processo anaeróbio seja eficiente, diversos fatores ambientais, tais como: pH, alcalinidade, temperatura, relação de nutrientes, amônia, sulfato e metais pesados, devem estar em acordo com as suas necessidades (FALCÃO; GUSMÃO, 2008).

Segundo a ONUDI (2013), para que o processo de biodigestão ocorra de forma completa e eficiente são necessários uma vasta diversidade de microrganismos, que realizam reações bioquímicas complexas gerando como subproduto o biogás. Essas ações são divididas em quatro fases, sendo a hidrólise, acidogênese, acetanogênese e metanogênese (Figura 1).

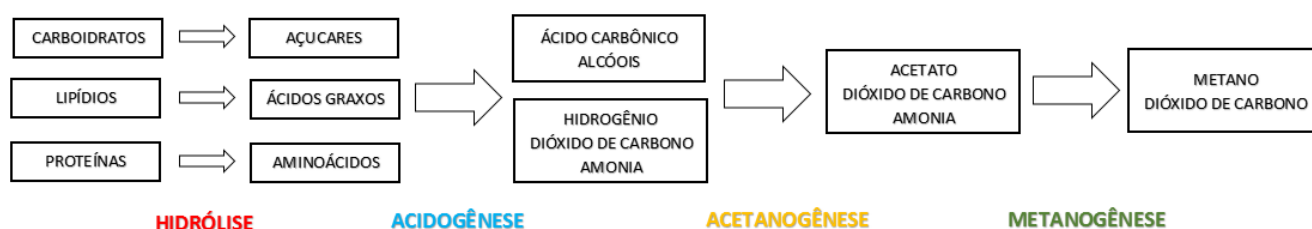


Figura 1 - Sequência da biodigestão anaeróbia.

Fonte: Adaptado de Seadi *et al* (2008).

3.2.1. Hidrólise

A fase de hidrólise é a primeira etapa da biodigestão anaeróbia, ela se caracteriza por degradar compostos complexos (polissacarídeos), como, lipídios, proteínas e carboidratos em monômeros, ou seja, compostos de cadeias simples e solúveis. Este processo ocorre através de bactérias hidrolíticas que liberam enzimas

extracelulares para a dissolução do substrato. Esta fase atua como processo limitante na velocidade da biodigestão, podendo esta variar de acordo com as características do substrato, sendo necessário poucas horas para carboidratos e alguns dias para lipídeos e proteínas. Substratos em que há a presença de compostos com materiais lignocelulósicos e lignina apresentam baixa cinética em sua reação, sendo muitas vezes hidrolisadas de maneira incompleta. (KUNZ *et al.*,2016).

Para Chernicharo (1997) a fase de hidrólise pode variar de acordo com parâmetros físico-químicos, como: a temperatura do reator, tempo de retenção do substrato, composição do substrato, tamanho da partícula, pH do meio, concentração de NH_4^+ e a concentração dos produtos oriundos do processo de hidrólise.

3.2.2 Acidogênese

Processo fermentativo onde os monômeros resultantes da fase de hidrólise são novamente degradados a compostos orgânicos de cadeia curta, moléculas com 1 a 5 carbonos (ácido acético, ácido propiônico, ácido lático, etanol, etc.), onde alguns compostos podem ser utilizados diretamente na fase de metanogênese, como é o caso do ácido acético, do ácido fórmico e do H_2 e outros necessitam ser oxidados na fase de Acetogênese para posteriormente serem convertidos em CH_4 (KUNZ *et al.*,2016).

Segundo Abreu (2007), as bactérias da fase acidogênica realizam o metabolismo dos compostos solúveis através de endoenzimas no interior das células bacterianas. Essa fase gera grandes quantidades de ácidos, caracterizando-a como fase ácida.

A fase de acidogênese é constituída por um grupo diversificado de bactérias, em sua maioria estritamente anaeróbias, podendo haver a presença de bactérias facultativas no meio. Dentre as bactérias existentes no processo de acidogênese encontradas em reatores anaeróbios estão *Clostridium*, *Bacteróides*, *Ruminococcus*, *Butyribacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Desulfobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, e *Escherichia* (ABREU, 2007).

3.2.3 Acetogênese

Para ONUDI (2013), as bactérias da fase de acetogênese são responsáveis por transformar os ácidos graxos voláteis (AGV's) resultantes da fase ácida em hidrogênio, dióxido de carbono e ácido acético. Kunz *et al* (2016) diz que bactérias acetogênicas estabelecem relação de simbiose com as bactérias metanogênicas e as bactérias homoacetogênicas, possibilitando o crescimento bacteriano e garantindo a eficiência na produção de acetato, que será utilizado na fase metanogênica para a produção de CH₄.

Existem dois grupos de bactérias responsáveis pela quebra dos AGV's em acetato, as bactérias 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*. Este grupo é composto por bactérias estritamente anaeróbias, que exercem atividade catalisadora na formação do acetato a partir de CO₂ e H₂ (ABREU, 2007).

3.2.4 Metanogênese

Etapa final do processo de biodigestão anaeróbia a fase de metanogênese é responsável por transformar o ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono em metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂), através de dois grupos de bactérias, sendo estas as metanogênicas acetoclásticas e as hidrogenotróficas. (KUNZ, 2016)

Segundo Kunz *et al* (2016) as bactérias do grupo acetoclástico são responsáveis por converter o acetato em metano, já as hidrogenotróficas convertem hidrogênio e dióxido de carbono em CH₄. O primeiro grupo é composto por bactérias do gênero *Methanosarcina*, já o segundo grupo é composto por bactérias do gênero *Methanobacterium* e *Methanospirillum*. Kunz *et al.* (2016) ainda afirma que segundo a

literatura 70% da conversão em metano é realizada pelas bactérias acetoclásticas e 30% pelas bactérias hidrogenotróficas.

3.3 BIOGÁS

Obtido a partir de um processo que degrada a matéria orgânica, possibilitando a produção de energia térmica e elétrica, o biogás vem de uma forma inexorável proporcionar novas aplicações para os resíduos das explorações agropecuárias, da atividade industrial e esgotos (PAULA, 2016).

A composição do biogás pode variar de acordo com o tipo e a quantidade de biomassa empregada, fatores climáticos, dimensões do biodigestor, entre outros. Quando as condições ambientais para o processamento de dejetos pelos microrganismos são atendidas, o biogás obtido deve ser composto de uma mistura de gases, com cerca de 60 ou 65% do volume total consistindo em metano, enquanto os 35 a 40% restantes consistem, principalmente, de gás carbônico e quantidades menores de outros gases (SEIXAS et al., 1980).

Para Galbiatti *et al.*, (2010), não basta ter em mãos dados tão somente referentes à quantidade de biogás produzida, é imprescindível, também, o conhecimento da qualidade deste biogás produzido, ou seja, deve-se ter a noção exata do comportamento da variação dos componentes do biogás, durante o processo fermentativo uma vez que, com base nesses dados é que se pode constatar e caracterizar sua variação na fermentação e poder sugerir controle da qualidade do gás a ser purificado e armazenado.

3.4 SUBSTRATO

Existem vários tipos de biomassa que podem ser utilizadas como substrato (matéria-prima) no processo de digestão anaeróbia para a produção de biogás

(ADEKUNLE; OKOLIE, 2015). No entanto, o substrato deve atender as exigências nutricionais dos microrganismos levando em consideração as fontes de energia e componentes vitais para a formação de novas células (ASLANZADEH, 2014).

Segundo o Manual Básico de Biogás (2014), a composição do substrato é um fator importante na quantificação e qualidade do biogás, que está diretamente relacionado à quantidade de nutrientes e contaminantes potenciais (metais, patógenos e contaminantes orgânicos contidos na matéria seca). Portanto, a escolha do substrato influencia no resultado do processo, na maximização da produção de energia e na boa qualidade do biogás.

Segundo Yen e Brune (2007) quando se trata da decomposição de matéria orgânica no processo de digestão anaeróbia, a relação de carbono e nitrogênio (C/N) deve ser de grande importância, pois é através desta relação que o processo pode ser melhorado utilizando diferentes proporções e substratos (Quadro 1).

Materiais	Relação C/N
Dejeto de aves	3 - 10
Palha	50 - 150
Gramma	12 - 26
Batata	35 - 60
Frutas e Vegetais	7 - 35
Açúcar de beterraba/folhagem de beterraba	35 - 46/14
Cereais	16 - 40
Resíduos de destilaria	8

Quadro 1 - Relação C/N de materiais utilizados como substrato para produção de biogás.
Fonte: Adaptado de Jarvis (2009).

Para Gunaseelan (2007) afirma que um dos fatores que influenciam na relação C/N são os componentes que constituem os substratos. As longas cadeias de carbono, como por exemplo a celulose, são degradadas lentamente e tornam o meio ácido, porém, a quantidade de ácido gerado é menor quando comparado com as cadeias de carbono encontradas na glicose, que por sua vez decompõem-se rapidamente.

Os microrganismos requerem um substrato que contenha carbono e nitrogênio em uma relação equilibrada. Sendo assim, se a relação C/N é alta não haverá nitrogênio suficiente e as bactérias deixam de produzir enzimas necessárias para assimilar o carbono, já no caso de baixa relação, haverá excessivo desenvolvimento de microrganismos. Na maioria das vezes, o valor ideal da relação C/N para que um processo possa ser iniciado, varia entre 20 e 30, não podendo ser superior à 35 (ONUUDI, 2013).

3.4.1 Composição de substratos lignocelulosicos

Dentre as fontes de energia da biomassa insere-se o grupo de materiais lignocelulósicos, destacando-se deste modo, a biomassa florestal. A utilização da energia advinda desta fonte requer o conhecimento da composição química e das características físicas do material (SOUZA *et al.*, 2012).

