

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - CAMPUS CASCAVEL**

**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**PRÉ-TRATAMENTOS FÍSICO-QUÍMICOS E DIGESTÃO ANAERÓBIA DA PALHA DE**

**SORGO SACARINO (*Sorghum bicolor* L. Moench)**

**EDUARDO DE ROSSI**

**CASCAVEL – PARANÁ – BRASIL  
FEVEREIRO – 2019**

**EDUARDO DE ROSSI**

**PRÉ-TRATAMENTOS FÍSICO-QUÍMICOS E DIGESTÃO ANAERÓBIA DA PALHA DE  
SORGO SACARINO (*Sorghum bicolor* L. Moench)**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Engenharia Agrícola, para obtenção do título de Doutor, área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Hermínia Ferreira Tavares.

Co-orientadores: Prof. Dr. Joel Gustavo Teleken  
Prof. Dr. Reinaldo Aparecido Bariccatti

CASCADEL – PARANÁ – BRASIL  
FEVEREIRO - 2019

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste<sup>1</sup>.

Rossi, Eduardo de Pré-tratamentos físico-químicos e digestão anaeróbia da palha de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) / Eduardo de Rossi; orientador(a), Maria Herminia Ferreira Tavares; coorientador(a), Joel Gustavo Teleken, coorientador(a)II, Reinaldo Aparecido Bariccatti, 2019. 125 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2019.

1. Biodigestão. 2. Pré-tratamento . 3. Lingnocelulose. 4. Físico-químico. I. Tavares, Maria Herminia Ferreira . II. Teleken, Joel Gustavo. III. Bariccatti, Reinaldo Aparecido. IV. Título.

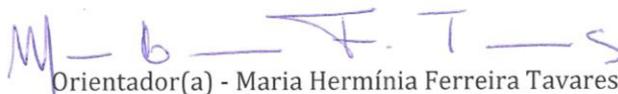
---

<sup>1</sup> Revisora do português, inglês e normas de monografias do PGEAGRI: Dhandara Capitani.

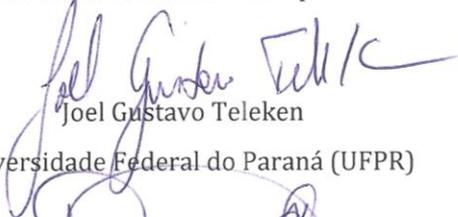
## EDUARDO DE ROSSI

Pré-tratamentos físico-químicos e digestão anaeróbia da palha de sorgo sacarino  
(*Sorghum bicolor* L. Moench)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, linha de pesquisa Saneamento Ambiental, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

  
Orientador(a) - Maria Hermínia Ferreira Tavares

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

  
Joel Gustavo Teleken

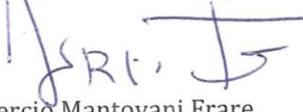
Universidade Federal do Paraná (UFPR)

  
Divair Christ

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

  
Simone Damasceno Gomes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

  
Laercio Mantovani Frare

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

Cascavel, 14 de fevereiro de 2019.

## **BIOGRAFIA RESUMIDA**

Eduardo de Rossi, nascido em 17 de março de 1989, natural de Pato Branco, PR. Técnico em Meio Ambiente pela Universidade Federal do Paraná – UFPR, Setor Palotina (2010); Graduado em Tecnologia em Biocombustíveis pela UFPR, Setor Palotina (2013); Complementação pedagógica com habilitação para Química pela Faculdade Embu das Artes (2015); Pós-Graduado em nível lato sensu em Docência do Ensino Superior, pelo Instituto Brasileiro de Educação – IBE (2013); Mestrado em Engenharia de Energia na Agricultura, com bolsa CAPES, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus Cascavel (2015); Doutor, com bolsa CAPES, pelo Programa de Pós-Graduação de Engenharia Agrícola, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE (2019), área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

“As pessoas são como notas musicais,  
sozinhas nada significam.”

Dedico esta, assim como todas as demais  
conquistas, à minha família e à Kenia  
Gabriela, pelo apoio incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Especial agradecimento aos meus orientadores, à Profa. Dra. Maria Hermínia Ferreira Tavares, Prof. Dr. Reinaldo Aparecido Bariccatti e ao Prof. Dr. Joel Gustavo Teleken, pela orientação, cobrança, amizade, confiança e incentivo;

À minha família, pelo apoio incondicional;

À UNIOESTE, campus Toledo, e à UFPR, setor Palotina, pela disponibilização de laboratórios para a realização dos procedimentos experimentais;

Ao PGEAGRI, pela oportunidade de cursar uma pós-graduação, com ótimos profissionais;

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos;

A Deus, por ter permitido concluir mais uma etapa em minha vida;

A todos que, de maneira direta ou indireta, colaboraram para que esse trabalho fosse realizado.

Muito obrigado.

# PRÉ-TRATAMENTOS FÍSICO-QUÍMICOS E DIGESTÃO ANAERÓBIA DA PALHA DE SORGO SACARINO

## RESUMO

A estrutura lignocelulósica da palha de sorgo sacarino é o principal obstáculo para destiná-la à digestão anaeróbia. Assim, o primeiro experimento, em escala laboratorial, foi conduzido com a finalidade de estudar o efeito de pré-tratamentos na composição química da palha. Foram selecionadas duas formas de pré-tratamentos, sendo o primeiro composto por NaOH:Ureia e o segundo por ácido cítrico. Utilizou-se Delineamento Composto Central Rotacional fatorial  $2^3$ , com 3 pontos centrais e 6 axiais. No pré-tratamento com ácido cítrico foram solubilizados compostos fenólicos e aromáticos, principalmente nas melhores condições, com  $90 \text{ g L}^{-1}$  de ácido cítrico, 36 min e 49 s em autoclave e  $100 \text{ g L}^{-1}$  de palha. No pré-tratamento alcalino, foram solubilizados *o-p*-dihidroxifenil, *p-p*-dihidroxiestireno e o estireno fenólico, encontrando-se a condição ótima quando aplicado 90 e 95  $\text{g L}^{-1}$  de palha, a  $-11,6 \text{ }^\circ\text{C}$ . Com estes dados realizou-se o segundo trabalho, empregando misturas de palha de sorgo sacarino pré-tratadas nas condições citadas e palhas sem pré-tratamento, avaliando-as quanto à biodigestão anaeróbia. Utilizou-se o modelo simplex-centroid para delimitar as misturas. O pré-tratamento da palha de sorgo sacarino acarretou aumento na produção de biogás, consumo de SV, comparativamente à aplicação de palha in natura. A utilização de misturas apresentou efeito sinérgico na produção de biogás em todos os períodos testados. A mistura ideal, composta por palhas pré-tratadas até o TDH de 31 dias, variou de 33,33 a 50,00% de palha pré-tratada com NaOH:Ureia, e o restante com palha pré-tratada com ácido cítrico, 50,00 até 66,67%. Após este período, misturas contendo os três componentes passaram a ser desejáveis, como aos 46 dias, com aplicação de 25% de palha in natura, 30% de palha pré-tratada com ácido cítrico e 45% de palha pré-tratada com NaOH:Ureia. Aos 61 dias, fatores como redução de sólidos voláteis e % de metano não apresentavam mais significância, principalmente em relação aos 20 e 31 dias de TDH, em que os fatores dependentes apresentaram significância. Foi possível identificar a melhor condição de pré-tratamento com ácido cítrico, assim como com NaOH:Ureia, dentro dos limites testados. Já após direcionada a aplicação destes materiais pré-tratados e in natura de palha de sorgo em sistema de misturas, resultaram variadas desejabilidades de alimentação em sólidos voláteis, dependendo do TDH a ser utilizado no reator.

**Palavras-chave:** biogás; celulose; codigestão; energias renováveis.

# PHYSICOCHEMICAL PRETREATMENTS AND ANAEROBIC DIGESTION OF SORGHUM STRAW

## ABSTRACT

The lignocellulosic structure of sorghum straw is the main obstacle for its anaerobic digestion. Thus, the first experiment, in laboratory scale, was carried out to study the effect of pretreatments on the chemical composition of the material. Two forms of pretreatments were determined, with NaOH:Urea and with citric acid. Factorial  $2^3$  DCCR was used, with 3 central points and 6 axial points. In the pretreatment with citric acid solubilized phenolic and aromatic compounds, determining as best when  $90 \text{ g L}^{-1}$  citric acid, 36 min and 49 s in autoclave and  $100 \text{ g L}^{-1}$  of straw were used. In the alkaline pretreatment, *o-p*-dihydroxyphenyl, *p-p*-dihydroxystyrene and phenolic styrene were characterized with better condition when applied  $90$  and  $95 \text{ g L}^{-1}$  of straw,  $-11.6 \text{ }^\circ\text{C}$ . Using this data, in the second work a mixture of pretreatment sorghum straw under the conditions determined in the first work and straw without pretreatment were evaluated. The simplex-centroid model was used to delimit the mixtures. The pretreatment of sorghum straw resulted in an increase in biogas production, SV consumption, compared to the application of straw in natura. The use of mixtures presented a synergistic effect on biogas production in all periods tested. The ideal blend, composed of pretreated straws up to 31 days TDH, varied from 33.33 to 50.00% of pretreated straw with NU and the remainder with pretreated straw with CA, 50.00 to 66.67%. After this period, mixtures containing all three components are desirable, such as at 46 days, with application of 25% IN straw, 30% pretreated CA straw, and 45% pretreated NU straw. At 61 days, factors such as rSV and % of methane were no longer significant, especially in relation to the 20 and 31 days of TDH, in which the dependent factors presented significance. It was possible to identify the best pretreatment condition with citric acid, as well as with NaOH:Urea within the limits tested. In addition to directing the application of these and sorghum straw in natura in various mixtures, depending on the TDH to be used in the reactor.

**Keywords:** biogas; cellulose; co-digestion; renewable energy.

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>V</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>XI</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>XII</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS E DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>XV</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. OBJETIVO GERAL.....	2
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>4</b>
2.1. SORGO .....	4
2.2. ENERGIA DA BIOMASSA .....	8
2.2.1. BIOCOMBUSTÍVEIS .....	9
2.2.1.1. BIOGÁS .....	10
2.3. BIODIGESTÃO ANAERÓBIA .....	11
2.3.1. CONDUÇÃO DA BIODIGESTÃO.....	12
2.3.1.1. TEMPERATURA .....	13
2.3.1.2. INÓCULO .....	14
2.3.1.3. PH: ALCALINIDADE E ACIDEZ VOLÁTIL .....	15
2.3.1.4. TEOR DE SÓLIDOS.....	16
2.4. BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA.....	17
2.5. BIODIGESTÃO DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO.....	19
2.6. PRÉ-TRATAMENTO DO MATERIAL LIGNOCELULÓSICO .....	23
2.6.1. PRÉ-TRATAMENTO BÁSICO .....	25
2.6.2. PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO .....	27
2.6.3. BIODIGESTÃO DE SORGO.....	29
<b>3. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>31</b>
<b>ARTIGO 1 - EFEITOS DE PRÉ-TRATAMENTOS ALCALINO E ÁCIDO NA DEGRADAÇÃO DA PALHA DE SORGO SACARINO</b> .....	<b>45</b>
<b>RESUMO:</b> .....	<b>45</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>47</b>
2.2. LOCAL DO EXPERIMENTO .....	47
2.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	48

2.3.1.	PRÉ-TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE ÁCIDO CÍTRICO .....	48
2.3.2.	PRÉ-TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE NAOH:UREIA.....	49
2.4.	SOLUBILIZAÇÃO DA PALHA DE SORGO.....	50
2.5.	TESTE DE YODEN .....	51
2.6.	CRISTALINIDADE .....	51
2.7.	ESTATÍSTICA .....	51
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>52</b>
3.1.	TESTE DE YODEN .....	52
3.1.1.	PRÉ-TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE ÁCIDO CÍTRICO .....	52
3.1.2.	PRÉ-TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE NAOH:UREIA.....	52
3.2.	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR).....	53
3.2.1.	CI E TCI APÓS PRÉ-TRATAMENTOS .....	54
3.3.	SOLUBILIZAÇÃO DA PALHA DE SORGO.....	55
3.3.1.	PRÉ-TRATAMENTO COM ÁCIDO CÍTRICO.....	56
3.3.2.	PRÉ-TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE NAOH:UREIA.....	62
<b>4.</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>5.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>
<b>ARTIGO 2 - BIODIGESTÃO DE PALHA DE SORGO SACARINO IN NATURA E</b>		
<b>SUBMETIDA A PRÉ-TRATAMENTOS ALCALINO, ÁCIDO .....</b>		
		<b>71</b>
	<b>RESUMO .....</b>	<b>71</b>
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>74</b>
2.1.	INÓCULO UTILIZADO PARA BIODIGESTÃO DA PALHA DE SORGO SACARINO.....	74
2.2.	PALHA DE SORGO SACARINO UTILIZADA COMO SUBSTRATO.....	75
2.3.	LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....	75
2.5.	DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO DE MISTURA EM SVA DE PALHAS DE SORGO	
	SACARINO IN NATURA E PRÉ-TRATADAS .....	76
2.6.	RETORES EM BATELADA PARA AVALIAÇÃO DAS PROPORÇÕES DE MISTURAS DE	
	PALHAS EM BIODIGESTÃO .....	77
2.7.	ANÁLISES DOS SUBSTRATOS E MONITORAMENTO DOS BIODIGESTORES .....	79
2.8.	MODELO DE GOMPertz NA AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE BIOGÁS	
	80	
2.9.	ANÁLISE ESTATÍSTICA NOS DADOS DE ACOMPANHAMENTO DOS RETORES .....	81
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>81</b>
3.1.	AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE BIOGÁS.....	81

3.2.	AVALIAÇÃO DA BIODIGESTÃO EM RELAÇÃO ÀS MISTURAS PROPOSTAS POR TDH	86
3.2.1.	AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS APÓS 07 DIAS DE TDH .....	86
3.2.2.	AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS APÓS 20 DIAS DE TDH .....	87
3.2.3.	AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS APÓS 31 DIAS DE TDH .....	88
3.2.4.	AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS APÓS 46 DIAS DE TDH .....	89
3.2.5.	AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS APÓS 61 DIAS DE TDH .....	90
3.3.	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO ÓTIMA DAS MISTURAS POR TDH.....	91
3.3.1.	DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO ÓTIMA DE MISTURA DE PALHAS AO UTILIZAR TDH DE 07 DIAS .....	91
3.3.2.	DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO ÓTIMA DE MISTURA DE PALHAS AO UTILIZAR TDH DE 20 DIAS .....	91
3.3.3.	DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO ÓTIMA DE MISTURA AO UTILIZAR TDH DE 31 DIAS	92
3.3.4.	DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO ÓTIMA DE MISTURA AO UTILIZAR TDH DE 46 DIAS	93
3.3.5.	DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO ÓTIMA DE MISTURA AO UTILIZAR TDH DE 61 DIAS	94
3.4.	CAPACIDADE DE REDUÇÃO DOS SÓLIDOS VOLÁTEIS.....	95
3.5.	PERFIL DE PRODUÇÃO ACUMULADA DE BIOGÁS .....	97
3.6.	PERFIL DA AV:AT E COMPOSIÇÃO EM AV NOS TRATAMENTOS .....	100
3.7.	AVALIAÇÃO DO TEOR DE METANO NAS AMOSTRAS DE BIOGÁS .....	102
<b>4.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>103</b>
<b>5.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>104</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>107</b>

## LISTA DE TABELAS

### Revisão Bibliográfica

Tabela 1 Principais grupos de sorgo e possíveis utilizações .....	5
Tabela 2 Comparativo de produção entre a cana-de-açúcar e do sorgo sacarino.....	6
Tabela 3 Composição da palha de sorgo.....	6
Tabela 4 biodigestão de materiais lignocelulósicos e pré-tratamentos.....	21

### Artigo 1 - Efeitos de pré-tratamentos alcalino e ácido na degradação da palha de sorgo sacarino

Tabela 1 Identificação dos pré-tratamentos com ácido cítrico.....	48
Tabela 2 Identificação dos pré-tratamentos com NaOH:Ureia.....	49
Tabela 3 Atribuição das bandas vibracionais - região do infravermelho .....	54
Tabela 4 Absorvância região 268 e 320 nm, pré-tratamento ácido cítrico .....	56
Tabela 5 Anova para o modelo referente a absorvância em 268 nm p pré-tratamento com ácido cítrico .....	57
Tabela 6 ANOVA para absorvância em 320 nm, pré-tratamento ácido cítrico.....	60
Tabela 7 Absorvância região 356 nm e 376 nm, pré-tratamento NaOH:Ureia.....	62
Tabela 8 ANOVA para absorvância em 356 nm após pré-tratamento NaOH:Ureia.....	63
Tabela 9 ANOVA absorvância em 376 nm, pré-tratamento com NaOH:Ureia.....	65

### Artigo 2 - Biodigestão de palha de sorgo sacarino submetida a pré-tratamentos alcalino, ácido e in natura

Tabela 1 Parâmetros utilizados no pré-tratamento da palha de sorgo sacarino .....	76
Tabela 2 Composição da mistura em sólidos voláteis alimentados de palhas de sorgo sacarino in natura e pré-tratadas .....	77
Tabela 3 Parâmetros de acompanhamento dos reatores.....	80
Tabela 4 Parâmetros do modelo de Gompertz para as misturas avaliadas.....	82
Tabela 5 Desejabilidade da composição em Sólidos voláteis alimentados para obtenção de respostas otimizadas nos TDH .....	95

## LISTA DE FIGURAS

### Revisão Bibliográfica

Figura 1 Principais países produtores de sorgo. ....	6
Figura 2 Prospecção da oferta energética no Brasil. ....	9
Figura 3 Etapas do processo de biodigestão anaeróbia. ....	11
Figura 4 Estruturas parciais dos componentes lignocelulósicos. ....	17
Figura 5 Comparativo de solubilização do material lignocelulósico por diferentes métodos. ....	26
<b>Artigo 1 - Efeitos de pré-tratamentos alcalino e ácido na degradação da palha de sorgo sacarino</b>	
Figura 1 Fluxograma das etapas no desenvolvimento do projeto no pré-tratamento com ácido cítrico. *Repetições do ponto Central. **Repetições dos pontos Axiais. ....	49
Figura 2 Fluxograma das etapas no desenvolvimento do projeto no pré-tratamento com ácido cítrico. *Repetições do ponto Central. **Repetições dos pontos Axiais. ....	50
Figura 3 Espectro FTIR das palhas in natura e após pré-tratamentos. ....	53
Figura 4 Espectro na região do UV-visível, para soluções pré e pós pré-tratamentos. ....	56
Figura 5 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 268 nm. ....	57
Figura 6 Valores preditos frente aos experimentais, referentes à absorvância em 268 nm. ....	57
Figura 7 Superfície de resposta para absorvância em 268 nm, UV-Vis. ....	59
Figura 8 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 320 nm. ....	60
Figura 9 Valores preditos frente aos experimentais, absorvância em 320 nm. ....	60
Figura 10 Superfície de resposta para absorvância em 320 nm, UV-Vis. ....	61
Figura 11 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 356 nm. ....	62
Figura 12 Valores preditos frente aos experimentais, absorvância em 356 nm. ....	63
Figura 13 Superfície de resposta para absorvância em 356 nm, UV-Vis. ....	64
Figura 14 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 376 nm, UV-Vis. ....	65
Figura 15 Valores preditos frente aos experimentais, absorvância em 376. ....	65
Figura 16 Superfície de resposta absorvância em 376 nm, UV-Vis. ....	66

## Artigo 2 - Biodigestão de palha de sorgo sacarino submetida a pré-tratamentos alcalino, ácido e in natura

Figura 1 Fluxograma das etapas no desenvolvimento projeto para biodigestão .....	74
Figura 2 Esquema da modelagem <i>simplex-centroid</i> .....	76
Figura 3 Esquema de alimentação dos reatores de 3,2 L; configurações dos gasômetros e incubadora. *Palha de sorgo sacarino: In natura, pré-tratada com ácido cítrico e pré-tratada com NaOH:Ureia. ....	78
Figura 4 a) Esquema de alimentação dos 40 reatores controle (0,4 L) e incubadora; b) Esquema do biodigestor (3,2 L) e gasômetro.....	79
Figura 5 Ajuste do modelo de Gompertz aos dados cinéticos dos tratamentos B3, B4 e B5. ....	82
Figura 6 Ajuste do modelo de Gompertz aos dados cinéticos dos tratamentos B1 e B6. ....	84
Figura 7 Ajuste do modelo de Gompertz aos dados cinéticos dos tratamentos B2 e B7. ....	85
Figura 8 Após 07 dias de Biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV ( <i>rSV</i> ); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % redução SV; c) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado ( <i>BA</i> ); d) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado.....	86
Figura 9 Após 20 dias de Biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável:% metano ( <i>M</i> ); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % de metano; c) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado ( <i>BA</i> ); d) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado; e) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV ( <i>rSV</i> ); f) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável:% de redução SV.....	87
Figura 10 Após 31 dias de biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado ( <i>BA</i> ); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado; c) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV ( <i>rSV</i> ); d) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % de redução SV; e) Superfície Ajustada; Variável: % de metano ( <i>M</i> ); f) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % de metano.....	88
Figura 11 Após 46 dias de biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV ( <i>rSV</i> ); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável:% de redução SV; c) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado ( <i>BA</i> ); d) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado. ....	89
Figura 12 Após 61 dias de biodigestão; a) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado ( <i>BA</i> ); b) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado ( <i>BA</i> ); .....	90

Figura 13 Perfis para Valores Previstos (BA; e rSV) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 07 dias de TDH. ....	91
Figura 14 Perfis para Valores Previstos (BA; rSV; e M) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 20 dias de TDH. ....	92
Figura 15 Perfis para Valores Previstos (BA; rSV; e M) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 31 dias de TDH. ....	93
Figura 16 Perfis para Valores Previstos (BA; e rSV) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 46 dias de TDH. ....	94
Figura 17 Perfis para Valores Previstos (BA) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 61 dias de TDH. ....	94
Figura 18 Concentração de Sólidos Voláteis (SV) nos reatores após diferentes TDH. ....	96
Figura 19 Produção acumulada de biogás normalizada. ....	98
Figura 20 Produção específica de biogás pelo tempo de detenção hidráulica. ....	99
Figura 21 Ácidos voláteis pela alcalinidade total, tratamentos e inóculo. ....	100
Figura 22 Acidez volátil em cada tratamento pelo tempo de detenção hidráulica. ....	100
Figura 23 Potencial hidrogeniônico por tempo de detenção hidráulica, inóculo e meio. ....	101
Figura 24 Perfil dos ácidos voláteis nos tratamentos por TDH. ....	101
Figura 25 Perfil do teor de metano, nos reatores por TDH. ....	103

## LISTA DE SÍMBOLOS E DE ABREVIATURAS

AI	Alcalinidade Intermediária
AP	Alcalinidade Parcial
ARS	Água Residuária de Suinocultura
AT	Alcalinidade Total
AV	Acidez Volátil
C/N	Relação Carbono Nitrogênio
CA	Ácido cítrico
CH <sub>4</sub>	Metano
CI	Índice de Cristalinidade
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
DQO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FT-IR	Fourier transform infrared spectroscopy
H <sub>2</sub>	Hidrogênio
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> S	Ácido Sulfídrico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido Sulfúrico
HHP	Alta Pressão Hidrostática
IN	In Natura
NaOH	Hidróxido de Sódio
NH <sub>3</sub>	Amônia
NMMO	N-metilmorfolina N-óxido
NU	NaOH:Ureia
pH	Potencial hidrogeniônico
PPt	Palha Pré-tratada
RSV	Redução de Sólidos Voláteis
SF	Sólidos Fixos
SHF	Hidrólise e fermentação em separado
SSF	Hidrólise e fermentação simultâneos
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
SVa	Sólidos Voláteis Alimentados
TCI	Índice de Cristalinidade Total
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TEP	Tonelada Equivalente de Petróleo
UASB	Reator Anaeróbico de Fluxo Ascendente em Manto de Lodo

## 1. INTRODUÇÃO

Os sistemas de produção e manejo sanitário de animais, dentre eles os suínos, possuem uma gama de requisitos a serem cumpridos, visando uma prole sadia. Sendo assim, os sistemas de lavagem das baias, mais automatizados e menos participativos quanto à interação humana, demandam muito mais água, considerando a limpeza enquanto os animais ainda se encontram nas baias. Neste sentido, os resíduos gerados têm sua composição em sólidos diluída em maior quantidade de água utilizada pelo uso dos aparatos mecânicos para lavagem das baias. Com isso, o efluente gerado tem seu teor em sólidos voláteis diminuído.

Este teor é uma das características de grande relevância no momento de realizar o tratamento destes efluentes. Os biodigestores apresentam-se como uma ótima alternativa para tratamento de água residuária de suinocultura (ARS), reduzindo os impactos ambientais, possibilitando após a digestão anaróbia a aplicação do efluente no solo como biofertilizante, além de gerar energia através da queima do metano gerado. Este sistema de tratamento tende a não ser oneroso monetariamente ao produtor de suínos, sendo que gera economia na energia elétrica. Além disso, proporciona a redução dos custos totais de produção, pelo fato de propiciar ou maximizar a produção in loco de energia, diminuindo proporcionalmente a compra direta da distribuidora.

Contudo, a utilização de mais água nos sistemas de lavagem das baias tende a acarretar maior necessidade de reservas de água para tal procedimento. Além disso, dilui os compostos orgânicos, afetando diretamente no tratamento do efluente gerado, ou seja, este material orgânico demanda um tempo de detenção hidráulica dentro do biodigestor para que seja convertido biologicamente nos produtos de interesse e para que haja tempo de reprodução dos microrganismos ainda dentro do reator, não sendo afetados pela falta de volume do reator. Desta forma, a diluição do material orgânico acarreta diretamente no redimensionamento de reatores para comportarem um maior volume.

Considerando que estes reatores trabalham com carga orgânica baixa, há possibilidade de aplicação de um segundo substrato neste efluente, de forma a elevar o teor de sólidos, sem que haja uma grande alteração no volume. A biodigestão da ARS já é bem difundida e com utilização de sistemas de mistura completa, como em sistemas canadenses, entre outros. Pode-se considerar a aplicação da codigestão da palha de sorgo sacarino em ARS, quando há a disponibilidade do primeiro substrato e a eminente possibilidade de maximizar a eficiência do biodigestor, em produção de biogás.

No Brasil, culturas como a do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) podem ser utilizadas, apresentando eficiência energética de fotossíntese semelhante à da cana-de-açúcar, além da vantagem de poder ser empregada na entressafra. A partir do caldo do sorgo sacarino é possível produzir etanol, utilizando-se da mesma levedura que a cana.

Para que a cultura do sorgo sacarino ganhe mais destaque no setor de produção de etanol, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas, de forma a propiciar utilidades ou destinações não apenas para o caldo extraído da planta, mas também para a palha e o bagaço. Produções de etanol e outros biocombustíveis, em sua maioria, geram muitos resíduos. Para mitigar os efeitos destes, tornam-se necessárias práticas menos danosas ao meio ambiente, buscando aproveitar, tratar e descartar corretamente os resíduos gerados.

Atualmente, o bagaço gerado nas usinas de açúcar e/ou etanol já é aplicado para cogeração de energia, utilizado nas caldeiras, enquanto a palha é muitas vezes deixada ou queimada no campo, devido ao seu baixo valor.

Já existem pesquisas para produção de etanol de segunda geração com palhas variadas, havendo uma busca por parte da Embrapa Milho e Sorgo pelo híbrido de sorgo sacarino com características lignocelulósicas que facilitem o processo de produção de etanol de segunda geração, o que destinaria este material sólido também para produção de etanol.

Outra forma alternativa de destinação é a produção de biogás via fermentação anaeróbia, na qual o produto de interesse é o metano, gás combustível, fazendo com que a codigestão possa ser uma rota de estudos.

Para que a codigestão destes materiais venha a ocorrer de forma que o tempo de detenção hidráulica (TDH) não seja demasiadamente aumentado, acarretando necessidades de ampliação de biodigestores ou construção de novos, faz-se necessário um pré-tratamento do material lignocelulósico para que sua recalcitrância seja reduzida.

Apresentam-se como possibilidades a utilização de pré-tratamentos os ácidos, as bases e procedimentos diversos tais como ultrassom, micro-ondas, aumento e redução de temperatura, explosão a vapor ou amônia, que se utilizam de pressão e redução desta de forma rápida, proporcionando rompimento mecânico das fibras de celulose e hemicelulose entre diversos outros.

Seguindo o princípio da busca pela valorização do sorgo sacarino e considerando a elevada produção mundial de material lignocelulósico, neste trabalho serão estudados pré-tratamentos físico-químicos da palha de sorgo e posterior aplicação em biodigestores anaeróbios em batelada, escala de bancada, utilizando como co-substrato a ARS efluente do biodigestor.

### **1.1. Objetivo Geral**

O objetivo geral deste trabalho é estudar a digestão anaeróbia de palha de sorgo sacarino com ARS, verificando a eficiência na produção de biogás.

## 1.2. Objetivos Específicos

- Determinar efeitos, nas faixas de estudo, dos pré-tratamentos físico-químicos, ácido e básico, sobre a palha de sorgo sacarino, na degradação e na solubilização do material lignocelulósico;
- Avaliar a inserção da palha de sorgo sacarino como co-substrato na biodigestão anaeróbia com ARS, seus efeitos na composição e no volume do biogás, assim como a influência na carga orgânica do efluente líquido.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Sorgo

O sorgo foi introduzido no Brasil no século XX e não há um consenso sobre a sua origem específica, supondo-se ser proveniente do continente asiático ou africano. No Brasil, não possui características marcantes de comercialização. O sorgo é um pouco mais resistente ao estresse hídrico do que o milho, mas não é resistente à seca (EMBRAPA, 2010). É uma cultura importante, sendo o quinto cereal mais produzido no mundo, atrás apenas do arroz, trigo, milho e cevada. Sua maior área destinada à produção localiza-se na África, enquanto o maior volume de produção está na América do Norte (México e EUA) (CONAB, 2015). A cultura está inserida na dieta de mais de 500 milhões de pessoas (PEERZADA; ALI; CHAUHAN, 2017).

Esta importante cultura de cereais em agroecologias quentes e secas ganha destaque em locais de difícil cultivo de outras culturas alimentares. Relativamente ao local de produção, restrições e aplicação final dos produtos há programas diferentes visando melhoria do sorgo. Recentemente, os programas de melhoramento de culturas levaram em consideração os vários usos finais e estão focando no desenvolvimento do uso final específico (REDDY; REDDY, 2018; ARUNA; VISARADA, 2018). Dentre as formas de aperfeiçoamento, cita-se o melhoramento genético, baseado principalmente no controle genético das características (MADHUSUDHANA, 2019).

O sorgo apresenta-se como uma planta energética: um dos fatores é sua alta taxa de fotossíntese (SAMBUSITI et al., 2013), produzindo até 15 toneladas de palha por hectare. Somente na Índia são geradas cerca de 11 milhões de toneladas de palha por ano. Geralmente deixada no campo e, quando se leva em consideração outras partes não utilizadas, cerca de 60% da produção não tem aplicação direta (SATHESH-PRABU; MURUGESAN, 2011; ZEGADA-LIZARAZU et al., 2012).

Existe elevada disponibilidade de sorgo no mundo, sendo considerado um resíduo agrícola, barato e facilmente disponível. Os principais ingredientes de palha de sorgo são compostos de fibras, proteínas, amido e lipídios (SONG et al., 2014). O sorgo pode ser considerado como substituto ao milho, no que se refere à produção de energia, na Europa (WINDPASSINGER et al., 2015).

A produção do grão de sorgo pode ser destinada ao consumo animal, ração e industrialização. Este grão produzido no Brasil é em sua maior parte consumido na alimentação animal. Apresenta ainda diversos usos como alimentos, rações, forragem, combustível, fibras e culturas industriais (REDDY; REDDY, 2018); são exemplos: álcool, bebidas alcoólicas, amido, colas, tintas, vassouras, açúcar, óleo comestível, forragem e

nutrição de ruminantes, entre outros, como apresentado na Tabela 1 (EMBRAPA, 2010; Conab, 2015).

Tabela 1 Principais grupos de sorgo e possíveis utilizações

Grupos	Produto	Características	Utilização
Granífero	Grão	Porte baixo, adaptado à colheita mecânica.	Ração animal (bovinos, suínos e aves). Alimentação humana (farinha). Produtos: amido, cera, cerveja, óleo, etc.
Sacarino	Colmo e grão	Porte alto, acumulam sacarose no colmo.	Xaropes para adoçantes; Produção de etanol e alimentação animal.
Forrageiro	Biomassa	Híbridos de <i>Sorghum bicolor</i> x <i>Sorghum sudanense</i> .	Confecção de silagem, pastejo, corte verde, fenação e cobertura morta
Vassoura	Panícula	Panículas com fibras longas	Vassouras, escovas e ornamentação.
Energia	Biomassa	Porte alto (até seis metros) rápido crescimento e alto potencial produtivo.	Cogeração de energia

Fonte: CONAB (2015); EMBRAPA (2010).

O sorgo pode ser utilizado para suprimir outras culturas ou ervas daninhas, devido principalmente ao seu efeito alelopático sobre estas, resultado da produção de compostos como o ácido fenólico, produzidos principalmente quando em decomposição (AL-BEDAIRY et al., 2013; ALSAADAWI et al., 2015; PEERZADA; ALI; CHAUHAN, 2017).

Considerada uma cultura subutilizada, seu cereal possui potencial para combater e prevenir doenças crônicas, incluindo em sua composição amidos, fibras, proteínas, lipídios e fitoquímicos, os quais, individualmente, são benéficos. Mas o seu principal benefício ocorre de forma sinérgica entre estes, incluindo balanço de energia, controle glicêmico e da flora intestinal, respostas imunes melhoradas, incluindo efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (STEFOSKA-NEEDHAM et al., 2015). Sua farinha apresenta grande potencial antioxidante devido à presença de compostos polifenólicos (KHAN et al., 2015).

Conforme dados disponibilizados pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), em dezembro de 2018, os EUA exportam 59% do sorgo produzido, indicando que é um produto de exportação muito mais que de consumo, assim como o algodão (76%) e o arroz (55%), por exemplo. Os EUA já se responsabilizam por aproximadamente 24% da produção mundial, dependendo do ano. Na safra parcial 2018/19 até novembro, os EUA apresentaram produção de 9.238 toneladas, representando 17,77% da produção mundial, enquanto o Brasil ficou na décima posição, com produção de 1.862 toneladas (USDA, 2018). Deve-se destacar o aumento gradual, por ano, de 2015 a 2019, da produção de sorgo na China, como pode-se visualizar na Figura 1, sendo que no mundo a produção de 2014 a 2018 reduziu de 66 mil toneladas para 59 mil toneladas.

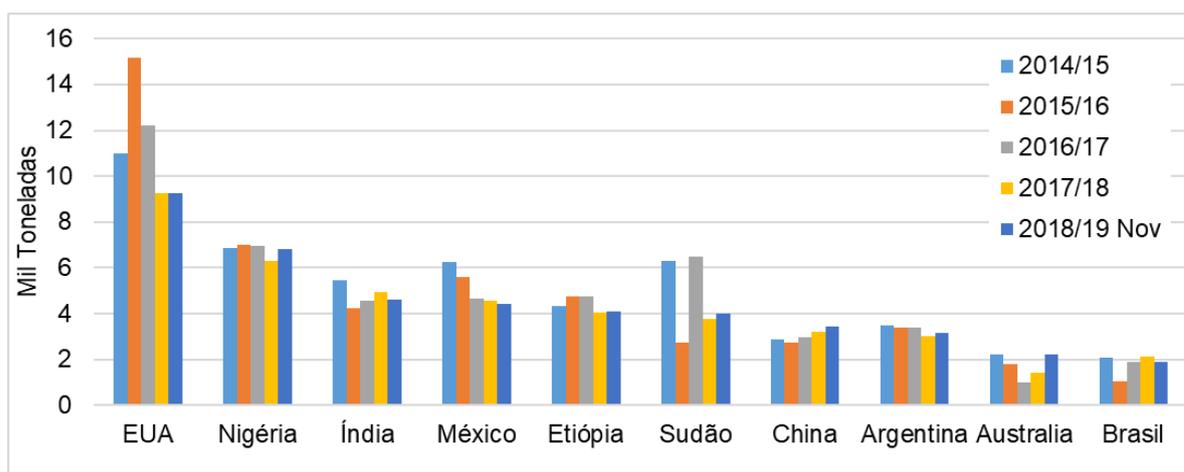


Figura 1 Principais países produtores de sorgo.  
Fonte: USDA (2018).

De acordo com Assefa et al. (2014), a cultura de sorgo apresenta grande flexibilidade do plantio, que ocorre utilizando-se sementes, permitindo a implementação de rotatividade com outras culturas. Além disso, o sorgo apresenta algumas vantagens frente à cana-de-açúcar, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 Comparativo de produção entre a cana-de-açúcar e do sorgo sacarino

	Cana-de-açúcar	Sorgo
Água utilizada (L água Kg <sup>-1</sup> de biomassa seca)	600	300
Produção de etanol (mil L ha <sup>-1</sup> )	7 a 7,5	3 a 3,6
Produção de biomassa (t ha <sup>-1</sup> )	80 a 85	60
Custo (t ha <sup>-1</sup> )	4.000	2.700

Fonte: CONAB (2015).

O sorgo também apresenta baixos requisitos de nutrientes, além de período de crescimento reduzido quando comparado a outras fontes de biomassa, para produção de etanol, como cana-de-açúcar e beterraba (OLUKOYA et al., 2015).

O material lignocelulósico do sorgo é composto por uma estrutura complexa de celulose, hemicelulose e lignina na ordem de aproximadamente 42, 24 e 10%, respectivamente (SATHESH-Prabu et al., 2011). Descreve-se a composição da palha de sorgo na Tabela 3, levando-se em consideração base seca.

Tabela 3 Composição da palha de sorgo

Parâmetros	%m base seca	Parâmetros	%m base seca
Umidade	3,08 ± 0,11	Hemicelulose	24,53 ± 4,45
Cinzas	7,27 ± 0,15	Lignina	9,89 ± 2,35
Cálcio	0,10 ± 0,03	FDN*	76,44 ± 5,68
Magnésio	2,44 ± 0,08	FDA*	51,92 ± 6,10
Fósforo	0,10 ± 0,02	Galactose 6C	0,29 ± 0,11
Enxofre	8,30 ± 0,23	Glucose 6C	27,5 ± 3,09
Nitrogênio	1,03 ± 0,00	Xilose 5C	10,3 ± 1,28
Proteína bruta	6,44 ± 0,00	Arabinose 5C	1,76 ± 0,64
Celulose	42,03 ± 3,38		

Fonte: Sathesh-Prabu; Murugesan (2011). \*FDN: Fibra em Detergente Neutro; \*FDA: Fibra em Detergente Ácido.

Segundo Vázquez et al. (2007), o abundante material lignocelulósico é um resíduo

na produção de sementes de sorgo, aplicado principalmente como matéria-prima na produção de xilose. Este açúcar hemicelulósico é bioconvertido geralmente em direção ao xilitol, também utilizado na produção de pasta de papel ou compostos químicos.

A palha é geralmente conservada em forma de silagens, podendo ser direcionada à produção de biogás. De acordo com Ratnavati et al. (2010), no sorgo sacarino é possível alcançar produtividade média de 55 t ha<sup>-1</sup> de biomassa com o Brix variando entre 16 a 23. Porém, para que possa ser utilizada com eficiência na produção de biogás, é essencial a aplicação de um pré-tratamento.

A aplicação de enzimas hidrolíticas ou fungos para o pré-tratamento enzimático do material lignocelulósico já provou ser uma das etapas mais caras do processo de conversão de compostos residuais para compostos utilizáveis, como biocombustíveis (SURESH et al., 1999).

Muito mais se fala da produção de etanol e dos pré-tratamentos para o grão do sorgo, pois se leva em consideração as realidades locais, abrangendo os biocombustíveis de 1ª geração derivados de culturas terrestres como cana-de-açúcar, beterraba sacarina, milho e trigo, aumentando a pressão sobre o mercado alimentício. Neste sentido, a utilização da planta por completo para produção de biocombustíveis deve ser avaliada (DAR; DAR; PHUTELA, 2018).

No norte da China há também estudos com o sorgo sacarino, onde Tang, Yang e Xie (2018), buscando sistemas sustentáveis, intercalaram a produção de sorgo sacarino com a produção de trigo. O sorgo foi cultivado no inverno em dois tipos de terras arável e salina – alcalina, testando 3 cultivares com períodos de maturação diferentes. A terra arável apresentou 48,9% maior produtividade e o genótipo médio-tardio de 138 dias apresentou maior teor de amido, açúcar solúvel, celulose e hemicelulose e menor teor de cinzas; quanto à forragem, um valor melhor relativo à ração e menor fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN).

Outro estudo, no Vale do Pó na Itália, levou em consideração genótipos tardio e médio-tardio, avaliando o efeito da utilização de biomassa de sorgo e palha de trigo para geração de energia frente ao gás natural. O sorgo emite em média 47,7% menos gases de efeito estufa (GEE) do que o gás natural. O genótipo médio-tardio apresenta emissões de GEE um pouco superiores. Porém, devido à heterogeneidade ou falhas na produção, os genótipos tardios podem não compensar quanto à menor emissão nem mesmo monetariamente, devido à maior utilização de fertilizantes (SERRA et al., 2017).