Os materiais lignocelulósicos são conhecidos como materiais fibrosos e formam 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 (CASTRO, 2009).

Segundo Rosa e Garcia (2009) a biomassa lignocelulósica é formada por 26,6% a 54,3% de celulose, cerca de 14,3% a 24,4% de hemicelulose e 22,7% a 29,7% de lignina, sendo que ainda fazem parte dessa biomassa pequena quantidade de cinzas e extrativos.

3.4.1.1 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. Em alguns vegetais podem variar entre 20% a 99%, desde os mais simples até as árvores mais complexas (RABELLO, 2007).

Segundo Penedo (1980) 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.

Um fator importante citado por Ding e Himmel (2006), é que a associação de diversos polímeros da parede celular vegetal com as cadeias de celulose, resulta em um material resistente à tensão e insolúvel em uma enorme gama de solventes, o que explica a resistência de células vegetais à degradação microbiana.

A classificação de uma molécula de celulose está de acordo com o grau de polimerização e o índice de cristalinidade, quando estão atreladas a lignina, resultam em uma macromolécula altamente resistente a hidrólise, o que representa um problema para o uso de biomassa lignocelulósica em diversas aplicações (ARANTES; SADDLER, 2010).

3.4.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose ou poliose também é formada por polissacarídeos, porém a diferente entre ela e a celulose está na variabilidade de tipos de açúcares, já que a celulose apresenta apenas um tipo. Outro fator importante é a ramificação na cadeia da hemicelulose e o menor grau de polimerização, devido ao seu baixo peso molecular quando comparado com a celulose (SANTOS, 2008).

As moléculas de hemicelulose são classificadas de acordo com o resíduo de açúcar principal (WYMAN *et al.*, 2005). Sendo que diferentes subclasses são encontradas de acordo com a espécie do vegetal, o estágio de desenvolvimento e o tipo de tecido em que as moléculas são encontradas (OGATA, 2013).

As paredes celulares das plantas apresentam cerca de 15% a 30% de hemicelulose, sendo considerada o segundo tipo de polissacarídeo mais importante em sua composição (PALMA, 1993). Com base na sua estrutura, a hemicelulose é mais semelhante com a celulose do que com a lignina, além de estar depositada na parede celular antes a etapa de lignificação (OGATA, 2013).

Quando comparado com a celulose, a hemicelulose apresenta várias unidades de açúcares diferentes de cinco ou seis átomos de carbono (SANTOS *et al.*, 2001). Porém, a mesma não é um composto definido, mas sim uma classe de componentes poliméricos que estão presentes em vegetais fibrosos, sendo que cada componente apresenta propriedades peculiares (PHILIPP, 1988).

3.4.1.3 Lignina

A estrutura da lignina é composta por moléculas amorfas, extremamente complexas e formada por unidades aromáticas de fenilproprano, sendo que essas unidades têm como característica serem incrustantes (ROWELL *et al.*, 2005).

A quantidade de moléculas de lignina e sua estrutura podem variar dependendo da espécie vegetal, podendo ser obtidas em processos físico-químicos que permite o seu aproveitamento como fonte de energia, como por exemplo, na indústria de polpação, a lignina é queimada para geração de energia em caldeiras de recuperação (SANTOS, 2008).

Devido a sua estrutura tridimensional, a lignina é um componente rígido e resistente a forças de compressão, o que permite a resistência aos impactos, compressão e quebra da parede celular, além de ser responsável pela ligação entre uma célula e outra. Portanto, a lignina tem um papel importante nos vegetais, proporcionando resistência ao ataque por microrganismos e atuando no transporte de água e nutrientes (PHILIPP, 1988).

Na Figura 2 apresenta-se um modelo de estrutura química da molécula de lignina das coníferas.

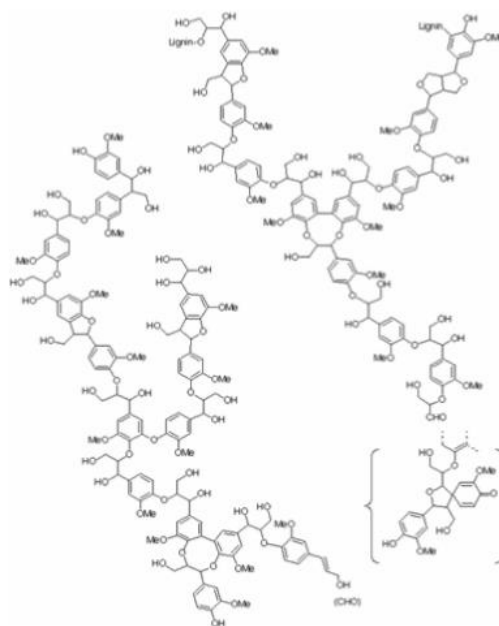


Figura 2 - Estrutura molecular da lignina.
Fonte: Browning (1963)

3.4.2 Utilização da grama como substrato

Os gramados estabelecem um papel importante na composição de jardins. A capacidade de realçar espécies vegetais e outros elementos que constituem a visão paisagística, como fontes, estátuas, áreas com piscinas e outros, fazem com que determinadas áreas estejam em sintonia com a natureza e área urbana. Outro fator importante, é a sua utilização na construção civil, como por exemplo, medidas técnicas de contenção de erosão em rodovias, represas, ferrovias entre outros (COELHO; PÁDUA, 1997).

A grama pertence à família das gramíneas (*Poaceae* ou *Gramineae*), sendo que é uma das principais famílias na divisão das Angiospermae e da classe Monocotiledoneae. Elas possuem folhas lineares, flores nuas e as inflorescências são espigas, panículas e racemos (FONTANELI *et al.*, 2012).

Segundo Cremonez *et al.*, (2013), a parede celular dos vegetais tem como componente principal a celulose, sendo encontrado em larga escala na natureza.

Além da celulose, também existe a hemicelulose, que normalmente está associado a lignina (Figura 3).

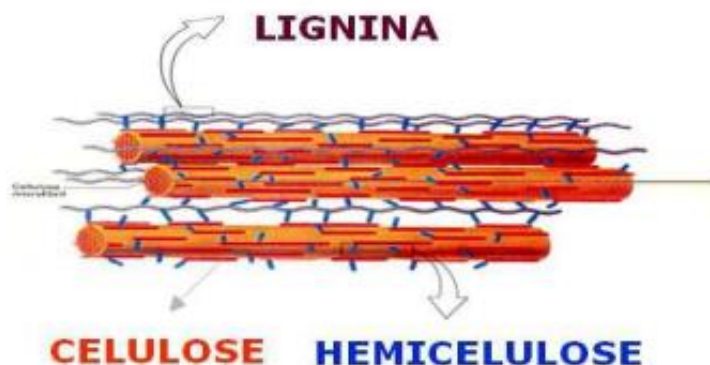


Figura 3 - Estrutura fisiológica da célula da grama.
Fonte: Pereira *et al* (2008).

3.5 PRÉ-TRATAMENTOS APLICADOS A SUBSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS

A aplicação do pré-tratamento tem como função o melhor aproveitamento da biomassa lignocelulósica através 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, 2015).

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, facilitando a biodigestão (SUN; CHENG, 2005) (Figura 4).

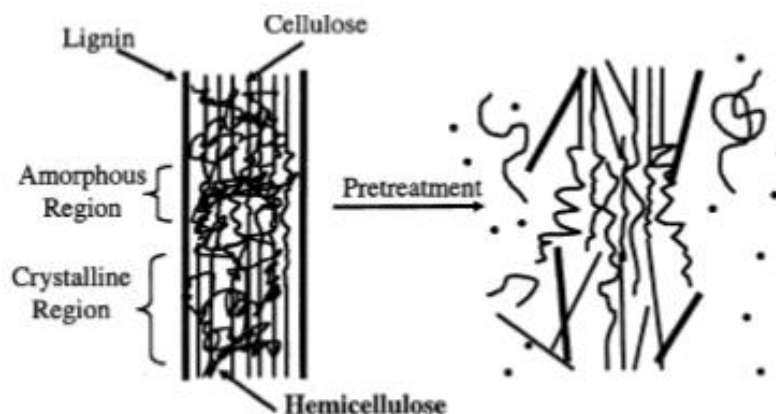


Figura 4 - Alteração estrutural da molécula devido ao emprego de pré- tratamentos.
Fonte: Mosier et al (2005).

3.5.1 Pré-tratamento 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 extrusão, moagem de discos, moagem de bolas, micro-ondas e *freeze pretreatment* (MOOD *et al.*, 2013).

O método de extrusão consiste no cisalhamento gerado entre os parafusos e as paredes de um cilindro, proporcionando tensão suficiente para triturar e moer a biomassa (HJORTH *et al.*, 2011). A utilização de extrusoras permite que o equipamento não precisa ser lavado após o seu uso, a ausência da produção de inibidores e efluentes, além da possibilidade de operar de forma contínua, o que se torna apropriado para indústrias (MORO, 2015).

A moagem de discos permite que discos girem em sentidos opostos para cisalhar e triturar a biomassa, reduzindo o tamanho das partículas e desfibrilando a biomassa. A eficiência do pré-tratamento varia de acordo com a distância entre os discos e a velocidade de rotação (SILVA *et al.*, 2013).

Já a moagem de bolas consiste em um tambor rotatório preenchido com biomassa e várias esferas em um meio úmido ou seco. O cisalhamento gerado entre

as esferas devido à rotação do tambor é responsável pela redução do tamanho das partículas e da cristalinidade, aumentando a sacarificação da celulose (SILVA *et al.*, 2013).

O pré-tratamento com micro-ondas utiliza a alta eficiência do aquecimento de um forno de micro-ondas e promove efeitos térmicos gerados por micro-ondas em ambientes aquosos. A radiação de micro-ondas gera um calor interno no substrato, resultante de vibrações das ligações polares na biomassa e do ambiente aquoso ao redor (SARKAR *et al.*, 2012).