Os trabalhos de produção de biogás em sua maioria tiveram início a partir de pesquisas relativas à produção de etanol, um produto de significativo valor econômico e com mercado mais estabelecido, além de distribuição e armazenamento muito mais simples quando comparados ao biogás.

Os autores Sathesh-Prabu e Murugesan (2011), com objetivo de produção de etanol,

realizaram pré-tratamento da palha de sorgo, utilizando NaOH (0, 1, 2, 3 e 4%) e pressão com tratamentos de até 8 horas, sendo que antes de realizar a fermentação alcoólica o material era neutralizado.

O sorgo principalmente do tipo forrageiro é uma eficiente alternativa frente ao milho em áreas com reduzida pluviosidade. Quando utilizado para produção de biomassa semelhante ao milho quando comparado por unidade de área, contudo, apresenta menor digestibilidade devido ao maior teor de fibras em relação ao milho (UNDERSANDER et al., 2010). Além disso, também apresenta teores semelhantes de proteína. O sorgo apresenta maior produção quando levados em consideração regimes hídricos limitados (BHAT, 2018). Samarappuli e Bert (2018) também relatam a capacidade do sorgo forrageiro, em relação ao milho, quanto à produtividade em locais com baixa fertilidade e menos água disponível.

## **2.2. Energia da biomassa**

O uso intensivo de carvão e petróleo como combustível tem elevado progressivamente a poluição do ar, principalmente em grandes centros urbanos. Este modo de poluição está diretamente relacionado à morte de aproximadamente 3 milhões de pessoas por ano. O processo de combustão do carvão libera cerca de 60% das emissões globais de dióxido de enxofre, sendo responsabilizado como causador de doenças respiratórias e precursor da chuva ácida (IEA, 2016).

A necessidade em reduzir a utilização de combustíveis fósseis tem atraído atenção, pelo fato de a demanda de energia estar aumentando anualmente no mundo (BP, 2010-2014). Neste cenário, o Brasil é visto como referência energética ambiental. O país possui inúmeras alternativas de produção de energia, elevada oferta de matéria-prima e capacidade de produção em larga escala (MORATO et al., 2018; BRADSAW et al., 2019).

O estudo Plano Decenal de Expansão de Energia (PDEE, 2018), desenvolvido pela Empresa de Pesquisa Energética, aponta que, no Brasil, haverá uma participação das fontes renováveis de 48% em 2027 ante os 44% apresentados em 2017, divididas suas proporções como ilustrado na Figura 2. Haverá um crescimento na oferta de energia, previsto até 2027, de 3,1% ao ano.

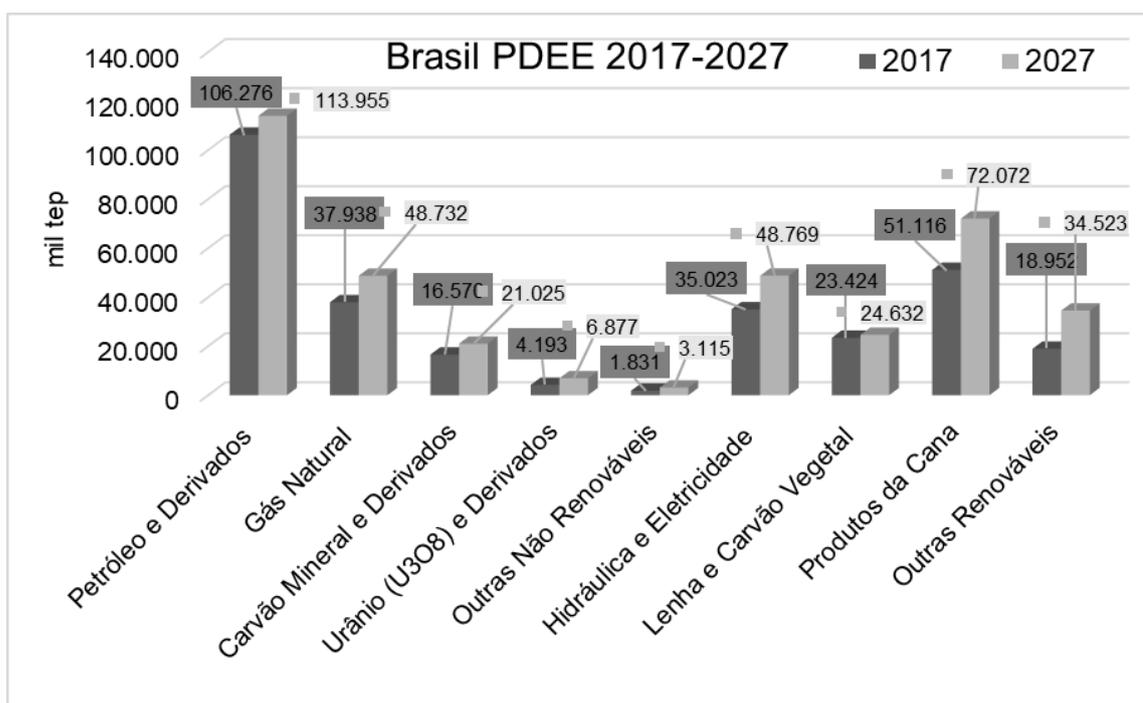


Figura 2 Prospecção da oferta energética no Brasil.

Fonte: PDEE, EPE – Brasil (2018).

A biomassa pode ter diversas origens, como: plantas aquáticas e terrestres, óleos e gorduras vegetais e animais; resíduos industriais, grãos, papel, madeira, bebidas e alimentos; resíduos urbanos, florestais e agropecuários – onde se encaixam o bagaço de cana-de-açúcar e sorgo, vinhaça, esterco, dejetos e palhas.

### 2.2.1. Biocombustíveis

O crescente aumento da demanda por combustíveis líquidos e gasosos, a preocupação com o aquecimento global, a necessidade energética, assim como o desenvolvimento agrícola e social, vem estimulando os setores acadêmico e industrial para a produção de novos biocombustíveis (CREMONEZ et al., 2015).

O Brasil implantou um programa expressivo no cenário nacional e reconhecido mundialmente intitulado Proálcool. Com a implementação do Proálcool, que incentivava a produção de etanol como combustível, surgiram a necessidade e a preocupação com materiais que poderiam maximizar a produtividade e melhorar a eficiência energética de aproveitamento dos materiais envolvidos na produção deste combustível. Cita-se a utilização da palha, bagaço, vinhaça e coprodutos da produção de açúcar, proporcionando menor impacto ambiental (SHIKIDA, 2012).

A pesquisa e produção de biocombustíveis no Brasil é diversificada pois também inclui o biodiesel e biogás. Este primeiro já está em processo avançado de inserção no mercado brasileiro, enquanto o segundo teve poucos avanços de larga escala, até o momento, provavelmente devido a sua produção descentralizada.

### 2.2.1.1. Biogás

O biogás, devido ao seu elevado teor de metano, pode ser amplamente utilizado como combustível, possuindo composição volumétrica que varia de 55 a 80% de metano e 20 a 45% de dióxido de carbono, além de outros gases como 500-4000 ppm de sulfeto de hidrogênio, 100-800 ppm de nitrogênio amoniacal, hidrogênio, água e oxigênio em menores proporções (KOHN et al., 2014; PATEL et al., 2016; PIZZUTI; MARTINS; LACAVA, 2016; SHAN et al., 2016). Este gás apresenta poder calorífico, pela presença do metano, podendo ser obtido através de três diferentes rotas: combustão direta, gaseificação e processos de fermentação anaeróbia de compostos orgânicos, sendo que este último é o mais utilizado, com origem a partir de resíduos orgânicos, em sua maioria em fase líquida. Na fermentação anaeróbia, as arqueas, anaeróbias estritas, atuam decompondo a matéria orgânica (ALVES et al., 2013).

O biogás pode ser direcionado para diversas aplicações, como: queima direta em caldeiras, aquecimento, cocção, entre outras; promover modificação cinética, como a promoção de movimento em motores de combustão interna, utilizados para movimentar meios de locomoção ou utilizar este para produzir energia elétrica para diversos fins (KAUR; PHUTELA, 2016).

Este gás, considerado fonte de energia promissora, obtida por meio de diferentes fontes, principalmente residuais, possibilita a utilização de material lignocelulósico para sua produção, onde se evidencia um recurso barato, abundante e renovável (KAUR; PHUTELA, 2016).

Para que ocorra um melhor aproveitamento do gás, propõe-se geralmente, no gás, uma purificação antes da utilização, ou seja, o aumento do teor de metano. Existem diversos métodos para purificar o biogás, com emprego de tratamentos físicos, químicos e biológicos (SHEETS et al., 2016).

Diversos processos para enriquecimento do biogás em biometano podem ser utilizados, no qual retiram hidrocarbonetos, água, H<sub>2</sub>S, siloxanos, oxigênio, NH<sub>3</sub> e CO<sub>2</sub>. Dentre os processos podem-se citar: dissolução alcalina; adsorção de CO<sub>2</sub> em tereftalato; membranas poliméricas ou semipermeáveis; membrana de osmose reversa; aplicação de adsorventes a base de potássio; peneiras moleculares como a MCM-41 impregnadas com diversos compostos (SCHOLZ et al., 2013; KAMARUDIN; ALIAS, 2013; IOVANE et al., 2014; LIU et al., 2014; FERREIRA et al., 2014; XIAO et al., 2014; ZHAO et al., 2014a;). Pode-se ainda promover diversas formas de reforma para obtenção de hidrogênio, elevando a concentração energética por volume.

O biogás pode ser utilizado para geração de energia térmica, mecânica ou elétrica, podendo ser aplicado em motores de combustão interna ou veículos com motores adaptados (NAIK et al., 2010). O biogás gerado pode ser usado em motor-gerador para a produção de calor e eletricidade, em caldeiras para geração de vapor d'água e em

atividades agropecuárias.

### 2.3. Biodigestão anaeróbia

Para a condução e a operação de biodigestores, deve-se levar em consideração que a reação tende a seguir a sequências de transformações metabólicas. As quatro principais reações que ocorrem no sistema são divididas em hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, conforme expresso na Figura 3 (BALMANT et al., 2014).

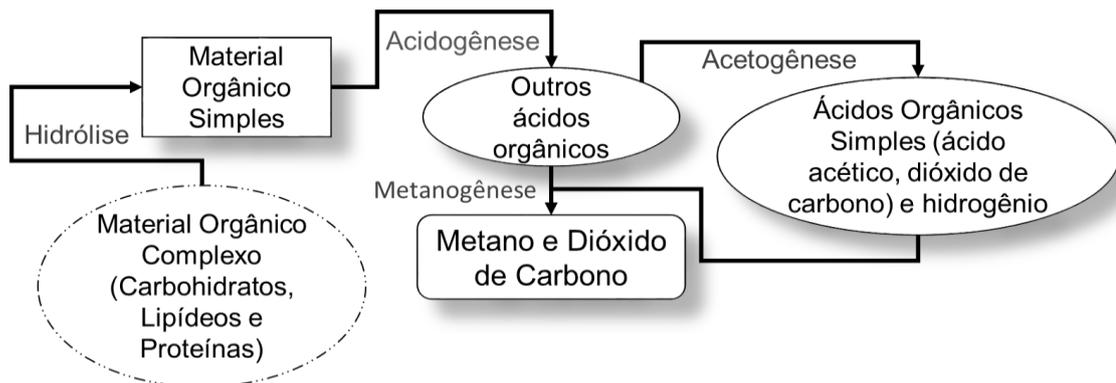


Figura 3 Etapas do processo de biodigestão anaeróbia

Na primeira etapa do processo, as enzimas extracelulares produzidas por microrganismos hidrolíticos são utilizadas para hidrolisar os polímeros orgânicos complexos, onde proteínas, lipídeos e carboidratos são geralmente quebrados a aminoácidos, ácidos graxos de cadeia longa, e de açúcares, respectivamente. Na segunda etapa, estas moléculas menores são convertidas pelas bactérias fermentativas a uma mistura de ácidos graxos voláteis e outros produtos secundários, como ácidos acético, pirúvico, propiônico, butírico, valérico, fórmico, capróico, entre outros), álcoois e compostos como CO<sub>2</sub>, hidrogênio gasoso (H<sub>2</sub>), amônia (NH<sub>3</sub>) e gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) (ZHENG et al., 2014; KUNZ, 2016).

No terceiro passo do processo, as bactérias acetogênicas convertem parte dos produtos gerados pela etapa de acidogênese a acetato, dióxido de carbono e/ou hidrogênio, fornecendo substrato para fase de metanogênese (BALMANT et al., 2014). Dessa forma, parte da matéria orgânica carbonácea é removida da fase líquida e transferida para a fase gasosa, proporcionando a estabilização da água residuária (CHERNICHARO, 1997).

Esta última etapa geralmente é considerada como etapa limitante na biodigestão anaeróbia (CHEN et al., 2008). No entanto, para a degradação da biomassa lignocelulósica, a hidrólise pode ser considerada como etapa limitante do processo (CIRNE et al., 2007).

Há diversas maneiras de se maximizar a produção de biogás, dentre as quais pode-se citar até mesmo a utilização de alguns elementos químicos puros. Estes podem vir a servir como aditivos no processo de biodigestão anaeróbia, como o magnésio, zinco, ferro, cobre, cobalto, níquel, em baixas quantidades para não inibir o processo. Podem atuar no

processo de biodigestão como hidrolase, hidrogenase, desidrogenase, superóxido dismutase, CO-desidrogenase, mono-oxigenase, NO-redutase, nitrito e nitrato redutase, nitrogenase, metiltransferase, acetil-CoA-sintase, urease, entre outras (FERMOSO et al., 2009).

### **2.3.1. Condução da biodigestão**

Um procedimento muito utilizado é o de codigestão, ou seja, a união de resíduos orgânicos que se complementem, como os que apresentem determinados microrganismos (FATHYA et al., 2014; PAN et al., 2016; HERRMANN et al., 2016) ou componentes que necessitem, por sua vez, de diluição inibitória (EBNER et al., 2015). Neste processo, ocorre a utilização de um co-substrato, juntamente ao substrato principal, o qual, geralmente, melhora o rendimento da digestão devido à sinergia estabelecida no meio, bem como ao fornecimento de nutrientes em falta no primeiro substrato e a diluição de componentes inibitórios. Além disso, o co-substrato pode proporcionar ao conjunto características equilibradas mais próximas do ideal. Há também vantagens econômicas, como o compartilhamento dos mesmos equipamentos de digestão.

Os materiais lignocelulósicos apresentam-se com baixa taxa de hidrólise. Desta maneira, é menor a ocorrência de acidificação, quando estabilizada a biodigestão, ao se comparar a reatores alimentados com glicerol, por exemplo, que possui degradação rápida, elevando a disponibilidade de ácidos voláteis e, conseqüentemente, reduzindo o pH (PANPONG et al., 2015; PAN et al., 2016; PATIL et al., 2016).

Contudo, a presença de material lignocelulósico nem sempre é sinônimo da facilidade de manutenção do pH, pois pode ocorrer redução do pH, como descrito por Wang et al. (2012), que, ao digerir palha de trigo, notaram ocorrer acidificação devido à elevada razão C/N, que interfere diretamente na multiplicação dos microrganismos, sendo que a deficiência de N é prejudicial, pois é essencial na construção das moléculas proteicas. Ocorre também a demora já indicada no processo quando há presença de material lignocelulósico, que é recalcitrante à biodigestão (WANG et al., 2012).

A biomassa lignocelulósica, quando não tratada, proporciona rendimentos baixíssimos de degradação biológica que variam entre 10 e 30%, o que é pouco atrativo comercialmente (KRATKY; JIROUT, 2015). O TDH pode elevar o rendimento da degradação biológica; contudo, faz-se necessário emprego de reatores de maior volume, elevando os custos não apenas de construção, mas também de manutenção. A codigestão torna-se um procedimento mais eficiente comparado ao controle da relação C/N, ao se utilizar a palha de sorgo como co-substrato, como comprovado por Zhang et al. (2016b), principalmente no que se refere à produção de biogás. Outro fator que corrobora este fato é que nos materiais lignocelulósicos há compostos recalcitrantes que tendem a demorar ao realizar a partida do reator (COTANA et al., 2015), ou até mesmo proporcionar uma oferta instável de produtos

para que a metanogênese, fase mais sensível do consórcio de microorganismos, ocorra de forma ininterrupta.

Há também trabalhos relatando a adição de magnetita e zeólitas como produtos responsáveis pelo aumento da produção de biogás (LIU et al., 2015). Khalid et al. (2018) realizaram pré-tratamento alcalino com hidróxido de sódio (NaOH) na palha de arroz e adição de nanopartículas de magnetita, e estes procedimentos influenciaram positivamente no rendimento em biogás, além de quando aplicadas em conjunto apresentaram efeito sinérgico, sendo que também houve ganho líquido de energia final positivo.

Na condução e na operação de um biodigestor, algumas sequências metabólicas de transformação devem ocorrer. Vários fatores podem influenciar nestas sequências metabólicas, dentre elas a temperatura, o pH, as concentrações de sólidos, composição do substrato, tempo de detenção hidráulica, alcalinidade, inóculo, homogeneidade de alimentação, proporção do reator diâmetro/altura, relação C/N, nutrientes, agitação, substratos e suas possíveis misturas e efeito tóxico de algumas matérias-primas (ALBURQUERQUE et al., 2012; VIVEKANAND et al., 2013; JAIN et al., 2015; ROMERO-GUIZA et al., 2016).

Dentre os fatores citados, há destaque para temperatura, inóculo, pH e teor de sólidos. A manutenção do pH estabilizado está diretamente relacionada à alcalinidade presente no meio e a cinética de hidrólise do material gerado, medindo-se pela relação Acidez Volátil pela Alcalinidade Total (AV/AT). A manutenção da temperatura é necessária para proporcionar estabilidade na produção de metano pelas arqueas metanogênicas (SANTOS, 2004). O teor de sólidos, quando elevado, pode resultar em demora na partida do reator, devido à dificuldade de hidrólise do material (WANG et al., 2012; ABBASSI-GUENDOZ et al., 2012).

### **2.3.1.1. Temperatura**

Há três faixas de temperatura em que a biodigestão anaeróbia geralmente é conduzida: de <20 °C; 20 a 45 °C; e >45 °C, intituladas de faixa psicrófila, mesófila e termófila, respectivamente (WEI et al., 2014; DAREIOTI; KORNAROS, 2015; JANG et al., 2016).

Apesar da temperatura poder vir a ser mantida pela própria configuração do reator, que tende a aproveitar ou dissipar a energia gerada nas reações metabólicas sequenciais que proporcionam energia na forma de calor (YU et al., 2014), as dificuldades inerentes ao substrato utilizado podem resultar em instabilidade no processo de biodigestão, conseqüentemente na temperatura. Sendo assim, o controle ou a manutenção da temperatura são etapas importantes no processo de biodigestão anaeróbia, sendo os microrganismos produtores de metano muito sensíveis às variações desta, desestabilizando a produção de metano em variações abruptas, superiores a 3 °C (SANTOS, 2004; KUNZ et

al. 2016).

Apesar da formação microbiana das bactérias metanogênicas poder ocorrer em ampla faixa de temperatura de 0 a 97 °C, as temperaturas próximas a 35 e 55 °C são as de melhor resposta com relação à produção de metano (CHERNICHARO, 1997). Jang et al. (2016) também indicam como condições mais propícias para a produção de metano as encontradas em temperaturas mesófilas e termófilas, de modo que a primeira é menos dispendiosa energeticamente, demandando menor entrada de energia no sistema.

### **2.3.1.2. Inóculo**

O uso de inóculo é prática comum em processos de digestão anaeróbia. O início operacional de um reator, ou partida, é de fundamental importância para o sucesso no tratamento de resíduos e na produção de biogás, estando diretamente ligado à sequência das transformações metabólicas no processo de biodigestão anaeróbia (LIU et al., 2016a).

Com relação ao teor de inóculo, Moset et al. (2015) avaliaram a proporção de inóculo pelo substrato (I:S) de 0,25 até 2,5, em que a menor proporção apresentou menor produção específica de biogás, inibindo completamente a produção de CH<sub>4</sub>, quando utilizado como substrato o milho. Verificou-se uma pequena redução da taxa de produção de CH<sub>4</sub> e no potencial específico quando o substrato utilizado foi a palha de trigo, relatando pequena diferenciação ao se utilizar relações I:S de 0,25 ou 2,5 em substrato palha de trigo, respectivamente 279 e 302 mLg<sup>-1</sup>. Relações maiores podem acarretar superestimação do potencial biometanogênico, devido à produção residual de CH<sub>4</sub> pelo inóculo. Angelidaki e Sanders (2004) relatam que alto percentual de inóculo garante produção rápida de CH<sub>4</sub>, diminuindo o tempo de incubação. Os autores afirmam também que a alta produção de CH<sub>4</sub> pelo inóculo pode aumentar a incerteza dos resultados. De maneira semelhante, Vedrenne et al. (2008) indicam aplicação de baixa relação I:S, evitando superestimações.

O inóculo utilizado é fator essencial neste processo. Adiciona-se nos reatores algum substrato rico em microrganismos ativos, para garantir a presença de bactérias adaptadas ao ambiente anaeróbio. Assim, evita-se perda de tempo por aclimatação e multiplicação. Dejetos de animais costumam ser excelentes inóculos (ZHANG et al. 2016b), pois geralmente são ricos em nitrogênio e fósforo e isso representa uma ameaça ao meio ambiente, como eutrofização da água, poluição do ar e degradação do solo, mas pode-se mitigar estes impactos com aplicação da biodigestão (GODOS et al., 2010).

Lodos de reatores anaeróbios também têm sido muito aplicados como inóculo, pois além de aportarem grande diversidade de bactérias, geralmente possuem elevada alcalinidade, diminuindo as probabilidades de acidificação dos reatores (ABOUDI et al., 2016; DAI et al., 2016). Em áreas urbanas os principais agentes poluidores de águas são os esgotos. Os esgotos em diversas cidades brasileiras são tratados nas estações de tratamento de esgoto (ETEs), com tecnologias variadas, e ao retornar aos corpos hídricos

apresentam um bom grau de pureza. Contudo, há formação de um resíduo com características semi-sólida, pastosa e com sua maior parte composta de componentes orgânicos, designado lodo de esgoto (PEDROZA et al., 2010).

Dependendo do sistema de tratamento, o lodo é gerado em quantidades diferentes e com características diferentes. Nestes sistemas biológicos onde se tratam os esgotos, há um consórcio de microrganismos em quantidade considerável, que é responsável pela degradação ou estabilização da matéria orgânica. A adição de lodo no processo de biodigestão melhora a produção de biogás e acelera a partida do reator e, conseqüentemente, a produção desse gás (WANG et al. 2018). O lodo de esgoto proveniente de estações de tratamento é obtido como um produto estável e com menor volume, o que facilita seu manuseio.

### **2.3.1.3. pH: Alcalinidade e acidez volátil**

O processo de acidificação do reator tende a ocorrer de forma muito mais rápida que a capacidade de consumo desses ácidos pelas arqueas metanogênicas. Desta forma, torna-se necessário que o afluente do biodigestor tenha capacidade tamponante para impedir a acidificação do reator, ou seja, o resíduo utilizado na biodigestão deve possuir alcalinidade suficiente para suprimir a tendência de variação do pH ao se liberarem os ácidos graxos voláteis na fase de hidrólise (GOMEZ-TOVAR et al., 2012; CHARNIER et al., 2016).

A alcalinidade de um sistema é definida como a capacidade que este possui em neutralizar ácidos. Alcalinidade alta significa que o sistema tem elevada concentração de íons carbonatos e bicarbonatos, por exemplo, que são os principais radicais alcalinos e, desta forma, possui proporcional capacidade tamponante (CHERNICHARO, 1997). Desta forma, a alcalinidade apresenta-se como um parâmetro de extrema importância, influenciando diretamente no potencial hidrogeniônico no reator, pois as arqueas metanogênicas são muito sensíveis às variações de pH. Concentrações de ácidos elevadas, que resultem em pH inferior a 4,5, suprimem totalmente o crescimento e a atividade das arqueas metanogênicas e, conseqüentemente, a produção de metano (SIZOVA et al., 2003). Kunz et al. (2016) relatam que valores de pH inferiores a 6,5 inibem o crescimento das arqueas, enquanto as produtoras de ácidos voláteis permanecem ativas até o pH 4. Foresti et al. (1999) relatam que quando há equilíbrio entre as fases acidogênica e metanogênica, o pH se mantém próximo da neutralidade (pH 7).

A relação acidez volátil (AV) e a alcalinidade total (AT) é uma possível forma de verificação do sistema de tamponamento e monitoramento indireto dos ácidos produzidos durante a digestão anaeróbia. A faixa ótima da relação AV:AT é de 0,3 a 0,4, o que indica equilíbrio, representando um processo onde as cinéticas de consumo e produção dos ácidos está balanceada (RIPPLEY et al. 1986; CHERNICHARO, 1997).

#### 2.3.1.4. Teor de sólidos

A biodigestão anaeróbia pode ser classificada como líquida quando apresenta teores de sólidos totais inferiores a 15%. Quando se ultrapassa este percentual, esta passa a ser classificada como biodigestão com alto teor de sólidos ou até mesmo designada como biodigestão a seco (KOTHARI et al., 2014). Esta forma de biodigestão torna-se interessante quando se considera uma maior concentração, conseqüentemente um menor volume de reator e menor necessidade de água, além de maximizar o potencial de utilização de materiais lignocelulósicos, proporcionando produção de energia e não competindo com a alimentação humana (YANG et al., 2015).

Contudo os materiais lignocelulósicos apresentam-se como dispendiosos, quanto ao processo, frente aos substratos com maior facilidade de hidrólise. Para reduzir custos inerentes à biodigestão deste material, assim como para diminuir o tempo de detenção hidráulica, pode-se realizar processos de pré-tratamento (SHEN et al., 2015). Quando não se utilizam processos como este, a biodigestão, em temperaturas mesófilas e percentuais de sólidos totais (ST) superiores a 12%, apresenta redução na produção de biogás, relativo aos sólidos voláteis alimentados (ANDRIAMANOHIARISOAMANANA et al., 2016).

Ao se aplicar maiores taxas de sólidos, alguns autores buscam até mesmo a prévia centrifugação do inóculo para elevar o teor de sólidos neste, e/ou misturar inóculos de biodigestões sólidas e líquidas para empregar uma maior taxa de sólidos totais, aumentando a proporção de SV do inóculo pelos SV do substrato, mantendo-se uma produção de biogás dentro de níveis aceitáveis (ANDRIAMANOHIARISOAMANANA et al., 2016).

Segundo Liao e Li (2015), a biodigestão anaeróbia convencional utiliza teores de sólidos na ordem de 2 a 6%. Estes autores classificaram como biodigestão com alto teor de sólidos quando superior a 8%. Marcos et al. (2010), ao realizar biodigestão de efluente de abatedouro com aplicação de carga orgânica ao nível de  $4,5 \text{ g L}^{-1}$ , relataram ser esta a que proporciona maior produção de metano, representando uma concentração de apenas 0,45% de sólidos.

Liu et al. (2016a) estudaram teores de sólidos variando de 10 a 19%, em que o aumento do teor de sólidos afetou a concentração, negativamente, das arqueas metanogênicas acetoclásticas, responsáveis primordialmente pelo consumo de acetato, o que ocorreu também com as bactérias acidogênicas e acetotróficas. Comparativamente, elevou-se a concentração das metanogênicas hidrogenotróficas, responsáveis pelo consumo de dióxido de carbono e hidrogênio.

Cheg e Li (2015) notaram que o teor de sólidos quando elevado de 7 para 15% apresenta propriedade tixotrópica aumentada significativamente, assemelhando-se a um semissólido com capacidades de fluxo pobre. Neste caso, verifica-se que a cinética hidrolítica é reduzida, juntamente com o aumento na taxa de sólidos totais (ABBASSI-GUENDOUZ et al., 2012).

Usualmente, muitos estudos relatam a aplicação de teores de sólidos totais próximos a 8% quando se utiliza a biodigestão líquida em condições mesófilas, principalmente quando utilizado como substrato a água residuária de suíno (ASTALS et al., 2012; ZHANG et al., 2014; LIU et al., 2016b).

## 2.4. Biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica tem produção anual estimada na ordem de  $10^{13}$  toneladas no mundo (KRATKY; JIROUT, 2015). É a fonte de biomassa mais abundante, prevalente nas paredes das plantas, formadas a partir da fotossíntese, utilizando dióxido de carbono e água. Compreende uma mistura de polímeros de carboidratos de celulose e hemicelulose, estruturas organizadas, incorporadas em uma lignina amorfa (ZHANG et al., 2016a). A lignocelulose tem estrutura complexa composta por três componentes orgânicos principais – celulose (40 - 50%), hemicelulose (25 - 35%) e lignina (15 - 20%), representados na Figura 4 (SAMBUSITI et al., 2013; HAN et al., 2019). Algumas características podem ser influenciadas dependendo da composição, principalmente nestes três componentes, como a área superficial suscetível ao ataque, proteção da celulose pela lignina, cristalinidade da celulose e heterogeneidade das partículas. Estas influenciam diretamente na reaclitrância do material à hidrólise (DU et al., 2010).

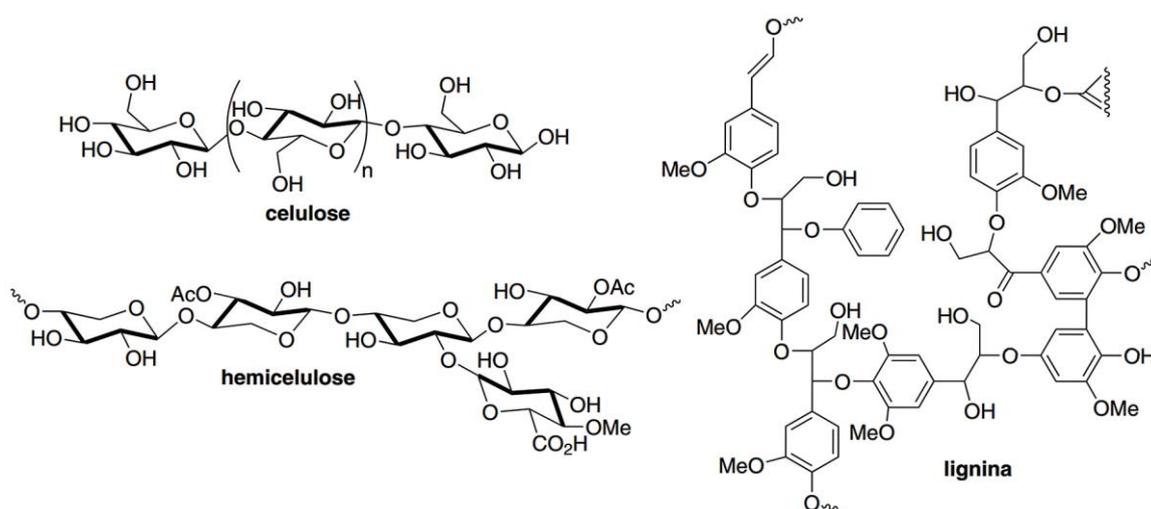


Figura 4 Estruturas parciais dos componentes lignocelulósicos.

Os percentuais de celulose e lignina em madeiras de lei e madeira mole/macia são superiores aos resíduos agrícolas, como palhas, bagaço e as gramíneas (DU et al., 2010). Estes teores interferem na sequência geral de facilidade ao ataque ao material, sendo resíduos agrícolas (palha de milho, bagaço de cana), superior à madeira de lei, que por sua vez é superior à madeira macia. A hemicelulose é um grupo diverso de heteropolissacarídeos complexos, não-celulósicos, classificados de acordo com o monossacarídeo (xilose, manose) presente, como arabinoxilano e galactomanano, e também incluem glicose e ácido acético (MOREIRA et al., 2016).

A celulose, por ser principal constituinte da lignocelulose, é a componente prioritária da parede celular de plantas superiores, composto orgânico e carboidrato mais abundante na Terra. Possui elevado peso molecular, linear, homopolímero de unidades de  $\beta$ -D-glucopiranosilo unidas por (1/4) ligações glicosídicas (Figura 4). É geralmente insolúvel, exceto em alguns solventes capazes de romper suas ligações de hidrogênio intermoleculares (BEMILLER, 2019).

Já a lignina é um polímero complexo principal responsável por formar uma barreira naturalmente recalcitrante contra ataques, independentes de sua natureza, evitando a degradação (VIKARI et al., 2012; VOLYNETS et al., 2017). A lignina confere rigidez à parede celular, além de proteger a celulose e a hemicelulose contra o ataque hidrolítico por patógenos de plantas (BONAWITZ et al., 2014). É formada a partir de oxidação e polimerização de álcoois hidroxicinâmicos em um heteropolímero, que são responsáveis por elevar a força para que o material possa ser flexionado ou pressionado, ou seja, reduzem sua maleabilidade além de conferir a capacidade de resistência física, química e biológica. No processo de crescimento e amadurecimento das células, a celulose e a hemicelulose, que conferem estrutura ao material, são situados em companhia da lignina. A presença desta é elevada principalmente nas paredes celulares secundárias. A estrutura aromática estável da lignina é um grande entrave à hidrólise da lignocelulose (BONAWITZ et al., 2014). Cerca de 70% de seu peso seco são polissacarídeos, que podem ser sacrificados em pentoses e hexoses, que podem ser fermentados e convertidos em muitos produtos. A lignina contém um sistema aromático composto de unidades de fenilpropano (PONNUSAMY et al., 2019). Podem ser divididas em Ligninas H, G e S, composições contendo unidades *p*-hidroxifenil, guaiacila e siringila, respectivamente.

No entanto, a conversão biológica do material lignocelulósico tem sido dificultada por sua estrutura recalcitrante à hidrólise, tendo como principal responsável a presença de lignina e devido à cristalinidade da celulose e às associações entre a celulose, a hemicelulose e a lignina (CARRILLO et al., 2004).

A desconstrução deste polímero e a obtenção desta biomassa em moléculas mais simples passíveis de conversão em uma variedade de produtos químicos de valor agregado é a maior dificuldade que precisa a ser vencida (ZHANG et al., 2017). O ataque à lignina é fundamental para superar a recalcitrância no processo de hidrólise enzimática (SANTOS et al., 2018). A despolimerização se efetiva em quebra da lignina em biomassa para frações menores, facilitando sua solubilização (SCHUTYSER et al., 2018). A lignina em larga escala é produzida geralmente na indústria de fabricação de celulose e papel e nos processos em biorrefinarias, tais como polpa Kraft, polpa de sulfito, soda polpação, hidrólise/fracionamento por água quente, ácido diluído, alcalino ou enzimático (KASSAYE et al., 2017).

A biomassa vegetal, considerada a fonte renovável mais abundante e biologicamente

sustentável da Terra, é produto promissor para refinarias de biocombustíveis e produtos de valor agregado (KASSAYE et al., 2017). Porém, trata-se de um recurso atualmente subutilizado ou até mesmo desconsiderado (YANG et al., 2014). Além disso, os resíduos lignocelulósicos advindos de culturas energéticas, da madeira e dos resíduos agrícolas, são as fontes de biomassa mais abundantes (TALEBNIA et al., 2010).

As biorefinarias utilizam biomassa como recurso, sendo este renovável, na tentativa de substituir recursos, não renováveis, ao produzir químicos e combustíveis (CHEN; WAN, 2018), dentre as quais pode-se citar: indústrias de papel e celulose, produção de etanol de segunda geração, unidades integradas com mais de uma finalidade. Utilizando vários outros produtos secundários (aromáticos e outros produtos de lignina), a lignina obtida pode ser usada na própria indústria como combustível após processo de remoção de minerais. As biorefinarias submetem a lignina a processos catalíticos para obter fenóis, vanilina e outros derivados (ZAKZESKI et al., 2010).

Desta maneira, a utilização racional de todos os componentes em lignocelulose torna-se necessária, considerando que estes apresentam diferenças em características físicas e propriedades químicas. Por muitas vezes, o processo necessário e comum é de isolamento ou separação, antes que eles sejam convertidos ou utilizados separadamente. A separação de lignina, hemicelulose e celulose da matriz de biomassa é frequentemente realizada em um pré-tratamento de biomassa ou biomassa estágio de fracionamento (CHEN; WAN, 2018; KIM et al., 2018).

Também há estudos buscando a aplicação das palhas como substrato na biodigestão anaeróbia, visando produção de biogás, como no trabalho de Yong et al. (2015), em que se descreveu a aplicação das palhas de milho, sorgo e trigo misturadas, para realizar a biodigestão. Esta foi realizada após um pré-tratamento de extrusão aplicando-se inóculo com características granulares, advindo de reator anaeróbio de fluxo ascendente de manto de lodo (UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket).

## **2.5. Biodigestão de material lignocelulósico**

A sacarificação enzimática da celulose na biomassa de lignocelulose é um processo muito estudado, principalmente para produção de álcool, mas também pode ser usada para diversos outros processos, nos quais a glicose é produzida a partir da celulose. Contudo, a eficiência é reduzida devido à presença de lignina, assim como a estrutura cristalina de celulose e hemicelulose. A lignina limita o acesso de enzimas ao polissacarídeo em biomassa de lignocelulose (BELLIDO et al., 2014). A estrutura cristalina, onde os átomos estão espacialmente ordenados, reduz a área de superfície de acesso entre enzimas e polissacarídeos (FAN et al., 2019).

A construção de biodigestores para gerar energia limpa através da produção de biogás é representa um método eficaz de aproveitamento dos resíduos (GAO et al., 2019).

O biogás é produzido via biodigestão anaeróbia, um processo eficiente no tratamento de resíduos, pois proporciona a redução da poluição e a valorização dos coprodutos gerados (SUN et al., 2014). O processo de digestão anaeróbia pode ser aplicado para bioestabilizar uma grande variedade de substratos (TIJANI et al., 2018).

A transformação do material rico em lignocelulose em biogás é uma estratégia para mitigar as emissões de gases causadas pela exploração de recursos energéticos fósseis. Contudo, sua produção é difusa e de difícil concentração quanto à produção em larga escala. Há também as dificuldades de armazenamento e purificação devido à presença de CO<sub>2</sub> no biogás, o que aumenta os custos de compressão e transporte e acaba por limitar a viabilidade econômica para a utilização do biogás no ponto de produção. Também há os traços de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) que necessitam ser removidos pois corroem componentes mecânicos dos geradores do motor e motor diesel ou até mesmo da caldeira em que for utilizado (ZHAO et al., 2010).

No processo de biodigestão do material lignocelulósico, a quantidade e a qualidade do metano produzido são afetadas, dependendo das características desse material. A etapa da hidrólise no processo de biodigestão é principalmente influenciada pelas características dos materiais que compõem o material lignocelulósico, como a lignina, celulose e hemicelulose, e os teores de cada um, afetando no volume de poros, o tamanho das partículas, a área superficial para reações enzimáticas e as características estruturais (FRIGON; GUIOT, 2010).

Na tabela 4 há alguns trabalhos referentes à biodigestão de materiais lignocelulósicos. Mancini et al. (2018) estudaram a aplicação de pré-tratamentos na palha trigo e em seguida do processo de biodigestão. O pré-tratamento foi com solvente orgânico N-metilmorfolina N-óxido (NMMO), organosolvente e alcalino. O potencial de produção de biometano após o NMMO foi de 11%, e para o organosolvente e o alcalino em 15%, para cada. O uso de pré-tratamento alcalino foi o que apresentou maior deslignificação da palha de trigo e, além disso, foi mais eficaz na fase log na cinética de produção de biogás.

Utilizando também o substrato palha de trigo, Rajput et al. (2018) realizaram o pré-tratamento térmico com temperaturas de 120, 140, 160 e 180 °C e, em seguida, fizeram o processo de biodigestão para a produção de biogás. Com o pré-tratamento a 180 °C, o rendimento diário de biogás foi maior, sendo de 46 Nml gVS<sup>-1</sup> e o menor rendimento foi com a palha não tratada. A produção acumulada de biogás para o material sem tratamento e para os que foram pré-tratados a 120, 140, 160 e 180 °C foi de 404, 496, 522, 557 e 615 Nml gVS<sup>-1</sup>, respectivamente.