3.5.2 Pré-tratamento 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 CHEN *et al* (2011), 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.

- Ácido

O pré-tratamento ácido pode ser conduzido em duas condições diferentes: utiliza-se ácido concentrado ou ácido diluído. A primeira não é tão atrativa quanto a segunda, pois apresenta diversos problemas como formação de inibidores, toxicidade, corrosão e necessidade de equipamentos resistentes (SINGH *et al.*, 2015). Já a segunda, utiliza ácido com concentração de ácido entre 0,1 e 2% (m.v⁻¹), costuma ser mais efetivo, pois apresenta menor degradação de açúcares e com isso menor formação de inibidores (BEHERA *et al.*, 2014).

Este tipo de método apresenta como desvantagem a etapa de neutralização da biomassa ao final do pré-tratamento, além de eliminar os inibidores formados. Essa etapa acrescenta custos ao processo e gera uma corrente de efluente líquida (SILVA *et al.*, 2013).

- Básico

Este tipo de pré-tratamento 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 (CHANG *et al.*, 1998). Além disso, o hidróxido de sódio apresenta um resultado mais eficiente em biomassas com teor baixo de lignina (10 a 18%) (ZHANG *et al.*, 2012).

3.5.3 Pré-tratamento biológico

Os pré-tratamentos biológicos normalmente utilizam fungos e algumas espécies de bactérias. Durante o processo, estes microrganismos secretam enzimas extracelulares como lignina peroxidases e lacases que ajudam a remover uma quantidade considerável de lignina da biomassa (OGEDA; PETRI, 2010).

A remoção da lignina torna a celulose mais acessível, favorecendo a etapa de hidrólise. Apesar de consumir pouca energia, o pré-tratamento biológico requer um tempo elevado para desconstrução da biomassa e apresenta custo elevado (MOOD *et al.*, 2013; BALAT *et al.*, 2008).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado utilizando amostra de grama proveniente da Usina Hidrelétrica Itaipu Binacional, localizada na Avenida Tancredo Neves, 6731, no município de Foz do Iguaçu - PR (Figura 5).



Figura 5 - Vista Aérea da Usina Hidrelétrica Itaipu Binacional
Fonte: Itaipu Binacional (2016)

A Itaipu Binacional ocupa o *ranking* mundial de maior produtora de energia limpa e renovável, tendo produzido mais de 2,4 bilhões de MWh desde o início de sua operação, em 1984. Com 20 unidades geradoras e 14.000 MW de potência instalada, a usina fornece cerca de 17% de energia consumida no Brasil e 76% no Paraguai (ITAIPU BINACIONAL, 2016).

A bacia hidrográfica em que a usina está situada possui 820.000 km² e fornece ao reservatório cerca de 29 bilhões de m³ de água, ocupando 170 km de extensão territorial. Já a barragem possui 196 metros de altura e 7,919 metros de comprimento (ITAIPU BINACIONAL, 2016).

Atualmente, a extensão territorial da hidrelétrica abriga o Parque Tecnológico Itaipu (PTI) e a Universidade Federal de Integração Latino-Americana (UNILA), no qual surgiram para impulsionar o desenvolvimento econômico, turístico, tecnológico e sustentável no Brasil e Paraguai (PARQUE TECNOLÓGICO ITAIPU, 2016).

Com relação à área de jardins e gramado, a usina possui 411 hectares de capim colômbio (*Panicum maximum*) e três espécies de grama, sendo 18% de grama Esmeralda (*Zoysia japônica*), 80% de grama Manteiga ou Santo Agostinho (*Stenotaphrum secundatum*) e 2% de grama São Carlos (*Axonopus compressus*).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

O substrato utilizado pertence à família das gramíneas (*Gramineae*), sendo uma das principais famílias na divisão das Angiospermas e da classe Monocotiledoneae, conhecida popularmente como grama. Elas possuem folhas lineares, flores nuas e as inflorescências são espigas, panículas e racemos (FONTANELI et al., 2012) (Figura 6).



Figura 6 - Grama Esmeralda (I), grama Santo Agostinho (II), grama São Carlos (III) e substrato in natura (IV)

A caracterização do substrato foi baseada em parâmetros físico-químicos de sólidos totais (ST), sólidos fixos (SF), sólidos voláteis (SV), fibras (celulose, hemicelulose e lignina) e nitrogênio total Kjeldahl (NTK) segundo as metodologias apresentadas no Quadro 2.

Parâmetro	Metodologia
Demanda Química de Oxigênio	APHA (2005) – 5220D
Sólidos totais (ST)	APHA (2005) – 2540B
Sólidos totais fixos (STF)	APHA (2005) – 2540E
Sólidos totais voláteis (STV)	APHA (2005) – 2540E
Fibras (Celulose, hemicelulose e lignina)	Van Soest (1965)
Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)	Malavolta et al. (1989)

Quadro 2 – Metodologias para caracterização das amostras.

4.3 CARACTERIZAÇÃO E ACLIMATAÇÃO DO INÓCULO

O inóculo utilizado para os testes de biodigestão anaeróbia em batelada foi cedido pelo Centro Internacional de Energias Renováveis – Biogás (CIBiogás), sendo composto por dois diferentes tipos de digestatos: lodo de biodigestor suíno, lodo biodigestor bovino e, ainda dejetos bovinos na proporção 1:0,5:0,5 em base úmida, respectivamente.

A mistura teve como objetivo iniciar o processo de aclimação do inóculo, agrupando diversas espécies de bactérias habituadas a degradar diferentes tipos de resíduos, visto que os lodos apresentam composições físico-químicas diferentes entre si (Quadro 1). Dessa forma a diversidade de bactérias presentes no inóculo estavam adaptadas a degradar maior variabilidade de resíduos.

Após a mistura de resíduos, o inóculo foi aclimatado com substratos ricos em proteínas, carboidratos, lipídios e resíduos lignocelulósicos, com o propósito de adaptar o inóculo a degradar componentes presentes nas amostras (Quadro 3). A caracterização do inóculo foi determinada a partir dos ST, SF e SV (Quadro 2).

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

Quadro 3 - Componentes de aclimatação do inóculo e suas proporções.

4.4 PRÉ-TRATAMENTO DO SUBSTRATO

- Pré-tratamento físico

Para a redução do diâmetro das partículas do substrato foi realizada a secagem em estufa (Fanem/320) por um período de 24 horas à 60°C, seguida de trituração (Figura 7). A amostra foi congelada a 4°C visando evitar a degradação.



Figura 7 - Substrato seco e triturado

- Pré-tratamento termoquímico

Para o preparo da solução alcalina com concentrações 1%, 3% e 5%, utilizou-se o NaOH (hidróxido de sódio). A proporção de solução e quantidade do substrato foi de 180 mL da solução para cada 23,4g de substrato (Figura 8).



Figura 8 – Solução alcalina com o substrato seco e triturado

De acordo com Shen *et al* (2014) utilizando como substrato o bambu é necessário obter uma quantidade de mistura (solução e substrato) suficiente para os testes em batelada e para a determinação das análises físico-químicas. Sendo assim, o valor da massa de substrato calculado na Equação 1 foi duplicado. A solução obtida foi armazenada em frascos de 250 mL, fechados e etiquetados (Figura 9) conforme a temperatura e concentração de cada tratamento (Quadro 4) (Figura 10).

Sigla	Identificação
T _a	Temperatura ambiente
T ₁	Temperatura à 100°C
A _g	Água
C ₁	Concentração à 1%
C ₂	Concentração à 3%
C ₃	Concentração à 5%

Quadro 4 – Identificação dos frascos.



Figura 9 - Frascos com amostras pré-tratadas

Na Figura 9 pode-se observar as amostras que foram preparadas para os ensaios. Os frascos identificados com temperatura de 100°C foram encaminhados para a estufa (Fanem/320) por um período de 12 horas. Já os demais frascos permaneceram em temperatura ambiente de 28 °C.

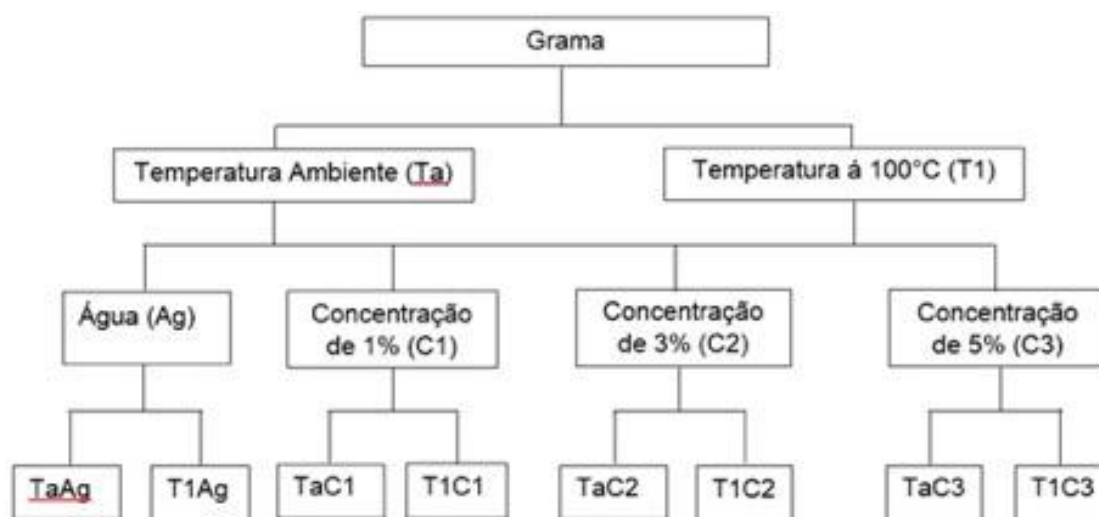


Figura 10 - Fluxograma de identificação dos pré-tratamentos

Após o processo térmico e alcalino, os frascos foram abertos e as amostras foram realocadas para recipientes de plástico, sendo congeladas em temperatura de 4°C por um período de 7 dias até a incubação. Para os parâmetros físico-químicos

foram utilizadas as metodologias de ST, SF, SV e demanda química de oxigênio (DQO) (Quadro 2).

4.4.1 Demanda Química de Oxigênio solúvel

Para a análise da Demanda Química de Oxigênio solúvel (Quadro 4) foram removidos aproximadamente 10 gramas da solução, antes de serem congeladas, filtradas em papel filtro de 150 mm (Unifil), umedecido previamente com água destilada (Figura 11).

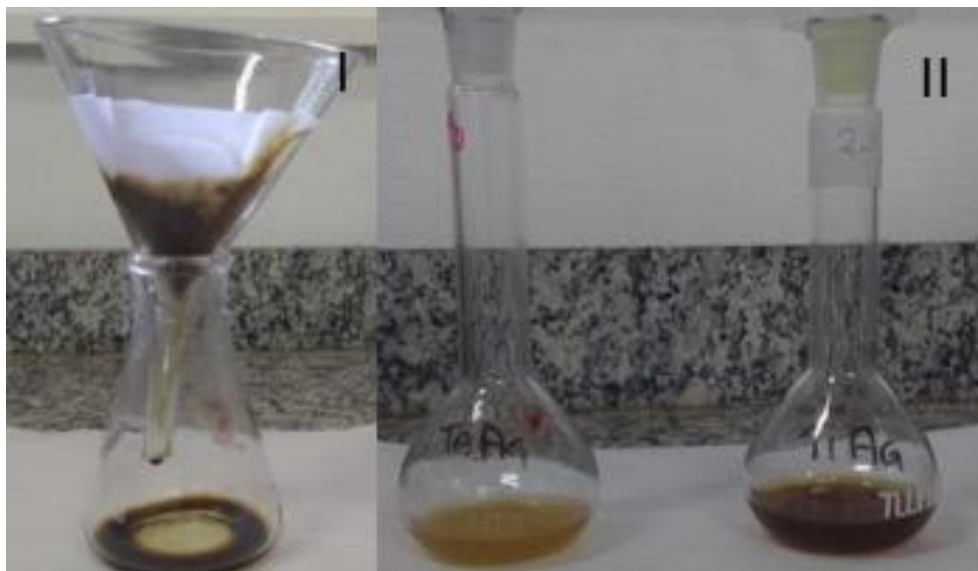


Figura 11 - Processo de filtração da amostra (I) e líquido filtrado (II)

Devido à elevada quantidade de matéria orgânica presente no líquido filtrado, foram realizadas diluições conforme o Quadro 5 e a determinação da DQO foi realizada com as soluções diluídas.

Amostra	Diluição
T _a A _g	1:50
T _a C ₁	1:100
T _a C ₂	1:400
T _a C ₃	1:600
T ₁ C ₁	1:100
T ₁ C ₂	1:200
T ₁ C ₃	1:600

Quadro 5 – Diluição das amostras pré-tratadas.

4.5 POTENCIAL METANOGÊNICO ESPECÍFICO

A identificação do Potencial Metanogênico Específico (PME) dos resíduos foi realizada por meio de biodigestão anaeróbia conforme a norma VDI 4630 (2006) (Figura 12).

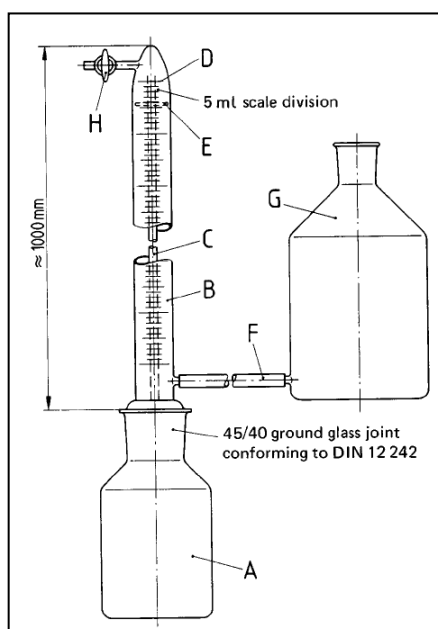


Figura 12 - Representação esquemática de reator e eudiômetros.

Na Figura 12 pode-se observar, esquematicamente, o eudiômetro e os componentes utilizados para a realização dos testes de PME, onde:

A: Reator (250 mL);

B: Tubo eudiômetro (500mL);

C: Tubo de conexão de gás;

D: Marca zero;

E: Pinos ou espaçadores para fixação, ou conexão entre a casca do tubo do eudiômetro e o tubo de ligação;

F: Mangueira de Conexão;

G: Reservatório de Nivelamento, de acordo com a DIN 12037 – K1;

H: Bloqueio da para vazão da torneira, de acordo com a DIN 12541 – EM 3;

Cada unidade amostral foi composta por um reator de volume 250 mL, sendo 95 mL de *headspace*, um tubo eudiômetro de volume igual a 500 mL e um recipiente responsável por armazenar o volume de líquido deslocado. Para a montagem e incubação das amostras foi necessário atender parâmetros estabelecidos pela norma VDI 4630 (Quadro 6).

Parâmetros	VDI 4630	Unidade
ST no reator	≤ 10,0	%
SV no reator	1,5 a 2,0	%
SV _{amostra} /SV _{inóculo}	≤ 0,5	%

Quadro 6 - Especificações segundo a VDI 4630.

De acordo com o resultado obtido na análise de SV do substrato foi calculada a quantidade de substrato para cada eudiômetro levando em consideração a razão de 1 grama de SV pela quantidade de SV do substrato (Equação 1).

$$\text{Massa do substrato (g)} = \frac{1 \text{ g de STV}}{\text{quantidade de STV/g}} \quad \text{Equação (1)}$$

Para a avaliação do PME foi realizada a incubação das amostras de grama juntamente com 200 mL de inóculo aclimatado, por um período de 30 dias e atendendo

aos parâmetros físico-químicos recomendados, como: pH, temperatura mesofílica e tamanho da partícula. O volume de biogás gerado foi quantificado nos tubos eudiômetros por meio do volume de solução barreira deslocada. Esta solução apresenta caráter ácido, garantindo assim que o biogás não se solubilize em água.

A solução barreira foi preparada com base na norma DIN 38414 (1985), em que para cada 1 L de água destilada foi adicionado 30 mL de H₂SO₄, 88,21g de Na₂SO₄ e 3 gotas de alaranjado de metila.

Segundo a norma DIN 38414 a solução barreira deve ser armazenada em temperatura ambiente devido a cristalização do sódio, sendo necessário o aquecimento da solução para a solubilização dos cristais.

O volume de biogás gerado foi registrado diariamente em planilhas físicas, buscando realizar as leituras sempre nos mesmos horários, valores referentes à temperatura ambiente e pressão atmosférica também foram anotados, com o objetivo de padronizar posteriormente o volume de biogás. Os dados de temperatura ambiente em °C foram convertidos em Kelvin ($K = °C + 273,15$). A padronização do volume de biogás gerado é realizada a partir da Equação 2.

$$V_0 = V \cdot \frac{(P_L - P_W) \cdot T_0}{P_0 \cdot T} \quad \text{Equação (2)}$$

Em que:

V_0 = volume de biogás padronizado, mL;

V = volume de biogás registrado no eudiômetro; mL;

P_L = pressão atmosférica no momento do registro, mbar;

P_W = pressão de vapor da água, mbar;

T_0 = temperatura padronizada, $T_0 = 273$ K;

P_0 = pressão padronizada, $P_0 = 1.013$ mbar;

T = temperatura ambiente, K.

De acordo com Strömberg, Nistor e Liu (2014), o vapor de água gera valores superestimados entre 2-8% do volume do biogás em condições normais de temperatura e pressão. Assim, a pressão de vapor (P_w) foi considerada visando obter medidas precisas de produção de biogás. Devido à medição do biogás ocorrer em

temperatura ambiente, esta foi considerada como a temperatura do gás e não a temperatura dentro do reator. O cálculo da pressão de vapor de água pode ser realizado a partir da Equação 3 (Equação de Antoine).

$$P_W = 10^{8,1962 - \frac{1730,63}{T - 39,724}} \quad \text{Equação (3)}$$

4.4.2 Análise da composição do biogás

A análise da composição do biogás foi realizada por meio de cromatografia gasosa (Cromatógrafo PerkinElmer - Clarus 680) (Figura 13).



Figura 13 - Cromatógrafo PerkinElmer Clarus 680.

Os teores de metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e sulfeto de hidrogênio (H_2S) foram obtidos a partir da conversão das áreas estabelecidas nos cromatogramas em comparação com as áreas de biogás de concentração conhecida (biogás padrão).

Para isso o biogás padrão presente em cilindro de gás foi transferido para um balão de ar, visando igualar a pressão do gás com a pressão atmosférica para minimizar erros. Posteriormente foram transferidos 0,5 mL de biogás padrão para uma

seringa de vidro (Figura 14) sempre tomando cuidado para que não ocorra a entrada de ar.