Tabela 4 biodigestão de materiais lignocelulósicos e pré-tratamentos

Tipo Substrato	Co-substrato	Reator	Condições de operação	Pré-tratamento	Inóculo	Biogás / Metano	Ref.
Palha de trigo	-	2000 mL – Batelada com agitação	35,1 ± 0,3 °C TDH = 40 dias	Térmico 150 - 220 °C e sem tratamento 1 – 15 min	Lodo 1:2 – S:I	226, 185, 273 mL CH <sub>4</sub> gSV <sup>-1</sup>	Ferreira et al. (2013)
Esterco de gado	Palha de milho Seca ao ar 5-10 mm	2 L – batelada 1L – útil	35 ± 1 °C Carga: 50-80 g ST L <sup>-1</sup> TDH = 45 dias	NaOH 2% m m <sup>-1</sup> 3 dias	lodo ativado - digestor anaeróbio ~5,8- S:I	194 mL gSV <sup>-1</sup>	Li et al. (2009)
Esterco de cavalo e madeira decomposta	Palha de arroz	500 ml - Batelada 10 ml de caldo Nutrient	38 °C - 3% palha de arroz TDH= 45 dias 15 ml bicarbonato (pH 6)	Ausência	3% ST de lodo de esgoto anaeróbio 3% m/m de consórcio microbiano cultivado para este fim	161,49 ml gSV <sup>-1</sup>	Tantayotai et al. (2017)
Esterco bovino	Palha trigo - 10 mm	8 L – CSTR 2,8 g SV / L.dia	37,44 e 52 °C TRH = 25 dias C: N = 11-75	Explosão a vapor	planta de biogás	130–210 mL gSV <sup>-1</sup>	Risberg et al. (2013)
Estrume suíno	Palha milho	150 mL garrafas	TRH = 30 dias C: N = 25	Pré-tratamento de álcali de palha de milho 3 h - 20 °C, 35 °C ou 55 °C	Lodo de codigestão cultivado em laboratório	350 mL gSV <sup>-1</sup>	You et al. (2013)
-	Caule sorgo	118 ml - Batelada	37 °C; TDH= 50 dias;	100–160 °C etanol- água (50% e 70%); com e sem ácido sulfúrico 1% m/m; 30 min – E ausência	O inóculo de digestor – ETE	278,7 ml CH <sub>4</sub> gSV <sup>-1</sup> 75,3 CH <sub>4</sub> gSV <sup>-1</sup>	Ostovareh et al., 2015
Esterco de vaca	Caule de sorgo	2000 mL - batelada	37 °C C/N: 20-35 17% ST	Ausência	lodo ETE 0,8 I:S	478 mL gSV <sup>-1</sup>	Zhang et al. (2016b)
Estrume de búfalo e resíduos laticínios.	Palha trigo	125 mL - batelada	TDH= 40 dias 37 °C	i) solvente orgânico N-metilmorfolina N-óxido (NMMO) 120 °C - 3 h; ii) organosolvente (etanol), 180 °C - 1 h; iii) NaOH 1,6% m/m - 30 °C - 24 h	1,5:1 I:S	274 mL CH <sub>4</sub> gSV <sup>-1</sup> sem pré-tratamento + 11% NMMO +15% organosolv +15% alcalino	Mancini et al. (2018)
Estrume	Palha de trigo	225 mL – Batelada	35 °C - 45 dias Alimentado duas vezes dia	120-180 °C - 60 min - seguido de resfriamento induzido	1:1 S:I	496 - 615 Nml gVS <sup>-1</sup> , ao elevar a temperatura do pré-tratamento	Rajput (2018)

Venturin et al. (2018) estudaram a aplicação de pré-tratamentos com ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio no caule de milho, posteriormente submetido a co-digestão anaeróbia com dejetos de suínos. Com o pré-tratamento com  $H_2SO_4$  houve a remoção de 75,1% de hemicelulose com a concentração do ácido de 0,75%  $vv^{-1}$ . Porém, o pré-tratamento ácido causou a inibição do processo de co-digestão. Com 12% de  $H_2O_2$  (pH 11,5), elevou-se a fração de celulose em 73,4% e reduziu o teor de lignina em 71,6%. Segundo Venturin et al. (2018), o pré-tratamento com peróxido de hidrogênio aumentou o volume final de biogás em 22%. Além disso, o  $H_2O_2$  reduziu o tempo de biodigestão em um terço.

No trabalho desenvolvido por Li et al. (2018), realizou-se o processo de produção de metano a partir de substratos isolados de celulose, hemicelulose, lignina além da mistura desses três. O potencial em metano foi maior para a celulose quando comparado à hemicelulose e a hidrólise da hemicelulose foi mais rápida do que a celulose. Já a lignina foi digerida e não apresentou produção de metano. Quando foi realizada a co-digestão de celulose e hemicelulose houve um aumento do rendimento de metano e da biodegradabilidade em relação a biodigestão isolada de cada um. Neste quesito entram condições favorecidas pela presença de mais substratos e a condição da hemicelulose em ter maior capacidade de acidificação facilitando a partida do reator. E quando a lignina foi adicionada com a celulose e a hemicelulose, ocorreu uma diminuição significativa no rendimento da produção, e isso indica que a lignina deve ser pré-tratada ou removida do substrato antes de ser submetido ao processo de biodigestão anaeróbia.

De acordo com Guo et al. (2018), a ação protetora de redes de lignina/hemicelulose onde está inserida uma estrutura cristalina de celulose torna o material lignocelulósico resistente ao ataque. Com isso, alguns estudos têm se baseado em técnicas avançadas proteômicas com uso de enzimas hidrolíticas comerciais eficazes. Podem ser divididas pelos modos de ação, endo (endo-b-1,4-glucanase), exo (celobiohidrolases que liberam celobiose de celulose) ou endo-processiva (rompe totalmente e depois atua nas moléculas menores) (SANTOS et al. 2018). Tanto as celulasas como as hemicelulasas podem ser afetadas por fenóis derivados da lignina; contudo, cada espécie é afetada em uma intensidade diferente.

No trabalho de Ferreira et al. (2013), há indícios que a temperatura elevada pode ser substituída pelo tempo do pré-tratamento, onde a degradação do material lignocelulósico após um minuto de pré-tratamento de palha de trigo a aproximadamente 200 °C é muito semelhante à degradação a 150°C por 15 min.

A forte associação existente entre os componentes lignina, celulose e hemicelulose dificulta a utilização desses materiais como matérias-primas para processos químicos e biotecnológicos, razão pela qual existe a necessidade do emprego de um método de pré-tratamento físico e/ou químico que atenua a interação entre os componentes da biomassa e os torne suscetíveis à conversão em bioprodutos e/ou insumos para a indústria química

(FRIGON; GUIOT, 2010).

O produto da lignocelulose pode ser degradado a açúcares, entre outros componentes, que podem ser consumidos pelo consórcio microbiano na biodigestão para produção de biogás. O processo de pré-tratamento irá facilitar esse processo, fornecendo mais facilmente estes à biodigestão (TANTAYOTAI et al., 2017). Cada pré-tratamento possui suas vantagens e limitações e, com isso, o desempenho econômico também deve ser um fator a ser analisado na hora da escolha (MANCINI et al., 2018).

## **2.6. Pré-tratamento do material lignocelulósico**

O consórcio de bactérias e arqueas no processo de biodigestão do biogás não é eficiente na desintegração do revestimento de lignina, deixando parte considerável dos açúcares facilmente conversíveis intocados, gerando produção insatisfatória de biogás, falhas de processo causadas pelas fibras não digeridas e, conseqüentemente, perdas financeiras, o que acabam por deixar os substratos lignocelulósicos menos atraentes para utilização em biodigestores. Um pré-tratamento ao material é uma estratégia viável para melhorar a produção de biogás a partir de substratos lignocelulósicos (DOLLHOFER et al., 2018).

A biodigestão de material lignocelulósico pode ser facilitada com a aplicação de pré-tratamento físico simples, como cortar, ou seja, aumentando a área de contato, ou acesso aos microrganismos. Os materiais lignocelulósicos podem competir de modo impactante no que tange à produção de energia menos agressiva ao meio ambiente (WANG et al., 2016).

Várias tecnologias de pré-tratamento foram desenvolvidas (LI et al., 2016) e os métodos de pré-tratamento podem ser classificados em três tipos: físicos, químicos e biológicos. Abordagens de pré-tratamento físico que não usem quaisquer produtos químicos ou microrganismos incluem técnicas como: trituração (KREUGER et al., 2011); hidrotérmico (O-THONG; BOE; ANGELIDAKI, 2012); explosão a vapor (RISBERG et al., 2013); irradiação (micro-ondas, raios-gama e o tratamento por feixe de elétrons) (JACKOWIAK et al., 2011; SAPCI, 2013); extrusão (HJORTH et al., 2011; MENARDO; CACCIATORE; BALSARI, 2015); entre outros.

O tratamento hidrotérmico corresponde ao uso de água quente com adição de líquidos ou aquecimento do substrato líquido (O-THONG; BOE; ANGELIDAKI, 2012) e, quando aplicadas temperaturas acima da que o líquido se tornaria gás, torna-se necessária a utilização de pressão (BADSHAH et al., 2012). A temperatura do processo hidrotérmico geralmente varia de 150 a 230 °C, dependendo da composição da biomassa e do líquido, além do tempo de residência (KRATKY; JIROUT, 2015). O tempo de residência, durante o pré-tratamento pode ser de alguns segundos a várias horas, tendo correlação com a temperatura. Mesmo que este aponte para um aumento significativo na produção de biogás,

até mesmo acima de 40%, este tende a resultar em balanço energético negativo (KRATKY; JIROUT, 2015).

A explosão a vapor utiliza temperaturas geralmente próximas a 200 °C e ocorre na ordem de minutos, tendo ápice em sua despressurização, que ocasiona rompimento mecânico do material lignocelulósico. Porém, apresenta baixa eficiência, principalmente quando se leva em consideração o fator energético (RISBERG et al., 2013).

A tecnologia de alta pressão hidrostática (HHP) é outro tratamento que tem sido estudado, que pode ser utilizado separadamente ou em união a outros métodos (MA et al. 2018). Reduzindo o consumo de químicos, o HHP ainda tem alguns fatores a se considerar como positivos, incluindo baixo consumo de água e menores preocupações ambientais. A alta pressão pode alterar as propriedades mecânicas iniciais da biomassa, referentes às mudanças nos componentes da parede celular, como os polissacarídeos. O processamento de HHP pode ter potencial de, por exemplo, elevar a atividade de enzimas hidrolíticas através das alterações conformacionais da enzima ou das moléculas do substrato (ZHANG et al. 2015a).

Durdica et al. (2019) realizaram o pré-tratamento de substratos lignocelulósicos via eletroporação e conseguiram elevar a produção de biogás. Trata-se de um método de tratamento usando campo elétrico. Após o pré-tratamento dos substratos foi possível melhorar o processo de codigestão e obter eficiência energética positiva quanto ao balanço geral do processo (DURDICA et al., 2019).

O ultrassom (cavitação acústica e hidrodinâmica) também pode ser utilizado para elevar a eficiência na biodigestão (CESARO et al., 2014; PATIL et al., 2016), como já realizado utilizando palha de trigo e até mesmo sendo sinergicamente, utilizada com hidróxido de potássio, maximizando principalmente a produção final de metano (PATIL et al., 2016).

Pode-se realizar pré-tratamento utilizando-se de fungos e suas enzimas, assim como em consórcio de microrganismos durante a biodigestão; contudo, este último torna-se de maior complexidade de aplicação devido às diferentes faixas de pH (ZHAO et al. 2014b).

Dollhofer et al. (2018) realizaram pré-tratamento biológico na biomassa lignocelulósica e em seguida a biodigestão. Para o pré-tratamento usaram *Neocallimastix frontalis*, e o processo de hidrólise durante a incubação, com esta bactéria, aumentou inicialmente a produção de biogás, com degradação rápida da matéria seca e uma concentração elevada de ácidos graxos voláteis (AGV).

Tantayotai et al. (2017) estudaram o efeito de consórcios microbianos com características de degradar a lignocelulose para elevar a eficiência de produção de biogás a partir da palha de arroz. O consórcio microbiano foi isolado de amostras naturais, incluindo esterco de cavalo e madeira decomposta. Os resultados mostraram que ambos os consórcios microbianos aumentaram a produção de biogás.

Liu et al. (2016b) realizaram ensilagem da cana-de-açúcar antes da biodigestão, resultando na redução na concentração total de ácido láctico com preservação dos sólidos totais e aumento significativo na ordem de 12 a 18% na produção de biogás. Contudo, a produção deste, de forma direta, sem ensilagem apresenta concentrações de metano até duas vezes maiores que a forma previamente ensilada. Ou seja, não é eficiente tanto energeticamente quanto monetariamente.

Pré-tratamentos enzimáticos ou bioquímicos são dificultados pelo fato de a lignina e os compostos fenólicos derivados desta inibirem enzimas lignocelulolíticas, onde o efeito é diretamente relacionado aos tipos de compostos fenólicos, concentração e possíveis efeitos sinérgicos (SANTOS et al., 2018). A hidrólise enzimática da biomassa é dificultada pela estrutura rígida e recalcitrante da lignina; com isso, é necessário combinar o processo enzimático com um pré-tratamento físico ou químico adicional (THOMAS et al., 2017). A abordagem de fracionar fisicamente materiais de biomassa fornece caminhos para a redução contínua de custos relacionados ao uso de enzimas e pré-tratamento para conversão de celulose (SANTOS et al., 2018).

Pré-tratamentos químicos utilizam: ácidos, bases e/ou líquidos iônicos (QIU; AITA, 2013; KARRAY; HAMZA; SAYADI, 2015). Várias tecnologias industriais químicas de pré-tratamento foram desenvolvidas, incluindo o ácido diluído, amoníaco, solubilização em etanol, explosão da fibra em amônia, e utilização de sulfito em pré-tratamento (JIN et al., 2014; KRATKY; JIROUT, 2015). Um dos líquidos iônicos estudados é o NMNO, que pode ser recuperado e reutilizado, atuando como solvente da celulose, e apresenta melhoras significativas na produção de metano (KABIR et al., 2014).

As metodologias de pré-tratamento apresentam resultados diferenciados, dependendo do substrato empregado, como a produção de açúcares redutores na ordem de 3,62; 2,88; 2,53 e 7,3 g L<sup>-1</sup> foi obtida empregando-se catálise ácida, termo-alcalina, ultrassom e de pré-tratamento enzimático, respectivamente, em macroalgas *Ulva rigida* (KARRAY; HAMZA; SAYADI, 2015), enquanto no material inicial havia apenas 0,6 g L<sup>-1</sup> de açúcares redutores.

Mesmo havendo diversos métodos desenvolvidos, fracionar efetivamente biomassa lignocelulósica aos seus três constituintes individuais ainda é um grande desafio, além de manter a lignina separada, tal que celulose e hemicelulose em boa qualidade para sua posterior conversão específica (HASSAN et al., 2018).

### **2.6.1. Pré-tratamento básico**

Kaur e Phutela (2016) estudaram o pré-tratamento da palha de arroz com NaOH através de imersão por um período de 24 h, em diferentes concentrações de NaOH de 2, 4, 6, 8 e 10%. Buscando um efeito sinérgico, foi utilizado juntamente micro-ondas durante

30 min a 180 °C e 720 W. Obteve-se como melhor resultado de pré-tratamento aplicar a concentração de 4% de NaOH durante 30 min, responsável por diminuir até 65% no teor de lignina e solubilizar 89% no teor de sílica, presente em grande quantidade no arroz e inibitório ao processo de biodigestão. Este procedimento proporcionou um aumento na produção de biogás na ordem de 55%.

Sambusiti et al. (2013) relatam que a utilização do hidróxido de sódio pode acarretar benefícios quanto a estabilidade e produção de metano, mesmo quando aplicado após pré-tratamento de sorgo ensilado, que já é considerado um pré-tratamento biológico de grande significância e de elevada degradabilidade.

Contudo, o NaOH pode vir a potencializar não apenas o efeito no pré-tratamento, mas também propiciar um substrato com menos variações de pH, o que viria a favorecer a manutenção e a reprodução das arqueas metanogênicas. O procedimento de realizar o pré-tratamento básico antes da biodigestão da palha de sorgo ensilada pode incrementar em até 25% a produção de metano (SAMBUSITI et al., 2013).

Os pré-tratamentos ácidos, básicos e enzimáticos podem apresentar diferenças quanto aos compostos lignocelulósicos que solubilizam, como se pode visualizar na Figura 5. O gráfico expõe apenas a propriedade de solubilização (GOMEZ-TOVAR et al., 2012).

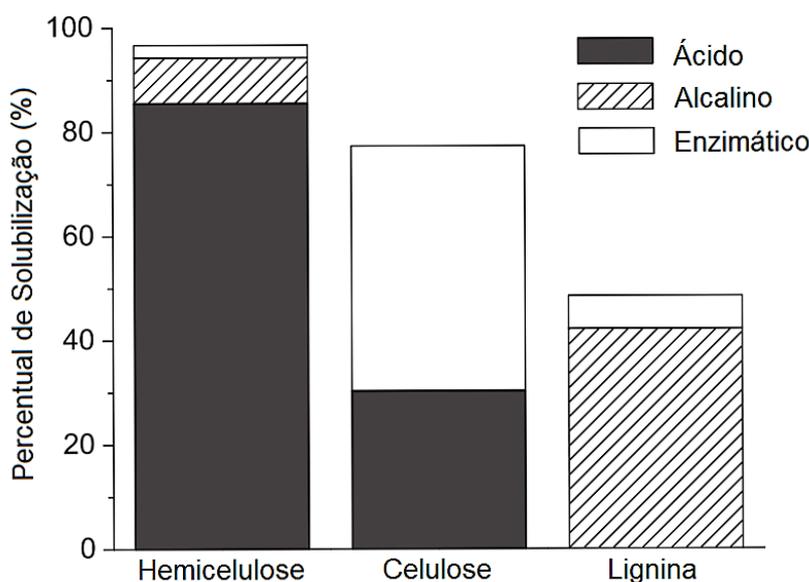


Figura 5 Comparativo de solubilização do material lignocelulósico por diferentes métodos. Fonte: Gomez-Tovar et al. (2012).

Bolado-Rodriguez et al. (2016) aplicaram pré-tratamentos de autoclavagem térmica, com HCl diluído e outro com NaOH diluído e por último peróxido de hidrogênio, realizados no bagaço de cana-de-açúcar e na palha de trigo logo após utilizados no processo de biodigestão. De acordo com os autores, o pré-tratamento alcalino não favoreceu a digestão anaeróbia de qualquer um dos substratos testados, reduzindo as produções de metano durante o processo e resultando em uma biodegradabilidade semelhante ou até mesmo

inferior aos materiais não tratados. Esta afirmação entra em conformidade com os trabalhos diversos que recomendam temperaturas ambientes ou resfriamento para pré-tratamentos com reagentes alcalinos.

Alguns pré-tratamentos, como o de ureia, bicarbonato de amônio e água de amoníaco, não só tem potencial de destruir a estrutura, mas também melhoraram algumas características relevantes à biodegradabilidade da biomassa lignocelulósica (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

O pré-tratamento com amônia pode abrir ou decristalinizar a estrutura da celulose, romper ligações com a lignina, possibilitando a remoção da lignina da biomassa. A principal vantagem na utilização da amônia é a facilidade de recuperação após o pré-tratamento (WANG et al., 2019).

### **2.6.2. Pré-tratamento ácido**

Em 1997, Xiao e Clarkson (1997) realizaram o pré-tratamento de papel de jornal com ácido acético-nítrico para solubilizar e remover o componente de lignina e melhorar a conversão em metano na digestão anaeróbia. O ácido acético por si só não possui capacidade de dissolver a lignina, mesmo a uma concentração próxima a 80% e a temperatura próxima a 100 °C. Desta maneira, os autores utilizaram concentração de ácido acético de 35% com ácido nítrico a 2%, resultando em uma remoção de 80% da lignina do papel de jornal e uma redução no peso na ordem de 40%. O pré-tratamento resultou em aumento na produção de metano, cerca de três vezes mais que o jornal sem o procedimento. Testes de biodigestão com TDH de 60 dias foram realizados. A relação celulose/lignina do papel de jornal aumentou de 1,6 para 9,9 neste tratamento ácido.

Dentre os ácidos, o sulfúrico é o catalisador mais eficaz para a hidrólise da celulose, mas prejudica o meio ambiente e os reatores biológicos (HAN et al., 2019). Já pré-tratamentos com ácidos orgânicos diluídos podem apresentar algumas características desejáveis, além de serem eficientes quanto à hidrólise do material e menos produtos de degradação secundários (KOOTSTRA et al., 2009b). Mesmo assim, o pré-tratamento com ácido orgânico ainda recebe menos atenção e relativamente pouco se sabe sobre o seu mecanismo em pré-tratamento (QIN et al., 2012).

Qin et al. (2012) realizaram o estudo de pré-tratamento da palha de milho com diferentes ácidos diluídos com ácido sulfúrico, oxálico, cítrico, tartárico e acético nas temperaturas de 130 a 190 °C. O rendimento máximo de xilose foi obtido após o pré-tratamento com ácido sulfúrico e oxálico, enquanto os xiloligômeros foram obtidos em maior quantidade com os pré-tratamentos com ácidos orgânicos mais fracos. Xiloligômeros, ou oligômeros de xilana, são suficientemente pequenos ao ponto de serem solúveis e separáveis da celulose, mas não estão completamente hidrolisados em xilose, principal polímero de hemicelulose, acarretando menor formação de subprodutos inibidores do

processo fermentativo.

Segundo os autores Ostovareh et al. (2015), a adição de ácido melhora a hidrólise, primeira etapa da biodigestão, e também pode facilitar a produção de etanol. Entretanto, não houve aumento no rendimento em biogás, mais especificamente o metano. Uma proposta para reduzir a cristalinidade do material lignocelulósico é a aplicação de solvente orgânico com ácido (50% etanol, 1% ácido sulfúrico a 140 °C e 30 min), podendo-se observar as diferenças ao se aplicar teste de infravermelho (FT-IR – Fourier transform infrared spectroscopy) no material sólido. Após evaporação do solvente, foi realizada a biodigestão durante 50 dias, chegando-se à melhoria na produção de biogás de 270% frente ao sorgo não tratado.

No pré-tratamento ácido, a aplicação de ácidos inorgânicos é muito mais utilizada, pois apresentam elevada eficiência e baixo custo, porém demandam equipamentos mais caros devido à elevada capacidade corrosiva e causam problemas ambientais (BAADHE et al., 2014). Rorke e Kana (2016), ao aplicarem pré-tratamento ácido com HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HNO<sub>3</sub>, não observaram diferença estatística na solubilização da hemicelulose, que permaneceu na ordem de 75%.

Uma alternativa a esses ácidos inorgânicos é a aplicação dos ácidos orgânicos: a desvantagem da modificação no reagente está associada a maior concentração necessária para o tratamento, enquanto as vantagens estão relacionadas a um processo eficaz (QIN et al., 2012), facilidade de manuseio frente aos inorgânicos, facilidade de descarte e utilização em sistemas biológicos, reduzindo o efeito tóxico.

Amnuaycheewa et al. (2016) avaliaram três tipos de ácidos orgânicos (acético, cítrico e oxálico) e um inorgânico (clorídrico) no pré-tratamento da palha de arroz e a eficiência de cada um foi baseada no grau de sacarificação das palhas analisadas. Entre estes pré-tratamentos ácidos, apresentou-se com maior rendimento em açúcar, até 213,4 mg, o ácido oxálico. Em seguida, o ácido clorídrico (170,6 mg), ácido acético (141,4 mg) e ácido cítrico (127,2 mg), respectivamente. Ou seja, o ácido oxálico influiu em perda de massa, superior aos outros pré-tratamentos da palha de arroz, sugerindo inicialmente que é o melhor para conversão de biomassa em açúcares redutores.

Entretanto, os resultados numéricos tendem a se aproximar quando se calcularam os rendimentos de produção de biogás acumuladas, aproximadamente 1,91; 4,72; 4,83 e 4,77 L quando a biomassa palha foi pré-tratada com ácido clorídrico, ácido acético, ácido cítrico e ácido oxálico, respectivamente. Em números absolutos, o pré-tratamento com ácido clorídrico, ácido acético, ácido cítrico e ácido oxálico da palha de arroz aumentou em 2,9, 7,2, 7,4 e 7,3 vezes maior do que a da biomassa não tratada. Sendo assim, o maior rendimento em biogás foi resultante da palha pré-tratada com ácido cítrico, que quando levada em consideração a quantidade de açúcar gerado seria a conclusão menos provável. Enquanto o ácido oxálico é o melhor produto químico para pré-tratar e aumentar a

sacarificação frente aos ácidos testados o ácido cítrico é o melhor produto químico para o pré-tratamento para elevar a produção de biogás (AMNUAYCHEEWA et al., 2016).

Kootstra et al. (2009a) realizaram o pré-tratamento da palha de trigo com ácidos fumárico, maleico e sulfúrico no pré-tratamento da palha de trigo, sendo que os pré-tratamentos com ácido fumárico ou maleico diluído se apresentaram como alternativas para diluir o pré-tratamento com ácido sulfúrico. Ao aumentar a carga de sólidos para 30% m m<sup>-1</sup>, o pré-tratamento ácido permanece inalterado quanto à capacidade em biodigerir. Relatam também que, ao utilizar ácido orgânico, muito menos furfural é formado do que quando se usa ácido sulfúrico. Observaram também que ao elevar a carga de sólidos no pré-tratamento, é elevada a formação de furfural, mesmo quando se utiliza um ácido orgânico em menor concentração, apesar de ser em menor quantidade que com ácido sulfúrico. Para que a produção de furfural seja aceitável, Kootstra et al. (2009a), recomendaram aplicações de teores de sólidos abaixo de 20% nos pré-tratamentos.

Zhao et al. (2014) realizaram pré-tratamento hidrotérmico catalisado por ácido acético da palha de milho, com concentração de ácido (0,05-0,25 %), tempo de tratamento (5-15 min) e temperatura de reação (180-210 °C), além de variar pH visando a fermentação acidogênica, ou seja, maximizar a produção de ácido. Após os testes, o melhor resultado foi com ácido acético a 0,25 % a 191 °C por 7,74 minutos, sendo esta a melhor condição, que gerou maior quantidade de ácidos via acidogênese.

### **2.6.3. Biodigestão de sorgo**

O sorgo é uma cultura promissora no que se refere à produção de bioenergia e uma alternativa ao milho para geração de biogás (DAR et al., 2018). Frente ao milho, apresenta desvantagens, como maior sensibilidade ao frio durante o desenvolvimento juvenil. Além disso, as plantas ainda não apresentam combinação entre elevado teor de produção de matéria seca e composição que satisfaça a silagem ou produção de metano (WINDPASSINGER et al. 2015).

A planta de sorgo inteira pode ser utilizada em processador biológicos. Entretanto, uma opção com poucas destinações para a produção de biogás por meio do sorgo é a utilização de suas folhas. Estas são consideradas renováveis, baratas e amplamente disponíveis. A palha de sorgo sacarino é geralmente destinada à alimentação do gado, mas também é uma opção para geração de biogás.

Szambelan et al. (2017) relatam experimentos realizados com o grão de sorgo, não cozido, usando processos com hidrólise e fermentação em separado (SHF) e simultâneos (SSF) para produção de etanol. No leste da Áustria, na planície da Panônia, região com grande produção de milho, os autores Theuretzbacher et al. (2013) realizaram um experimento com duas variedades de sorgo sacarino e um granífero. Neste, o sorgo demonstrou produção de energia em 156 GJ ha<sup>-1</sup>. Segundo os autores, frente ao milho é

semelhante ou até mesmo superior. Enquanto uma das variedades sacaríneas apresentou maior rendimento energético em metano, 70%, e o restante em etanol, a granífera produziu apenas 46% de sua energia em metano e o restante em etanol.

O sorgo sacarino maduro consiste de cerca de 75% de cana, 10% de folhas, 10% de raízes e 5% de sementes em peso (KIM; DAY, 2011). O caule do sorgo é a parte mais utilizada atualmente para a produção de biogás (ANTONOPOULOU et al., 2012). Entretanto, essa parte do sorgo é essencial para a produção de bioetanol devido à alta concentração de açúcares facilmente fermentáveis, e devido as características das usinas alcooleiras pode ser adicionado ao processo mais facilmente, assim como já é destinado às caldeiras, utilizado na queima direta. De acordo com Li et al. (2014a), o desequilíbrio dos nutrientes no caule de sorgo resulta na baixa eficiência na biodigestão anaeróbia, onde a alta relação de C/N no caule do sorgo dificulta o processo pois incentiva a acidificação do meio (Wang et al. 2010).

O processo de biodigestão anaeróbia da palha é demorada, devido à estrutura recalcitrante da lignocelulose (Li et al., 2014b) e devido ao seu elevado teor de sólidos, a biodigestão de sorgo geralmente é aplicada em sistema de codigestão, surgindo como uma possibilidade ao utilizar um co-substrato na codigestão material que já contenha enzimas hidrolíticas ou microrganismos que possam vir a atuar em consórcio com os presentes em um biodigestor, principalmente as metanogênicas.

A codigestão utiliza os nutrientes dos substratos para equilibrar a comunidade de microrganismos e otimizar o desempenho da digestão, além de contribuir para a inibição de AGVs acumulados e sulfeto para produção estável de biogás, acelerar a hidrólise encurtando assim a fase de retardamento e reduzindo o TDH. Neste sentido, os autores Zhang et al. (2016b) aplicaram como co-substrato na biodigestão de palha de sorgo o esterco bovino, além de aplicar ureia, buscando equilibrar a relação C/N. Devido ao alto potencial energético do sorgo e alta relação C/N, o meio acidificou, mesmo com utilização de ureia para reduzir esta relação. Ao ajustar a relação C/N para 25, obtiveram rendimento em biogás na ordem de 413 mL g SV<sup>-1</sup>, 26% superior ao do caule bruto de sorgo, sem correção da relação C/N. A codigestão permitiu um valor estável de pH e alta eficiência de digestão. Já a melhoria do rendimento em biogás foi atribuída à correção da relação C/N. O uso de esterco bovino incrementa elementos como Fe, Ni, Zn, Ca que contribuem para o aumento da produção de biogás (ZHANG et al., 2015).

Hassan et al. (2017) também realizaram processo de codigestão anaeróbia, no caso com esterco de ganso e palha de trigo solubilizada em meio alcalino (NaOH), em que este pré-tratamento foi responsável pela solubilização de 71,19% da lignina. Ao utilizarem carga orgânica de 3 gSV Ld<sup>-1</sup> em reator semicontínuo, atingiu-se a capacidade de produção máxima de 254,65 mL gSV<sup>-1</sup>, ao se manter a relação C/N em 25.

### 3. REFERÊNCIAS

- ABBASSI-GUENDOUZ, A.; BROCKMANN, D.; TRABLY, E.; DUMAS, C.; DELGENÈS, J.; STEYER, J.; ESCUDIÉ, R. Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation. **Bioresource Technology**, New York, v. 111, p. 55-61, 2012.
- ABOUDI, K.; ÁLVAREZ-GALLEGO, C. J.; ROMERO-GARCÍA, L. I. Evaluation of methane generation and process stability from anaerobic co-digestion of sugar beet by-product and cow manure. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 121, n. 5, p. 566-572, 2016.
- AHMAD DAR, R.; AHMAD DAR, E.; KAUR, A.; GUPTA PHUTELA, U. Sweet sorghum-a promising alternative feedstock for biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 4070-4090, 2018.
- AL-BEDAIRY, N.R.; ALSAADAWI, I.S.; SHATI, R.K. Combining effect of allelopathic Sorghum bicolor L. (Moench) cultivars with planting densities on companion weeds. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 59, p. 955-961, 2013.
- ALBURQUERQUE, J.A.; dela FUENTE, C.; BERNAL, M.P. Chemical properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, n. 160, p. 15-22, 2012.
- ALONSO, R. M.; RÍO, R. S. del.; GARCÍA, M. P. Thermophilic and mesophilic temperature phase anaerobic co-digestion (TPAcD) compared with single-stage co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation. **Biomass and Bioenergy**, n. 93, p. 107-115, 2016.
- ALSAADAWI, I.S.; AL-KHATEEB, T.A.; HADWAN, H.A.; LAHMOOD, N.R. A chemical basis for differential allelopathic potential of root exudates of Sorghum bicolor L. (Moench) cultivars on companion weeds. **Journal of Allelochemical Interactions**, v. 1, p. 49-55, 2015.
- ALVES, H.J.; BLEY JR., C.; NIKLEVICZ, R.R.; FRIGO, E.P.; FRIGO, M.S.; COIMBRA-ARAUJO, A.H. Overview of hydrogen production technologies from biogas and the applications in fuel cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 13, p. 5215-5225, 2013.
- AMNUAYCHEEWA, P.; HENGARONPRASAN, R.; RATTANAPORN, K.; KIRDPONPATTARA, S.; CHEENKACHORN, K.; SRIARIYANUN, M. Enhancing enzymatic hydrolysis and biogas production from rice straw by pretreatment with organic acids. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 247-254, 2016.
- ANDRIAMANOHARISOAMANANA, F. J.; MATSUNAMI, N.; YAMASHIRO, T.; IWASAKI, M.; IHARA, I.; UMETSU, K. High-solids anaerobic mono-digestion of riverbank grass under thermophilic conditions. **Journal of Environmental Sciences**, p. 1-10, 2016.
- ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants, **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3. p. 117-129, 2004.
- ANTONOPOULOU, G.; GAVALA, H.N.; SKIADAS, I.V.; LYBERATOS, G. ADM1-based modeling of methane production from acidified sweet sorghum extract in a two stage process. **Bioresource Technology**, New York, v. 106, p. 10-9, 2012.
- ARUNA, C.; VISARADA, K.B.R.S. Other Industrial Uses of Sorghum. In: ARUNA, C.; VISARADA, K.B.R.S.; BHAT, V. B.; TONAPI, A. V. (Eds.). **Breeding Sorghum for Diverse End Uses**, Cap 17, p. 271-292. Sawston: Woodhead Publishing, 2018.

ASSEFA, Y.; ROOZEBOOM, K.; THOMPSON, C.; SCHLEGEL, A.; STONE, L.; LINGENFELSER, J.E. Rotation Effects of Corn and Sorghum in Cropping Systems. In: ASSEFA, Y.; ROOZEBOOM, K.; THOMPSON, C.; SCHLEGEL, A.; STONE, L.; LINGENFELSER, J. **Corn and Grain Sorghum Comparison**. Cambridge, MS: Academic Press, 2014. Cap. 7, p. 87-101.

ASTALS, S.; NOLLA-ARDEVOL, V.; MATA-ALVAREZ, J. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. **Bioresource Technology**, New York, v. 110, p. 63-70, 2012.

BAADHE, R.; POTUMARTHI, R.; MEKALA, N. Influence of dilute acid and alkali pretreatment on reducing sugar production from corncobs by crude enzymatic method: a comparative study. **Bioresource Technology**, New York, v. 162, p. 213-217, 2014.

BADSHAH, M.; LAM, D. M.; LIU, J.; MATTIASSON, B. Use of an Automatic Methane Potential Test System for evaluating the biomethane potential of sugarcane bagasse after different treatments. **Bioresource Technology**, New York, v. 114, p. 262-269, 2012.

BALMANT, W.; OLIVEIRA, B. H.; MITCHELL, D. A.; VARGAS, J. V. C.; ORDONEZ, J. C. Optimal operating conditions for maximum biogas production in anaerobic bioreactors. **Applied Thermal Engineering**, v. 62, n. 1, p. 197-206, 2014.

BELLIDO, C.; PINTO, M.L.; COCA, M.; GONZALEZ-BENITO, G.; GARCIA-CUBERO, M.T. Acetone-butanol-ethanol (ABE) production by *Clostridium beijerinckii* from wheat straw hydrolysates: efficient use of penta and hexa carbohydrates, **Bioresource Technology**, New York, v. 167 p. 198-205, 2014.

BEMILLER, J. N. Cellulose and Cellulose-Based Hydrocolloids. In: BEMILLER, J. N. Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**, 3a ed. Washington, DC: AACC/WP Publishing, 2019. p. 223-240, 440p.

BHAT, B.V. Breeding Forage Sorghum. In: ARUNA, C.; VISARADA, K.B.R.S.; BHAT, V. B.; TONAPI, A. V. (Eds.). **Breeding Sorghum for Diverse End Uses**, Cap. 11, p. 175-191. Sawston: Woodhead Publishing, 2018.

BONAWITZ, N.D. KIM, J.I.; TOBIMATSU, Y.; CIESIELSKI, P.N.; ANDERSON, N.A.; XIMENES, E.; MAEDA, J.; RALPH, J.; DONOHOE, B.S.; LADISCH, M.; CHAPPLE, C. Disruption of mediator rescues the stunted growth of a lignin-deficient Arabidopsis mutant. **Nature**, v. 509 p. 376-380, 2014.

BP, 2010-2014. BP Statistical Review of World Energy.

BRADSAW, A.; JANNUZZI, G.M. Governing energy transitions and regional economic development: evidence from three Brazilian states. **Energy Policy**, v. 126, p. 1-11, 2019.

CARRILLO, F.; COLOM, X.; SUÑOL, J. J.; SAURINA, J. Structural FTIR analysis and thermal characterisation of lyocell and viscose-type fibres. **European Polymer Journal**, v. 40, n. 9, p. 2229-2234, 2004.

CESARO, A.; VELTEN, S.; BELGIORNO, V.; KUCHTA, K. Enhanced anaerobic digestion by ultrasonic pretreatment of organic residues for energy production. **Journal of Cleaner Production**, v. 74, p. 119-124, 2014.

CHARNIER, C.; LATRILLE, E.; LARDON, L.; MIROUX, J.; STEYER, J. P. Combining pH and electrical conductivity measurements to improve titrimetric methods to determine ammonia nitrogen, volatile fatty acids and inorganic carbon concentrations. **Water Research**, v. 95, p.

268-279, 2016.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource Technology**, New York, v. 99, n. 10, p. 4044-4064, 2008.

CHEN, Z.; WAN, C.X.; Ultrafast fractionation of lignocellulosic biomass by microwaveassisted deep eutectic solvent pretreatment. **Bioresource Technology**, New York, v. 250, p. 532-537, 2018.

CHENG, Y. e LI, H. Rheological behavior of sewage sludge with high solid content **Water Science Technology**, v. 71, p. 1686-1693, 2015.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios**: princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 5, Belo Horizonte, MG: SEGRAC, 1997. 379p.

CIRNE D.G.; LEHTOMÄKI A.; BJÖRNSSON L.; BLACKALL L.L. Hydrolysis and microbial community analyses in two-stage anaerobic digestion of energy crops. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 516-527, 2007.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para a agropecuária**. Vol. 3. Brasília, 2015, p. 1-130.

COTANA, F.; CAVALAGLIO, G.; PETROZZI, A.; COCCIA, V. Lignocellulosic biomass feeding in biogas pathway: State of the art and plant layouts. **Energy Procedia**, v. 81, p. 1231-1237, 2015.

CREMONEZ, P.A.; FEROLDI, M.; NADALETI, W.C.; DE ROSSI, E.; FEIDEN, A.; DE CAMARGO, M.P.; CREMONEZ, F.E.; KLAJN, F.F. Biodiesel production in Brazil: current scenario and perspectives. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 415-428, 2015.

DAI, X.; LI, X.; ZHANG, D.; CHEN, Y.; DAI, L. Simultaneous enhancement of methane production and methane content in biogas from waste activated sludge and perennial ryegrass anaerobic co-digestion: the effects of pH and C/N ratio. **Bioresource Technology**, New York, v. 216, p. 323-330, 2016.

DAR, R.A.; DAR, E.A.; PHUTELA, U.G. Sweet sorghum-a promising alternative feedstock for biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, Part 3, p. 4070-4090, 2018.

DAREIOTI, M. A.; KORNAROS, M. Anaerobic mesophilic co-digestion of ensiled sorghum, cheese whey and liquid cow manure in a two-stage CSTR system: effect of hydraulic retention time. **Bioresource Technology**, New York, v. 175, p. 553-562, 2015.

DOLLHOFER V.; SANDIKAS, V.; DORN-IN, S.; BAUER, C.; LEBUHN, M.; BAUER, J. Accelerated biogas production from lignocellulosic biomass after pre-treatment with *Neocallimastix frontalis*. **Bioresource Technology**, New York, v. 264, p. 219-227, 2018.

DU, B.; SHARMA, L.N.; BECKER, C.; CHEN, S-F.; MOWERY, R.A.; VAN WALSUM, G.P.; CHAMBLISS, C.K. Effect of varying feedstock-pretreatment chemistry combinations on the formation and accumulation of potentially inhibitory degradation products in biomass hydrolysates. **Biotechnology Bioenergy**, v. 107, p. 430-440, 2010.

DURDICA, K.; DAVOR, K.; SLAVKO, R.; DARIA, J.; ROBERT, S.; MARINA, T. Electroporation of harvest residues for enhanced biogas production in anaerobic co-digestion

with dairy cow manure. **Bioresource Technology**, New York, v. 274, p. 215-224, 2019.

EBNER, J. H.; LABATUT, R. A.; LODGE, J. S.; WILLIAMSON, A. A.; TRABOLD, T. A. Anaerobic co-digestion of commercial food waste and dairy manure: characterizing biochemical parameters and synergistic effects. **Waste Management**, v. 52, p. 286-294, 2015.

EMBRAPA – Cultivo do Sorgo Embrapa Milho e Sorgo. **Sistema de Produção**, 2. 6a. ed. Versão Eletrônica, 2010.

EPE – EMPRESA DE PESQUÍAS ENERGÉTICAS. **PDEE 2017-2027** - Plano Decenal de Expansão de Energia 2027, 2018.

FATHYA, S.; ASSIA, K.; HAMZA, M. Influence of inoculums / substrate ratios (ISRs) on the mesophilic anaerobic digestion of slaughterhouse waste in batch mode: Process stability and biogas production. **Energy Procedia**, v. 50, p. 57-63, 2014.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions**, Walterde Gruyter. Berlin, New York, 1984.

FERMOSO, F. G.; BARTACEK, J.; JANSEN, S.; LENS, P. N. L. Metal supplementation to UASB bioreactors: from cell-metal interactions to full-scale application. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 12, p. 3652-3667, 2009.

FERREIRA, A.F.P.; RIBEIRO, A.M.; KULAÇ, S.; RODRIGUES, A.E. Methane purification by adsorptive processes on MIL-53 (Al). **Chemical Engineering Science**, v. 53, p.79-95, 2014.

FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; VAN HAANDEL, A.; ZAIAT, M.; CAVALCANTI, P. F. F. Fundamentos do tratamento anaeróbio. In: CAMPOS, J. R. (Coord.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Cap. 2, p. 29-52. Rio de Janeiro: ABES, 1999.