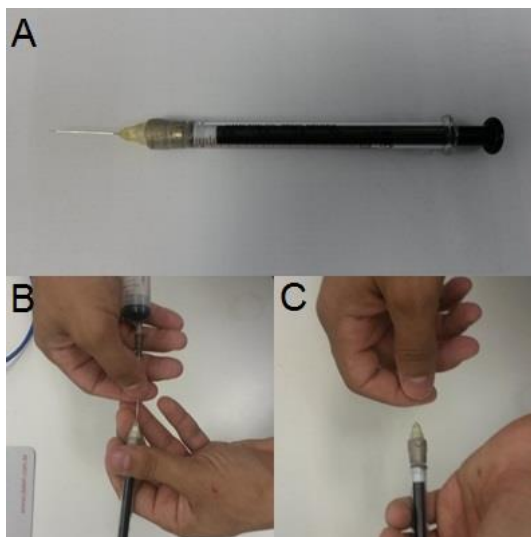


Figura 14 - Seringa de vidro gastight (A), transferência (B) e vedação do ar da seringa (C).

A seringa de vidro foi então posicionada no leitor cromatógrafo e todo o volume presente na mesma foi injetado todo durante a contagem regressiva de 5 segundos no equipamento. O mesmo procedimento ocorreu para a leitura das amostras e o valor final foi correlacionado com os valores de áreas do cromatograma do biogás padrão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

O teor de ST da amostra de grama bruta foi de 91,2% (Tabela 1). Valor próximo de 91,7% foi encontrado por Mizubuti et al., (2006), ao caracterizar a grama esmeralda para produção de feno.

Tabela 1 – Teor de sólidos do substrato

Parâmetro	Valor	Unidade
ST	91,24	%
SV	92,24	% ST
SF	8,76	% ST

Uma amostra com teor de ST acima de 10% se torna indesejável para o processo biológico, uma vez que se faz necessário acrescentar água ou um co-substrato líquido que seja capaz de diluir os sólidos presentes.

Já o teor de SV da grama foi de aproximadamente 92%, indicando potencial para produção de biogás. Segundo a ONUDI (2013), a produção diária de biogás depende dos teores de SV, uma vez que estes representam a parte de ST capazes de serem biodegradáveis e convertidos em biogás desde que o teor de fibras seja relativamente baixo.

Analisando o teor de celulose, hemicelulose e lignina (Tabela 2), observou-se que 10,7% do substrato é denominado matéria não digerível em condições anaeróbias, o que pode ser explicado por sua estrutura rígida e complexa quando comparado à celulose e hemicelulose.

Tabela 2 – Teor de fibras da amostra

Componente	Valor	Unidade
Celulose	33,8	% ST
Hemicelulose	24,0	% ST
Lignina	10,7	% ST

Valores semelhantes foram encontrados por Shen et al., (2014), utilizando como substrato o bambu, indicou 36% celulose e 18% de lignina. Já Minmunim et al., (2015), reportou para o capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) teores de 24% de hemicelulose e 8% de lignina.

Com relação a análise de NTK, a grama bruta indicou teor de 1,82%. Para Godoy et al., (2012), este é o nutriente exigido em maiores quantidades pelas gramas devido a sua presença em biomoléculas como proteínas, ácidos nucléicos e hormônios, sendo encontrado em altas concentrações (2 a 5%) nas folhas das gramas.

Dividindo o valor do teor de SV (92,24%) da grama bruta pelo fator de conversão (1,8) obtém-se o teor de carbono orgânico (CO) de 28%. Através da divisão de CO por NTK é possível estabelecer a relação C/N da amostra de 15/1, o que se aproxima do valor encontrado para a grama na literatura (Quadro 1).

Sabendo que a relação C/N indica o grau de suscetibilidade que um substrato possui para ser biodegradado levando em consideração uma relação equilibrada entre carbono e nitrogênio, o valor encontrado para a grama bruta indica que esse substrato apresenta baixa relação (<20). Sendo assim, a falta de carbono pode provocar o desenvolvimento excessivo de microrganismos e conseqüentemente a produção de substâncias tóxicas.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO

O teor de ST do inóculo apresentou 3,9% (Tabela 3). De acordo com a norma VDI 4630 (2006) recomenda-se para a biodigestão anaeróbia o teor de ST de até 10%.

Segundo Hasan (2016), valores superiores ao recomendado pela norma VDI 4630 podem comprometer a eficiência do reator, devido a assimilação das bactérias com a matéria sólida, além de proporcionar o desenvolvimento de crostas.

Tabela 3 – Teor de sólidos do inóculo

Parâmetro	Valor	Unidade
ST	3,90	%
SV	67,60	% ST
SF	32,40	% ST

Entretanto a relação de SV do substrato por SV do inóculo (Tabela 3) apresentou 0,13%, o que indica conformidade com a norma VDI 4630 (2006) (Quadro 3). Segundo a ONUDI (2013), o teor de SV representa o teor teórico de biogás a ser produzido. Devido a isto o teor de SV do inóculo deve ser pelo menos 50% inferior ao valor do SV do substrato, pois o inóculo não deve apresentar alto valor de biogás.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE GRAMA PRÉ-TRATADAS COM SOLUÇÃO ALCALINA

Os resultados de ST, SF e SV (Anexo A) apresentaram influência significativa da concentração de NaOH (Figura 15 e 16).

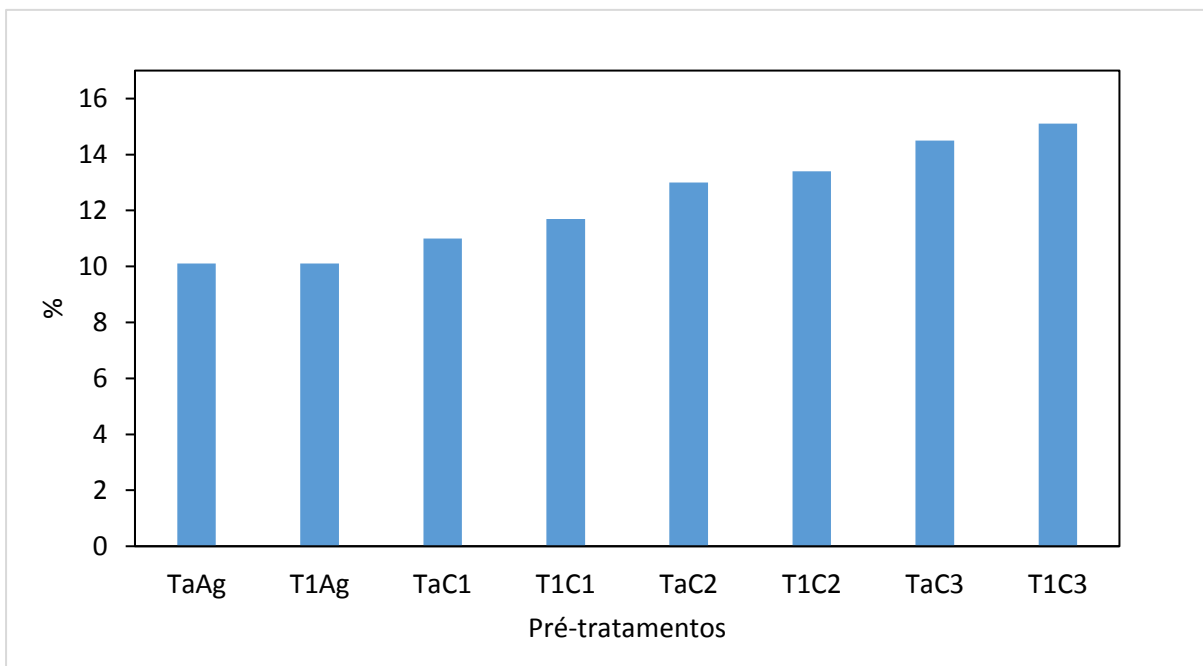


Figura 15 - Teor de sólidos totais das amostras submetidas ao pré-tratamento

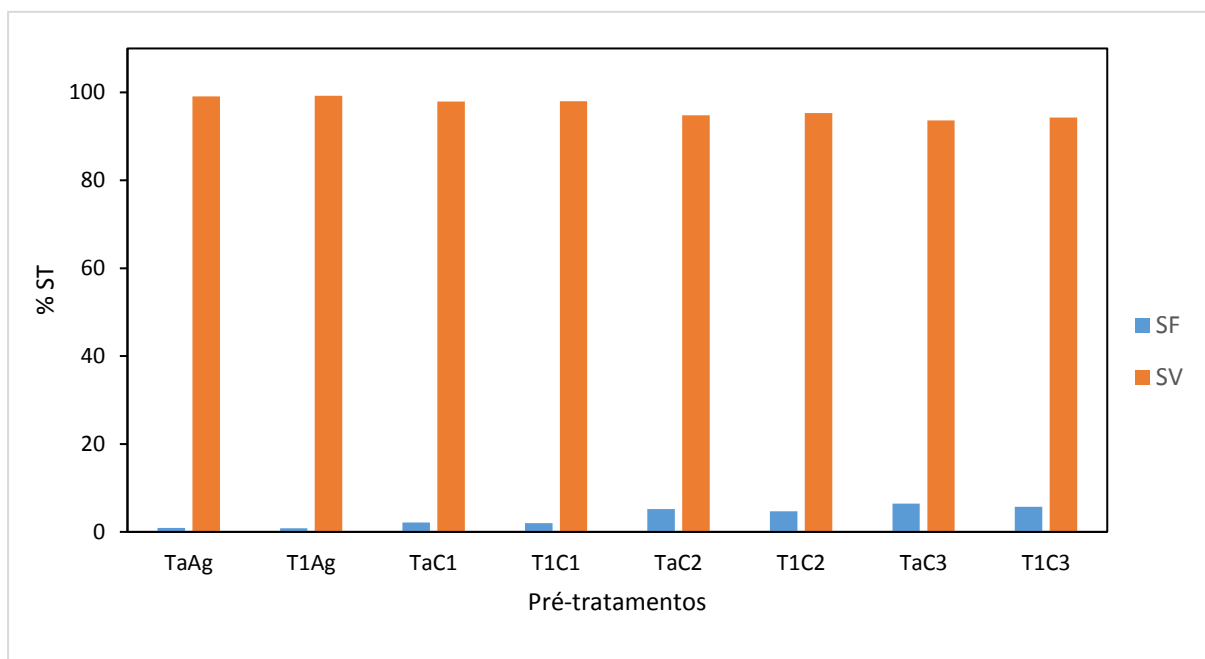


Figura 16 - Teor de sólidos fixos e voláteis das amostras submetidas ao pré-tratamento.

Com base nos gráficos é possível ver que tanto os ST (Figura 15) quanto os SF e SV (Figura 16) crescem de acordo com o aumento da concentração da solução alcalina. Tal comportamento pode ser explicado devido ao elevado ponto de ebulição do NaOH (1.388°C), que por sua vez não evapora quando submetidos a 105°C e

550°C.

Já os dados de DQO solúvel (DOQs) indicaram influência significativa ($p < 0,05$) (Tabela 4) da temperatura e da concentração de NaOH na solubilidade da matéria orgânica (Figura 17).

Tabela 4 – Análise de DQOs para cada pré-tratamento e resultados do teste de comparação de médias de Tukey com $p < 0,05$

Pré-Tratamento	Valor (mg L^{-1})	DV
T _a A _g	465 a	$\pm 32,3$
T _a C ₁	559 a	$\pm 55,4$
T ₁ A _g	540 a	0
T _a C ₂	979 b	± 110
T _a C ₃	868 b	$\pm 55,4$
T ₁ C ₁	1620 c	$\pm 36,9$
T ₁ C ₂	1779 c	$\pm 184,5$
T ₁ C ₃	1938 c	$\pm 221,4$

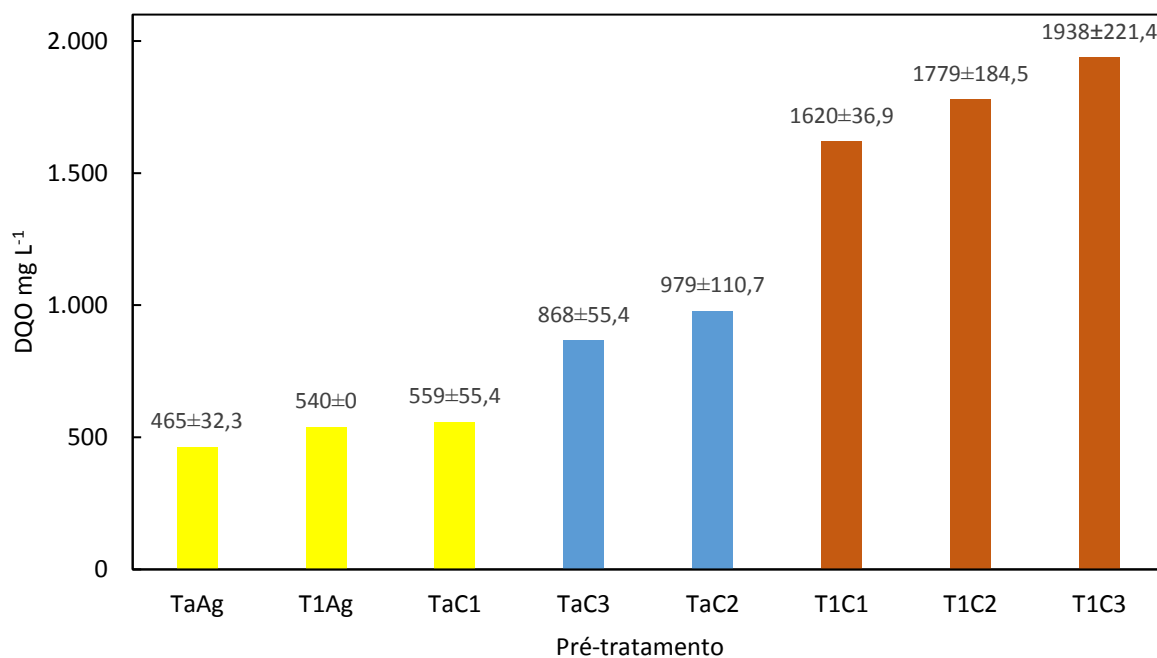


Figura 17 - Análise de DQOs para cada pré-tratamento.

Observou-se que o aumento da temperatura nos pré-tratamentos com água

(T_aA_g e T₁A_g) não apresentou diferença significativa na concentração de DQOs. O mesmo ocorreu com o pré-tratamento com temperatura ambiente e concentração à 1% (T_aC₁).

Os pré-tratamentos T_aC₂ e T_aC₃ apresentaram diferença significativa na solubilização da matéria orgânica com a adição de NaOH. Entretanto, quando comparados com o pré-tratamento (T_aC₁, T_aA_g e T₁A_g) nota-se o aumento da DQOs devido a maior concentração de NaOH.

Já os pré-tratamentos T₁C₁, T₁C₂ e T₁C₃ não apresentaram diferença significativa entre si, mas obtiveram maiores taxas de solubilização da matéria orgânica quando comparada com os demais pré-tratamentos.

Por fim, a influência da temperatura com o aumento da concentração (5%) apresentou o maior valor para a DQO solúvel (T₁C₃), o que pode ser explicado pela solubilização da celulose e hemicelulose.

5.4 POTENCIAL METANOGÊNICO ESPECÍFICO

Durante o período de incubação, foi realizada a validação do inóculo por meio de testes controle, utilizando celulose microcristalina (CC), onde a mesma obteve média de produção específica igual a 632 mL_N.gSV⁻¹ (Figura 15). Angelidaki et al., (2009), afirmam que os testes controle expressam a resposta do inóculo em relação ao substrato padrão utilizado. Segundo a norma VDI 4630 para que o inóculo seja considerado apto ao uso, o mesmo deve atingir ao menos 80% do valor de biogás de referência para a CC, que é de 740 – 750 mL_N.gSV⁻¹

Com relação aos pré-tratamentos foi possível observar que a produção do T_aA_g foi superior quando comparada com a grama bruta. Esse aumento pode ser explicado devido a água solubilizar a grama, proporcionando maior contato com as bactérias. Segundo Karlsson *et al.*, (2014), a redução na granulometria do substrato acarreta no aumento da solubilidade e, conseqüentemente a disponibilidade de material orgânico (Figura 18).

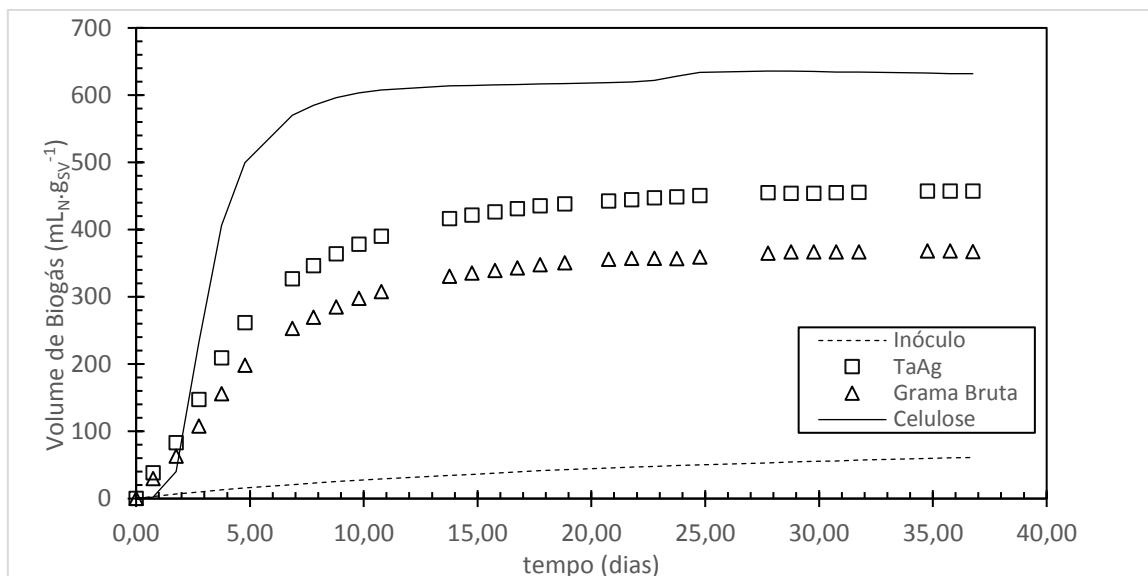


Figura 18 - Produção específica de biogás do inóculo, celulose microcristalina, T_aA_g e grama bruta.

A produção de biogás do T_aC₁ quando comparada com a grama bruta foi 39,84% superior, porém quando comparada ao T₁C₁ não apresentou valores significativos, logo, presumisse que o acréscimo de temperatura para este tratamento não influenciou positivamente a produção de biogás (Figura 19).