FRIGON, J.C.; GUIOT, S.R. Biomethane production from starch and lignocellulosic crops: a comparative review. **Journal Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 4, n. 4, p. 447-458. 2010

GAO, M.; WANG, D.; WANG, H.; WANG, X.; FENG, Y. Biogas potential, utilization and countermeasures in agricultural provinces: A case study of biogas development in Henan Province, China. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 99, p. 191-200, 2019.

GODOS, I.D.; VARGAS, V.A.; BLANCO, S.; GONZÁLEZ, M.C.G.; SOTO, R.; GARCÍA-ENCINA, P.A.; BECARES, E.; MUÑOZ, R. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresource Technology**, New York, v. 101, n. 14, p. 5150-5158, 2010.

GOMEZ-TOVAR, F.; CELIS, L. B.; RAZO-FLORES, E.; ALATRISTE-MONDRAGÁN, F. Chemical and enzymatic sequential pretreatment of oat straw for methane production. **Bioresource Technology**, New York, v. 116, p. 372-378, 2012.

GUO, H.; WANG, X.D.; LEE, D.J. Proteomic researches for lignocellulose-degrading enzymes: A mini-review. **Bioresource Technology**, New York, v. 265, p. 532-541, 2018.

HAN, X.; GUO, Y.; LIU, X.; XIA, Q.; WANG, Y. Catalytic conversion of lignocellulosic biomass into hydrocarbons: a mini review. **Catalysis Today**, v. 319, p. 2-13, 2019.

HASSAN, M.; DING, W.; UMAR, M.; RASOOL, G. Batch and semi-continuous anaerobic co-digestion of goose manure with alkali solubilized wheat straw: a case of carbon to nitrogen ratio and organic loading rate regression optimization **Bioresource Technology**, New York, v. 230, p. 24-32, 2017.

HASSAN, S.S.; WILLIAMS, G.A.; JAISWAL, A.K. Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, New York, v. 262, p. 310-318, 2018.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, New York, v. 100, n. 1, p. 10-18, 2009.

HERRMANN, C.; KALITA, N.; WALL, D.; XIA, A.; MURPHY, J. D. Optimised biogas production from microalgae through co-digestion with carbon-rich co-substrates. **Bioresource Technology**, New York, v. 214, p. 328-337, 2016.

HJORTH, M.; GRÄNITZ, K.; ADAMSEN, A. P. S.; MØLLER, H. B. Extrusion as a pretreatment to increase biogas production. **Bioresource Technology**, New York, v. 102, n. 8, p. 4989-4994, 2011.

IEA – INTERNATIONAL ENERGY AGENCY SECURE SUSTAINABLE TOGETHER. **Energy and Air Pollution**. World Energy Outlook Special Report Executive Summary. 2016. Disponível em: [www.iea.org/publications/freepublications/publication](http://www.iea.org/publications/freepublications/publication). Acesso em: 10 jul. 2016.

IOVANE, P.; NANNA, F.; DING, Y.; BIKSON, B.; MOLINO, A. Experimental test with polymeric membrane for the biogas purification from CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>S. **Fuel**, v. 135, p. 352-358, 2014.

JACKOWIAK, D.; BASSARD, D.; PAUSS, A.; RIBEIRO, T. Optimisation of a microwave pretreatment of wheat straw for methane production. **Bioresource Technology**, New York, v. 102, n. 12, p. 6750-6756, 2011.

JAIN, S.; JAIN, S.; WOLF, I. T.; LEE, J.; TONG, Y. W. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 142-154, 2015.

JANG, H. M.; HA, J. H.; KIM, M.-S.; KIM, J.-O.; KIM, Y. M.; PARK, J. M. Effect of increased load of high-strength food wastewater in thermophilic and mesophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge on bacterial community structure. **Water Research**, v. 99, p. 140-148, 2016.

JIN, W.; XU, X.; GAO, Y.; YANG, F.; WANG, G. Anaerobic fermentation of biogas liquid pretreated maize straw by rumen microorganisms in vitro. **Bioresource Technology**, New York, v. 153, p. 8-14, 2014.

KABIR, M. M.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, M. J.; HORVÁTH, I. S. Biogas production from lignocelluloses by N-methylmorpholine-N-oxide (NMMO) pretreatment: Effects of recovery and reuse of NMMO. **Bioresource Technology**, New York, v. 161, p. 446-450, 2014.

KAMARUDIN, K.S.N.; ALIAS, N. Adsorption performance of MCM-41 impregnated with amine for CO<sub>2</sub> removal. **Fuel Processing Technology**, v. 106, n. 41, p. 332-337, 2013.

KARRAY, R.; HAMZA, M.; SAYADI, S. Evaluation of ultrasonic, acid, thermo-alkaline and enzymatic pre-treatment on anaerobic digestion of *Ulva rigida* for biogas production.

**Bioresource Technology**, New York, v. 187, p. 205-213, 2015.

KASSAYE S.; PANT, K.K.; JALIN, S. Hydrolysis of cellulosic bamboo biomass into reducing sugars via a combined alkaline solution and ionic liquid pretreatment steps. **Renewable Energy**, v.104, p. 177-184, 2017.

KAUR, K.; PHUTELA, U. G. Sodium carbonate pretreatment: an approach towards desilication of paddy straw and enhancement in biogas production. **Paddy and Water Environment**, v. 14, n. 1, p. 113-121, 2016.

KHALID, M.J.; ZESHAN.; WAQAS, A.; NAWAZ, I. Synergistic effect of alkaline pretreatment and magnetite nanoparticle application on biogas production from rice straw. **Bioresource Technology**, New York, v. 275, p. 288-296, 2019.

KHAN, I.; YOUSIF, A. M.; JOHNSON, S. K.; GAMLATH, S. Acute effect of sorghum flour-containing pasta on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and oxidative stress markers in healthy subjects: a randomised controlled trial. **Clinical Nutrition**, v. 34 n. 3, p. 415-421, 2015.

KIM, K.H.; DUTTA, T.; SUN, J.; SIMMONS, B.; SINGH, S. Biomass pretreatment using deep eutectic solvents from lignin derived phenols. **Green Chemistry**, v. 20, p. 809-815, 2018.

KIM, M.; DAY, D.F. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 38, n. 7, p. 803-7, 2011.

KOHN, M. P.; CASTALDI, M. J.; FARRAUTO, R. J. Biogas reforming for syngas production: The effect of methyl chloride. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 144, p. 353-361, 2014.

KOOTSTRA, A. M. J.; MOSIER, N. S.; SCOTT, E. L.; BEEFTINK, H. H.; SANDERS, J. P. M. Differential effects of mineral and organic acids on the kinetics of arabinose degradation under lignocellulose pretreatment conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 43, n. 1, p. 92-97, 2009a.

KOOTSTRA, M.; BEEFTINK, H.; SCOTT, E.; SANDER, J. Comparison of dilute mineral and organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of wheat straw. **Biochemical Engineering Journal**, v. 46, p. 126-131, 2009b.

KOTHARI, R.; PANDEY, A. K.; KUMAR, S.; TYAGI, V. V.; TYAGI, S. K. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 174-195, 2014.

KRATKY, L.; JIROUT, T. The effect of process parameters during the thermal-expansionary pretreatment of wheat straw on hydrolysate quality and on biogas yield. **Renewable Energy**, v. 77, p. 250-258, 2015.

KREUGER, E.; SIPOS, B.; ZACCHI, G.; SVENSSON, S. E.; BJÖRNSSON, L. Bioconversion of industrial hemp to ethanol and methane: The benefits of steam pretreatment and co-production. **Bioresource Technology**, New York, v. 102, n. 3, p. 3457-3465, 2011.

KUNZ, A.; AMARAL, A. C. do.; STEINMETZ, R. L. R. **Operacionalização de Biodigestores**: Processos Bioquímicos na Digestão Anaeróbia. Foz do Iguaçu, PR: CIBogás; Concórdia, SC: Embrapa, 2016. 22 p.

LEITE, V.D.; POVINELLI J. Behavior of total solids in the process of anaerobic digestion of urban and industrial solid residues. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 3, p. 229-232, 1999.

LI, J.; WEI, L.; DUAN, Q.; HU, G.; ZHANG, G. Semi-continuous anaerobic co-digestion of dairy manure with three crop residues for biogas production. **Bioresource Technology**, v. 156, p. 307-313, 2014a.

LI, M.; PU, Y.; RAGAUSKAS, A.J. Current understanding of the correlation of lignin structure with biomass recalcitrance. **Frontiers in Chemistry**, v. 4, p. 1-8, 2016

LI, W.; KHALID, H.; ZHU, Z.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C.; THORIN, E. Methane production through anaerobic digestion: Participation and digestion characteristics of cellulose, hemicellulose and lignin. **Applied Energy**, v. 226, p. 1219-1228, 2018.

LI, W.L.; ZHANG, G.Y.; ZHANG, Z.K.; XU, G.W. Anaerobic digestion of yard waste with hydrothermal pretreatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, p. 2670-81, 2014b.

LI, X.; LI, L.; ZHENG, M.; FU, G.; LAR, J.S. Anaerobic co-digestion of cattle manure with corn stover pretreated by sodium hydroxide for efficient biogas production. **Energy Fuels**, v. 23 p. 4635-9, 2009.

LIAO, X.; LI, H. Biogas production from low-organic-content sludge using a high-solids anaerobic digester with improved agitation. **Applied Energy**, v. 148, n. 2015, p. 252-259, 2015.

LIU, C.; LI, H.; ZHANG, Y.; SI, D.; CHEN, Q. Evolution of microbial community along with increasing solid concentration during high-solids anaerobic digestion of sewage sludge. **Bioresource Technology**, New York, v. 216, p. 87-94, 2016a.

LIU, L.; ZHANG, T.; WAN, H.; CHEN, Y.; WANG, X.; YANG, G.; REN, G. Anaerobic co-digestion of animal manure and wheat straw for optimized biogas production by the addition of magnetite and zeolite. **Energy Conversion and Management**, v. 97, p. 132-139, 2015.

LIU, S.; GE, X.; XU, F.; LI, Y. Effect of total solids content on giant reed ensilage and subsequent anaerobic digestion. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 1, p. 73-79, 2016b.

LIU, Y.; LI, H.; WEI, G.; ZHANG, H.; LI, X.; JIA, Y. Mass transfer performance of CO<sub>2</sub> absorption by alkanolamine aqueous solution for biogas purification. **Separation and Purification Technology**, v. 133, p. 476-483, 2014.

MA, T.; ZHAO, J.; AO, L.; LIAO, X.; NI, Y.; HU, X.; SONG, Y. Effects of different pretreatments on pumpkin (*Cucurbita pepo*) lignocellulose degradation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 665-672, 2018.

MADHUSUDHANA, R. Genetics of Important Economic Traits in Sorghum. In: ARUNA, C.; VISARADA, K.B.R.S.; BHAT, V. B.; TONAPI, A. V. (Eds.). **Breeding Sorghum for Diverse End Uses**, p. 141-156. Sawston: Woodhead Publishing, 2018.

MANCINI, G.; PAPIRIO, S.; LENS, P. N. L.; ESPOSIO, G. Increased biogas production from wheat straw by chemical pretreatments. **Renewable Energy**, v. 119, p. 608-614, 2018.

MARCOS, A.; AL-KASSIR, A.; MOHAMAD, A.A.; CUADROS, F.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, F. Combustible gas production (methane) and biodegradation of solid and liquid mixtures of

meat industry wastes. **Applied Energy**, v. 87, n. 5, p. 1729-1735, 2010.

MENARDO, S.; CACCIATORE, V.; BALSARI, P. Batch and continuous biogas production arising from feed varying in rice straw volumes following pre-treatment with extrusion. **Bioresource Technology**, New York, v. 180, p. 154-161, 2015.

MORATO, M.M.; MENDES, P.R. da C.; CANI, A.A.; NORMEY-RICO, J.E.; CORDONS, C. Future hybrid local energy generation paradigm for the Brazilian sugarcane industry scenario. **International Journal of Electrical Power & Energy Systems**, v. 101, p. 139-150, 2018.

MOREIRA, L.R.; FILHO, E.X. Insights into the mechanism of enzymatic hydrolysis of xylan. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 5205-5214, 2016.

MOSET, V.; AL-ZOHAIRIO, N.; MØLLER, H. B. The impact of inoculum source, inoculum to substrate ratio and sample preservation on methane potential from different substrates, **Biomass and Bioenergy**, v. 83, p. 474-482, 2015.

MUSTAFA, A.M.; LI, H.; RADWAN, A.A.; SHENG, K.; CHEN, X.; Efeito de pré-tratamentos hidrotérmicos e de ca (oh) 2 na digestão anaeróbia do bagaço de cana-de-açúcar para produção de biogás, **Tecnologia Bioresource**, v. 259, p. 54 a 60, 2018.

NAIK, S. N.; GOUD, V. V.; ROUT, P. K.; DALAI, A. K. Production of first and second generation biofuels: a comprehensive review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 578-597, 2010.

OLUKOYA, I.A.; BELLMER, D.; WHITELEY, J.R.; AICHELE, C.P. Evaluation of the environmental impacts of ethanol production from sweet sorghum. **Energy for Sustainable Development**, v. 24, p. 1-8, 2015.

OSTOVAREH, S.; KARIMI, K.; ZAMANI, A. Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 66, n. 1, p. 170-177, 2015.

O-THONG, S.; BOE, K.; ANGELIDAKI, I. Thermophilic anaerobic co-digestion of oil palm empty fruit bunches with palm oil mill effluent for efficient biogas production. **Applied Energy**, v. 93, p. 648-654, 2012.

PAN, C.; TAN, G.-Y. A.; GE, L.; CHEN, C.-L.; WANG, J.-Y. Microbial removal of carboxylic acids from 1,3-propanediol in glycerol anaerobic digestion effluent by PHAs-producing consortium. **Biochemical Engineering Journal**, v. 112, p. 269-276, 2016.

PANPONG, K.; NUTHITIKUL, K.; O-THONG, S.; KONGJAN, P. Anaerobic co-digestion biomethanation of cannery seafood wastewater with microcystis sp.; blue green algae with/without glycerol waste. **Energy Procedia**, v. 79, p. 103-110, 2015.

PATEL, S. K. S.; MADINA, P.; KIM, D.; KIM, S.-Y.; KALIA, V. C.; KIM, I.-W.; LEE, J.-K. Improvement in methanol production by regulating the composition of synthetic gas mixture and raw biogas. **Bioresource Technology**, New York, v. 218, p. 202-208, 2016.

PATIL, P. N.; GOGATE, P. R.; CSOKA, L.; DREGELYI-KISS, A.; HORVATH, M. Intensification of biogas production using pretreatment based on hydrodynamic cavitation. **Ultrasonics Sonochemistry** v. 30, p. 79-86, 2016.

PEDROZA, M.M.; VIEIRA, G.E.G.; SOUSA, J.F.; PICKLER, A.C.; LEAL, E.R.M.;

- MILHOMEN, C.C. Produção e tratamento de lodo de esgoto – uma revisão. **Revista Liberato**, v. 11, p. 150-160, 2010.
- PEERZADA, A. M.; ALI, H. H.; CHAUHAN, B. S. Weed management in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] using crop competition: A review. **Crop Protection**, v. 95, p. 74-80, 2017.
- PIZZUTI, L.; MARTINS, C. A.; LACAVALA, P. T. Laminar burning velocity and flammability limits in biogas: A literature review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 62, p. 856-865, 2016.
- PONNUSAMY, V. K.; NGUYEN, D. D.; DHARMARAJA, J.; SHOBANA, S.; BANU, R.; SARATALE, R. G.; KUMAR, G. A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. **Bioresource Technology**, v. 271, p. 462-472, 2018.
- QIN, L.; LIU, Z.; LI, B.; DALE, B.; YUAN, Y. Mass balance and transformation of corn stover by pretreatment with different dilute organic acids, **Bioresource Technology**, New York, v. 112, p. 319-326, 2012.
- QIU, Z.; AITA, G. M. Pretreatment of energy cane bagasse with recycled ionic liquid for enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, New York, v. 129, p. 532-537, 2013.
- RAJPUT, A. A.; ZESHAN, M.; VISVANATHAN, C. Effect of thermal pretreatment on chemical composition, physical structure and biogas production kinetics of wheat straw. **Journal of Environmental Management**, v. 221, p. 45-52, 2018.
- RATNAVATHI, C. V.; SURESH, K.; VIJAYKUMAR, B. S.; PALLAVI, M.; KOMALA, V. V.; SEETHARAMA, N. Study on genotypic variation for ethanol production from sweet sorghum juice. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, n. 7, p. 947-952, 2010.
- REDDY, P.S.; REDDY, B.V.S. History of Sorghum Improvement. In: ARUNA, C.; VISARADA, K.B.R.S.; BHAT, V. B.; TONAPI, A. V. (Eds.). **Breeding Sorghum for Diverse End Uses**. Cap 4, p. 61-75. Sawston: Woodhead Publishing, 2018..
- RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digester of High-Strength Waste. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.
- RISBERG, K.; SUN, L.; LEVÉN, L.; HORN, S. J.; SCHNÜRER, A. Biogas production from wheat straw and manure - Impact of pretreatment and process operating parameters. **Bioresource Technology**, New York, v. 149, p. 232-237, 2013.
- ROMERO-GÜIZA, M. S.; VILA, J.; MATA-ALVAREZ, J.; CHIMENOS, J. M.; ASTALS, S. The role of additives on anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 1486-1499, 2016.
- RORKE, D.; KANA, E. B. G. Biohydrogen process development on waste sorghum (*Sorghum bicolor*) leaves: Optimization of saccharification, hydrogen production and preliminary scale up. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 30, p. 12941-12952, 2016.
- SAMARAPPULI, D.; BERTI, M.T. Intercropping forage sorghum with maize is a promising alternative to maize silage for biogas production. **Journal of Cleaner Production**, v. 194, p. 515-524, 2018.

SAMBUSITI, C.; FICARA, E.; MALPEI, F.; STEYER, J. P.; CARRÈRE, H. Benefit of sodium hydroxide pretreatment of ensiled sorghum forage on the anaerobic reactor stability and methane production. **Bioresource Technology**, New York, v. 144, p. 149-155, 2013.

SANTOS, A.C.; XIMENES, E.; KIM, Y.; LADISCH, M.R. Lignin–Enzyme Interactions in the Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass. **Trends in Biotechnology**, 14p. in press.

SANTOS, J. H. T. **Avaliação de um sistema de aquecimento do substrato na digestão anaeróbia de dejetos de suínos.** (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

SAPCI, Z. The effect of microwave pretreatment on biogas production from agricultural straws. **Bioresource Technology**, New York, v. 128, p. 487-494, 2013.

SASAKI, M.; KABYEMELA, B.; MALALUAN, R.; HIROSE, S.; TAKEDA, N.; ADSCHIRI, T.; ARAI, K. Cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 13, p. 261-268, 1998.

SATHESH-PRABU, C.; MURUGESAN, A.G. Potential utilization of sorghum field waste for fuel ethanol production employing *Pachysolen tannophilus* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioresource Technology**, New York, v. 102, n. 3, p. 2788-2792, 2011.

SCHOLZ, M.; MELIN, T.; WESSLING, M. Transforming biogas into biomethane using membrane technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 17, p. 199-212, 2013.

SCHUTYSER, W.; RENDERS, T.; VAN DEN BOSCH, S.; KOELEWIJN, S.F.; BECKHAM, G.; SELS, B. Chemicals from lignin: an interplay of lignocellulose fractionation, depolymerisation, and upgrading. **Chemical Society Reviews**, v. 47, p. 852-908, 2018.

SENDICH, E.; LASER, M.; KIM, S.; ALIZADEH, H.; LAUREANO-PEREZ, L.; DALE, B.; LYND, L. Recent process improvements for the ammonia fiber expansion (AFEX) process and resulting reductions in minimum ethanol selling price. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8429-8435, 2008.

SERRA, P.; GIUNTOLI, J.; AGOSTINI, A.; COLAUZZI, M.; AMADUCCI, S. Coupling sorghum biomass and wheat straw to minimise the environmental impact of bioenergy production. **Journal of Cleaner Production**, v. 154, p. 243-254, 2017.

SHAN, X.; QIAN, Y.; ZHU, L.; LU, X. Effects of EGR rate and hydrogen / carbon monoxide ratio on combustion and emission characteristics of biogas / diesel dual fuel combustion engine. **Fuel**, v. 181, p. 1050-1057, 2016.

SHEETS, J. P.; GE, X.; LI, Y. F.; YU, Z.; LI, Y. Biological conversion of biogas to methanol using methanotrophs isolated from solid-state anaerobic digestate. **Bioresource Technology**, New York, v. 201, p. 50-57, 2016.

SHEN, Y.; LINVILLE, J. L.; URGUN-DEMIRTAS, M.; MINTZ, M. M.; SNYDER, S. W. An overview of biogas production and utilization at full-scale wastewater treatment plants (WWTPs) in the United States: Challenges and opportunities towards energy-neutral WWTPs. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 346-362, 2015.

SHIKIDA, P.F.A.; PEROSA, B. B. Alcool combustível no brasil e path dependence. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, online, v. 50, n. 2, p. 243-262, 2012.

- SINGH, J.; GU, S. Biomass conversion to energy in India—a critique. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 5, p. 1367-1378, 2010.
- SIZOVA, M. V.; PANIKOV, N. S.; TOUROVA, T. P.; FLANAGAN, P. W. Isolation and characterization of oligotrophic acido-tolerant methanogenic consortia from a Sphagnum peat bog. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 45, n. 3, p. 301-315, 2003.
- SONG, P.; ZHANG, H.; HAN, D.; LI, J.; YANG, Z.; WANG, Q. Preparation of biomorphic porous LaFeO<sub>3</sub> by sorghum straw biotemplate method and its acetone sensing properties. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 196, p. 140-146, 2014.
- STEFOSKA-NEEDHAM, A.; BECK, E.J.; JOHNSON, S.K.; TAPSELL, L.C. Sorghum: an underutilized cereal whole grain with the potential to assist in the prevention of chronic disease **Food Reviews International**, v. 31 n. 4, p. 401-437, 2015.
- SUN, H.S.; YANG D.; WEI, S.J. Analysis on mode and benefit of biogas project on livestock farm. **Advanced Materials Research**, v. 955-959, p. 2644-8, 2014.
- SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v. 83, 1-11. 2002.
- SURESH, K.; SREE, K.N.; RAO, L.V. Utilization of damaged sorghum and rice grains for ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation **Bioresource Technology**, New York, v. 68, p. 301-304, 1999.
- TALEBNIA, F.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation, **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4744-4753, 2010.
- TANG, C.C.; YANG, X.L.; XIE, G.H. Establishing sustainable sweet sorghum-based cropping systems for forage and bioenergy feedstock in North China Plain. **Field Crops Research**, v. 227, p. 144-154, 2018.
- TANTAYOTAI, P.; PORNWONGTHONG, P.; MUENMUANG, C.; PHUSANTISAMPAN, T.; SRIARIYANUN, M. Effect of Cellulase-producing Microbial Consortium on Biogas Production from Lignocellulosic Biomass. **Energy Procedia**, v. 141, p. 180-183, 2017.
- TANTAYOTAI, P.; PORNWONGTHONG, P.; MUENMUANG, C.; PHUSANTISAMPAN, T.; SRIARIYANUN, M. Effect of Cellulase-producing Microbial Consortium on Biogas Production from Lignocellulosic Biomass. **Energy Procedia**, v. 141, p. 180-183, 2017.
- THEURETZBACHER, F.; BAUER, A.; LIZASOIAN, J.; BECKER, M.; ROSENAU, T.; POTTHAST, A.; FRIEDL, A.; PIRINGER, G.; GRONAUER, A. Potential of different Sorghum bicolor (L. moench) varieties for combined ethanol and biogas production in the Pannonian climate of Austria. **Energy**, v. 55, p. 107-113, 2013.
- THOMAS, V.A.; DONOHOE, B.S.; LI, M.; PU, Y.; RAGAUSKAS, A.J.; KUMAR, R.; NGUYEN, T.Y.; CAI, C.M.; WYMAN, C.E. Adding tetrahydrofuran to dilute acid pretreatment provides new insights into substrate changes that greatly enhance biomass deconstruction by Clostridium thermocellum and fungal enzymes. **Biotechnology and Biofuels**, v. 10, p. 252, 2017.
- TIJANI, H.; ABDULLAH, N.; YUZIR, A. Enhancing methane production of palm oil mill effluent using two-stage domesticated shear-loop anaerobic contact stabilization system. **Journal of Cleaner Production**, v. 200, p. 971-981, 2018.

UNDERSANDER, D. J.; SMITH, L. H.; KAMINSKI, A. R.; KELLING, K. A.; DOLL, J. D. **Sorghum716 forage. Alternative field crops manual.** University of Wisconsin-Ext: Madison, WI, 2010. Disponível em: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/forage.html>. Acesso em: 11 nov. 2018.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE. **Percentage of U.S. Agricultural Products Exported**, 2018 Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/percentage-us-agricultural-products-exported>. Acesso em: 11 nov. 2018.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE. **Grain: World Markets and Trade.** 2018 Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

VARGA, E.; SZENGYEL, Z.; RÉCZEY, K.; Chemical pretreatments of corn stover for enhancing enzymatic digestibility. **Biotechnology for Fuels and Chemicals**, v. 98-100, p. 73-87, 2002.

VÁZQUEZ, M.; OLIVA, M.; TÉLLEZ-LUIS, S. J.; RAMÍREZ, J. A. Hydrolysis of sorghum straw using phosphoric acid: evaluation of furfural production. **Bioresource Technology**, New York, v. 98, n. 16, p. 3053-3060, 2007.

VEDRENNE, F.; BÉLINE, F.; DABERT, P.; BERNET, N. The effect of incubation conditions on the laboratory measurement of the methane producing capacity of livestock wastes, **Bioresource Technology**, New York, v. 99, n. 1, p. 146-155, 2008.

VENTURIN, B.; FRUMI CAMARGO, A.; SCAPINI, T.; MULINARI, J.; BONATTO, C.; BAZOTI, S.; TREICHEL, H. Effect of pretreatments on corn stalk chemical properties for biogas production purposes. **Bioresource Technology**, New York, v. 266, p. 116-124, 2018.

VIIKARI, L.; VEHEMAANPERÄ, J.; KOIVULA, A. Lignocellulosic ethanol: from science to industry. **Biomass Bioenergy**, v. 46, 13-24, 2012.

VIVEKANAND, V.; OLSEN, E. F.; EIJSINK, V. G. H.; HORN, S. J. Effect of different steam explosion conditions on methane potential and enzymatic saccharification of birch. **Bioresource Technology**, New York, v. 127, p. 343-349, 2013.

VOLYNETS B.; EIN-MOZAFFARI F.; DAHMAN Y.; Biomass processing into ethanol: pretreatment, enzymatic hydrolysis, fermentation, rheology, and mixing. *Green Process Synth.* **Enzymes Online**, v. 6, p. 1–22, 2017.

WANG, H.; PU, Y.; RAGAUSKAS, A.; YANG, B. From lignin to valuable products—strategies, challenges, and prospects. **Bioresource Technology**, New York, v. 271, p. 449-461, 2019.

WANG, H.; XU, J.; SHENG, L.; LIU, X. Effect of addition of biogas slurry for anaerobic fermentation of deer manure on biogas production. **Energy**, v. 165, p. 411-418, 2018.

WANG, Q.-L.; LI, W.; GAO, X.; LI, S.-J. Life cycle assessment on biogas production from straw and its sensitivity analysis. **Bioresource Technology**, New York, v. 201, n. X, p. 208-214, 2016.

WANG, X.; YANG, G.; FENG, Y.; REN, G.; HAN, X. Optimizing feeding composition and carbon-nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw. **Bioresource Technology**, v. 120, p. 78-83, 2012.

WEI, S.; ZHANG, H.; CAI, X.; XU, J.; FANG, J.; LIU, H. Psychrophilic anaerobic co-digestion of highland barley straw with two animal manures at high altitude for enhancing biogas production. **Energy Conversion and Management**, v. 88, p. 40-48, 2014.

WINDPASSINGER, S.; FRIEDT, W.; FRAUEN, M.; SNOWDON, R.; WITTKOP, B. Designing adapted sorghum silage types with an enhanced energy density for biogas generation in temperate Europe. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 496-504, 2015.

XIAO, W.; CLARKSON, W. W. Acid solubilization of lignin and bioconversion of treated newsprint to methane. **Biodegradation** v. 8, n. 1, p. 61-66, 1997.

XIAO, Y.; YUAN, H.; PANG, Y.; CHEN, S.; ZHU, B.; ZOU, D.; MA, J.; YU, L.; LI, X. Chinese Journal of Chemical Engineering CO<sub>2</sub> Removal from Biogas by Water Washing System. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n. 8, p. 4-7, 2014.

YANG, D.; PANG, Y.; YUAN, H.; CHEN, S.; MA, J.; YU, L.; LI, X. Enhancing biogas production from anaerobically digested wheat straw through ammonia pretreatment. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n. 5, p. 576-582, 2014.

YANG, L.; XU, F.; GE, X.; LI, Y. Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 824-834, 2015.

YONG, Z.; DONG, Y.; ZHANG, X.; TAN, T. Anaerobic co-digestion of food waste and straw for biogas production. **Renewable Energy**, v. 78, p. 527-530, 2015.

YOU, Z.; WEI, T.; CHENG, J.J. Improving anaerobic codigestion of corn stover using sodium hydroxide pretreatment. **Energy Fuels**, v. 28 p. 549-554, 2013.

YU, D.; KUROLA, J. M.; LÄHDE, K.; KYMÄLÄINEN, M.; SINKKONEN, A.; ROMANTSCHUK, M. Biogas production and methanogenic archaeal community in mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion processes **Journal of Environmental Management**, v. 143, p. 54-60, 2014.

ZAKZESKI, J.; BRUIJNINCX, P. C. A.; JONGERIUS, A. L.; WECKHUYSEN, B. M. The catalytic valorization of lignin for the production of renewable chemicals. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 6, p. 3552-99, 2010.

ZEGADA-LIZARAZU, W.; MONTI, A. Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices. **Biomass Bioenergy**, v. 40, p. 1-12, 2012.

ZHANG, Y. H. P. Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. **Journal Industrial Microbiology Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 367-375, 2008.

ZHANG, L.; YAO, J.; ZHANG, Y.; LIAO, X. J.; CHEN, F.; HU, X. S. Microstructural and morphological behaviors of asparagus lettuce cells subject to high pressure processing. **Food Research International**, v. 71, 174-183, 2015a.

ZHANG, W.; WEI, Q.; WU, S.; QI, D.; LI, W.; ZUO, Z.; DONG, R. Batch anaerobic co-digestion of pig manure with dewatered sewage sludge under mesophilic conditions. **Applied Energy**, v. 128, p. 175-183, 2014.

ZHANG, X.; WILSON, K.; LEE, A. F. Heterogeneously catalyzed hydrothermal processing of

c5-c6 sugars. **Chemical reviews**, v. 116, p. 12328, 2016a.

ZHANG, Z.; SONG, J.; HAN, B. Catalytic transformation of lignocellulose into chemicals and fuel products in ionic liquids. **Chemical Reviews**, v. 117, p. 6834-6880, 2017.

ZHANG, Z.; ZHANG, G.; LI, W.; LI, C.; XU, G. Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 21, p. 9153-9158, 2016b.

ZHAO, C.; GUO, Y.; LI, C.; LU, S. Removal of low concentration CO<sub>2</sub> at ambient temperature using several potassium-based sorbents. **Applied Energy**, v. 124, p. 241-247, 2014a.

ZHAO, J.; ZHENG, Y.; LI, Y. Fungal pretreatment of yard trimmings for enhancement of methane yield from solid-state anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 156, 176-181, 2014b.

ZHAO, Q.; LEONHARDT, E.; MACCONNELL, C.; FREAR, C.; CHEN, S. Purification technologies for biogas generated by anaerobic digestion, **Compressed Biomethane. CSANR Research**, p. 24, 2010.

ZHAO, X.; WANG, L.; LU, X.; ZHANG, S. Pretreatment of corn stover with diluted acetic acid for enhancement of acidogenic fermentation. **Bioresource Technology**, New York, v. 158, p. 12-18, 2014.

ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, n. 1, p. 35-53, 2014.

## ARTIGO 1 - EFEITOS DE PRÉ-TRATAMENTOS ALCALINO E ÁCIDO NA DEGRADAÇÃO DA PALHA DE SORGO SACARINO

### RESUMO:

A estrutura lignocelulósica da palha de sorgo é o principal obstáculo em sua digestão anaeróbia. Assim, um experimento em escala laboratorial foi conduzido para estudar o efeito de pré-tratamentos na composição química deste material. Neste trabalho, avaliou-se a influência de fatores na degradação do material lignocelulósico da palha de sorgo sacarino com técnicas espectrofotométricas, para ampliar as possibilidades de rápida identificação das melhores faixas dos fatores nos pré-tratamentos. Foram determinadas duas formas de pré-tratamentos, com 3 fatores cada, sendo a primeira com NaOH:Ureia e a segunda com ácido cítrico. Foram avaliados os fatores: concentração do reagente, concentração de palha e tempo para o primeiro tratamento e temperatura, concentração de palha em solução e proporção de NaOH:Ureia para o segundo. Utilizou-se o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) fatorial  $2^3$ , com 3 pontos centrais e 6 axiais. Nas faixas testadas no pré-tratamento com ácido cítrico identificou-se solubilização de compostos fenólicos e aromáticos, com pontos ótimos de concentração de ácido cítrico em  $90 \text{ g L}^{-1}$ , tempo de reação em autoclave 36 min e 49 s e concentração de palha em solução em  $100 \text{ g L}^{-1}$ . Quanto ao pré-tratamento alcalino, identificou-se presença de compostos como *o-p*-dihidroxifenil, *p-p*-dihidroxiestireno e estireno fenólico com ponto ótimo dentro das faixas testadas de palha entre  $90$  e  $95 \text{ g L}^{-1}$ , enquanto o fator temperatura apresentou como melhor resultado de solubilização a menor temperatura aplicada, de  $-11,6 \text{ }^\circ\text{C}$ . Em relação ao tratamento com NaOH:Ureia, a alteração entre as proporções dos reagentes dentro das faixas testadas não resultaram em diferença estatística na solubilização de compostos.

**Palavras-chave:** celulose, delignificação, hidrólise físico-química, tratamento ácido, tratamento básico.

### Effects of pretreatments alkaline and acid on the degradation of the saccharin sorghum straw

### ABSTRACT

The lignocellulosic structure of sorghum straw is the main obstacle for its anaerobic digestion. Thus, a laboratory-scale experiment was conducted to study the effect of pretreatments on this material's chemical composition. This study evaluated the impact of factors on the degradation of the saccharin sorghum straw lignocellulosic material by spectrophotometric techniques, to determine, in a fast and effective manner, the best conditions for the extraction of specific substances with environmental and energetic interest. Two pretreatment were used, with three factors each: the first with NaOH:urea, and the second with citric acid. The variations in the bands of electronic and vibrational transitions were related to the extraction of the organic compounds present in the biomass and associated to the effects of the factors for the first treatment: reagent concentration, straw mass and reaction time. For the second treatment, the effects of temperature, straw mass and NaOH:urea ratio were evaluated. To assess the effects of the treatments, a rotational central compound design (RCCD)  $2^3$  was employed, with 3 central and 6 axial points. In the pretreatment with citric acid, the best extractions of phenolic and aromatic compounds were obtained for the concentration of  $90 \text{ g L}^{-1}$  of citric acid, reaction time in autoclave of 36 minutes and 49 seconds, and  $100 \text{ g}$  of straw per liter of solution. In the alkaline pretreatment, compounds such as *o-p*-dihydroxyphenyl, *p-p*-hydroxystyrene and phenol styrene were present, with an optimum straw mass ratio between  $90$  and  $95 \text{ g}$  per liter of solution, while the temperature factor presented the best results of solubilization at its lowest value:  $-11,6 \text{ }^\circ\text{C}$ . Lastly, regarding the treatment using NaOH:urea, the changes in the reagent proportions did not result in statistical effects on compound solubilization.

**Keywords:** cellulose; delignification; physicochemical hydrolysis; acid treatment; alkali treatment.

## 1. INTRODUÇÃO

Os tipos convencionais do sorgo podem ser divididos em sorgo de grão, doce/sacarino e forrageiro/de biomassa. O sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) pertence ao grupo de plantas com metabolismo C4, altamente eficientes na fotossíntese (EMBRAPA, 2013), sendo uma alternativa frente à utilização de cana-de-açúcar para a produção de etanol. Embora ofereça menor rendimento em etanol de primeira geração comparativamente à cana-de-açúcar, apresenta menor custo por hectare, é mais tolerante à seca e ao plantio em regiões marginais, quando comparada ao milho, podendo ser utilizada para reforma de canaviais (EMBRAPA, 2013; ROLZ et al., 2017). No Brasil, a palha de sorgo sacarino é considerada um subproduto com destinações convencionais como forragem (PARRELLA, 2011). Buscando diversificar e ampliar a utilização bioenergética da planta, pode-se aplicá-la em sistemas biológicos que visem reduzir sua cristalinidade. Como se trata de material lignocelulósico, possui destinações inerentes ao mesmo, com rotas biológicas e produtos variados.

A palha de sorgo apresenta em sua constituição celulose, hemicelulose e lignina em concentrações de 35, 33 e 6% m m<sup>-1</sup>, respectivamente (FIGUEIRÓ et al., 2011). Para que possua uma conversão biológica em produtos de maior valor, faz-se necessária a aplicação de tratamentos, para facilitar o acesso dos microrganismos ao material, pela sua composição e características recalcitrantes, reduzindo o tempo do processo (CREMONEZ et al., 2013).

Os métodos de pré-tratamento podem ser classificados em: físicos, químicos e biológicos. Os métodos físicos não usam quaisquer produtos químicos ou microrganismos, incluindo técnicas como: trituração (KREUGER et al., 2011); hidrotérmia (O-THONG; BOE; ANGELIDAKI, 2012); explosão a vapor (RISBERG et al., 2013); irradiação em micro-ondas, raios-gama e tratamento por feixe de elétrons (JACKOWIAK et al., 2011; SAPCI, 2013); e extrusão (HJORTH et al., 2011; MENARDO; CACCIATORE; BALSARI, 2015).

Pode-se, ainda, realizar pré-tratamento utilizando-se microrganismos que liberam enzimas extracelulares, em consórcio com outros microrganismos durante a biodigestão; ainda que tornando-se de maior complexidade devido às diferentes faixas de pH (ZHAO et al. 2014).

Frente a isso, os pré-tratamentos químicos utilizam: ácidos, bases ou líquidos iônicos (QIU; AITA, 2013; KARRAY et al., 2015). Várias tecnologias industriais químicas de pré-tratamento foram desenvolvidas, incluindo o amoníaco, a solubilização em etanol, a explosão da fibra em amônia e a utilização de sulfito em pré-tratamento (JIN et al., 2014; KRATKY; JIROUT, 2015).

Segundo Ostovareh et al. (2015), a adição de ácido melhora processos biológicos sequenciais, como a hidrólise, primeira etapa da biodigestão, podendo também facilitar rotas

etanóicas. Estes autores observaram as diferenças no material sólido, utilizando-se medidas de espectro na região do infravermelho (FT-IR – Fourier transform infrared spectroscopy).

Gomez-Tovar et al. (2012) apresentam o comparativo de solubilização do material lignocelulósico pelos métodos ácido, alcalino e enzimático, indicando que há diferenças entre diferentes modelos de pré-tratamento no que se refere à remoção de hemicelulose, celulose e lignina. Segundo os autores, pré-tratamentos alcalinos solubilizam principalmente a lignina e pré-tratamentos ácidos dissolvem principalmente hemicelulose e celulose.

Rodrigues et al. (2006) relatam a utilização de madeira após submetido ao processo com ácido cítrico para tratamento de águas contendo metais como cádmio e cobre. Segundo os autores, os grupos carboxilatos reagem com a celulose da biomassa, ao utilizar solução de ácido cítrico na concentração de 230 g L<sup>-1</sup>, agitação por 30 min e proporção aproximada de 8:1 m m<sup>-1</sup> de madeira para solução, seguida de dois processos de secagem sem lavar o material, um a 55 °C e outro a 120 °C, comprovando que há modificação química ao se aplicar tratamento ácido em material lignocelulósico.

Qi et al. (2009) demonstraram a dissolução de algodão, material composto principalmente de celulose, em solução aquosa contendo 7% de NaOH e 12% de Ureia m m<sup>-1</sup>, na qual a celulose foi adicionada na solução pré-refrigerada a -12,5 °C, deixando-se reagir por 5 min. Utilizando estes procedimentos, Rossi et al. (2016) utilizaram planejamento fatorial para avaliar o pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar.

A partir dessas informações, o objetivo deste trabalho foi avaliar e otimizar os parâmetros das duas formas de pré-tratamento químico (ácido e alcalino) para a palha de sorgo sacarino.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Sorgo sacarino**

As amostras de palha de sorgo sacarino foram coletadas na região de Cascavel, PR, Brasil e armazenadas em recipiente de poliestireno, mantendo as condições de umidade. O material coletado foi cortado em tamanhos de 5 a 15 mm, buscando homogeneidade para o pré-tratamento.

### **2.2. Local do Experimento**

O estudo referente ao pré-tratamento da palha de sorgo sacarino foi realizado no Laboratório de Saneamento Ambiental e no Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Agrícolas (LACON), na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus Cascavel. As análises foram realizadas na UNIOESTE, Campus Toledo, no

### 2.3. Delineamento Experimental

Desta forma, para desenvolvimento do experimento, foram avaliadas as variáveis independentes através de delineamento composto central rotacional (DCCR) em fatorial  $2^3$  com 6 pontos axiais, analisando-se o erro puro através de 3 repetições no ponto central.