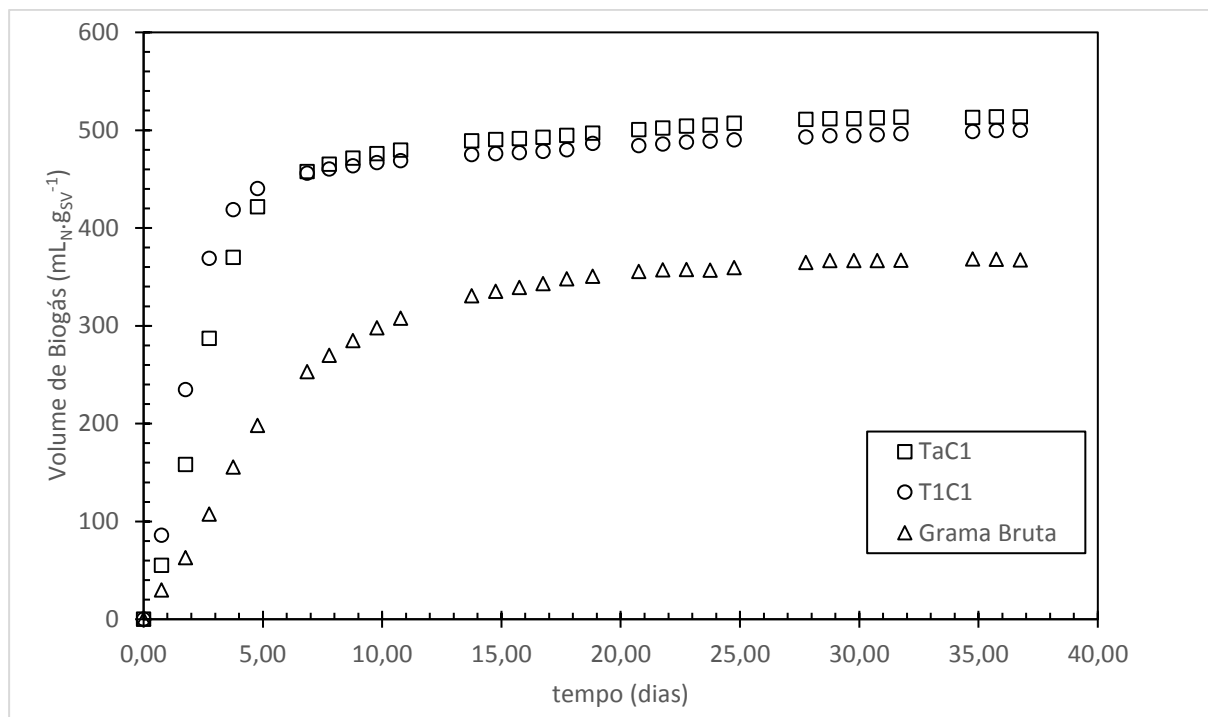


Figura 19 - Produção específica da amostra de grama bruta e pré-tratamentos T_aC₁ e T₁C₁.

O mesmo ocorre para os pré-tratamentos T_aC₂ e T₁C₂, devido a produção de biogás em temperatura ambiente ser maior quando comparada com a produção específica do T₁C₂. Ambos os pré-tratamentos obtiveram valores maiores se comparados com a grama bruta, porém o T_aC₂ apresentou 14,83% a mais de biogás em relação ao T₁C₂, com valor de 619 mL_N.gSV⁻¹, próximo ao obtido pela celulose. (Figura 20).

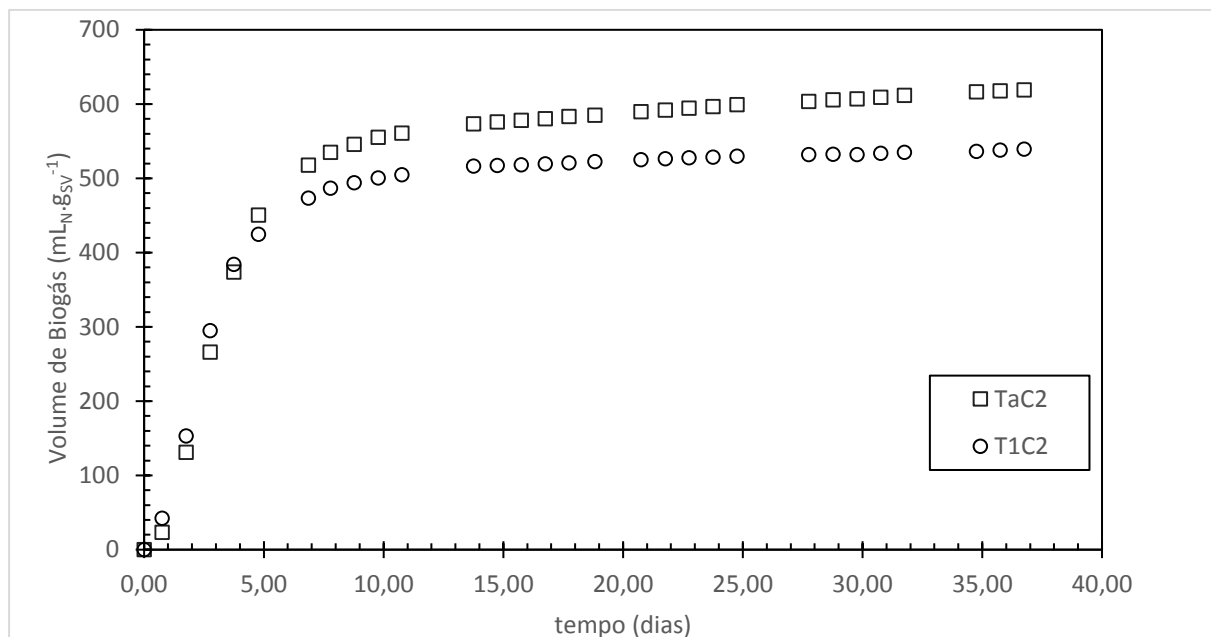


Figura 20 - Produção específica das amostras pré-tratadas T_aC₂ e T₁C₂.

Assim como nos pré-tratamentos envolvendo as concentrações 1 e 2, a concentração 3 também apresentou valor específico de biogás inferior quando submetido a temperatura à 100°C. Porém os pré-tratamentos T_aC₃ e T₁C₃ apresentaram valores próximos, sendo o T_aC₃ 5,19% superior ao T₁C₃. Além disso, a produção específica de biogás dos pré-tratamentos e da grama bruta foram próximas, sendo o T_aC₃ 19,28% superior a mesma (Figura 21).

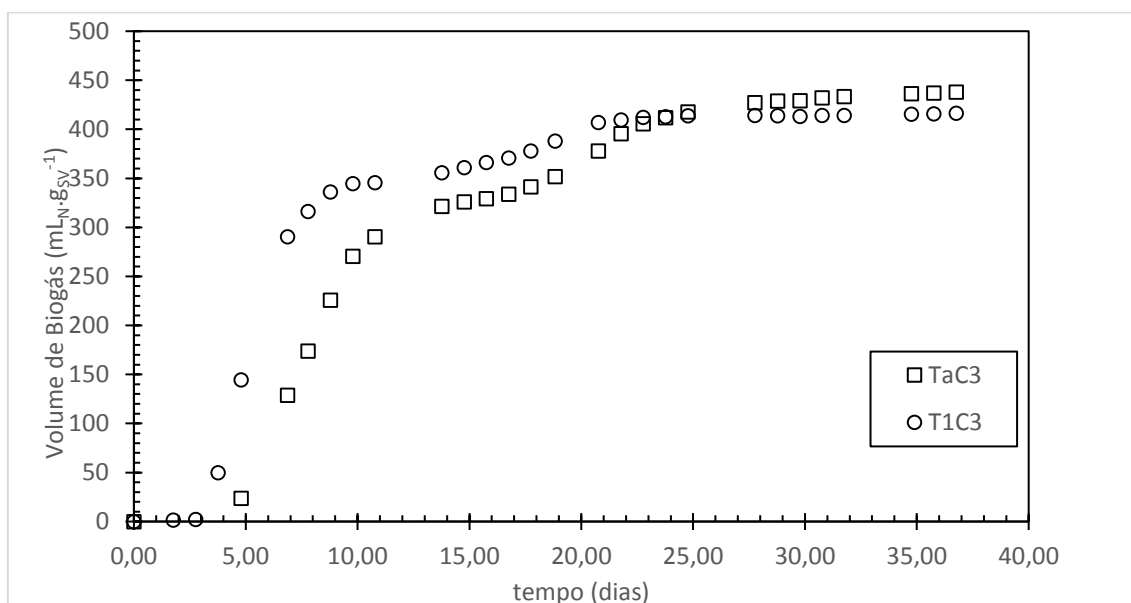


Figura 21 - Produção específica das amostras pré-tratadas T_aC₃ e T₁C₃

Em todos os pré-tratamentos a temperatura à 100°C atuou como catalisador para a produção de biogás, não auxiliando no acréscimo de volume de biogás, mas sim na velocidade da biodigestão. Quiao et al., (2011), diz que após 14 dias a curva da biodigestão se torna suave, indicando que os componentes biodegradáveis foram digeridos.

Ao final de cada teste os valores referentes a temperatura ambiente foram sempre maiores aos valores de temperatura a 100°C. Isso se deve ao fato de que a grama ao ser submetida a altas temperaturas libera um antioxidante chamado de polifenol, que atua como limitante ao processo de biodigestão anaeróbia.

Para Faller (2008), os polifenóis são subdivididos em classes conforme a estrutura química de cada substância. Entre eles estão presentes: O ácido clorogênico, os estilbenos, as cumarinas, os flavonóides e as ligninas, sendo o último composto o maior e mais estudado, apresentando mais de 5000 compostos identificados.

5.5 COMPOSIÇÃO DO BIOGÁS

Neste item são apresentados dados da composição de biogás referente a cada pré-tratamento (Tabela 5).

Tabela 5 - Composição de CH₄ referente a cada pré-tratamento.

Pré-Tratamento	Metano (%)	CV (%)
Grama Bruta	31	-
Inóculo	28	23
T _a A _g	34	12
T _a C ₁	21	16
T _a C ₂	55	5
T _a C ₃	60	5
T ₁ A _g	57	1
T ₁ C ₁	54	2
T ₁ C ₂	52	3
T ₁ C ₃	69	4

O teor de CH₄ obteve maior produção nos pré-tratamentos aplicados a temperatura à 100°C, exceto o pré-tratamento T_aC₂ que obteve 55% de CH₄ em relação ao T₁C₂ (52% de CH₄). Valores opostos foram encontrados no estudo de Shen et al. (2013), em que o mesmo afirma que teores de CH₄ obtidos por meio de hidrólise enzimática auxiliada pelo tratamento alcalino à 121°C foram significativamente mais baixos do que teores de CH₄ das amostras contendo apenas tratamento alcalino.

A produção de metano obtida neste estudo foi maior para o T₁C₃ (69%), porém o pré-tratamento T_aC₂ apresentou maior volume específico de metano (340 mL_NCH₄.gSV⁻¹), sendo superior ao valor do pré-tratamento alcalino de Shen et al. (2013), que apresentou 300,3 ± 4,7 mL_NCH₄.gSV⁻¹ (Quadro 7).

Pré-Tratamento	CH₄ (mL_N.gSV⁻¹)
Grama Bruta	114 ± 7,37
Inóculo	17 ± 1,12
TaAg	155 ± 23,66
TaC1	108 ± 8,68
TaC2	340 ± 5,89
TaC3	263 ± 21,12
T1Ag	246 ± 14,41
T1C1	270 ± 5,60
T1C2	280 ± 6,74
T1C3	287 ± 16,95

Quadro 7 - Produção específica de CH₄ de cada pré-tratamento.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho constatou a influência na produção de biogás, a partir de resíduos de grama, ao ser submetida aos pré-tratamentos térmico e químico.

Os valores de DQO solúvel indicaram que o aumento da solubilidade foi proporcional ao aumento de NaOH e temperatura sendo o maior valor obtido para o tratamento T₁C₃ com 1938±221,4 mg.L⁻¹. Este valor indica que parte da lignina residual foi quebrada, proporcionando que a celulose e hemicelulose fossem solubilizadas.

Os valores de volume produzido de biogás foram superiores em todos os pré-tratamentos submetidos à temperatura ambiente. Isso se deve ao fato de que resíduos lignocelulósicos liberam antioxidantes chamados de polifenóis, quando submetidos à altas temperaturas, inviabilizando assim o pré-tratamento térmico, que por sua vez auxiliou apenas na velocidade de degradação. A maior produção específica de biogás foi para o tratamento T_aC₂ com 340 mL_NCH₄.gSV⁻¹, 13% superior ao valor encontrado por Shen *et al.* (2013).

Recomenda-se em trabalhos futuros o aumento da variabilidade da temperatura, visando assim saber a temperatura ótima para o pré-tratamento, sem que haja a influência dos polifenóis. É aconselhado também a utilização de diferentes tipos de pré-tratamentos químicos, como por exemplo a variação de ácidos e bases.

Por fim o presente estudo obteve como melhor resultado para a produção de CH₄ o tratamento T_aC₂, sendo tecnicamente viável devido a ausência do pré-tratamento térmico, o que não acarreta em gastos com energia para o aquecimento.

REFERÊNCIAS

ABREU, E. F. Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores UASB. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, 2007.

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 wastes 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, 2005. 1368 p.

ARANTES, V.; SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. *Biotechnology of Biofuels*, v. 3, ed. 4, p. 2 – 11, London, 2010.

Balanço Energético Nacional 2016: Ano base 2015 / Empresa de Pesquisa Energética. – Rio de Janeiro : EPE, 2016.

CASTRO, H.F. Papel e Celulose. Lorena: Escola de Engenharia de Lorena, 2009. 30 p.

CHERNICHARO, C.A.L. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Reatores anaeróbios. 5 v. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1997.

COELHO, S. J.; PÁDUA, T. Formação de gramado com grama batatais (*Paspalum notatum* Fluggé), a partir de diferentes tipos de muda. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 21, n. 2, p. 160-166, 1997.

COLDEBELLA, A.; SOUZA, S. N. M.; FERRI, P.; KOLLING, E. M. Viabilidade da geração de energia elétrica através de um motor gerador utilizando biogás da suinocultura. *Projeto Saber*, Cascavel, n. 2. Vol. 12. 2008.

CREMONEZ, P.A.; FEIDEN, A.; ZENATTI, D.C.; CAMARGO, M.P.; NADALETI, W.C.; ROSSI, E.; ANTONELLI, J. Biodigestão anaeróbia no tratamento de resíduos lignocelulósicos. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, v. 2, p. 21-35, 2013.

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

DING, S.Y.; HIMMEL, M.E. The maize primary cell wall microfibril: a new model derived from direct visualization. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 54, p. 597-606, Washington, 2006.

FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. *Revista Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 2009.

FONTANELI, R.S.; SANTOS, H.P.; FONTANELI, R.S. Forrageiras para integração lavoura-pecuária-floresta na região sul-brasileira. Brasília: Embrapa. Ed.2, 544 p. 2012.

GALBIATTI, J.A.; CAMELO, A.D.; SILVA, F.G.; GERARDI, E.A.B.; CHICONATO, D.A. Estudo quali-quantitativo do biogás produzido por substratos em biodigestores tipo batelada. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 14, nº4, Campina Grande, 2010.

GUSMÃO, M. M. F.; CUNHA, C. Produção de biogás em diferentes sistemas de

criação de suínos em Santa Catarina. Maria Margarida Falcão e Cunha de Campos Gusmão – Florianópolis: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, 2008. 170 f.

KARLSSON, T.; KONRAD, O.; LUMI, M.; SCHMEIER, N.P.; MARDER, M.; CASARIL, C.E.; KOCH, F.F.; PEDROSO, A.G. Manual básico de biogás. Editora Univates, p. 69. Lajeado – RS, 2014.

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

MANOCHIO, C. Integração energética da produção de biogás em biorrefinarias de cana-de-açúcar integradas de 1ª e 2ª geração. Dissertação de Mestrado. Ciência e Engenharia Ambiental, 73 f. Poços de Caldas, 2015.

MINMUNIN, J.; LIMPITIPANICH, P.; PROMWUNGKWA, A. Delignification of elephant grass for production of cellulosic intermediate. Energy Procedia, v. 75, p. 220- 225, 2015.

MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.B.; RIBEIRO, E.L.A.; PEREIRA, E.S.; ARRUDA, A.M.V.; ROCHA, M.A.; FILHO, J.M.; PINTO, A.P.; SALMAZO, R. CASIMIRO, T.R.; ALVES, T.C. Degradabilidade ruminal dos fenos de aveia (*Avena sativum* L), Coast cross (*Cynodon dactylon* L.), e grama Esmeralda (*Joysia japonica*) peletizado ou não. Ciências Agrárias, v. 27, n. 2, p. 307- 314, 2006.

OGATA, B.H. Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”. 180 p. Piracicaba, 2013.

ONUDI - OBSERVATÓRIO DE ENERGIAS RENOVÁVEIS PARA A AMÉRICA LATINA E O CARIBE. Programa de capacitação em energias renováveis: O biogás. 2013.

PENEDO, W.R. Usa da madeira para fins energéticos. Belo Horizonte. Fundação CETEC, 1980.

PHILIPP, P. D'ALMEIDA, M.L. Celulose e papel. Tecnologia de fabricação da pasta celulósica. Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. v.1. ed. 2. São Paulo, 1988.

QIAO, W; YAN, X; YE, J; SUN, Y; WANG, W; ZHANG, Z. Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pretreatment. *Renewable Energy*, v.36, p. 3313- 3318, 2011.

QUIRINO, W.F. Utilização energética de resíduos vegetais. Brasília, Laboratório de Produtos Florestais - LPF/IBAMA, 14p., 2003.

RABELLO, S.C. Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química. Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas. 150 p. Campinas, 2007.

ROSA, S. S. da; GARCIA, J. L. F. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. *Revista do BNDES*, n. 32, p. 119-150, 2009.

ROWELL, R.M.; PETTERSEN, R.; HAN, J.S.; ROWELL, J.S.; TSHABALALA, M.A. Cell wall chemistry. Livro *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*. Editado por Roger M. Rowell. Editora Taylor & Francis Group. New York, 2005.

SANTOS, C.P.; REIS, I.N.; MOREIRA, J.E.B.; BRASILEIRA, L.B. Papel: como se fabrica? Revista Química Nova na Escola. Sociedade Brasileira de Química, n.14, novembro, 2001.

SANTOS, I.D. Influência dos teores de lignina, holocelulose e extrativos na densidade básica, contração da madeira e nos rendimentos e densidade do carvão vegetal de cinco espécies lenhosas do cerrado. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal. Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais. p. 92. Brasília – DF, 2008.

SEIXAS, J.; FOLLE, S.; MACHETTI, D. Construção e funcionamento de biodigestores. Brasília: Embrapa-DID, Embrapa-CPAC, p. 60, 1980.

SHEN, S; NGES, I.A; YUN, J.; LIU, J. Pre-treatments for enhanced biochemical methane potential of bamboo waste. Chemical Engineering Journal, v.240, p. 253-259. 2014.

SOUZA, M.M. de; DA SILVA, D.A.; ROCHADELLI, R.; SANTOS, R.C. Estimativa de poder calorífico e caracterização para uso energético de resíduos da colheita e do processamento de Pinus taeda. FLORESTA. v.42, n.2, p.325-334. Curitiba, 2012.

SUN, Y.; CHENG, J.J. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethaol production. Bioresource Technology, v.96, p.1599-1606. 2005.

VDI - VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE. VDI 4630: Fermentation of organic materials Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. Düsseldorf, 2006.

ANEXO A – Teor de Sólidos das amostras pré-tratadas**Tabela 6 – Teor de sólidos das amostras pré-tratadas**

Pré - tratamento	ST (%)	SF (% ST)	SV (% ST)
T _a A _g	10,1	0,9	99,1
T _a C ₁	11,0	2,1	97,9
T _a C ₂	13,0	5,2	94,8
T _a C ₃	14,5	6,4	93,6
T ₁ A _g	10,1	0,8	99,2
T ₁ C ₁	11,7	2,0	98,0
T ₁ C ₂	13,4	4,7	95,3
T ₁ C ₃	15,1	5,7	94,3