Os pontos axiais foram calculados conforme proposto e utilizado por Rodrigues e Iemma (2009), com pontos do tipo  $\pm\alpha$ , sendo  $\alpha = (2k)^{1/4}$ . Com relação aos pontos centrais, o número de 3 repetições nestes pontos garante viabilidade no cálculo de resíduos e, conseqüentemente, no erro padrão e das estimativas.

#### 2.3.1. Pré-tratamento com solução de ácido cítrico

Foi conduzido em DCCR  $2^3$  com 3 pontos centrais e 6 axiais (RODRIGUES; IEMMA, 2014), avaliando-se os fatores: concentração da solução de ácido cítrico (40 e 80 g L<sup>-1</sup>), tempo de reação/permanência em autoclave (10 e 30 min) e proporção massa de palha:volume de solução (2 e 5 g/50 mL), totalizando 17 ensaios (Tabela 1). Os níveis utilizados nos pré-tratamentos foram fixados de acordo com Rodrigues et al. (2006), Qi et al. (2009) e Rossi et al. (2016).

Tabela 5 Identificação dos pré-tratamentos com ácido cítrico

Ensaio	Planejamento			Aplicação		
	Concentração	Palha:Solução	Tempo	Concentração (g L <sup>-1</sup> )	Palha g/50 mL solução (g)	Tempo (min)
1-a	-1	-1	-1	40	2	10
2-a	+1	-1	-1	80	2	10
3-a	-1	+1	-1	40	5	10
4-a	+1	+1	-1	80	5	10
5-a	-1	-1	+1	40	2	30
6-a	+1	-1	+1	80	2	30
7-a	-1	+1	+1	40	5	30
8-a	+1	+1	+1	80	5	30
9-a	-1,68	0	0	26,36	3,5	20
10-a	+1,68	0	0	93,6	3,5	20
11-a	0	-1,68	0	60	0,98	20
12-a	0	+1,68	0	60	6,02	20
13-a	0	0	-1,68	60	3,5	3:11
14-a	0	0	+1,68	60	3,5	36:49
15-a	0	0	0	60	3,5	20
16-a	0	0	0	60	3,5	20
17-a	0	0	0	60	3,5	20

Em erlenmeyer de 125 mL adicionou-se a palha de sorgo e a solução de ácido cítrico, agitou-se por 20 segundos e submeteu-se à autoclavagem a 120 °C, de acordo com o tratamento. As variáveis resposta foram a dissolução da palha no meio líquido, avaliada através de UV-Vis, e a alteração da área superficial da parte sólida, avaliada com espectrometria de infravermelho.

Na Figura 1 estão representados, de forma simplificada em fluxograma, os materiais e métodos utilizados para o pré-tratamento com ácido cítrico.

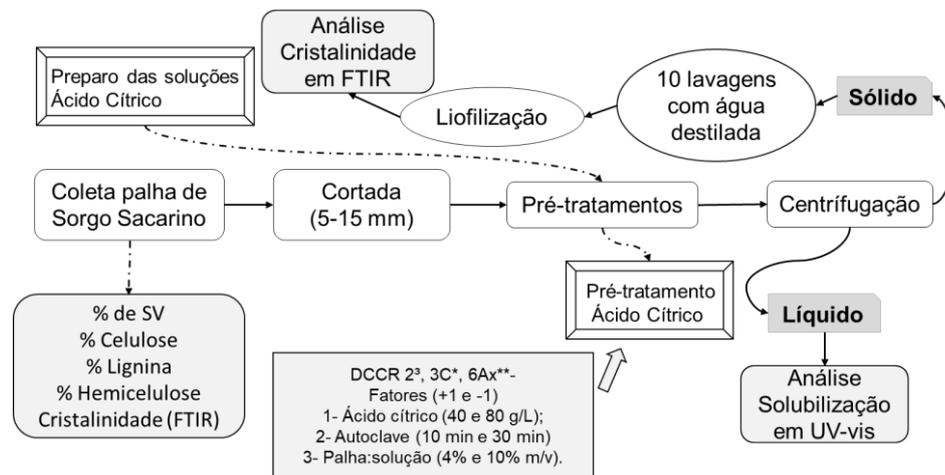


Figura 6 Fluxograma das etapas no desenvolvimento do projeto no pré-tratamento com ácido cítrico. \*Repetições do ponto Central. \*\*Repetições dos pontos Axiais.

### 2.3.2. Pré-tratamento com solução de NaOH:Ureia

Foi conduzido um DCCR 2<sup>3</sup>, com 3 pontos centrais e 6 axiais, avaliando-se variação dos fatores: temperatura (-7,5 e 4,5 °C), proporção massa de palha:volume de solução (3,5 e 5 g/50 mL) e proporção dos reagentes na solução de NaOH:Ureia (7:12:100 e 10:10:100 m m v<sup>-1</sup>), totalizando 17 ensaios (Tabela 2). Os níveis utilizados foram escolhidos de acordo com Rodrigues et al. (2006), Qi et al. (2009) e Rossi et al. (2016).

Tabela 6 Identificação dos pré-tratamentos com NaOH:Ureia

Ensaio	Planejamento				Aplicação	
	Temp.	Palha: Solução	NaOH: Ureia	Temperatura (°C)	Palha g/50 mL solução (g)	NaOH:Ureia (% m m V <sup>-1</sup> )
1-b	-1	-1	-1	-7,5	3,5	7:12:100
2-b	+1	-1	-1	4,5	3,5	7:12:100
3-b	-1	+1	-1	-7,5	5	7:12:100
4-b	+1	+1	-1	4,5	5	7:12:100
5-b	-1	-1	+1	-7,5	3,5	10:10:100
6-b	+1	-1	+1	4,5	3,5	10:10:100
7-b	-1	+1	+1	-7,5	5	10:10:100
8-b	+1	+1	+1	4,5	5	10:10:100
9-b	-1,68	0	0	-11,6	4,25	8.5:11:100
10-b	+1,68	0	0	8,6	4,25	8.5:11:100
11-b	0	-1,68	0	-1,5	2,99	8.5:11:100
12-b	0	+1,68	0	-1,5	5,51	8.5:11:100
13-b	0	0	-1,68	-1,5	4,25	6:12,7:100
14-b	0	0	+1,68	-1,5	4,25	11:9,3:100
15-b	0	0	0	-1,5	4,25	8.5:11:100
16-b	0	0	0	-1,5	4,25	8.5:11:100
17-b	0	0	0	-1,5	4,25	8.5:11:100

Soluções de NaOH:Ureia na proporção do ensaio (Tabela 2) foram adicionadas a tubos de Kjeldahl (150 mL) e refrigeradas em banho de gelo com solução de

água/etanol/NaCl. Ao atingir a temperatura estabelecida no ensaio, foi adicionada palha de sorgo, agitado por 15 minutos, em agitador de soluções, seguida de repouso por 105 min em temperatura de acordo com o ensaio (Tabela 2). Após os testes avaliaram-se as variáveis resposta: solubilização da palha e alteração na cristalinidade do material sólido.

Na Figura 2 estão representados, de forma simplificada em fluxograma, os materiais e métodos utilizados no atual trabalho para o pré-tratamento com ácido cítrico.

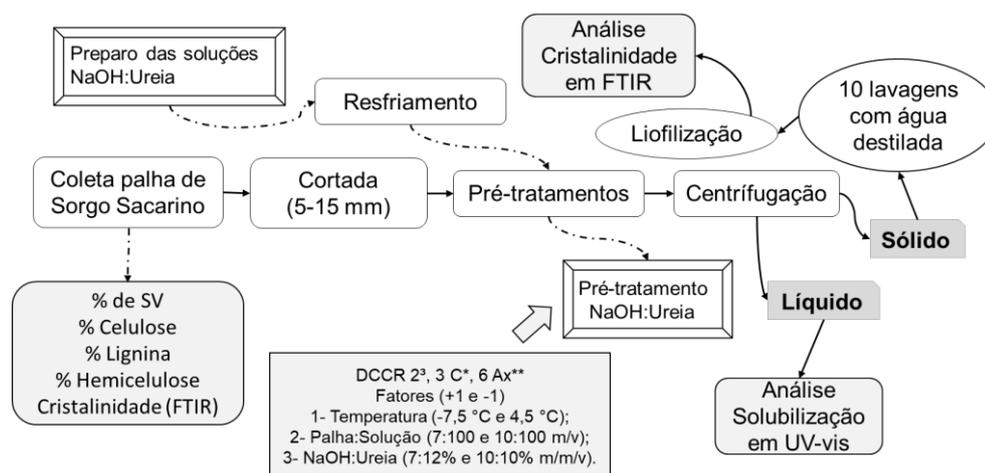


Figura 7 Fluxograma das etapas no desenvolvimento do projeto no pré-tratamento com ácido cítrico. \*Repetições do ponto Central. \*\*Repetições dos pontos Axiais.

#### 2.4. Solubilização da palha de sorgo

O material resultante do pré-tratamento foi centrifugado durante 5 min. A primeira alíquota líquida foi submetida a análises de solubilidade em UV-vis. O material sólido resultante foi lavado com água destilada por 10 vezes, liofilizado e analisado em espectrofotometria na região do infravermelho.

A solução líquida resultante foi analisada em espectrofotômetro de varredura UV-visível, duplo feixe, marca PGIInstrument, modelo PG80+, entre 700 a 190 nm, medindo-se a absorvância. Para efeito de comparação foi realizada extração de clorofila, em solução com acetona, com o método descrito por Viecelli et al. (2010).

Buscou-se aplicar análise alternativa ao convencional teor de açúcares, sendo que este não necessariamente representa uma ferramenta de confiança para aplicações posteriores, como confirmado pelo trabalho de Amnuaycheewa et al. (2016), em que foram empregadas quatro formas de pré-tratamento ácido da palha de arroz: oxálico, clorídrico, acético e cítrico, com rendimentos em açúcar de 213, 170, 141 e 127 mg, respectivamente. Com a biodigestão posterior, obtiveram-se rendimentos em biogás próximos a 0,32; 0,13; 0,3; e 0,32 L g<sup>-1</sup> de palha de arroz – ou seja, o tratamento de maior produção ou conversão em biogás foi o que apresentou menor sacarificação no pré-tratamento. Assim, não houve correlação entre o teor de sacarificação e o aproveitamento biológico subsequente.

## 2.5. Teste de Youden

Os valores da absorvância na região do ultravioleta e visível foram submetidos ao teste de Youden (Equação 1), avaliando-se a influência dos fatores na resposta (YOU DEN; STEINER, 1975; CESAR et al., 2009). As análises foram efetuadas em duplicatas.

$$R_i = \frac{\sum RE_{i(+1)} - \sum RE_{i(-1)}}{\sum RE_{i(+1)}}, \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que:  $R_i$  é o grau de influência do fator (expresso em valor absoluto de 0 a 1 ou valor percentual de 0 a 100);  $RE_{i(+1)}$  é o valor nominal do fator; e  $RE_{i(-1)}$  é o valor da variação do fator.

## 2.6. Cristalinidade

Para a determinação do índice de cristalinidade, são empregados métodos como difratometria de raios X e espectroscopia de infravermelho, mas trabalhos como o de Tomaz et al. (1994) indicam que a diferenciação se torna mais notória com espectroscopia de infravermelho. Desta forma, o material sólido liofilizado foi analisado na região do infravermelho entre 4000 e 500  $\text{cm}^{-1}$  com Refletância Total Atenuada (ATR), resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$  e 20 varreduras sucessivas em um espectrofotômetro Pelkin Elmer, modelo Frontier.

O índice de cristalinidade (CI) e o índice de cristalinidade total (TCI) foram definidos como as proporções das absorvâncias em A1420-A1430 / A893-A897 e A1315-A1375 / A2850-A2900  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, seguindo modelo de Nelson e O'Connor (1964) (POORNEJAD et al., 2014; OSTOVAREH et al., 2015).

## 2.7. Estatística

Para a análise estatística foram utilizados os dados da varredura de UV-vis que mais se diferenciarem na remoção de compostos, considerados precursores do material lignocelulósico.

A significância do grau de influência do fator nas repostas foi avaliada por meio do teste t ( $p < 0,025$ ), com ajuste de um modelo de segunda ordem para correlacionar os fatores e suas respostas. A validade estatística do modelo foi verificada pelo teste-F (ANOVA), determinando a capacidade de predição e a validade dos modelos matemáticos, adotando-se o nível de 2,5% de probabilidade, utilizando-se o software Protimiza Experimental Design (2017).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Teste de Youden**

##### **3.1.1. Pré-tratamento com solução de ácido cítrico**

Considerando-se o resultado do teste de Youden ou análise dos fatores, é possível relacionar diferenças percentuais entre a absorvância em 268 e 320 nm, sendo utilizados os picos iniciais e observadas as diferenças após os pré-tratamentos da solução em branco. Levou-se em consideração os pontos axiais apesar do resultado final ser apresentado do nível inferior (-1) ao superior (+1).

Com relação a compostos fenólicos e álcoois, aumentando-se a concentração de ácido, quantidade de palha e tempo, há um aumento na concentração destes em solução.

O aumento da concentração de palha em solução apresentou maior influência nos resultados e o aumento da concentração de ácido apresentou menor influência, sendo que a elevação da concentração de palha resulta em uma maior solubilização destes componentes na ordem de 104%, frente à concentração de ácido. Quando se compara concentração de palha em solução frente ao tempo, há uma elevação de 20,29% entre os níveis inferior e superior.

Referente à solubilização de compostos aromáticos, o aumento do tempo de pré-tratamento passa a ser mais influente, mantendo-se a concentração de ácido cítrico como menos influente na solubilização do material. A permanência em autoclave por mais tempo em processo de solubilização resulta em uma remoção 60,56% maior frente ao aumento da concentração de ácido cítrico do nível -1 ao +1. A maior permanência em autoclave também é responsável por promover uma remoção 33,57% maior que o aumento da concentração de palha.

##### **3.1.2. Pré-tratamento com solução de NaOH:Ureia**

Da mesma maneira que foi realizado o teste dos fatores utilizando os resultados de absorvância nas soluções após pré-tratamento com ácido cítrico, efetuou-se com os resultados de pré-tratamento com hidróxido de sódio e ureia.

É possível verificar, desconsiderando-se desvios, indícios para próximos estudos, como a dissolução de estireno fenólico e di-hidróxi-estireno com o aumento da concentração de hidróxido de sódio. Com a redução da concentração de ureia dos níveis -1 ao +1 há uma redução de 68 e 112%, respectivamente, na intensidade da absorvância. Assim, observa-se

que, para a solubilização de ambos ocorrer de forma mais contundente, é necessária a utilização de maior quantidade de ureia frente ao hidróxido de sódio.

Independentemente da influência ser positiva ou negativa do nível +1 ao -1, a concentração de palha em solução foi o fator que apresentou maior influência na resposta em absorvância, seguida pela concentração relativa entre hidróxido de sódio e ureia e, por último, o tempo de pré-tratamento. A elevação da concentração de palha em solução influenciou na dissolução de estireno fenólico e di-hidroxi-estireno na ordem de 520 e 248%, respectivamente, frente às variações de tempo analisadas do nível -1 ao +1.

### 3.2. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Os dados referentes a palha de sorgo in natura, após as duas formas de pré-tratamento, em relação à análise de espectrofotometria na região do Infravermelho (FT-IR) podem ser visualizados na Figura 3.

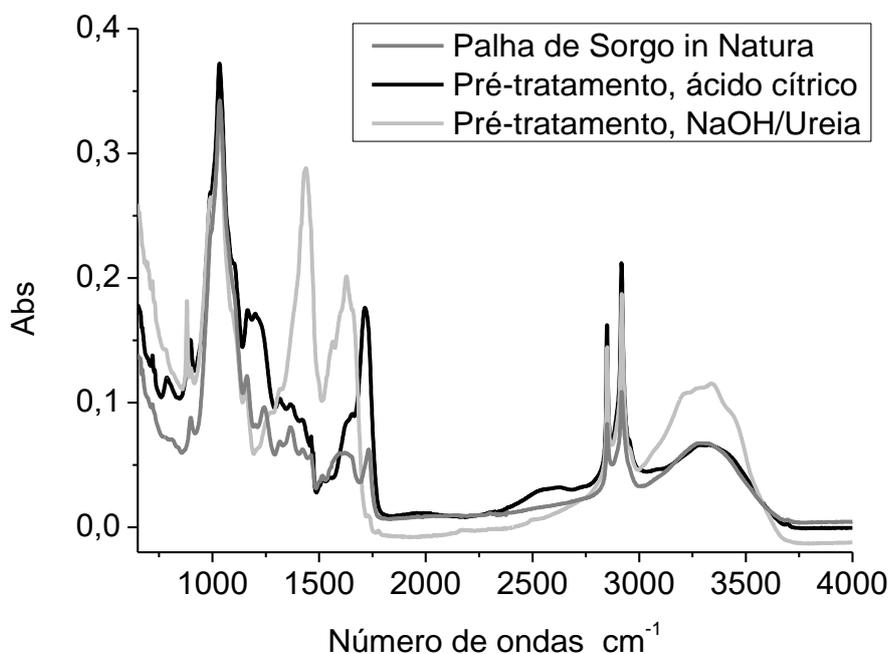


Figura 8 Espectro FTIR das palhas in natura e após pré-tratamentos.

Com os resultados da análise de FTIR (Figura 3), mostra-se que diferentes exposições do material lignocelulósico são ocasionadas pela forma de pré-tratamento e as principais bandas correlacionadas à presença de material lignocelulósico foram avaliadas após os pré-tratamentos. Para efeito de comparação, verificou-se a presença destas bandas no material de referência, o celofane (Tabela 3).

De maneira geral, as bandas de absorvância na região do infravermelho identificadas na palha de sorgo in natura foram também observadas após pré-tratamentos, sendo as suas intensidades alteradas, principalmente intra-tratamentos, possibilitando uma análise da

cristalinidade de modo comparativo no que se refere à diminuição da recalcitrância inicial.

Tabela 7 Atribuição das bandas vibracionais - região do infravermelho

Atribuição	Celofane (cm <sup>-1</sup> )	Palha de sorgo sacarino in natura (cm <sup>-1</sup> )	Após tratamento palha de sorgo com NaOH:Ureia	Após tratamento palha de sorgo com Ácido Cítrico
Deformação axial OH (associação polimérica)	3386	3298	3305	3285
Vibração C-H	2921 e 2847	2926 e 2852	2917 e 2848	2917 e 2845
C=O hemicelulose	1731	1730	-	-
Vibrações Aromáticas	-	1520	1538	1520
Deformação simétrica CH <sub>2</sub> celulose	~1471	1462	~1449	~1458
Alongamento de anel aromático	-	1425	1403	1410
Alongamento de unidades de guaiacil/siringil	1364*	1365	1370*	1365
C-O-C celulose e lignina	1239	1242	1238	1222
C-O álcoois primários celulose	1171	1160	1152	1169
C-O-C vibração anel piranase	1035	1033	1024	1036
C-H de guaiacil/siringil	896	896	894*	907

Fonte: Rossi et al. (2016); Naron et al. (2017); Yang et al. (2015); Boeriu et al. (2014). \*Banda muito atenuada.

### 3.2.1. CI e TCI após pré-tratamentos

Ao se aplicar o método de Nelson e O'Connor referente à determinação dos índices de cristalinidade (CI) e cristalinidade total (TCI), utilizando os dados de absorvância na região do infravermelho na palha de sorgo sacarino, pode-se obter o IC de 72,30% e o TCI de 71,14%, sendo que estas respostas referentes à cristalinidade sofreram alterações após aplicação dos pré-tratamentos com ácido cítrico.

Obteve-se a intensidade de absorvância após o pré-tratamento ácido, nas regiões A1430 e A896 cm<sup>-1</sup>, assim como nas regiões A1375 e A2900 cm<sup>-1</sup>, superior em todos os ensaios, indicando exposição do material com o pré-tratamento ácido. Todos os tratamentos ácidos apresentaram significativa redução do CI, em média de 23,57%, sendo que o tratamento que apresentou menor redução do CI foi o pré-tratamento com menor tempo em autoclave (ensaio 13-a), apenas 13,3%, enquanto a maior redução foi de 30,86%, com o ensaio 7-a, confirmando os resultados de solubilidade no que se refere ao aumento do tempo em autoclave e concentração de palha. Semelhantes aos dados de Ostovareh et al. (2015), que relataram redução do CI na ordem de 22,5% ao pré-tratar o bagaço de sorgo com organossolvente (50% etanol) a 160 °C durante 30 min, e 7,2% de redução do IC ao pré-tratar com mesmo organossolvente a 140 °C e 1% m m<sup>-1</sup> de ácido sulfúrico.

Não foi correlacionável a variação da concentração de ácido cítrico em solução, indicando, juntamente com os dados de solubilização, não apenas exposição deste material, mas também rompimento e solubilização destes na superfície do material sólido ao se elevar a concentração de ácido cítrico.

Enquanto para o TCI foram observadas variações para 0,458 até 0,988, o material

inicial apresentou 0,714, ou seja, reduziu ou elevou o TCI dependendo do tratamento. Contudo, não houve uma correlação direta com os fatores e níveis propostos para os pré-tratamentos. Considerando o material inicial palha de sorgo sacarino, para a biodigestão, apresentou TCI inferior ao bagaço de sorgo em dados apresentados por Ostovareh et al. (2015), em que o TCI foi de 1,72.

Os pré-tratamentos com NaOH:Ureia não apresentaram correlação progressiva ou regressiva dos CI e TCI. O CI é calculado pela equação  $A_{1430}/A_{880} \text{ cm}^{-1}$ , a absorvância em  $880 \text{ cm}^{-1}$  foi muito reduzida. No que se refere ao TCI calculado pela equação  $A_{1375}/A_{2900} \text{ cm}^{-1}$ , a banda referente à absorvância em  $1375 \text{ cm}^{-1}$  sofreu a mesma atenuação que a banda em  $880 \text{ cm}^{-1}$ , indicando que o pré-tratamento com NaOH:Ureia pode remover ou solubilizar com maior intensidade os compostos frente ao pré-tratamento com ácido cítrico, indicando a modificação da palha de sorgo sacarino. Esta alteração do material dificulta a determinação do índice de cristalinidade.

### **3.3. Solubilização da palha de sorgo**

Não se observou absorvância de clorofila nos espectros de UV-visível referentes aos pré-tratamentos, seguindo o método adaptado de Arnon, subtraindo-se a absorvância referente aos reagentes. Infere-se que os compostos responsáveis pelo aumento na absorvância (Figura 4) não são referentes à clorofila. As regiões com maiores diferenças entre os picos ficaram próximas a 268 e 320 nm para os pré-tratamentos com ácido cítrico e os picos em 356 e 376 nm dentre os pré-tratamentos com NaOH:Ureia.

Os comprimentos de onda escolhidos para tratamento estatístico foram os que apresentaram diferenciação entre si. Os picos que não apresentaram diferença entre si indicam a presença de compostos fenólicos e grupos cetona, carboxílicos e ésteres, precursores de material lignocelulósico. Estes espectros apontam diferenciação na resposta de absorção entre as soluções utilizadas para o pré-tratamento e pós pré-tratamento, indicando que houve processos de extração/solubilização ou quebra de ligações no material lignocelulósico. O espectro típico de lignina in natura apresenta um pico máximo de absorção próximo a 230 nm (HALTTUNEN et al., 2001), referente a compostos fenólicos não condensados, sendo que este máximo foi observado em todas os espectros gerados.

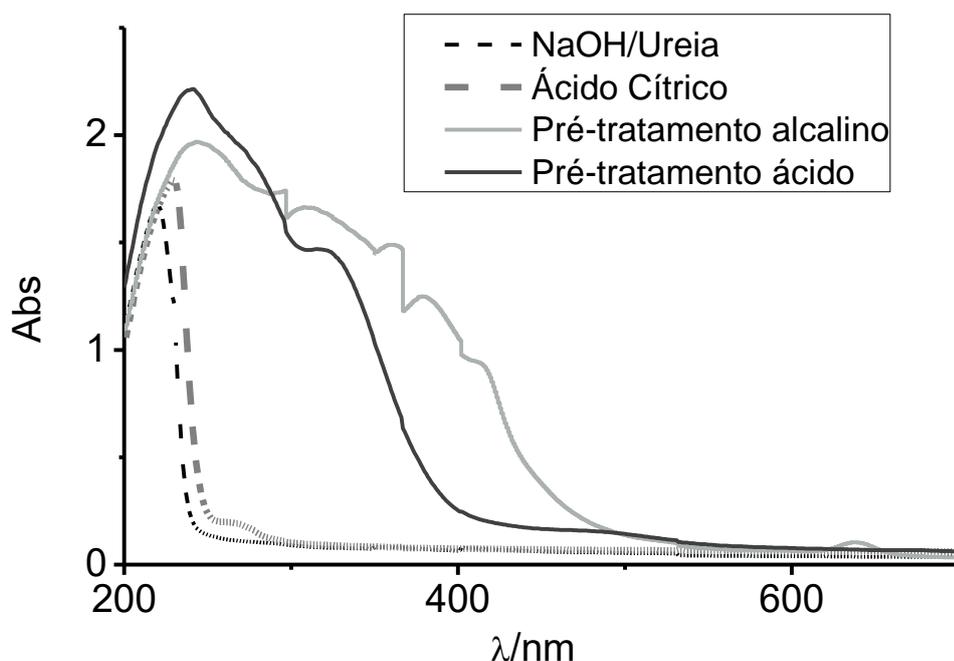


Figura 9 Espectro na região do UV-visível, para soluções pré e pós pré-tratamentos.

### 3.3.1. Pré-tratamento com ácido cítrico

A absorvância na região de 268 nm após o pré-tratamento com ácido cítrico é apresentada na Tabela 4.

Tabela 8 Absorvância região 268 e 320 nm, pré-tratamento ácido cítrico

Ensaio	Condições			Absorvância	
	Concentração (g L <sup>-1</sup> )	Palha g/50 mL solução (g)	Tempo (min)	Região 268 nm	Região 320 nm
1-a	40	2	10	1,26	0,728
2-a	80	2	10	1,334	0,806
3-a	40	5	10	1,43	0,812
4-a	80	5	10	1,6	0,997
5-a	40	2	30	1,5	0,954
6-a	80	2	30	1,74	1,26
7-a	40	5	30	1,75	1,132
8-a	80	5	30	1,93	1,469
9-a	26,36	3,5	20	1,39	0,835
10-a	93,6	3,5	20	1,75	1,24
11-a	60	0,98	20	0,8	0,499
12-a	60	6,02	20	1,82	1,24
13-a	60	3,5	3:11	1,29	0,72
14-a	60	3,5	36:49	1,8	1,36
15-a	60	3,5	20	1,61	1,03
16-a	60	3,5	20	1,68	1,097
17-a	60	3,5	20	1,705	1,12

Na Figura 5 é apresentado o gráfico de Pareto da absorvância em 268 nm, indicando os fatores significativos pelo teste t. O espectro de absorção é uma somatória das contribuições das diversas transições eletrônicas, tratando-se de uma resultante complexa, a qual dificulta a identificação de componentes.

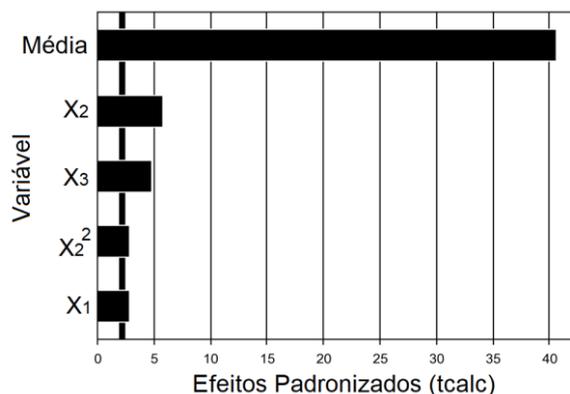


Figura 10 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 268 nm.

Foi ajustado um modelo de segunda ordem (Equação 2) para correlacionar o comprimento de onda de 268 nm em função da concentração em ácido cítrico ( $x_1$ ); concentração de palha em solução ( $x_2$ ); e tempo ( $x_3$ ).

$$Y_1 = 1,63 + 0,09x_1 + 0,19x_2 - 0,10x_2^2 + 0,16x_3. \quad \text{Eq. (2)}$$

A validade do modelo foi verificada pela ANOVA, (Tabela 5), sendo o modelo considerado preditivo.

Tabela 9 Anova para o modelo referente a absorvância em 268 nm p pré-tratamento com ácido cítrico

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	GL	Q.M.	Fcal	p-valor
<b>Regressão</b>	1,029	4	0,3	18,0	0,00005
<b>Resíduo</b>	0,171	12	0,0		
<b>Total</b>	1,200	16			

\* $R^2 = 0,857$ .

Na Figura 6 apresenta-se a reta referente aos valores de absorvância preditos ( $Y_1$ ) frente aos pontos experimentais de absorvância observados em 268 nm.

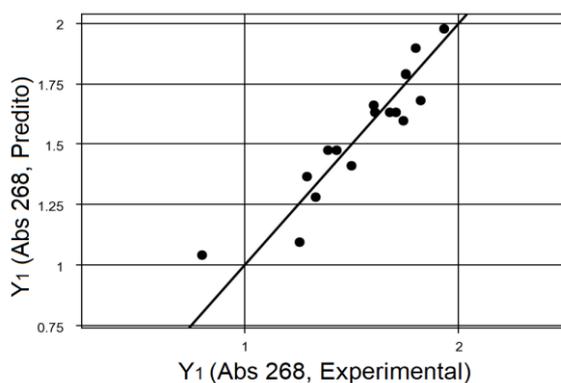


Figura 11 Valores preditos frente aos experimentais, referentes à absorvância em 268 nm.

A absorvância em 268 nm indica a presença de compostos fenólicos (GOLDSCHMIDT,1971; SILVA et al., 2012). O aumento da absorção próximo a 270 nm corresponde à dissolução de precursores da lignina como o siringil e guaiacil (KOCH; SCHMIT, 2013; RANGAN, 2017). A presença de compostos fenólicos geralmente é identificada entre 233 e 276 nm, sendo que o pH pode deslocar a região de absorvância máxima de alguns compostos.

Na superfície de resposta (Figura 7), mostra-se que, quanto maior o tempo de permanência da palha de sorgo sacarino em autoclave, maior a solubilização da palha de sorgo sacarino em compostos referentes ao pico 268 nm. Esta tendência de solubilização do material lignocelulósico apresentou significativo aumento na banda de absorvância também com a elevação da concentração de ácido cítrico.

Fato semelhante pode ser visualizado com o aumento da concentração da palha em relação à quantidade de solução de ácido cítrico, com tendência em saturação de solubilidade, independentemente de se comparar com a variação da concentração de ácido cítrico ou com o tempo de permanência em autoclave. Analisando-se a curva da resposta de absorvância para a variação da concentração de palha, tanto com relação a concentração de ácido tanto quanto com relação ao tempo, há uma faixa máxima de 4 a 6 g/50 mL ou 80 a 120 g L<sup>-1</sup>.

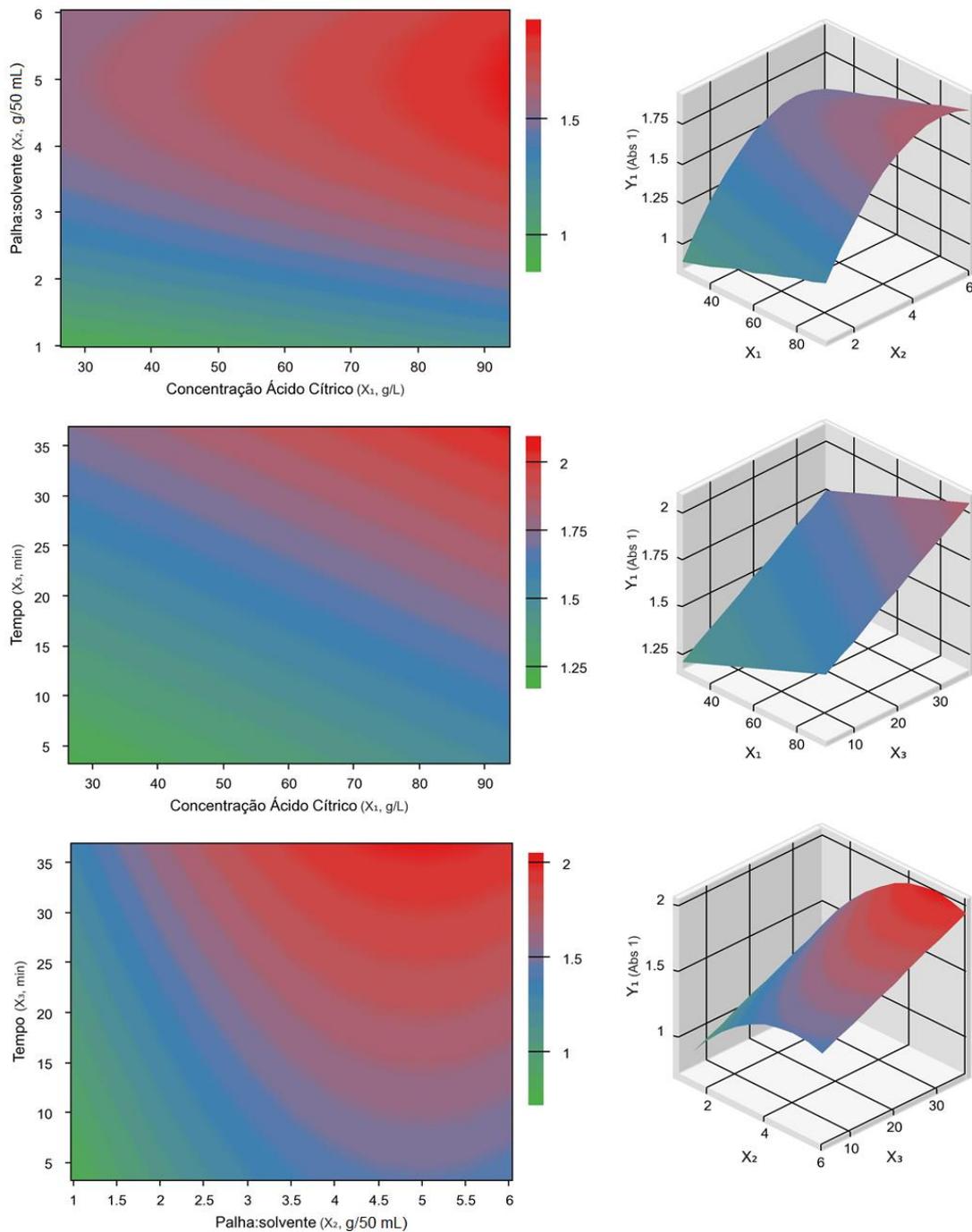


Figura 12 Superfície de resposta para absorvância em 268 nm, UV-Vis.

Além da variância de solubilização de compostos em 268 nm, também foi identificada, visualmente, diferença de absorvância na região de 320 nm, conforme mostrado na Tabela 4.

Na Figura 8 é apresentado o gráfico de Pareto da absorvância em 320 nm, observando-se as variáveis significativas ao se aplicar o teste F.

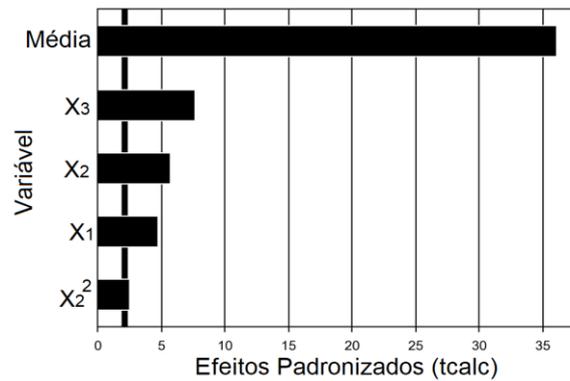


Figura 13 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 320 nm.

Foi ajustado um modelo de segunda ordem (Equação 3) para correlacionar o comprimento de onda de 320 nm em função da concentração em ácido cítrico ( $x_1$ ); concentração de palha em solução ( $x_2$ ); e tempo ( $x_3$ ).

$$*Y_2 = 1,07 + 0,12 x_1 + 0,14 x_2 - 0,06 x_2^2 + 0,19 x_3. \quad \text{Eq. (3)}$$

A validade do modelo foi verificada pela ANOVA, (Tabela 6), sendo o modelo considerado preditivo.

Tabela 10 ANOVA para absorvância em 320 nm, pré-tratamento ácido cítrico

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	GL	Q.M.	Fcal	p-valor
Regressão	1,001	4	0,2	30,3	0,00000
Resíduo	0,999	12	0,0		
Total	1,100	16			

\*R<sup>2</sup>= 0,910.

Na Figura 9, mostra-se a reta referente aos valores de absorvância preditos ( $Y_2$ ) frente aos pontos experimentais de absorvância observados em 320 nm.

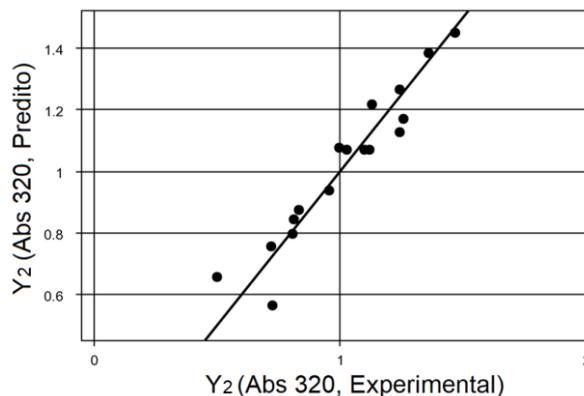


Figura 14 Valores preditos frente aos experimentais, absorvância em 320 nm.

As absorvâncias em 320 nm podem ser consideradas como complementação das respostas detectadas próximas a 268 nm, resultantes da presença de grupos cromóforos de dupla banda, como também identificado por Koch e Schmit (2013).

Os fatores significativos em forma linear foram tempo, proporção de palha:solução e concentração de ácido cítrico. A concentração de palha:solução também apresentou efeito quadrático significativo, ou seja, que tem tendências em aumentar a solubilidade dos compostos em 320 nm ( $Y_2$ ), até um limite de saturação (Figura 10).

Com os fatores analisados, mostra-se que a concentração de ácido cítrico e o tempo influem de forma a aumentar a solubilidade de compostos aromáticos, removendo compostos fenólicos e corroborando os dados anteriores. A concentração de palha também apresentou um ponto de saturação, referente à solubilização em compostos aromáticos, como ocorreu com os compostos fenólicos, em que a curva de saturação ocorre próximo a 5 g/50 mL ou 100 g L<sup>-1</sup> (Figura 10).

Considerando as absorvâncias nos dois comprimentos de onda, obtiveram-se respostas semelhantes quanto às variações da concentração de ácido cítrico e o tempo de permanência em autoclave.

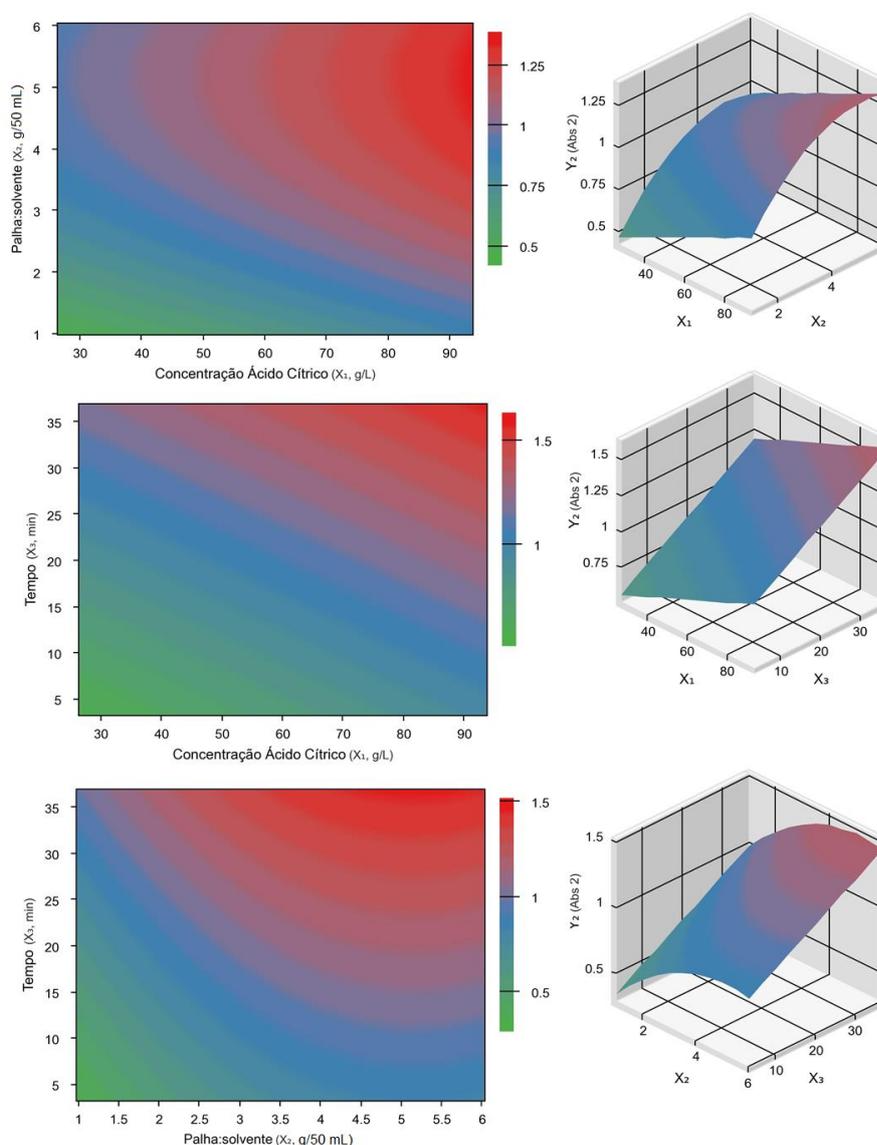


Figura 15 Superfície de resposta para absorvância em 320 nm, UV-Vis.

### 3.3.2. Pré-tratamento com solução de NaOH:Ureia

O pré-tratamento com NaOH:Ureia apresentou maior absorvância e maiores variações na análise de absorvância em relação ao pré-tratamento com ácido cítrico, com menos bandas de separação dos espectros, o que não significa que os tratamentos sejam semelhantes, até pelo fato de que compostos diferentes geralmente apresentam curvas de concentração diferentes. Desta forma, escolheram-se os picos em 356 nm e 376 nm dos espectros que mais se diferenciaram visualmente (Tabela 7), de forma que estes pontos diferenciariam os pré-tratamentos.

Tabela 11 Absorvância região 356 nm e 376 nm, pré-tratamento NaOH:Ureia

Ensaio	Condições			Absorvância	
	Temperatura (°C)	Palha /50 mL solução (g)	NaOH: Ureia	Região 356 nm	Região 376 nm
1-b	-7,5	3,5	7:12	1,44	1,09
2-b	4,5	3,5	7:12	1,14	0,72
3-b	-7,5	5	7:12	1,5	1,26
4-b	4,5	5	7:12	1,425	1,065
5-b	-7,5	3,5	10:10	1,465	1,175
6-b	4,5	3,5	10:10	1,3	0,95
7-b	-7,5	5	10:10	1,49	1,25
8-b	4,5	5	10:10	1,44	1,13
9-b	-11,6	4,25	8,5:11	1,46	1,199
10-b	8,6	4,25	8,5:11	1,405	1,07
11-b	-1,5	2,99	8,5:11	1	0,524
12-b	-1,5	5,51	8,5:11	1,46	1,236
13-b	-1,5	4,25	6:12,7	1,44	1,18
14-b	-1,5	4,25	11:9,3	1,45	1,17
15-b	-1,5	4,25	8,5:11	1,47	1,25
16-b	-1,5	4,25	8,5:11	1,47	1,235
17-b	-1,5	4,25	8,5:11	1,464	1,234

Na Figura 11 é apresentado o gráfico de Pareto da absorvância em 268 nm, indicando os fatores significativos pelo teste t. Com relação à região de absorvância em 356 nm (Y3) não houve significativa diferença na intensidade da banda ao se modificarem as concentrações de hidróxido de sódio e ureia de forma inversa, ou seja, a substituição de ureia por hidróxido de sódio ou o oposto é possível, não acarretando prejuízos quanto à solubilização em estireno fenólico, dentro dos limites testados (Figura 11). Dentre os fatores significativos em 356 nm estão: temperatura e concentração de palha em solução.

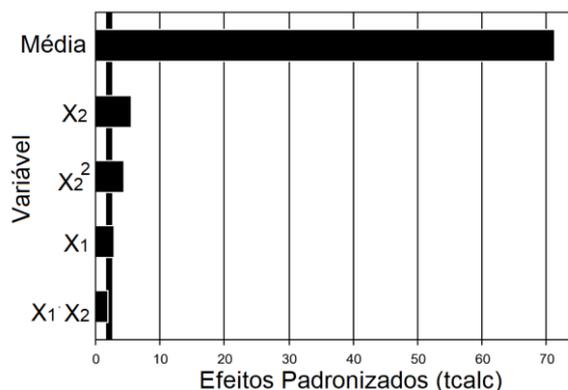


Figura 16 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 356 nm.

Ajustou-se um modelo de segunda ordem (Equação 4) para correlacionar o comprimento de onda de 356 nm em função da temperatura ( $x_1$ ); concentração de palha em solução ( $x_2$ ); e proporção de NaOH:Ureia ( $x_3$ ).

$$*Y_3=1,46 - 0,05 x_1 + 0,09 x_2 - 0,07 x_2^2 + 0,04 x_1 x_2. \quad \text{Eq. (4)}$$

A validade do modelo foi verificada pela ANOVA (Tabela 8), sendo o modelo considerado preditivo.

Tabela 12 ANOVA para absorvância em 356 nm após pré-tratamento NaOH:Ureia

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	GL	Q.M.	Fcal	p-valor
<b>Regressão</b>	0,252	4	0,1	15,6	0,00010
<b>Resíduo</b>	0,048	12	0,0		
<b>Total</b>	0,300	16			

\* $R^2= 0,839$ .

Na Figura 12 apresenta-se a reta referente aos valores de absorvância preditos ( $Y_3$ ) frente aos pontos experimentais de absorvância observados em 356 nm.

O teste de análise de variância referente à absorvância em 356 nm, associada à presença e à dissolução do estireno fenólico (CASTELLAN et al., 1992) ou à presença de *p*-*p*-dihidroxiestireno (DYER, 2004), apresentando dupla ligação C-C na parte extrema e alifática do composto, está descrito na Tabela 8.

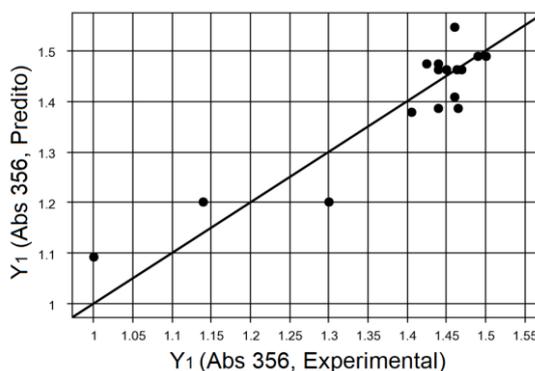


Figura 17 Valores preditos frente aos experimentais, absorvância em 356 nm.

A concentração de palha em solução frente à temperatura apresentou correlação significativa ao remover compostos identificados no comprimento de onda de 356 nm e está exposta na Figura 13.

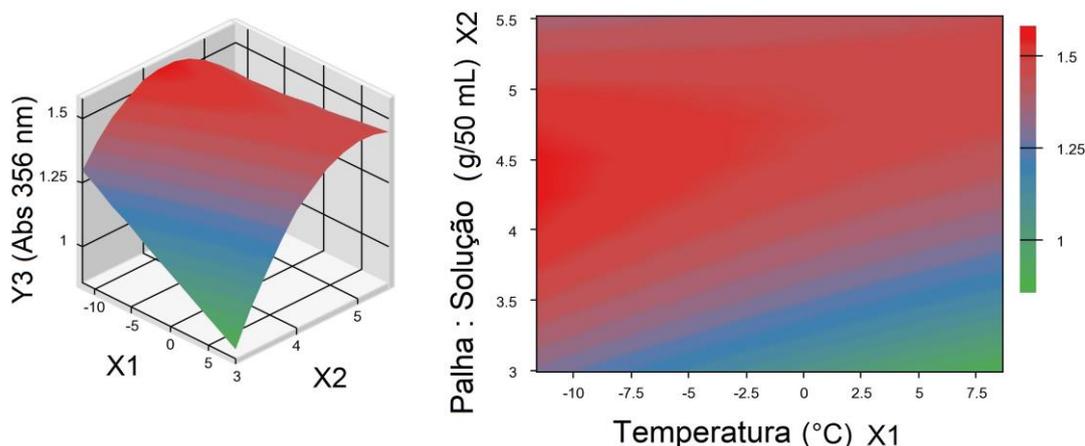


Figura 18 Superfície de resposta para absorvância em 356 nm, UV-Vis.

Analisando-se individualmente os fatores, verifica-se que, ao se elevar a temperatura, o pré-tratamento torna-se mais brando, resultando em menor degradação do material lignocelulósico. No referente à concentração de palha em solução alcalina, verifica-se próximo a 4,5 g/50 mL ou 90 g L<sup>-1</sup> na temperatura de -10 °C. Ao se elevar a temperatura para 7,5 °C, há um deslocamento do ponto ótimo da concentração de palha próximo de 100 g L<sup>-1</sup>, com solubilização menor, pois não atende às condições ótimas da temperatura, corroborando com o exposto na Figura 11.

A presença de lignina pode ser classificada conforme os monômeros guaiacila, siringila e p-hidroxifenila, derivados dos álcoois coniferílico, sinapílico e p-cumarílico (TOLEDANO et al. 2014). A fragmentação da lignina ocorreu de maneira a não apresentar apenas estes monômeros, mas sim moléculas mais complexas, como a *o-p*-di-hidróxi-estireno ou *o-p*-dihidroxifenil, identificado em 376 - 378 nm (MILNE et al., 1992; DYER, 2004).

Ao se identificar compostos diferentes aos habituais, como di-hidróxi-estireno frente aos hidróxidos fenólicos, geralmente presentes em materiais lignocelulósicos em seu formato livre, Hu et al. (2016) indicam que o procedimento em questão não apenas foi suficiente para a solubilização destes, como se pode visualizar após análise dos resultados da absorvância no comprimento de onda em 356 nm, mas também foi efetivo o suficiente para remover substâncias orgânicas de maior impacto.

Na Figura 14 é apresentado o gráfico de Pareto da absorvância em 376 nm, indicando os fatores significativas pelo teste t.

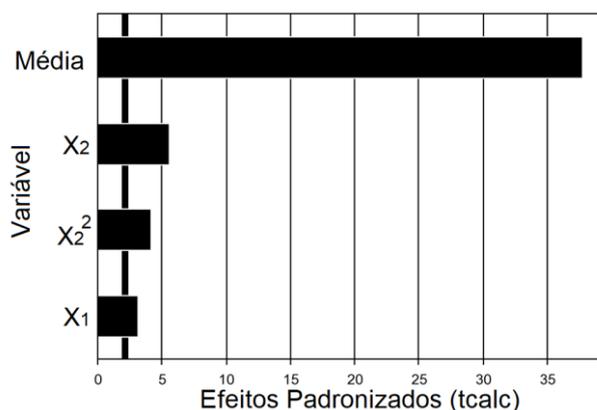


Figura 19 Gráfico de Pareto dos valores significativos de T para absorvância no comprimento de onda em 376 nm, UV-Vis.

Ajustou-se um modelo de segunda ordem (Equação 5) para correlacionar o comprimento de onda de 376 nm em função da temperatura ( $x_1$ ); concentração de palha em solução ( $x_2$ ); e proporção de NaOH:Ureia ( $x_3$ ).

$$*Y_4 = 1,19 - 0,08 x_1 + 0,14 x_2 - 0,11 x_2^2. \quad \text{Eq. (5)}$$

A validade do modelo foi verificada pela ANOVA (Tabela 9), sendo o modelo considerado preditivo, pico referente à presença de dihidroxifenil.

Tabela 13 ANOVA absorvância em 376 nm, pré-tratamento com NaOH:Ureia

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	GL	Q.M.	Fcal	p-valor
Regressão	0,5	3	0,2	19,4	0,00004
Resíduo	0,1	13	0,0		
Total	0,7	16			

\*R<sup>2</sup>= 81,76%.

Na Figura 15 apresenta-se a reta referente aos valores de absorvância preditos (Y4) frente aos pontos experimentais de absorvância observados em 376 nm.

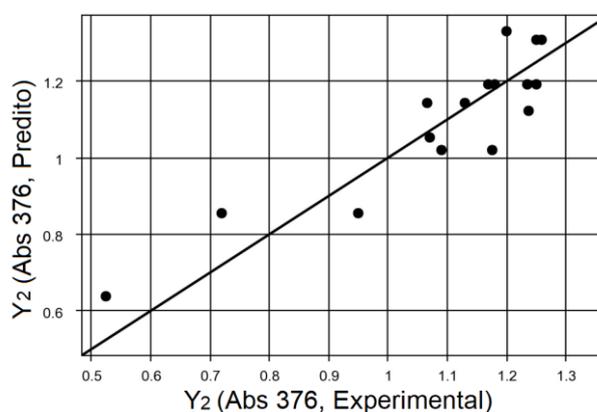


Figura 20 Valores preditos frente aos experimentais, absorvância em 376.

A escolha das variáveis significativas, sendo apenas os fatores temperatura e a concentração de palha em solução para o comprimento de onda em 376 nm, corrobora com os resultados obtidos em 356 nm. Sendo assim, de igual forma não houve significativa diferença na intensidade da banda ao se modificar as concentrações de hidróxido de sódio e ureia de forma inversa.

A absorvância em 376 nm (Figura 14), diferentemente da absorvância em 356 nm (Figura 11), não apresentou interação combinada entre temperatura e concentração de palha em solução, apesar de ambas serem significativas quanto à modificação na intensidade de absorvância relativa. Os pontos ótimos foram identificados na menor temperatura testada e com concentração de palha em solução em 4,75 g/50 mL ou 95 g L<sup>-1</sup>, como mostra a Figura 16.

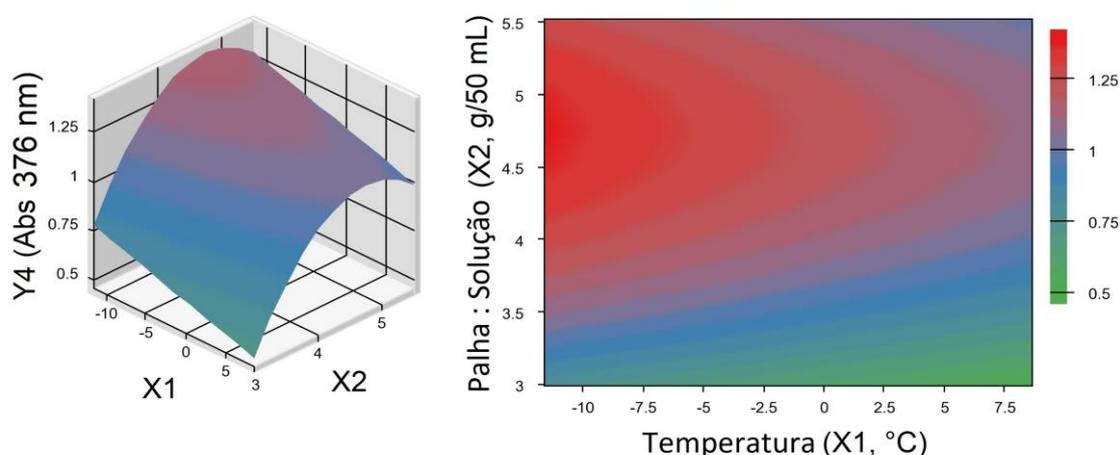


Figura 21 Superfície de resposta absorvância em 376 nm, UV-Vis.

#### 4. CONCLUSÃO

Após os pré-tratamentos, identificou-se a remoção de compostos que permaneceram solubilizados nas soluções. Para o pré-tratamento com ácido cítrico, verificou-se a solubilização de compostos fenólicos e aromáticos e os pontos ótimos de solubilização

foram identificados quando se utilizou a concentração de ácido cítrico em 90 g L<sup>-1</sup>, tempo de reação em autoclave 36 min e 49 s e concentração de palha em solução em 100 g L<sup>-1</sup>, sendo que apenas este último fator apresentou um provável máximo de remoção dentro dos níveis testados. Com a maior solubilização foram verificadas modificações nas intensidades no espectro de absorção na região do infravermelho referente ao material sólido resultante do processo. Ao se aplicar o teste de cristalinidade e cristalinidade total foi possível correlacioná-los com os resultados da análise de solubilização.

O tratamento alcalino apresentou atenuação quase que total das bandas correlacionadas à presença de guaiacil e siringil e a modificação na intensidade de absorção

de outros compostos. Ao se analisar o material líquido resultante dos pré-tratamentos alcalinos, identificou-se a possível presença de *p*-dihidroxifenil, *p-p*-dihidroxiestireno e estireno fenólico. Os fatores significativos quanto à maximização na solubilização dos compostos orgânicos foram a concentração de palha em solução com ponto ótimo entre 90 e 95 g L<sup>-1</sup> para ambos os compostos citados e o fator temperatura, sendo que ao se aplicar o menor nível proposto, -11,6 °C, houve maior solubilização.

## 5. REFERÊNCIAS

AMNUAYCHEEWA, P.; HENGARONPRASAN, R.; RATTANAPORN, K.; KIRDPONPATTARA, S.; CHEENKACHORN, K.; SRIARIYANUN, M. Enhancing enzymatic hydrolysis and biogas production from rice straw by pretreatment with organic acids. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 247-254, 2016.

BOERIU, C. G.; FIȚIGĂU, F. I.; GOSSELINK, R. J. A.; FRISSEN, A. E.; STOUTJESDIJK, J.; PETER, F. Fractionation of five technical lignins by selective extraction in green solvents and characterisation of isolated fractions, **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 481-490, 2014.

CASTELLAN, A.; NOURMAMODE, A.; VIOLET, F.; COLOMBO, N.; JAEGER, C. Photoyellowing of milled wood lignin and peroxide-bleached milled wood lignin in solid 2-hydroxypropylcellulose films after sodium borohydride reduction and catalytic hydrogenation in solution: an uv/vis absorption spectroscopic study. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 12, n. 1, p. 1-18, 1992.

CESAR, I. C.; PIANETTI, G. A. Robustness evaluation of the chromatographic method for the quantitation of lumefantrine using Youden's test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, online, v. 45, n. 2, p. 235-240, 2009.

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**, v. 160, p-196-206, 2017.

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

DAMAY, J.; DURET, X.; GHISLAIN, T.; LALONDE, O.; LAVOIE, J.-M. Steam explosion of sweet sorghum stems: optimisation of the production of sugars by response surface methodology combined with the severity factor. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 482-493, 2018.

DYER T. J. **Elucidating the Formation and Chemistry of Chromophores during Kraft Pulp**. 2004. Volume 1, 635f. Tese (Doutorado) - Institute of Paper Science and Technology, University of Wisconsin-Stevens Point, Atlanta, Georgia, 2004. Disponível em: [https://smartech.gatech.edu/bitstream/handle/1853/7025/dyer\\_thomas\\_200408\\_vol1.pdf](https://smartech.gatech.edu/bitstream/handle/1853/7025/dyer_thomas_200408_vol1.pdf). Acesso em: 11 nov. 2018.

EMBRAPA - MILHO E SORGO. MAY, A. et al. **Circular Técnica 186**. Embrapa Cultivo de Sorgo Sacarino em Áreas de Reforma de Canaviais. Sete Lagoas, MG, 2013. ISSN 1679-

1150. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/966886/1/circ186.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

FIGUEIRÓ, G. G.; GRACIOLLI, L. A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 5, p. 924-930, 2011.

GOMEZ-TOVAR, F.; CELIS, L. B.; RAZO-FLORES, E.; ALATRISTE-MONDRAG, N. F. Chemical and enzymatic sequential pretreatment of oat straw for methane production. **Bioresource Technology**, New York, v. 116, p. 372-378, 2012.

HALTTUNEN, M.; VYÖRYKKÄ, J.; HORTLING, B.; TAMMINEN, T.; BATCHELDER, D.; ZIMMERMANN, A.; VUORINEN, T. Study of Residual Lignin in Pulp by UV Resonance Raman Spectroscopy. **Holzforschung**, v. 55, n. 6, p. 631-638, 2001.

HJORTH, M.; GRÄNITZ, K.; ADAMSEN, A. P. S.; MØLLER, H. B. Extrusion as a pretreatment to increase biogas production. **Bioresource Technology**, New York, v. 102, n. 8, p. 4989-4994, 2011.

HU, Z.; DU, X.; LIU, J.; CHANG, H.-M.; JAMEEL, H. Structural characterization of pine kraft lignin: biochoice lignin vs indulin at. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 36, p. 432-446, 2016.

JIN, W.; XU, X.; GAO, Y.; YANG, F.; WANG, G. Anaerobic fermentation of biogas liquid pretreated maize straw by rumen microorganisms in vitro. **Bioresource Technology**, New York, v. 153, p. 8-14, 2014.

KALLAVUS, U.; KÄRNER, K.; KÄRNER, K.; ELOMAA, M. Rapid semi-quantitative determination of aspen lignin in lignocellulosic products, **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences**, v. 64, p. 105-112, 2015.

KARAGEORGOU, E.; SAMANIDOU, V. Youden test application in robustness assays during method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1353, n. 131-139, 2014.

KARRAY, R.; HAMZA, M.; SAYADI, S. Evaluation of ultrasonic, acid, thermo-alkaline and enzymatic pre-treatment on anaerobic digestion of *Ulva rigida* for biogas production. **Bioresource Technology**, New York, v. 187, p. 205-213, 2015.

KOCH, G.; SCHMIT, U. Topochemical and Electron Microscopic Analyses on the Lignification of Individual Cell Wall Layers During Wood Formation and Secondary Changes. In FROMM, J. (Ed.). **Cellular Aspects of Wood Formation, Plant Cell Monographs 20**. Heidelberg, 2013.

KRATKY, L.; JIROUT, T. The effect of process parameters during the thermal-expansionary pretreatment of wheat straw on hydrolysate quality and on biogas yield. **Renewable Energy**, v. 77, p. 250-258, 2015.

MILNE, T. A.; CHUM, H. L.; AGBLEVOR, F.; JOHNSON, D. K. Standardized analytical methods, **Biomass and Bioenergy**, v. 2, n. 1, p. 341-366, 1992.

NARON, D. R.; COLLARD, F.-X.; TYHODA, L.; GÖRGENS, J. F. Characterisation of lignins from different sources by appropriate analytical methods: Introducing thermogravimetric analysis-thermal desorption-gas chromatography-mass spectroscopy, **Industrial Crops and Products**, v. 101, p. 61-74, 2017.

NELSON, M.L.; O'CONNOR, R. T. Relation of certain infrared bands to cellulose crystallinity and crystal lattice. Part II: A new infrared ration for estimation of crystallinity in cellulose I and II. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 8, p. 1325-1341, 1964.

OSTOVAREH, S.; KARIMI, K.; ZAMANI, A. Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 66, n. 1, p. 170-177, 2015.

PARRELLA, R. A. C. Melhoramento genético do sorgo sacarino. **Agroenergia em Revista**, Brasília, n. 3, ano II, p. 08-09, 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/56043/1/BolfeAgroeRevis.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

POORNEJAD, N.; KARIMI, K.; BEHZAD, T. Ionic liquid pretreatment of rice straw to enhance saccharification and bioethanol production. **Journal Biomass Biofuel** v. 1, p. 8-15, 2014.

PROTIMIZA EXPERIMENTAL DESIGN, 2017. Disponível em: <http://experimental-design.protimiza.com.br>. Acesso em: 11 nov. 2018.

QI, H.; CHANG, C.; ZHANG, L. Properties and applications of biodegradable transparent and photoluminescent cellulose films prepared via a green process. **Green Chemistry**, v. 2, n. 11, p. 177-184, 2009.

QIU, Z.; AITA, G. M. Pretreatment of energy cane bagasse with recycled ionic liquid for enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, New York, v. 129, p. 532-537, 2013.

RANGAN, A.; MANCHIGANTI, M. V.; THILAIVIDANKAN, R. M.; KESTUR, S. G.; MENON, R. Novel method for the preparation of lignin-rich nanoparticles from lignocellulosic fibers, **Industrial Crops and Products**, v. 103, p. 152-160, 2017.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Experimental Design and Process Optimization. Boca Raton, FL: CRC Press, 2014, 302 p.

RODRIGUES, R. F.; TREVENZOLI, R. L.; SANTOS, L. R. G.; LEÃO, V. A.; BOTARO, V. R. Adsorção de metais pesados em serragem de madeira tratada com ácido cítrico. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 21-26, 2006.

ROLZ, C.; LEÓN, R.; MONTENEGRO, A. L. M.; PORRAS, V.; CIFUENTES, R. A multiple harvest cultivation strategy for ethanol production from sweet sorghum throughout the year in tropical ecosystems. **Renewable Energy**, v. 106, p. 103-110, 2017.

DE ROSSI, E.; LINDINO, C. A.; CREMONEZ, P. A.; DOS SANTOS, K. G.; BARICCATTI, R. A.; JHONATAS, A.; TELEKEN, J. G. Biogas production with co-digestion of sugarcane straw. **Management of Environmental Quality**, v. 28, p. 94-106, 2017.

SILVA, A. A.; NASCIMENTO, E. S. P.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. Identificação de extratos etanólicos de madeiras utilizando seu espectro eletrônico de absorção e análise multivariada. **Química Nova**, online, v. 35, n. 3, p. 563-566, 2012.

SYAFTIKA, N.; MATSUMURA, Y. Comparative study of hydrothermal pretreatment for rice straw and its corresponding mixture of cellulose, xylan, and lignin. **Bioresource Technology**, New York, v. 255, p. 1-6, 2018.

TOLEDANO, A.; SERRANO, L.; LABIDI, J. Improving base catalyzed lignin depolymerization by avoiding lignin repolymerization, **Fuel**, v. 116, n. 15, p. 617-624, 2014.

TOMAZ, R. M. A. G.; BITTENCOURT, E.; SABINO, N. P.; KONDO, J. I. Determinação dos índices de cristalinidade de fibras celulósicas. **Bragantia**, v. 53, n.1, 1994.

VIECELLI, C. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de resistência em feijoeiro á mancha angular por extratos de mucélio de *pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 73-80, 2010.

YANG, W.; KENNY, J. M.; PUGLIA, D.; Structure and properties of biodegradable wheat gluten bionanocomposites containing lignin nanoparticles. **Industrial Crops and Products**, v. 74, n. 15, p. 248-256, 2015.

YANGA, G.; WANG, J. Pretreatment of grass waste using combined ionizing radiation-acid treatment for enhancing fermentative hydrogen production, **Bioresource Technology**, New York, v. 255, p. 7-15, 2018.

ZHAO, J.; ZHENG, Y.; LI, Y. Fungal pretreatment of yard trimmings for enhancement of methane yield from solid-state anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, New York, v. 156, p. 176-181, 2014.

## ARTIGO 2 - BIODIGESTÃO DE PALHA DE SORGO SACARINO IN NATURA E SUBMETIDA A PRÉ-TRATAMENTOS ALCALINO, ÁCIDO

### RESUMO

No presente trabalho, misturas de palha de sorgo sacarino in natura e após pré-tratamentos alcalino e ácido são avaliadas quanto às respostas da biodigestão. As proporções foram definidas utilizando modelo simplex-centroid e aplicados em reatores batelada de biodigestão anaeróbia. O pré-tratamento da palha de sorgo sacarino, seja via alcalina (NU) ou ácida (CA), acarreta aumento na produção de biogás e redução de sólidos voláteis frente à aplicação de palha in natura. A utilização de misturas potencializa este aumento, ou seja, apresentam efeito sinérgico em todos os períodos testados. Foi possível identificar as melhores misturas para cada período de TDH analisado, principalmente embasando-se no volume de biogás gerado, que apresentou significativa diferença. A mistura ideal, composta por palhas pré-tratadas nos TDH de 7, 21 e 31 dias, variou de 33,33 a 50,00% de palha pré-tratada com NaOH:Ureia e o restante com palha pré-tratada com ácido cítrico, 50,00 até 66,67%. Após este período, misturas contendo os três componentes são desejáveis, como aos 46 dias, com aplicação de 25% de palha in natura, 30% de palha pré-tratada com ácido cítrico e 45% palha pré-tratada com NaOH:Ureia. Aos 61 dias, fatores como redução de sólidos voláteis e teor de metano não apresentavam mais significância, principalmente em relação aos 20 e 31 dias de TDH, em que os fatores dependentes apresentaram significância, o que confirma a importância do pré-tratamento na palha para redução do TDH, aumentando sua potencialidade de aplicação na biodigestão.

**Palavras-chave:** Hidrólise físico-química, modelo de Gompertz, NaOH, simplex-centroid, tratamento ácido, Ureia.

### BIODIGESTION OF SACCHARINE SORGHUM STRAW SUBMITTED TO ALKALINE, ACID AND WITHOUT PRETREATMENTS

#### ABSTRACT

In this paper, mixtures of saccharin sorghum straw after alkaline and acid pretreatments, as well as without any pretreatment are evaluated regarding their biodigestion responses. The proportions were defined using simplex-centroid model and applied at the batch reactors in anaerobic biodigestion. The pretreatment of straw sorghum, be it alkaline (NU) or acid (CA), leads to an increase in biogas production, and in the consumption of SV, as compared to the application of straw without pretreatment (WOp). The use of mixtures potentiates this increase, that is, they have a synergistic effect in all the periods tested. It was possible to identify the best mixtures for each in TDH period analyzed, mainly based on the volume of biogas generated, which presented significant difference. The ideal blend, composed of pretreated straw up to 31 days of TDH, was between 33.33 to 50.00%, of straw pretreated with NU and the remainder with straw pretreated with CA, 50.00 to 66.67%. After this period, mixtures containing all three components are desirable, such as at 46 days, with application of 25% WOp straw, 30% pretreated CA and 45% pretreated with NU straw. At 61 days, factors such as rSV and methane content were no longer significant, especially in relation to the 20 and 31 days of TDH, in which the dependent factors presented significance. This confirms the importance of pretreatment of straw to reduce TDH, increasing its potential for application in biodigestion.

**Keywords:** Gompertz model, simplex-centroid, Physico-chemical hydrolysis, acid treatment, NaOH, Urea.

## 1. INTRODUÇÃO

A demanda global por energia está constantemente em crescimento, e esta é, em sua maior parte, assegurada por combustíveis fósseis. Neste contexto insere-se a bioenergia, que pode reduzir a demanda por combustíveis fósseis.

Especificamente cita-se o uso de biocombustíveis. Estes tendem a atuar, alternativamente, como uma das formas de se mitigar os impactos ambientais, influenciando a economia e a geração de empregos. Os biocombustíveis também propiciam a não evasão de divisas, pelo fato de maximizar a produção local de combustíveis, diminuindo proporcionalmente sua importação. Neste cenário, o etanol e o biodiesel são os principais biocombustíveis estabelecidos comercialmente.

No Brasil, a principal cultura utilizada para produção de etanol é a cana-de-açúcar. Já o sorgo pode ser considerado uma alternativa à cana-de-açúcar, apresentando eficiência energética de fotossíntese semelhante e com possibilidade de plantio na entressafra desta, além de ser de porte alto e armazenar alta quantidade de sacarose em seu colmo. Esta cultura pode ser dividida em 5 principais grupos: granífero, forrageiro, vassoura, eneria e o doce ou sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench). O sorgo também é semelhante à cana nos aspectos morfológicos e em proporções de caldo, palha e bagaço. Apresenta, frente à cana-de-açúcar, metade da produção final em etanol de primeira geração por hectare, contudo também apresenta 30% menos custos e metade da necessidade hídrica por biomassa seca final, sendo uma biomassa apenas 25% menor, mostrando-se globalmente mais eficiente (CONAB, 2015).

De maneira semelhante, os resíduos produzidos devem possuir destinações adequadas. Devido às características destas duas culturas, deixar a palha destas no campo não é uma alternativa nobre. Sua permanência é agronomicamente vantajosa, gerando barreira física ao proteger o solo da ação das chuvas, dificulta a emergência de plantas daninhas e reduz as perdas de água por evaporação. Por outro lado, esta barreira prejudica a translocação de herbicidas, aumenta a incidência de pragas e causa perdas de adubação nitrogenada. Soma-se a isso a possibilidade de geração de receita com a retirada dessa palha para sistemas de conversão biológicos em produtos de valor agregado ou até mesmo produção de energia na queima direta em caldeiras (CONAB, 2015).

Há de se destacar a baixa procura desta matéria como forragem para animais, frente a grande disponibilidade de palha. Havia anteriormente a prática de queimar a palha ainda em campo, visando facilitar a colheita e livrar-se deste material de pouca valia. Esta queima de palha está em processo gradativo de proibição e já há sinalizações de replicar estas proibições a outras culturas, como o sorgo.

A Lei Estadual de São Paulo número 11241, de 19 de setembro de 2002, dispõe sobre a eliminação gradativa da queima da palha da cana-de-açúcar e dá providências

correlatas. No ano de 2002, a queima estava proibida em 20% da área cortada em áreas mecanizáveis, com aumento gradativo deste percentual até 100% em 2021. Já em áreas não mecanizáveis ou com declividade superior a 12% este prazo se estende até 2031. Esta lei já foi replicada em diversos outros estados brasileiros, com prazos diferentes para implementação. Atualmente, há resoluções como a 26/2018 da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, proibindo a queima durante o dia e também quando a umidade relativa do ar estiver abaixo de 20%, chegando a ser vetada a queima em determinadas regiões do estado, utilizando-se de outros fatores.

Desta maneira, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas, de forma a propiciar utilidades ou destinações não apenas para o caldo extraído destas plantas, mas também para palha e o bagaço. Atualmente, o bagaço gerado nas usinas sucroenergéticas é aplicado para cogeração de energia, utilizado nas caldeiras, enquanto a palha é muitas vezes deixada ou queimada no campo devido ao seu baixo adensamento energético e dificuldade de manuseio frente ao bagaço.

Já existem pesquisas para produção de etanol de segunda geração com palhas de diversas fontes, havendo busca por parte da Embrapa Milho e Sorgo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária com ênfase em Milho e Sorgo, pelo híbrido de sorgo sacarino com características lignocelulósicas que facilitem o processo de produção de etanol de segunda geração (EMBRAPA, 2010). Contudo, isto exigiria mudanças drásticas no sistema de produção, que hoje é um dos mais simples do mundo. Como alternativa, seria possível a utilização deste material na biodigestão anaeróbia, processo mais simples de aplicação do material, o qual não demanda que esteja seco, como a aplicação em caldeiras, não precisa ser deixado no campo, onde pode não ser benéfico em diversos casos. Contudo, sabendo-se que o material lignocelulósico apresenta lentidão de degradação por microrganismos, faz-se necessária a aplicação de pré-tratamentos, visando a disponibilidade deste material complexo de forma mais simples aos microrganismos, mantendo, desta forma, a característica energética de destinação do material, conectada ao cluster onde este está inserido. O material após pré-tratamento pode ser utilizado para aumentar o teor de sólidos em reatores de biodigestão anaeróbia, operando com grandes volumes e baixas cargas de sólidos voláteis, contanto que o pré-tratamento se apresente viável ao ponto de compatibilizar os tempos de detenção hidráulica, não necessitando desta forma ampliar os reatores anaeróbios.

Dentre as variadas possibilidades de pré-tratamentos, como químicos, físicos e biológicos, utilizaram-se pré-tratamentos físico-químicos no atual trabalho. O primeiro pré-tratamento foi realizado com uma solução de NaOH e Ureia em condições de resfriamento, enquanto no segundo utilizou-se ácido cítrico em condições de aquecimento (QI et al., 2009; RODRIGUES et al. 2006; DE ROSSI et al., 2017).

O material pré-tratado poderia ser utilizado em reatores que apresentassem maior

diluição dos sólidos voláteis, como por exemplo a água residuária de suinocultura e a vinhaça.

O objetivo deste trabalho foi estudar a biodigestão anaeróbia da palha de sorgo, maximizar a produção de biogás e o consumo de SV, aplicando-se misturas de palha de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) pré-tratadas e in natura, utilizando-se como inóculo a ARS após biodigestão e inóculo de estação de tratamento de esgotos (ETE), adicionando, desta forma, características diferentes de microrganismos. Busca-se, assim, propor a melhor mistura para certos TDHs, com base nas respostas em redução de SV, produção de biogás e concentração de metano.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Na Figura 1 estão representados, de forma simplificada em fluxograma, os materiais e métodos utilizados no atual trabalho.

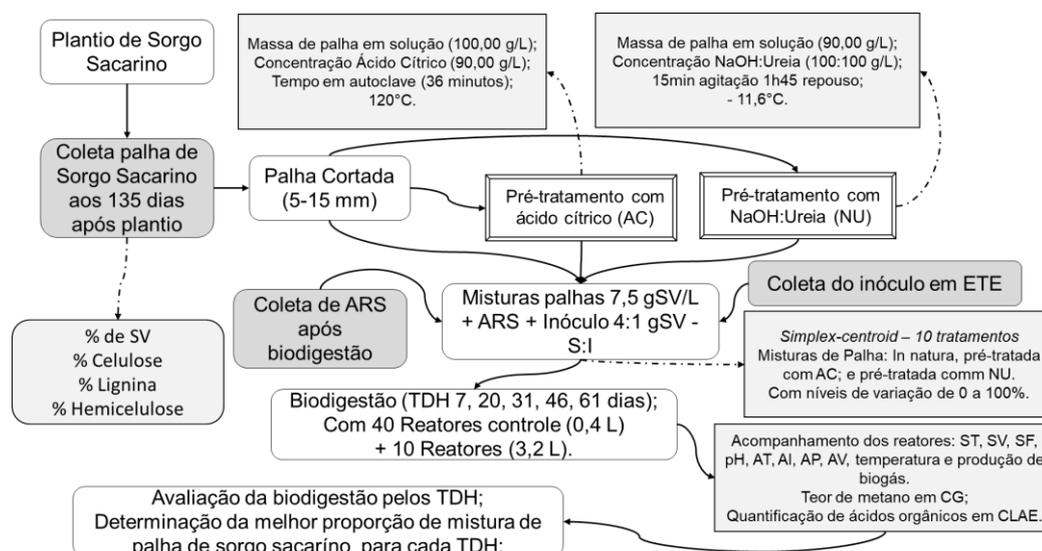


Figura 22 Fluxograma das etapas no desenvolvimento projeto para biodigestão

### 2.1. Inóculo utilizado para biodigestão da palha de sorgo sacarino

Coletou-se inóculo em uma ETE, localizada no município de Cascavel, Paraná – Brasil. Também foi utilizada ARS como inóculo e meio. Avaliou-se o teor de sólidos destes para determinar a quantidade utilizada dos substratos.

Moset et al. (2015) avaliaram a proporção de substrato pelo inóculo (S:I) de 4 até 0,4, onde a menor proporção apresentou menor produção específica de biogás, inibindo completamente a produção de CH<sub>4</sub>, quando utilizado substrato milho, enquanto verificou-se uma pequena redução no potencial metanogênico específico quando o substrato utilizado foi a palha de trigo. Moset et al. (2015) relataram pequena diferenciação ao se utilizar relações

S:I de 4 ou 0,4 em substrato palha de trigo, alterando o potencial de 279 a 302 mL g<sup>-1</sup>, respectivamente. Relações maiores podem acarretar superestimação do potencial metanogênico, devido à produção residual de CH<sub>4</sub> pelo inóculo. Angelidaki e Sanders (2004) relatam que alto percentual de inóculo garante produção rápida de CH<sub>4</sub>, diminuindo o tempo de incubação. Afirmam também que a alta produção de CH<sub>4</sub> pelo inóculo pode aumentar a incerteza dos resultados. De maneira semelhante, Vedrenne et al. (2008) indicam aplicação de alta relação S:I, evitando superestimações.

Desta maneira, optou-se por aplicar uma relação S:I mais alta, buscando reduzir as interferências do inóculo nos resultados finais. Ocorre também menor interferência no TDH, deixando a interferência neste fator a cargo das misturas dos pré-tratamentos, evidenciando ainda mais o objetivo do atual trabalho.

A biodigestão foi realizada com proporção de 4:1 gSV substrato frente aos gSV do inóculo, ou S:I. Delimitou-se a alimentação de palha (substrato) em 7,5 gSV L<sup>-1</sup>, sendo esta pré-tratada ou in natura, e o restante da alimentação dividido de forma a atender a proporção pré-estabelecida de 4:1 gSV substrato por gSV inóculo. A alimentação do substrato em cada reator foi efetuada em sistema de misturas.

## **2.2. Palha de sorgo sacarino utilizada como substrato**

O sorgo sacarino foi plantado em uma área na cidade de Palotina, PR, sendo fertirrigado com ARS. As amostras de palhada de sorgo sacarino foram coletadas nesta área após 135 dias (médio-tardio) e armazenadas em recipiente de poliestireno, mantendo as condições originais de umidade e caracterizado o material. A palha foi cortada manualmente no tamanho de 5-15 mm, com a intenção de obter homogeneidade no pré-tratamento e na biodigestão.

## **2.3. Local de realização dos experimentos**

Foi realizado pré-tratamento da palha no Laboratório de Produção de Biocombustíveis (LPB) da UFPR, Campus Palotina, onde também foi realizada a biodigestão anaeróbia e efetuadas algumas análises, assim como nos laboratórios Análise Instrumental da UNIOESTE, Campus Toledo e no Laboratório de Análise Agroambientais (LAAA) da UNIOESTE, Campus Cascavel.

## **2.4. Definição dos pré-tratamentos para palha de sorgo sacarino**

Os pré-tratamentos foram definidos com base nos trabalhos de Qi et al. (2009), Rodrigues et al. (2006) e De Rossi et al. (2017).

Como testes prévios para o pré-tratamento da palha de sorgo sacarino, foi empregado delineamento composto central rotacional (DCCR) com fatorial  $2^3$ , para as palhas pré-tratadas com ácido cítrico e com NaOH:Ureia. Avaliou-se a dissolução do material, a alteração da cristalinidade e a proporção da concentração dos reagentes para o tratamento alcalino, enquanto para o tratamento ácido avaliou-se a variação da concentração de ácido cítrico. Além destes fatores, verificou-se a influência da temperatura para o tratamento alcalino e o tempo em autoclave para o tratamento ácido. Estabeleceu-se, fundamentado nestes testes, o pré-tratamento utilizado conforme Tabela 1.

Tabela 14 Parâmetros utilizados no pré-tratamento da palha de sorgo sacarino

Pré-tratamento	Ácido cítrico	Alcalino NaOH:Ureia
Massa de palha em solução	100,00 g L <sup>-1</sup>	90,00 g L <sup>-1</sup>
Concentração agente(s) químico(s)	90,00 g L <sup>-1</sup>	100:100 g L <sup>-1</sup>
Tempo de reação	36 min	15min agitação 1h45 repouso
Temperatura	120 °C	-11,6 °C

## 2.5. Determinação da proporção de mistura em SVa de palhas de sorgo sacarino in natura e pré-tratadas

Para a determinação da composição ótima de mistura, em Sólidos Voláteis alimentados (SVa) foi empregado o delineamento de misturas, com planejamento experimental com as composições do substrato, em que os elementos de mistura foram: palha in natura; palha pré-tratada com ácido cítrico; e palha pré-tratada com NaOH:Ureia.

Foi aplicada a modelagem *simplex-centroid* (Figura 2), com quatro repetições do ponto central (DIAS et al., 2015; HANDA et al., 2016). A soma dos componentes da mistura, correspondente ao material utilizado como substrato, sempre se manteve igual a 100%, ou 7,5 gSV L<sup>-1</sup>, ou seja, considerando apenas a mistura de palha de sorgo sacarino. Foi aplicado o modelo especial cúbico para a obtenção de gráficos de superfície de resposta, bem como as equações e análises estatísticas.

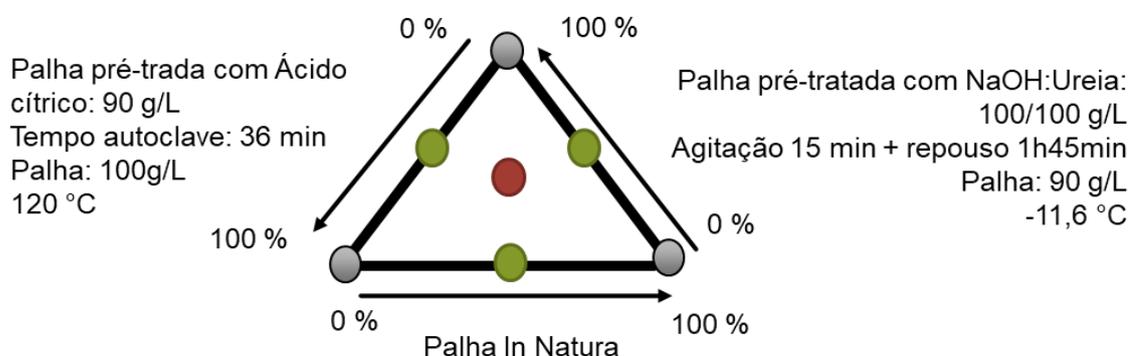


Figura 23 Esquema da modelagem *simplex-centroid*.

Essa modelagem é um planejamento de mistura que consiste em experimentos que podem gerar superfície de resposta, e o produto estudado é formado por vários

componentes, ou seja, a resposta depende das proporções dos componentes envolvidos. O planejamento *simplex-centroid* é uma das principais classes de planejamento de misturas, baseando-se em um triângulo com dados localizados em cada canto, nos pontos médios de cada lado, assim como no centro. Para o *simplex-centroid* estão inclusos todos os vértices, e o centroide do *Simplex* (q-1), dimensional e todos os sub-simpleces (arestas e faces) (NUNES, 1998).

A aplicação do modelo *simplex-centroid* resulta em 7 tratamentos de diferentes composições, com 3 repetições do ponto central. Na Tabela 2 tem-se a descrição da composição de cada um dos tratamentos.

Para melhor aferir qual a proporção ideal de mistura para cada TDH aplicou-se a função desejabilidade aos fatores, na sequência: biogás acumulado, percentual de redução de sólidos voláteis e percentual de metano no biogás. Valores sem significância foram descartados no que se refere à aplicação da função e geração do gráfico para o período estabelecido. Com o gráfico de desejabilidade pode-se visualizar o comportamento dos reatores em função das variáveis de controle. Nesta função, atribui-se um valor para cada variável frente à resposta do programa experimental.

Tabela 15 Composição da mistura em sólidos voláteis alimentados de palhas de sorgo sacarino in natura e pré-tratadas

Trat.	Delineamento da mistura			Composição da mistura			
	in natura	NaOH: ureia	Ácido cítrico	Palha in natura <sup>1</sup> gSV L <sup>-1</sup>	Palha NaOH:Ureia <sup>2</sup> gSV L <sup>-1</sup>	Palha Ácido cítrico <sup>3</sup> gSV L <sup>-1</sup>	Total Palha gSV L <sup>-1</sup>
B1	1,00	0	0	21,78	0	0	7,5
B2	0	1,00	0	0	32,62	0	7,5
B3	0	0	1,00	0	0	37,10	7,5
B4	0,50	0,50	0	10,89	16,31	0	7,5
B5	0	0,50	0,50	10,89	0	18,55	7,5
B6	0,50	0	0,50	0	16,31	18,55	7,5
B7	0,33	0,33	0,33	7,26	10,88	12,37	7,5
B8	0,33	0,33	0,33	7,26	10,88	12,37	7,5
B9	0,33	0,33	0,33	7,26	10,88	12,37	7,5
B10	0,33	0,33	0,33	7,26	10,88	12,37	7,5

\*massa de SV da palha: 25,82%<sup>1</sup>; 17,24%<sup>2</sup>; 15,16%<sup>3</sup>.

## 2.6. Reatores em batelada para avaliação das proporções de misturas de palhas em biodigestão

Os reatores, em sistema de batelada, foram preenchidos no início do experimento, ocupando 80% do volume total. Os substratos foram homogeneizados e vedados e a biodigestão foi mantida com Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) de 60 dias, em temperatura mesofílica de  $37 \pm 1,0$  °C. Foram utilizados dois modelos de reatores de batelada.

Em primeiro, os reatores em batelada maiores seguiram configuração como exposta

na Figura 3, na qual o sistema para biodigestão foi composto por casco térmico, aquecedor, reatores cilíndricos de PVC (polivinilcloro) e termostato composto por um termômetro. Adicionou-se um segundo termômetro digital independente, que juntos controlavam o aquecedor no set-point definido.

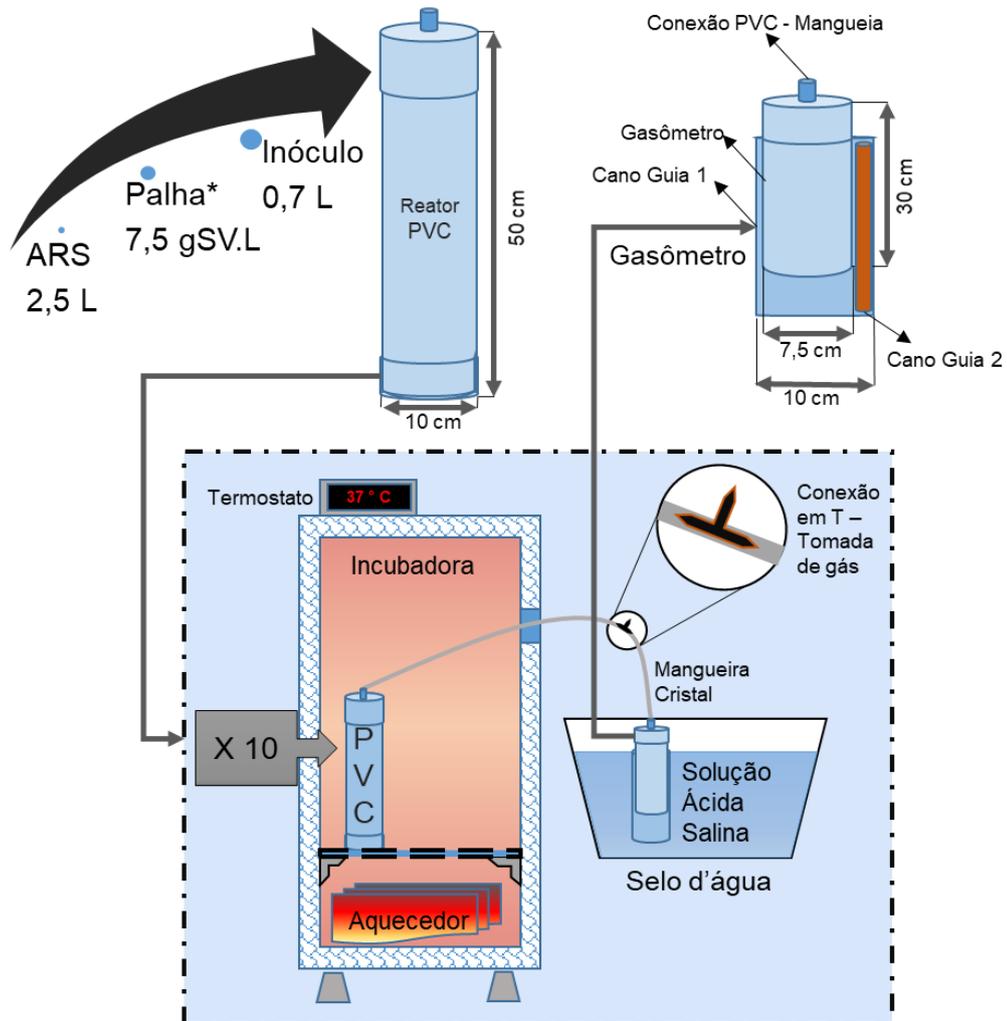


Figura 24 Esquema de alimentação dos reatores de 3,2 L; configurações dos gasômetros e incubadora. \*Palha de sorgo sacarino: In natura, pré-tratada com ácido cítrico e pré-tratada com NaOH:Ureia.

Em segundo, para o acompanhamento do perfil de degradação inicial dos materiais nos tratamentos estudados, foram confeccionados reatores em recipientes de Polietileno tereftalato (PET), de volume total de 0,5 L, seguindo as mesmas proporções dos reatores anteriores com 20% de volume morto, apresentando, assim, volume útil de 0,4 L. Estes reatores foram mantidos imersos em água, visando menor variação da temperatura, onde também se mantinha submersa a saída de gás, de modo que atuasse como uma barreira física à entrada do ar e não impedisse a saída do gás (Figura 4). Reatores que foram operados em paralelo aos maiores foram considerados neste trabalho como reatores controle, para coleta de amostras controle.

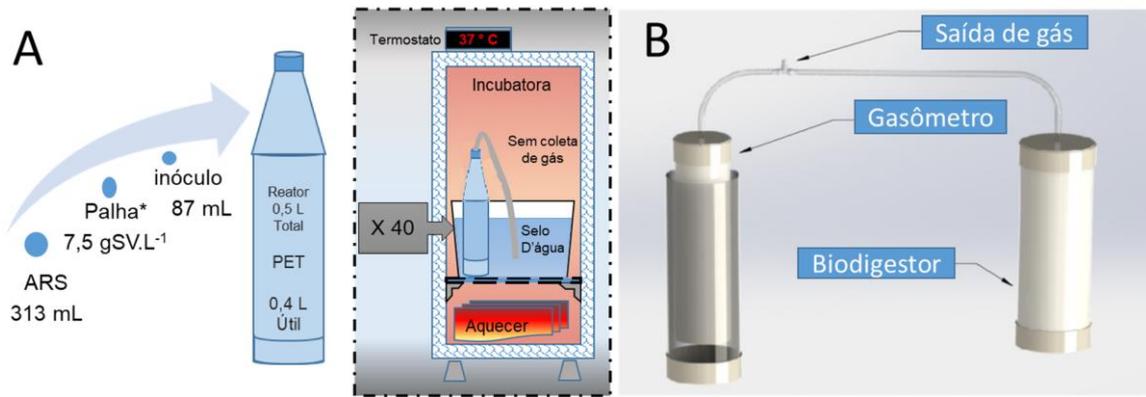


Figura 25 a) Esquema de alimentação dos 40 reatores controle (0,4 L) e incubadora; b) Esquema do biodigestor (3,2 L) e gasômetro.

O sistema de quantificação de gases foi colocado na parte externa da estufa, submerso em solução com concentrações de 25% de NaCl e 3% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, para evitar o escape do biogás e a dissolução do CO<sub>2</sub> (Figura 3) (LARSEN, 2013; DE ROSSI et al., 2017). Posteriormente, os volumes foram convertidos para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP), empregando a Equação 1. Levou-se em consideração que a água em vapor condensava na mangeira e retornava ao reator após sair da incubadora; deste modo, não foi necessária subtração do vapor de água.

$$\frac{P_1 V_1}{T_1 \text{ (CNTP)}} = \frac{P_2 V_2}{T_2 \text{ (EXPERIMENTAL)}} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que: P<sub>1</sub> - Pressão CNTP (mmHg); V<sub>1</sub> - Volume CNTP (L); T<sub>1</sub> - Temperatura CNTP (K); P<sub>2</sub> - Pressão Local (Palotina-PR); V<sub>2</sub> - Volume medido em amostragem (L); T<sub>2</sub> - Temperatura medida no momento da amostragem (K).

## 2.7. Análises dos substratos e monitoramento dos biodigestores

A ARS e as misturas de palha foram submetidas a análises antes da biodigestão. Os reatores foram acompanhados durante a biodigestão e ao final, utilizando-se de parâmetros descritos na Tabela 3. A hemicelulose, celulose e lignina, da palha de sorgo sacarino foram determinadas pelo método de extração com detergentes neutro, ácido e solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% (VAN SOEST et al., 1991).

Tabela 16 Parâmetros de acompanhamento dos reatores

Parâmetros	Unidades	Método
ST	g L <sup>-1</sup>	Gravimétrico (2540-B / APHA, 1995)
SV	g L <sup>-1</sup>	Gravimétrico (2540-E / APHA, 1995)
SF	g L <sup>-1</sup>	Gravimétrico (2540-E / APHA, 1995)
pH	-	Potenciométrico (4500-H* / APHA, 1995)
AT	mg L <sup>-1</sup>	Volumétrico (SILVA, 1977)
AI	mg L <sup>-1</sup>	Volumétrico (SILVA, 1977)
AP	mg L <sup>-1</sup>	Volumétrico (SILVA, 1977)
AV	mg L <sup>-1</sup>	Volumétrico (SILVA, 1977)
Temperatura	°C	Leitura Direta
Biogás	mL	Volumétrico

Para determinação da composição do biogás produzido, alíquotas do gás foram coletadas com ampolas gasométricas, diretamente da mangueira que liga a saída de gás do reator ao gasômetro. Os constituintes do biogás (hidrogênio, dióxido de carbono e metano) foram determinados por cromatografia gasosa em sistema Shimadzu® 2010, equipado com coluna capilar Carboxen® 1010 plot (30 m x 0,53 mm x 0,30 µm). O argônio com vazão de ar de make-up de 8 mL min<sup>-1</sup> foi utilizado como gás de arraste. Foram injetados 400 µL de amostra e a temperatura do injetor foi ajustada para 200 °C. A detecção foi realizada em detector de condutividade térmica (TCD) à temperatura de 230 °C. O forno foi programado para operar à temperatura inicial de 130 °C e aquecido a 135 °C a uma taxa de 46 °C.min<sup>-1</sup> durante 6 minutos (PENTEADO et al., 2013).

A quantificação dos ácidos orgânicos acético, butírico, propiônico, fórmico e lático foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em sistema Shimadzu® equipado com Coluna Aminex® HP-87H (300 x 7,8 mm Bio-Rad), forno CTO-20A a temperatura de 64 °C, controlador CBM-20A, detector UV com arranjo de diodos SPD-20A em comprimento de onda de 208 nm e bomba LC-20AT. A fase móvel foi composta por água ultrapura Milli-Q (Millipore®) acidificada com 0,005 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em fluxo de 0,5 mL min<sup>-1</sup> e volume de injeção de 20 µL (LAZARO et al., 2012; PENTEADO et al., 2013).

## 2.8. Modelo de Gompertz na avaliação da cinética de produção de biogás

Com os dados experimentais cinéticos de produção acumulada de biogás aplicou-se a equação modificada de Gompertz, para determinação de parâmetros. Autores como Rajput et al. (2018) relatam que os dados de produção de biogás são melhor reproduzidos quando utilizado este modelo. Equações empíricas como essa são comumente utilizadas visando interpretar mecanismos básicos subjacentes à produção de biogás no processo de biodigestão (LAY et al. 1997; YUSUF et al. 2011; PARAMESWARAN; BRUCE, 2012; MANCINI et al. 2018). O modelo, cinético e não-linear modificado de Gompertz, descreve a produção de gás acumulado em cada tratamento, assumindo que a produção de gás é uma função de crescimento bacteriano, sendo descrita pela Equação 2:

$$M(t) = P \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R}{P} e(\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde:

M - produção de biogás acumulada observada (mL);

P - produção de biogás final (mL);

R - taxa de produção de biogás obtida (mL d<sup>-1</sup>);

$\lambda$  - tempo da fase lag (d);

t- tempo de observação (d);

e - exponencial (2,717).

Este processo de montagem da equação de Gompertz, utilizando os dados experimentais da produção acumulada de gás, foi realizado através da ferramenta de modelos avançados de regressões especificadas para modelos não-lineares, utilizando Statistica (versão 11.0). Foi utilizado o método não-linear de mínimos quadrados e Algoritmo de Newton reflexivo com região de confiança. A suposição inicial para cada parâmetro do modelo foi obtida através de inspeção visual das curvas. O desempenho do modelo foi avaliado através da utilização do coeficiente de determinação R<sup>2</sup>.

## 2.9. Análise estatística nos dados de acompanhamento dos reatores

Aplicou-se o teste de Pareto após realizada a análise exploratória dos dados. Os fatores e suas interações foram analisados quanto a sua significância estatística ( $p < 0,05$ ). Os modelos especiais cúbicos foram avaliados pelo teste “F” com nível de significância de 5%.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Avaliação da cinética de produção de biogás

A produção diária de biogás foi avaliada utilizando o modelo não linear de Gompertz modificado, sendo que os resultados desta análise estão descritos na Tabela 4, juntamente com o resultado do parâmetro estatístico, R<sup>2</sup>, para o ajuste do modelo às 10 cinéticas de produção de biogás. Com avaliação dos resultados obteve-se elevado grau de ajuste, indicando por Rajput et al. (2018), que compararam modelos e indicaram o de Gompertz como o que reproduzia de melhor forma os dados obtidos, ao estudar a produção cinética de biogás ao biodigerir palha de trigo.

Tabela 17 Parâmetros do modelo de Gompertz para as misturas avaliadas

Reator	R (mL d <sup>-1</sup> )	P (mL)	λ (d)	R <sup>2</sup>
B1	Ns*	Ns*	Ns*	0,9844465
B2	215,443	4744,171	1,753	0,98063988
B3	274,312	4828,307	-2,055 (No**)	0,95994055
B4	92,527	6551,715	-10,394 (No**)	0,97227756
B5	94,330	11574,37	-23,710 (No**)	0,93977906
B6	Ns*	Ns*	Ns*	0,98560781
B7	190,973	9634,808	Ns*	0,99417904
B8	169,806	9405,169	1,616	0,99339617
B9	201,622	8430,019	2,038	0,99452475
B10	164,177	9588,252	Ns*	0,98899298

R = Máxima produção de biogás diária; P = Produção máxima de biogás; λ = tempo da fase de adaptação; Ns\* = < 95,0% de confiança; No\*\* = Não Ocorreu (valor negativo).

Ao avaliar estes resultados após aplicação da análise é possível dar destaque aos tratamentos B3, B4 e B5 que não apresentaram a fase lag, ou de adaptação (Figura 5), a qual normalmente não é identificada, principalmente ao se aplicarem pré-tratamentos, assim como relato de Bolado-Rodríguez et al. (2016), após avaliarem pré-tratamentos na palha de trigo e no bagaço de cana-de-açúcar, provavelmente por oferecerem condições de um ambiente com substrato já prontamente disponível ao consórcio de microrganismos, onde o reator B3 foi alimentado com palha pré-tratada 100% com ácido cítrico e o reator B4 foi alimentado com palha in natura e pré-tratada com NaOH:Ureia, proporção 1:1; já o reator B5 foi alimentado com uma mistura de palhas pré-tratadas, proporção 1:1, corroborando com os dados de redução de sólidos voláteis, em que o reator B5 apresentou maior redução de SV ao decorrer 7 dias de biodigestão anaeróbia, como relatado anteriormente. Seguido pelo reator B4 e B3, mesma ordem em que os dados referentes ao tempo da fase de adaptação, do menor valor ao maior, sendo estes negativos. Estes três tratamentos apresentaram maior intensidade da fase subsequente, fase log ou exponencial, permanecendo extremamente ativos seja em crescimento e/ou atividade metabólica, referente à primeira semana de biodigestão.

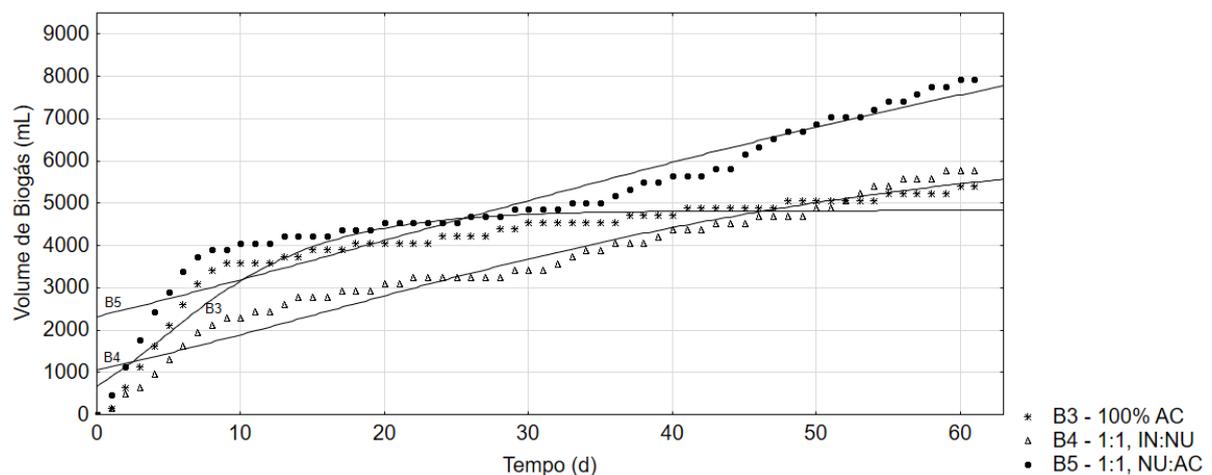


Figura 26 Ajuste do modelo de Gompertz aos dados cinéticos dos tratamentos B3, B4 e B5.

O ajuste cinético referente ao tratamento B3 apresentou ponto de inflexão da curva próximo ao dia 8, quando se iniciou a fase estacionária, a qual durou aproximadamente até o dia 20, atingindo, então, a fase de declínio ou morte. Como exposto anteriormente, não havia mais ácido disponível em quantidade verificada inicialmente, ocorrendo desta forma escassez na oferta de substrato às arqueas, conseqüentemente reduzindo as condições mínimas de multiplicação destas e a produção de biogás. Verificou-se que até o 10º dia de biodigestão, aproximadamente 50% da produção de biogás final já havia sido atingida, indicando que os compostos de maior facilidade de degradação disponíveis já haviam sido consumidos. Tal processo foi semelhante ao descrito por Mancini et al. (2018), que aos 10 dias dos 40 de biodigestão já haviam atingido até 84% da produção de biogás final, ao digerir palha de trigo com pré-tratamentos utilizando NaOH, organosolvente e N-metilmorfolina N-óxido (NMMO) e substrato in natura.

No atual trabalho, esta produção dividida em dois períodos acaba por nivelar a velocidade de produção de biogás, ao ponto que o tratamento B5 apresentou R de apenas 94,33 mL d<sup>-1</sup>, enquanto o tratamento B3 apresentou R de 274,31 mL d<sup>-1</sup>. Provavelmente ao analisar até o TDH de 31 dias estas apresentariam curvas assintóticas e taxas de produção máxima de biogás semelhantes.

Desta maneira, com os dados referentes à produção de biogás, ao se realizar o tratamento B5 não foi possível verificar que o ponto de inflexão da curva no ajuste do modelo cinético, principalmente devido ao fato do reator voltar a apresentar dois momentos de produção expressiva de biogás, etapas que se encaixam como fase de crescimento. Neste sentido, um modelo de ajuste duplo sigmoidal ou bifásico, poderia ser utilizado para melhor representar o comportamento do reator.

A aplicação do ajuste duplo sigmoidal na biodigestão pode ser utilizado para separar e identificar as fases distintas, o que não se justificaria levando em consideração que o teor de metano produzido pelo reator B5 teve alteração do dia 7 ao dia 61 de apenas 12%, sendo que no 7º dia já apresentava teor de metano de 63,27%.

Ao se aplicar o ajuste do modelo cinético de Gompertz, verificou-se elevado coeficiente de correlação em todos os tratamentos, não sendo possível identificar as fases satisfatoriamente apenas ao representar os dados do tratamento B5, palhas pré-tradas na proporção de 1:1, ao se avaliar o TDH máximo, enquanto nos outros tratamentos foi possível identificar as fases atingidas dentro do TDH avaliado.

Desta forma, o mais justificável seria a disponibilidade de substrato prontamente disponível no início da biodigestão, elevando o consumo destes e, conseqüente, a produção de biogás, seguido por uma deficiência de material orgânico mais simples, levando a uma segunda fase de adaptação, que pode ser identificada após decorridos 10 dias de biodigestão. O material simples disponível pode ser correlacionado à maior presença de

hemicelulose, que acarreta um primeiro estágio mais acelerado devido à grande condição de disponibilizar AGV (LI et al., 2018). Além disso, como havia no consórcio microrganismos em condições de consumir e transformar estes ácidos em biogás, ocorreu a transformação destes em biogás.

Os tratamentos B3 e B5, respectivamente com 100% palha pré-tratada com AC e 1:1 com NU e AC, apresentaram maior disponibilidade inicial de substrato para biodigestão quando utilizados pré-tratamento com ácido orgânico diluído, corroborando com diversos trabalhos (AMNUAYCHEEWA et al., 2016; BOLADO-RODRÍGUES et al., 2016; KOOTSTRA et al., 2018; LI et al., 2018; MANCINI et al., 2018; OSTOVAREH et al., 2015; QIN et al., 2012). Provavelmente, os componentes mais simples do substrato utilizado nos tratamentos B3 e B5 já haviam sido quase que totalmente consumidos nos 10 primeiros dias de biodigestão, como será expresso através dos dados de consumos de AGV. Por este motivo, ocorreu a redução na velocidade de produção de biogás, sendo que havia capacidade de tamponamento através da alcalinidade disponível no meio e os reatores não apresentaram acidificação ou mudanças de pH ou de temperatura abruptas.

Nos tratamentos B1 e o B6 (Figura 6) não se verificaram valores significativos quanto ao período da fase lag e valores de produção de biogás máxima diário e total, devido não ser possível estabelecer ou diferenciar estas fases. A fase lag ainda pode estar em andamento mesmo após decorridos 61 dias de biodigestão anaeróbia, pois não é possível garantir que a fase log tenha se iniciado. Como o ajuste proposto no modelo de Gompertz não há determinação da localização de inflexão da curva, nem sempre a função sigmoide pode ser identificada dentro de um determinado período.

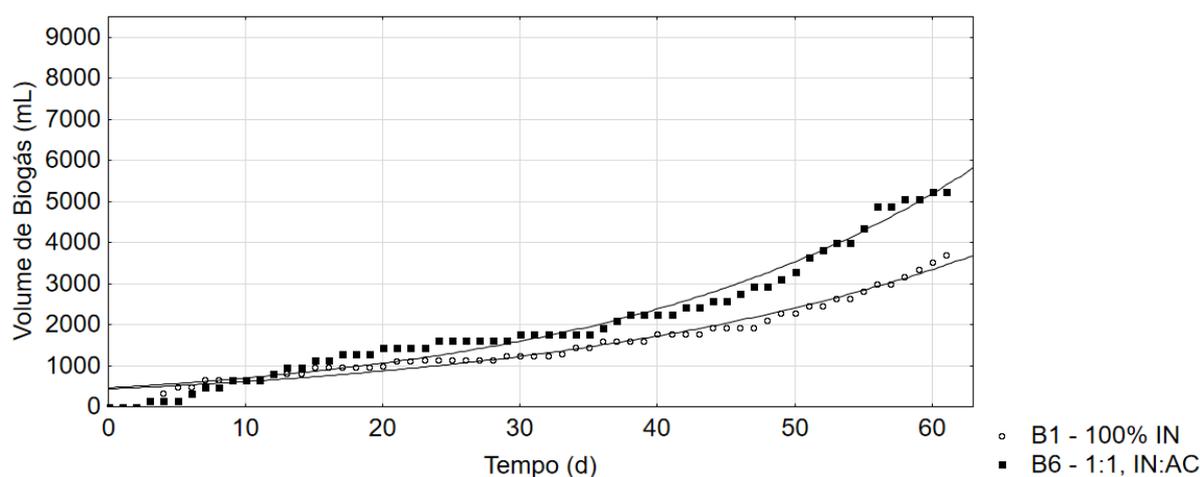


Figura 27 Ajuste do modelo de Gompertz aos dados cinéticos dos tratamentos B1 e B6.

Com esta análise dos dados, fica notória a necessidade de pré-tratamento do material lignocelulósico palha de sorgo sacarino, sendo que tratamento alimentado apenas com palha in natura, como B1, pode apresentar uma produção inicial retardada. Apenas

após decorridos 40 dias o reator começa a apresentar produções de biogás diárias mais intensas, perdurando até o término dos testes aos 61 dias.

O tratamento B5, apresentado na Figura 5, demonstrou ajuste com função sigmóide dentro do período testado, apresentando as fases que podem ser identificadas como crescimento, decrescimento e morte, assim como o ajuste referente ao tratamento B2 e os tratamentos com proporções de mistura de palhas em proporções equilibradas (B8, B9). Os dois últimos apresentaram curvas muito assintóticas. Deste modo, na Figura 7 estão expressas apenas as curvas referentes aos tratamentos B2 e B8, onde além das fases de crescimento, decrescimento e morte foi possível identificar a fase de adaptação em 1,75 e 1,83 dias, respectivamente.

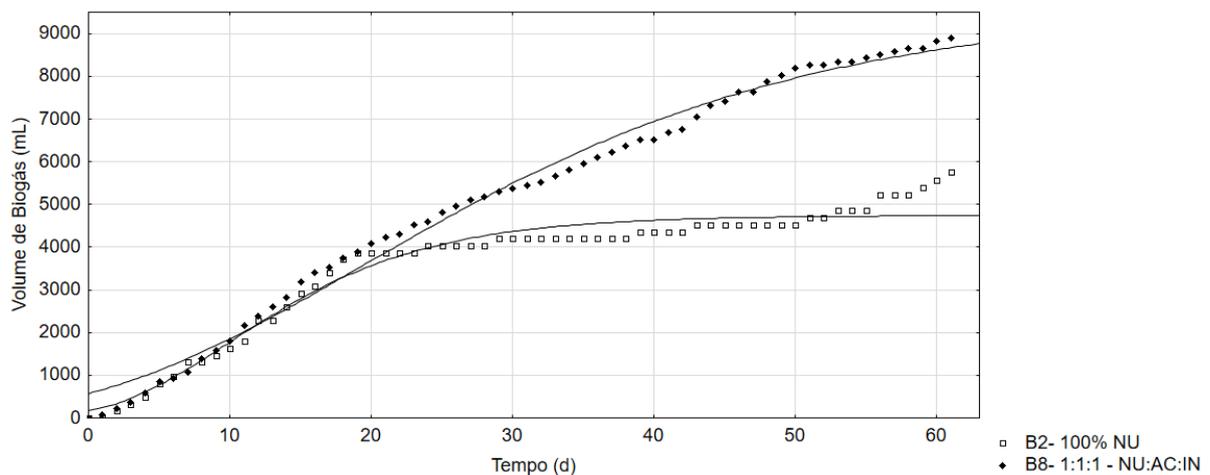


Figura 28 Ajuste do modelo de Gompertz aos dados cinéticos dos tratamentos B2 e B7.

Os tratamentos B2, B3, B5, B7 e suas repetições apresentaram desempenho semelhante quando se considera a biodigestão até 20 dias, próximos a 4 L de biogás. Apesar de os tratamentos B3 e B5 apresentarem uma produção de biogás elevada até dia 10, esta reduziu muito até o dia 20, fazendo com que o resultado destes 4 fossem semelhantes. Desta forma, é possível indicar estas 4 formas de mistura caso haja necessidade em aumentar o teor de sólidos de um reator com TDH de aproximadamente 20 dias. Caso o tempo seja inferior a este período, como 10 dias, as misturas presentes nos tratamentos B5 e B3 seriam mais indicadas para alimentação, caso haja interesse em maior produção de biogás no reator.

Foi possível verificar que os reatores alimentados com uma mistura equivalente de palha de sorgo pré-tratada com ácido cítrico, palha de sorgo pré-tratada com NaOH:Ureia e palha in natura (B7, B8, B9 e B10) apresentam produção de biogás constante, principalmente quando comparado aos outros tratamentos.

### 3.2. Avaliação da biodigestão em relação às misturas propostas por TDH

#### 3.2.1. Avaliação dos tratamentos após 07 dias de TDH

Aos sete dias de biodigestão anaeróbia da palha de sorgo sacarino, coletou-se a primeira alíquota para análise da biodigestão utilizando as amostras controles. Ao se analisar os dados referentes às amostras controles e à coleta de gases nos reatores de 3,2 L, foi possível observar com análise cromatográfica a gás que não houve correlação com a alteração das proporções de mistura no percentual deste na composição dos gases.

Ao se avaliar a redução de sólidos voláteis, foi possível verificar diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os pré-tratamentos propostos, possibilitando observar um incremento na produção de biogás acumulada, até o sétimo dia, principalmente ao se utilizar a mistura de palha de sorgo sacarino pré-tratada com ácido cítrico (CA) com a pré-tratada com NaOH:Ureia (NU), como pode ser observado na Figura 8a, de maneira que todos os tratamentos propostos proporcionaram influências quanto à produção de biogás, considerando suas interações e individualmente, assim como exposto na Figura 8b, utilizando-se do gráfico de pareto. De maneira semelhante, a redução de sólidos voláteis teve melhor resultado na mistura entre palha de sorgo sacarino pré-tratada com ácido cítrico com a pré-tratada com NaOH:Ureia (Figura 8c). Quanto à redução de sólidos voláteis, todos os tratamentos foram identificados como diferentes após 7 dias de biodigestão, assim como exposto na Figura 8d.

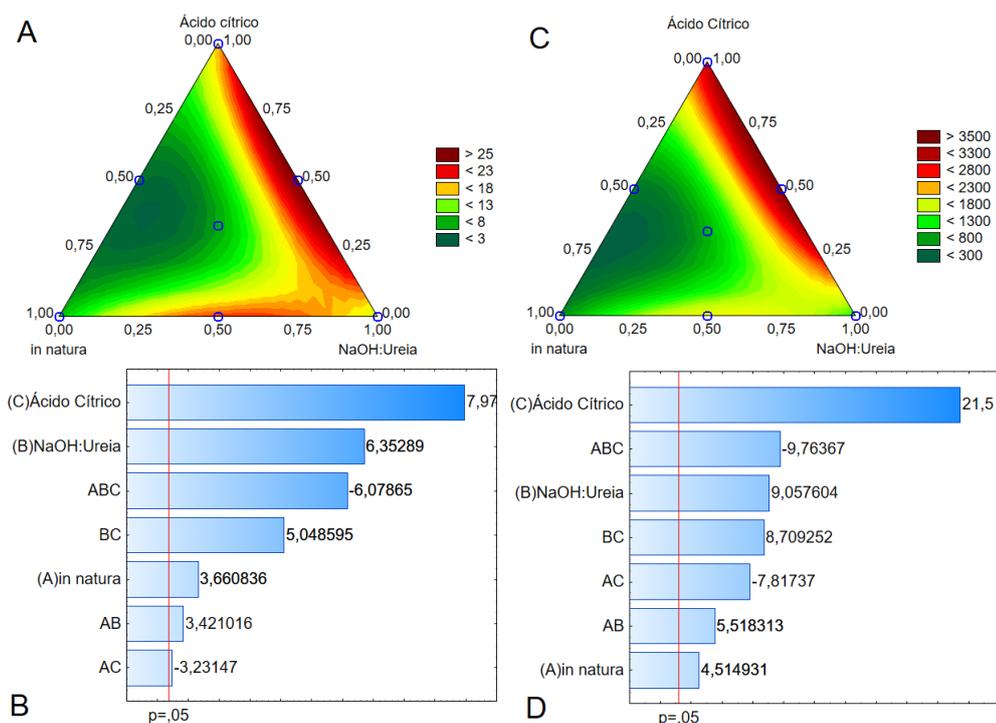


Figura 29 Após 07 dias de Biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV ( $rSV$ ); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % redução SV; c) Superfície

Ajustada; Variável: Biogás acumulado (*BA*); d) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado.

$rSV=+8,2*NU+14,23*IN+17,87*CA+37,54*NU*IN-35,46*NU*CA+55,4*IN*CA-344,79*NU*IN*CA+0$ ,  $F=20,15$ ;  $R^2=97,58\%$ ;  $p=0,0160$ .

$BA=+651,*NU+1306,*IN+3092,*CA+3898,*NU*IN-5522,*NU*CA+6152,*IN*CA-35649,75*NU*IN*CA+0$ ,  $F=89,14$ ;  $R^2=99,44\%$ ;  $p=0,0018$ .

Ao se adicionar palha in natura (IN), percebe-se uma brusca redução no consumo dos sólidos voláteis, até o sétimo dia, indicando menor tratamento do material, provavelmente devido à sua maior recalcitrância. Ou seja, inicialmente o pré-tratamento facilita o acesso dos microrganismos ao material, proporcionando sua redução e concomitante uma maior produção de biogás, o qual apresentou qualidade em teor de metano muito semelhante em todos os pré-tratamentos.

### 3.2.2. Avaliação dos tratamentos após 20 dias de TDH

A segunda coleta das amostras controle foi efetuada ao se completar 20 dias do início do experimento. Com estas foi possível realizar as análises novamente e compará-las de forma cumulativa, ou seja, do dia em que se alimentou o reator até o dia 20 de tempo de detenção hidráulica. Os fatores dependentes apresentaram significativa diferença após este período. Destaca-se o resultado do teor de metano (Figura 9a) para a palha in natura, em que verificou-se menor percentual, de mesmo modo que apresentou menor produção acumulada de biogás e menor redução de SV (Figura 9c, 9f).

O fator independente palha de sorgo sacarino pré-tratado com ácido cítrico foi o que apresentou maior influência positiva nos três fatores dependentes analisados como principais, até o dia 20 de biodigestão (Figura 9b, 9b, 9d, 9f).

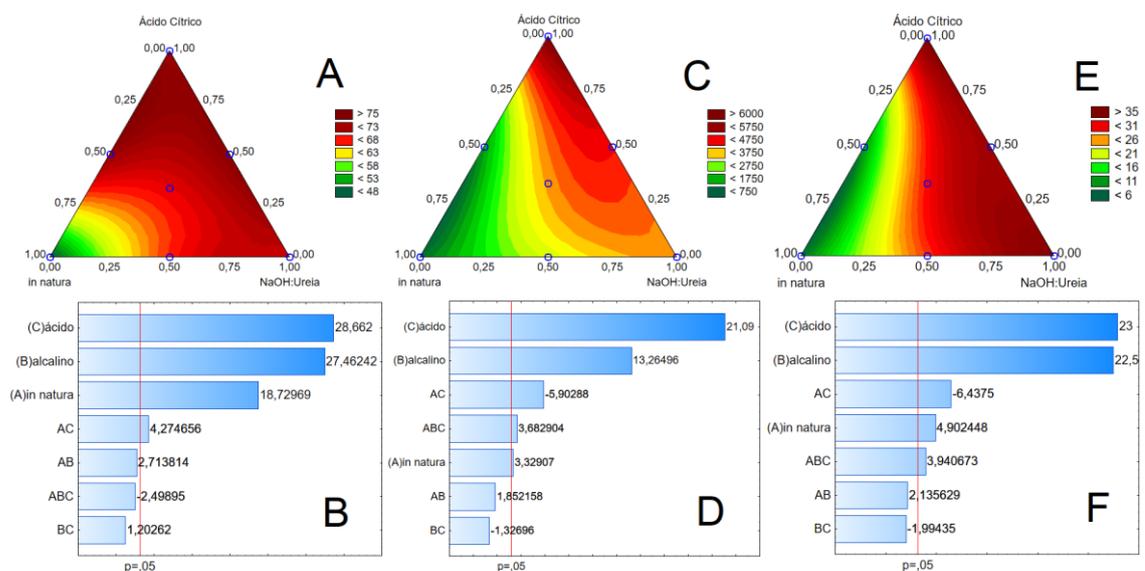


Figura 30 Após 20 dias de Biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável:% metano (*M*); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % de metano; c) Superfície Ajustada;

Variável: Biogás acumulado (*BA*); d) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado; e) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV (*rSV*); f) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % de redução SV.

$M = +47,6567555 * NU + 69,8767529 * IN + 72,9296336 * CA + 33,828254 * NU * IN + 53,2844706 * NU * CA + 14,9909086 * IN * CA - 161,01477495 * NU * IN * CA + 0$ ,  $F = 13,58$ ;  $R^2 = 96,45\%$ ;  $p = 0,0280$ .

$BA = +973 * NU + 3877 * IN + 4061 * CA + 2652 * NU * IN - 4248 * NU * CA + 2304 * IN * CA + 20952 * NU * IN * CA + 0$ ,  $F = 24,23$ ;  $R^2 = 97,98\%$ ;  $p = 0,0063$ .

$rSV = +8,5 * NU + 38,97 * IN + 39,7 * CA + 18,14 * NU * IN - 54,68 * NU * CA - 16,94 * IN * CA + 173,0175 * NU * IN * CA + 0$ ,  $F = 55,77$ ;  $R^2 = 99,11\%$ ;  $p = 0,0036$ .

### 3.2.3. Avaliação dos tratamentos após 31 dias de TDH

Após decorridos 31 dias de biodigestão anaeróbia das misturas propostas, recolheu-se a terceira alíquota de amostras controle para realização das análises e comparação de dados cumulativos. Após análise de variância verificaram-se diferenças significativas nos fatores dependentes, assim como nas análises realizadas ao decorrer 20 dias. Desta forma, os fatores biogás acumulado, redução de sólidos voláteis e teor de metano apresentaram diferença significativa quanto aos fatores independentes, podendo-se destacar a identificação de um hotspot referente ao acúmulo de biogás (Figura 10a). Foi identificada uma mistura ideal entre os três substratos, quando avaliado este fator individualmente. Indica-se, assim, que para este fator que uma determinada proporção de mistura contendo os três substratos, poderia resultar em uma maior geração de biogás acumulada, ao se completar 31 dias de biodigestão anaeróbia. Porém, ainda apresenta fatores palha pré-tratada como principais influenciadores positivos, como pode ser visualizado no gráfico de Pareto, Figura 10b. Os fatores dependentes, redução de SV (Figura 10c, 10d) e percentual de metano (Figura 10e, 10f), novamente mantiveram tendência, deslocando a desejabilidade.

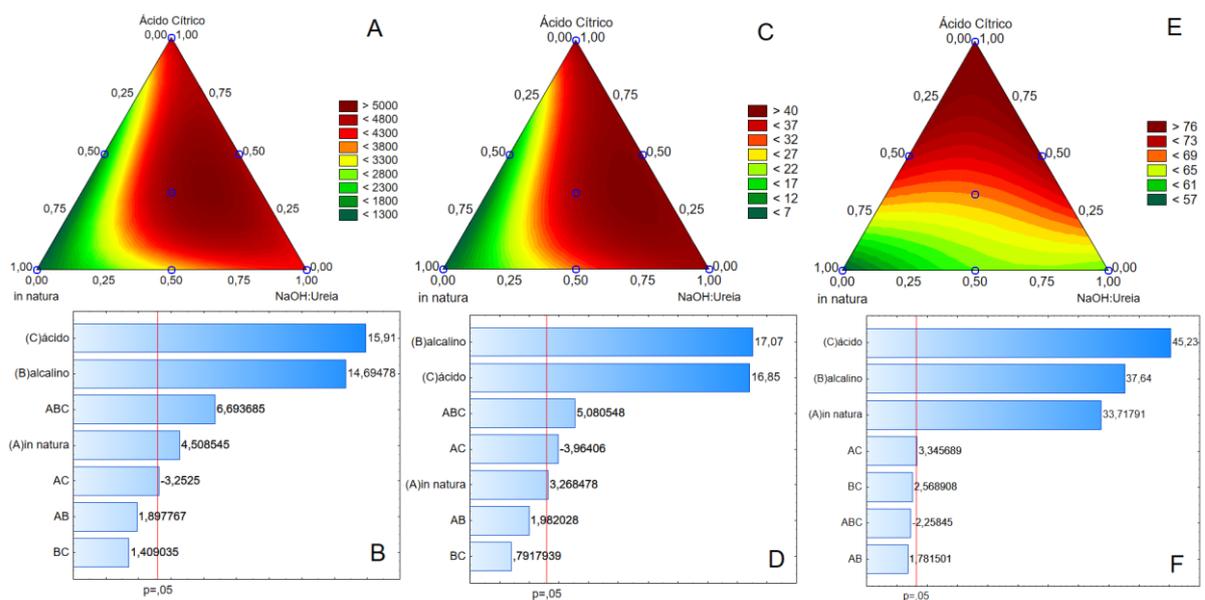


Figura 31 Após 31 dias de biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado (*BA*); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado; c) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV (*rSV*); d) Gráfico de Pareto de Efeitos

Padronizados; Variável: % de redução SV; e) Superfície Ajustada; Variável: % de metano (M); f) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % de metano.

$BA = +1288 * NU + 4198 * IN + 4544 * CA + 2656 * NU * IN - 4552 * NU * CA + 1972 * IN * CA + 48423,75 * NU * IN * CA + 0$ ,  $F = 38,65$ ;  $R^2 = 98,72\%$ ;  $p = 0,0062$ .

$rSV = +7,87 * NU + 41,1 * IN + 40,57 * CA + 23,38 * NU * IN - 46,76 * NU * CA + 9,34 * IN * CA + 309,78 * NU * IN * CA + 0$ ,  $F = 42,10$ ;  $R^2 = 98,83\%$ ;  $p = 0,0054$ .

$M = +56,0848821 * NU + 62,6126978 * IN + 75,2271746 * CA + 14,5170046 * NU * IN + 27,2631718 * NU * CA + 20,933384 * IN * CA - 95,128168125001 * NU * IN * CA + 0$ ,  $F = 18,35$ ;  $R^2 = 97,35\%$ ;  $p = 0,0183$ .

### 3.2.4. Avaliação dos tratamentos após 46 dias de TDH

Aos 46 dias de digestão recolheu-se a quarta e última amostra controle, em que o teor de metano não foi observado como fator resposta com diferença significativa ao nível de 5%, ao se aplicar análise de variância. Os fatores significativos para diferenciar os tratamentos foram o percentual de redução de sólidos voláteis (Figura 11a) e o volume acumulado de biogás (Figura 11c). Nas Figuras 11b e 11d, foi possível identificar no gráfico de Pareto, que interações dois a dois já não são mais tão representativas quanto nos outros períodos analisados enquanto a interação entre as três formas de substrato apresentou significativa interferência nos dois fatores resposta.

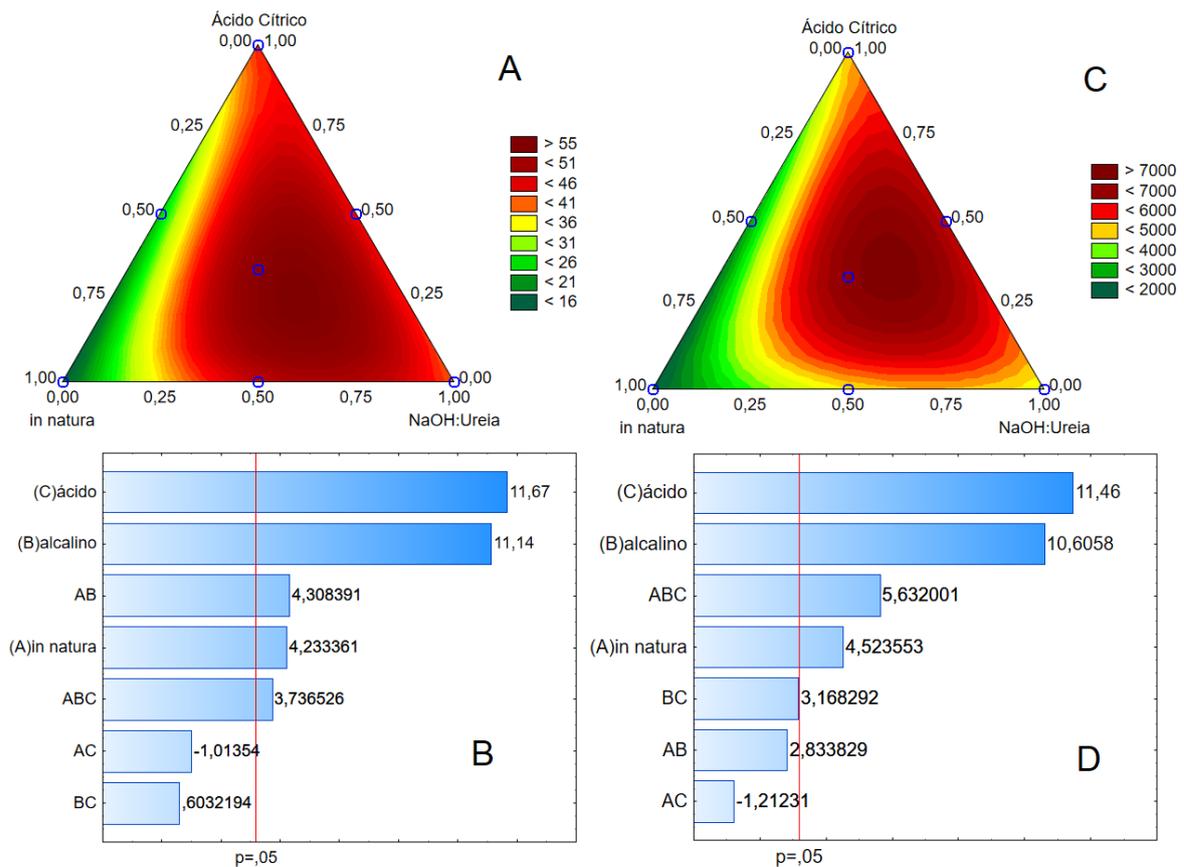


Figura 32 Após 46 dias de biodigestão; a) Superfície Ajustada; Variável: % de redução SV ( $rSV$ ); b) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: % de redução SV; c) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado ( $BA$ ); d) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado.

$rSV = +15,5 * NU + 40,8 * IN + 42,73 * CA + 77,28 * NU * IN - 18,18 * NU * CA + 10,82 * IN * CA + 346,44 * NU * IN * CA + 0$ ,

F=19,56; R<sup>2</sup>= 97,51%; p=0,0167.

**BA**=+1927,\*NU+4518,\*IN+4882,\*CA+5914,\*NU\*IN-2530,\*NU\*CA+6612,\*IN\*CA+60754,5\*NU\*IN\*CA+0, F=30,73; R<sup>2</sup>=98,4%; p=0,0087.

### 3.2.5. Avaliação dos tratamentos após 61 dias de TDH

Após 61 dias de biodigestão anaeróbia, os dados acumulados finais referentes ao acúmulo de biogás, com relação às interações apenas entre a palha de sorgo pré-tratada com ácido cítrico com a palha de sorgo sacarino pré-tratada com NaOH:Ureia apresentou significância. Já os tratamentos individualizados também apresentaram alteração significativa quanto ao acúmulo de gás. Com relação ao percentual de redução de sólidos voláteis e percentual de metano, não foi identificada interação significativa ao nível de 5% entre os fatores ao final do processo, assim como exposto na Figura 12a referente ao gráfico de pareto aos 61 dias.

Comparativamente às análises apresentadas anteriormente, há indicação que ao decorrer de um tempo de biodigestão anaeróbia muito longo, próximo ou acima de 46 dias e próximo ou abaixo de 20 dias de digestão, os tratamentos propostos não apresentam significativa diferença no teor de metano. Após decorridos 61 dias de digestão, nem mesmo a redução de sólidos voláteis é significativamente diferente entre os tratamentos. Desta forma, a digestão dos compostos lignocelulósicos in natura, que correspondem às características recalcitrantes da palha de sorgo sacarino, quando comparadas a todos os outros tratamentos propostos, tendem a se equivaler, quanto ao consumo de SV. Apresentam significativa variação apenas no referente à produção acumulada de biogás, que é um dos três fatores avaliados nesta etapa. Indica-se como a melhor proporção de mistura 1:1 de palhas pré-tratadas por vias alcalina e ácida, como pode ser visualizado também na Figura 12b.

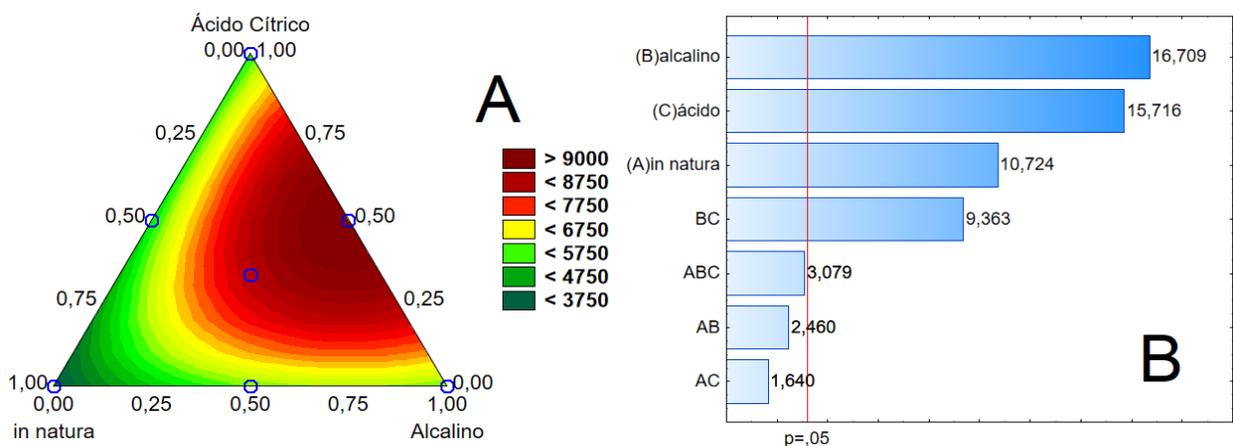


Figura 33 Após 61 dias de biodigestão; a) Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados; Variável: Biogás acumulado (BA); b) Superfície Ajustada; Variável: Biogás acumulado (BA); **BA**=+3693,\*NU+5754,\*IN+5412,\*CA+4150,\*NU\*IN+2766,\*NU\*CA+15796,\*IN\*CA+26850,\*NU\*IN\*CA+0, F<sub>cal</sub>=48,69; R<sup>2</sup>=98,98%; p=0,0044.

### 3.3. Determinação da composição ótima das misturas por TDH

#### 3.3.1. Determinação da proporção ótima de mistura de palhas ao utilizar TDH de 07 dias

Considerando apenas os fatores dependentes significativos, dentre os três elencados como principais objetivos, apenas o teor de metano não apresentou correlação com a variação da composição das misturas propostas. Desta forma, com os outros fatores significativos foi possível elencar a mistura ideal para melhor maximizar o processo, considerando um tempo de detenção hidráulica de 07 dias. Este blend ideal é metade dos sólidos voláteis provenientes da palha pré-tratada com ácido cítrico, enquanto a outra parcela, correspondente a 50% dos SV, é advinda de pré-tratamento com NaOH:Ureia (Figura 13).

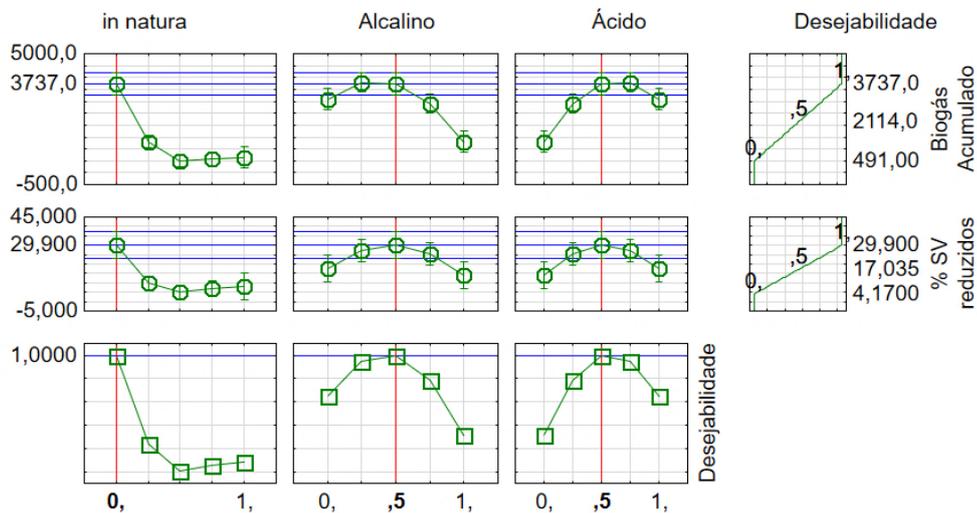


Figura 34 Perfis para Valores Previstos (BA; e rSV) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 07 dias de TDH.

#### 3.3.2. Determinação da proporção ótima de mistura de palhas ao utilizar TDH de 20 dias

O fator palha pré-tratada com NaOH:Ureia apresentou influência, positiva nos fatores dependentes: teores de metano, SV reduzidos e biogás acumulado, semelhante à palha pré-tratada com ácido cítrico. Estes tiveram sua diferença acumulada em todos os fatores, sendo que o pré-tratamento com ácido cítrico apresentou-se com maior influência no resultado da biodigestão após 20 dias. Desta maneira, resultando em uma desejabilidade quanto à maximização destes fatores, em que recomenda-se 33,33% de palha pré-tratada com NaOH:Ureia e 66,67% de palha pré-tratada com ácido cítrico (Figura 14). O fato indica uma mistura diferente frente à proposta até os 7 dias de biodigestão, mostrando que há diferença na recomendação de mistura de alimentação, dependendo do TDH.

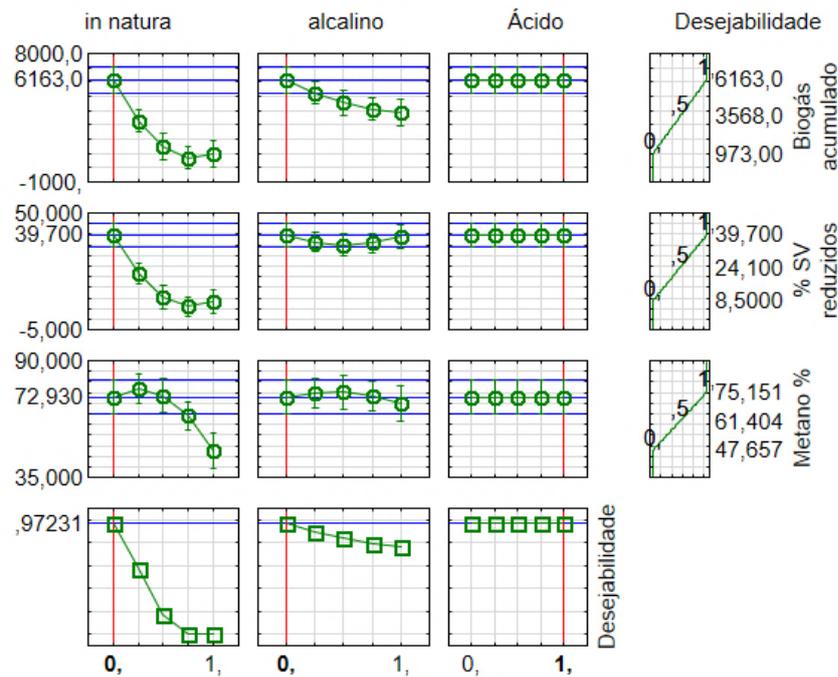


Figura 35 Perfis para Valores Previstos (BA; rSV; e M) e Desejabilidade de mistura em SVA aos 20 dias de TDH.

### 3.3.3. Determinação da proporção ótima de mistura ao utilizar TDH de 31 dias

A redução de sólidos voláteis apresentou interação entre os fatores independentes de forma significativa, corroborando com o citado anteriormente, de os pré-tratamentos começarem a indicar uma maior aproximação de resultados quanto maior for o tempo de detenção hidráulica. Considerando os gráficos de Pareto, há uma maior influência dos pré-tratamentos ácido e básico em todas as três principais variáveis respostas analisadas, culminando no fator desejabilidade, exposto na Figura 15. Neste, é possível observar a melhor proporção de mistura dos substratos em 40% de palha pré-tratada com NaOH:Ureia e 60% de palha pré-tratada com ácido cítrico, para melhor obtenção de resultados como acúmulo de biogás, redução dos sólidos voláteis e elevado teor de metano no biogás, podendo-se considerá-lo como mais eficiente para o tempo de detenção hidráulica de 31 dias.

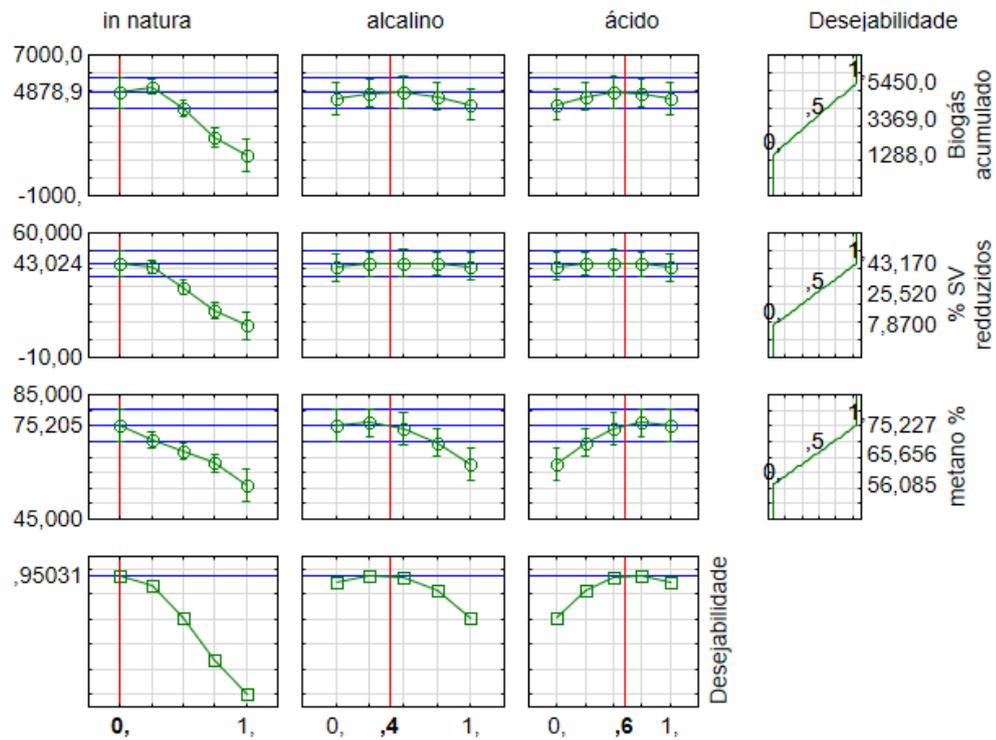


Figura 36 Perfis para Valores Previstos (BA; rSV; e M) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 31 dias de TDH.

A mistura de palhas de sorgo sacarino pré-tratadas, como deseabilidade para maior eficiência de biodigestão até o dia 31, corrobora com o descrito por Ferreira et al. (2013), que com os pré-tratamentos há um aumento de 20% na produção de metano em relação à palha não tratada, sendo que os autores utilizaram pré-tratamento hidrotérmico na palha de trigo. Há também de se levar em consideração a mudança de característica do material após pré-tratamentos onde a mistura de substratos com maior quantidade de hemicelulose com substratos com predominância de celulose é indicada, como descrito por Li et al. (2018), após realizarem co-digestão de celulose e hemicelulose. Tal procedimento é um método para evitar o acúmulo excessivo de AGVs resultante da rápida taxa de hidrólise de hemicelulose.

#### 3.3.4. Determinação da proporção ótima de mistura ao utilizar TDH de 46 dias

A deseabilidade, de mistura em SVa de palha de sorgo sacarino é de 25% do substrato proveniente da palha in natura, 45% proveniente da palha pré-tratada com NaOH:Ureia e 30% de palha pré-tratada com ácido cítrico, assim como exposto na Figura 16 – ou seja, alimentar o reator nas condições propostas com 1,875 g L<sup>-1</sup> de palha de sorgo sacarino in natura, 3,375 g L<sup>-1</sup> de palha pré-tratada com NaOH:Ureia e 2,25 g L<sup>-1</sup> de palha pré-tratada com ácido cítrico, proporcionando melhor resultado nas condições propostas e utilizado o TDH 46 dias.

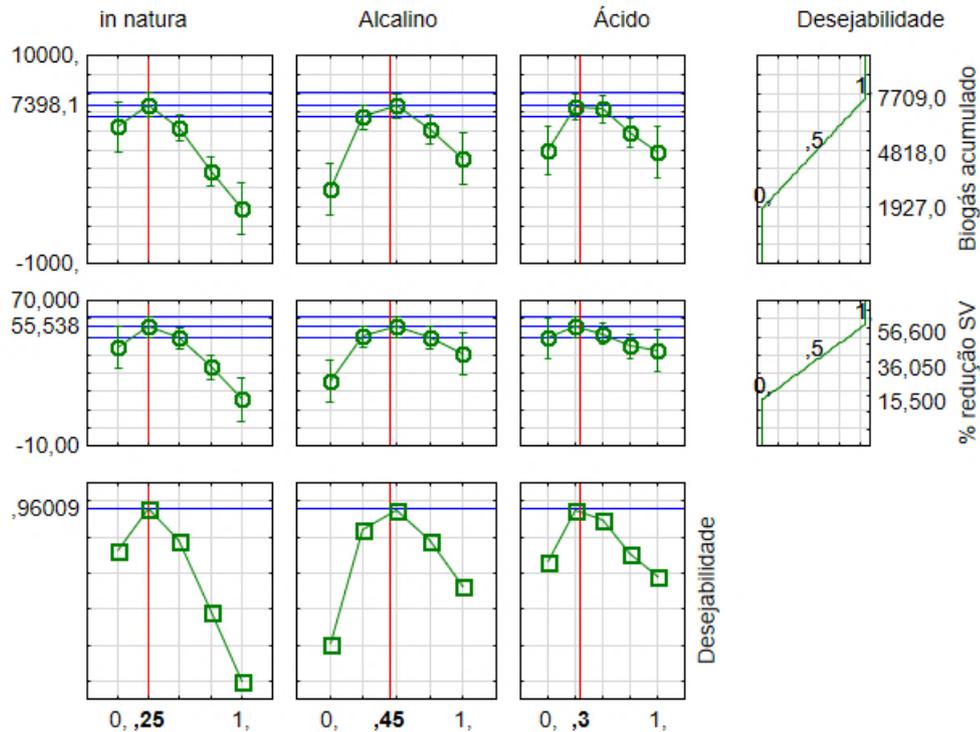


Figura 37 Perfis para Valores Previstos (BA; e rSV) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 46 dias de TDH.

**3.3.5. Determinação da proporção ótima de mistura ao utilizar TDH de 61 dias**

Analisando-se a Figura 17, o perfil para os valores previstos/otimizados para maior acúmulo de biogás e a desejabilidade de mistura do substrato palha in natura com os pré-tratados, nota-se que apenas o biogás acumulado foi a única variável dependente significativa, frente aos três propostos e estudados como mais importantes.

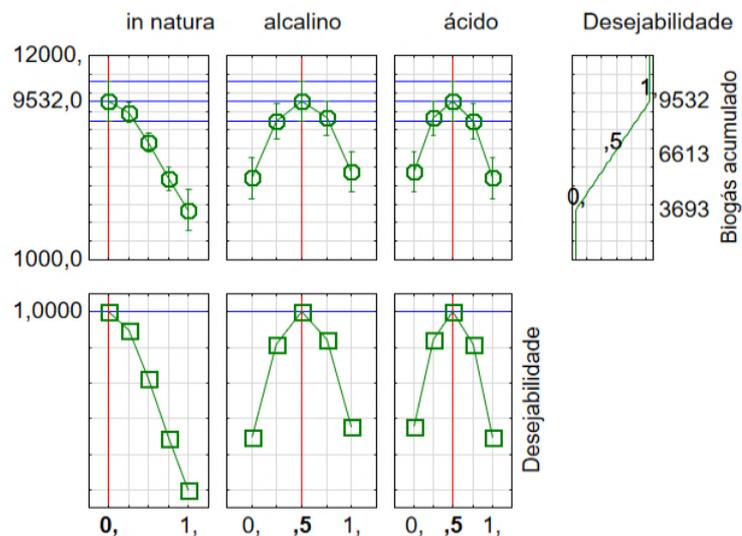


Figura 38 Perfis para Valores Previstos (BA) e Desejabilidade de mistura em SVa aos 61 dias de TDH.

Estes resultados corroboram a ideia de que o pré-tratamento da palha de sorgo sacarino deve ser feito quando se objetiva utilização na biodigestão anaeróbia em tempo de detenção hidráulica mais curto, entre 7 e 46 dias. Desta forma, torna-se a mistura potencializadora tanto na produção de biogás quanto na redução de sólidos voláteis além de gerar um biogás com teor de metano mais elevado, sendo que as indicações de mistura podem sofrer interferências conforme o período proposto. Os resultados indicam que a mistura deve ser feita com palhas pré-tratadas, com exceção ao período até 46 dias, onde a palha in natura aparece com uma pequena recomendação na mistura otimizada. Nos dados coletados até o dia 46 o teor de metano já não se verificava como significativo no processo. Aos 61 dias decorridos dos tratamentos propostos apenas o volume de biogás gerado apresentava diferença significativa.

Após análise estatística dos dados gerados, foram delimitados os valores ótimos de resposta dos principais fatores: biogás acumulado (BA), redução de sólidos voláteis (rSV) e teor de metano (M) e proporção de mistura necessária para atingi-los (Tabela 5).

Tabela 18 Desejabilidade da composição em Sólidos voláteis alimentados para obtenção de respostas otimizadas nos TDH

Dias	Respostas de Desejabilidade			Palha	Desejabilidade SV Alimentados	Fatores dependentes Significativos		
	Biogás acumulado (BA)*	Redução sólidos voláteis (rSV)	Metano (M)			BA	rSV	M
07	3,737 L	29,9%	**	in natura	-	X	X	Ns***
				Pré-tratada ácido cítrico	50%			
				Pré-tratada NaOH:Ureia	50%			
20	4,545 L	39,7%	75,15%	in natura	-	X	X	X
				Pré-tratada ácido cítrico	66,67%			
				Pré-tratada NaOH:Ureia	33,33%			
31	5,450 L	43,17%	75,23%	in natura	-	X	X	X
				Pré-tratada ácido cítrico	60%			
				Pré-tratada NaOH:Ureia	40%			
46	7,709 L	56,60%	**	in natura	25%	X	X	Ns***
				Pré-tratada ácido cítrico	30%			
				Pré-tratada NaOH:Ureia	45%			
61	9,532 L	**	**	in natura	-	X	Ns***	Ns***
				Pré-tratada ácido cítrico	50%			
				Pré-tratada NaOH:Ureia	50%			

\*Reator com 3,2 L; \*\*Média; \*\*\*Não significativo.

### 3.4. Capacidade de redução dos sólidos voláteis

O inóculo utilizado apresentou concentração em sólidos totais (ST) de  $10,92 \text{ g L}^{-1}$ , e teor de sólidos voláteis (SV) em 53,43%. A ARS, efluente de biodigestor anaeróbio de dejetos de suínos, também utilizada como inóculo e meio, apresentou concentração em ST de  $0,87 \text{ g L}^{-1}$ , e teor de SV em 67,24%.

A palha de sorgo sacarino apresentou teores de  $24,41 \pm 0,1\%$  de celulose,  $16,01 \pm 0,1\%$  de hemicelulose e  $4,31 \pm 0,1\%$  de lignina. Isso representa aproximadamente 1,5 vezes mais celulose que hemicelulose e 3,7 vezes mais hemicelulose frente à lignina. Cardoso et al. (2013) chegaram a proporções semelhantes para a palha de sorgo, aproximadamente 1,4 vezes mais celulose que hemicelulose e 3,5 vezes mais hemicelulose que lignina.

É possível visualizar na Figura 18 um gráfico referente aos dados em sólidos voláteis, correlacionando-se TDH e os tratamentos.

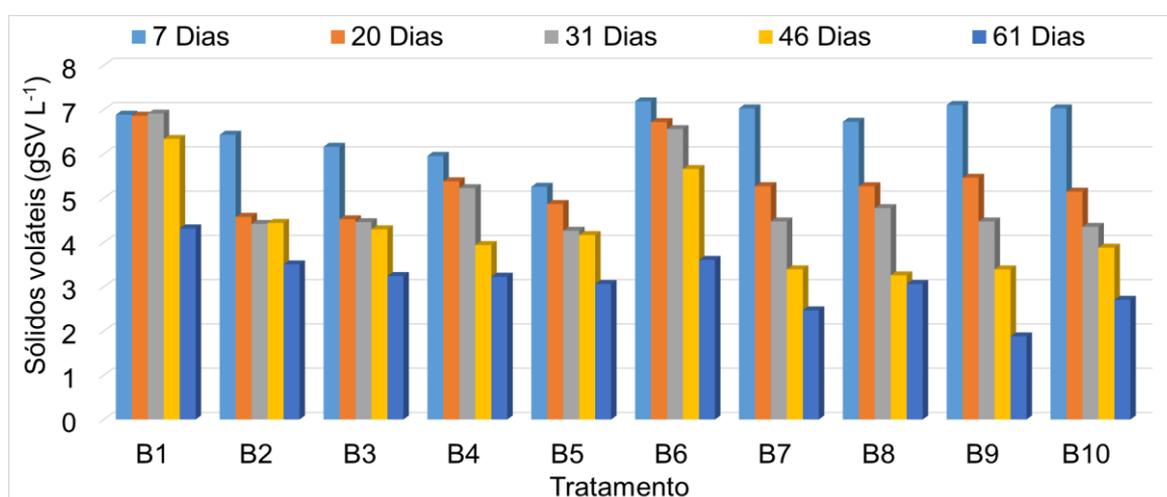


Figura 39 Concentração de Sólidos Voláteis (SV) nos reatores após diferentes TDH.

Destaque-se a maior homogeneidade na velocidade de redução dos sólidos voláteis nos tratamentos B7, B8, B9 e B10, alimentados com uma mistura igualitária dos substratos propostos, palhas pré-tratadas com ácido e via alcalina e palha in natura. Já os outros tratamentos, B1, B2, B3, B4, B5 e B6, apresentaram visivelmente variações quanto ao consumo de sólidos voláteis, ou seja, não apresentaram homogeneidade na velocidade de redução destes ao longo do tempo. Alguns apresentaram rápida velocidade de consumo de SV inicial: destaca-se o tratamento empregado no tratamento B5, alimentado com uma mistura de palha pré-tratada com NaOH:Ureia e palha pré-tratada com ácido cítrico na proporção 1:1, indicando que os pré-tratamentos quando misturados são sinérgicos.

Diversos motivos podem ter influenciado para este comportamento. Uma das possibilidades é a disponibilidade de ácido volátil inicial, proveniente dos produtos resultantes do pré-tratamento com ácido. Este, por sua vez, pode ter sido apresentado em concentração que propiciou uma melhor partida do reator, frente ao tratamento B3, por

exemplo, que teve sua alimentação de substrato em SV exclusiva de palha pré-tratada com ácido cítrico. A grande disponibilidade de ácido cítrico ou os produtos resultantes deste tratamento no tratamento B3 acabou por resultar em uma demora na velocidade de redução dos SV quando comparado ao B5, que teve mistura de palha pré-tratada com NaOH e Ureia. Neste sentido, a diluição do possível inibidor contribuiu para uma maior eficiência do processo.

A aplicação de pré-tratamentos à palha de sorgo sacarino, sejam alcalinos ou ácidos, acarreta aumento na produção de biogás, no consumo de SV, frente à aplicação de palha in natura. A utilização de misturas potencializa ainda mais este aumento, ou seja, apresenta efeito sinérgico em todos os períodos testados. Foi possível identificar as melhores misturas para cada período de TDH analisado, principalmente embasando-se no volume de biogás gerado, que apresentou significativa diferença em todos os TDH analisados.

A mistura ideal foi composta por palhas pré-tratadas do TDH 7, 20 e 31 dias, variando de 33,33 até 50,00% de palha pré-tratada com NU e o restante com palha pré-tratada com CA, 50,00 até 66,67% sem alimentação de palha in natura. Após este período, misturas contendo os três componentes são desejáveis, como aos 46 dias, com aplicação de 25% de palha IN, 30% de palha pré-tratada com CA e 45% de palha pré-tratada com NU. Aos 61 dias, fatores como rSV e teor de metano não apresentavam mais significância, principalmente em relação aos 20 e 31 dias de TDH, em que os fatores dependentes apresentaram significância.

### **3.5. Perfil de produção acumulada de biogás**

A alimentação do reator anaeróbio com uma mistura de palha pré-tratada com ácido cítrico e in natura pode apresentar benefícios frente à alimentação apenas com palha in natura. A potencialidade de realizar partida no reator também foi correspondente em produção de biogás, como pode ser visualizado na Figura 19. Ao analisar a produção de biogás ficam mais evidentes os benefícios de se realizar a mistura da palha de sorgo sacarino in natura com a palha pré-tratada com ácido cítrico nas condições propostas. Na comparação entre os tratamentos B3 com B5, nota-se ligeira vantagem na velocidade inicial de acúmulo de biogás no tratamento B5. Em seguida, os dois reatores diminuem sua velocidade de produção de biogás, próximo ao dia 10, voltando o tratamento B5 a apresentar produção acentuada de biogás perto do dia 45, o que não ocorre com o tratamento B3. Ao final da digestão, ambos os tratamentos B3 e B5 apresentaram remoções de SV muito semelhantes, conforme apresentado na Figura 19. Porém, apresentaram volumes de biogás acumulado final diferentes, assim buscando melhor identificação dos pré-tratamentos e incorporação dos dados quantitativos de forma complementar equilibrada. Os dados da produção de biogás acumulada e a redução de SV removidos foram unidos e

expostos relativamente (Figura 20).

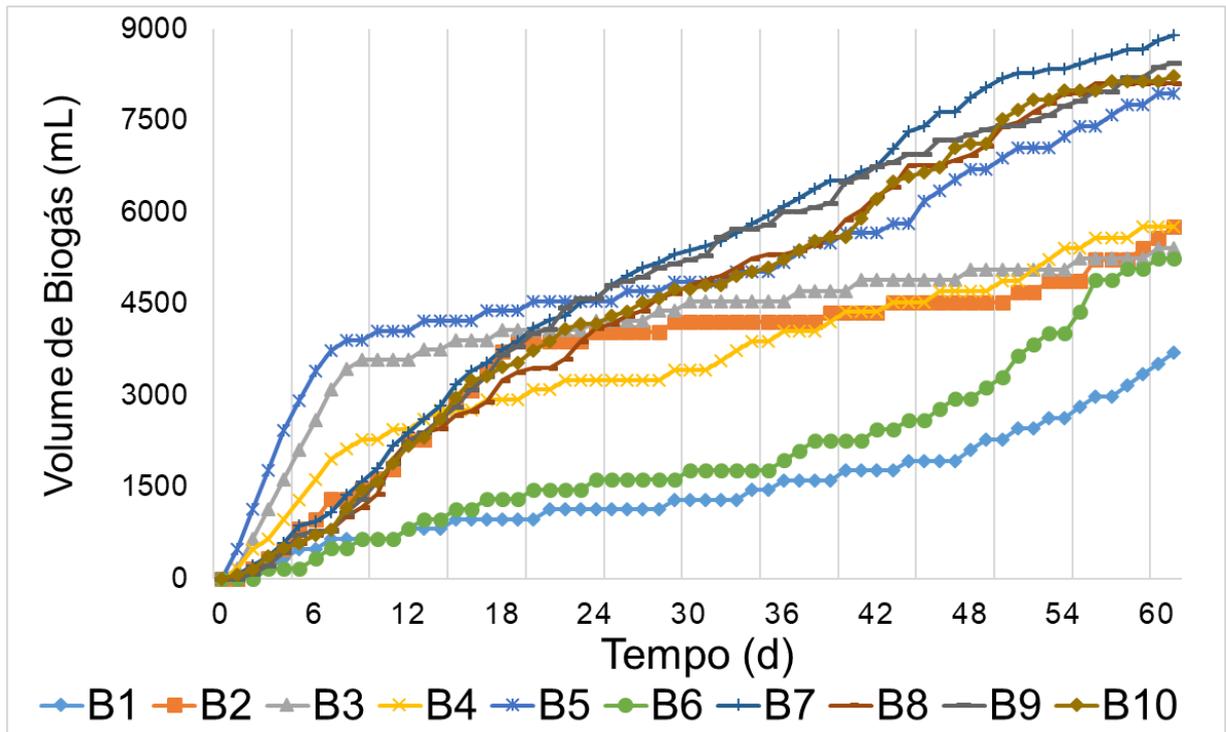


Figura 40 Produção acumulada de biogás normalizada.

Ao se comparar as produções normalizadas de biogás por sólidos voláteis removidos, há um incremento visual de produção ao se utilizar o tratamento B5, referente à mistura igualitária de palha de sorgo pré-tratada com NaOH:Ureia e palha pré-tratada com ácido cítrico (Figura 20). Também ocorre elevação na produção ao se utilizar a mistura igualitária dos 3 substratos propostos, presentes nos tratamentos B7, B8, B9 e B10, aferindo-se produções aproximadas a 390 NmL gSV L<sup>-1</sup> biogás, enquanto para os outros testes variou de 228 até 306 NmL gSV L<sup>-1</sup> biogás ao final dos 61 dias de biodigestão.

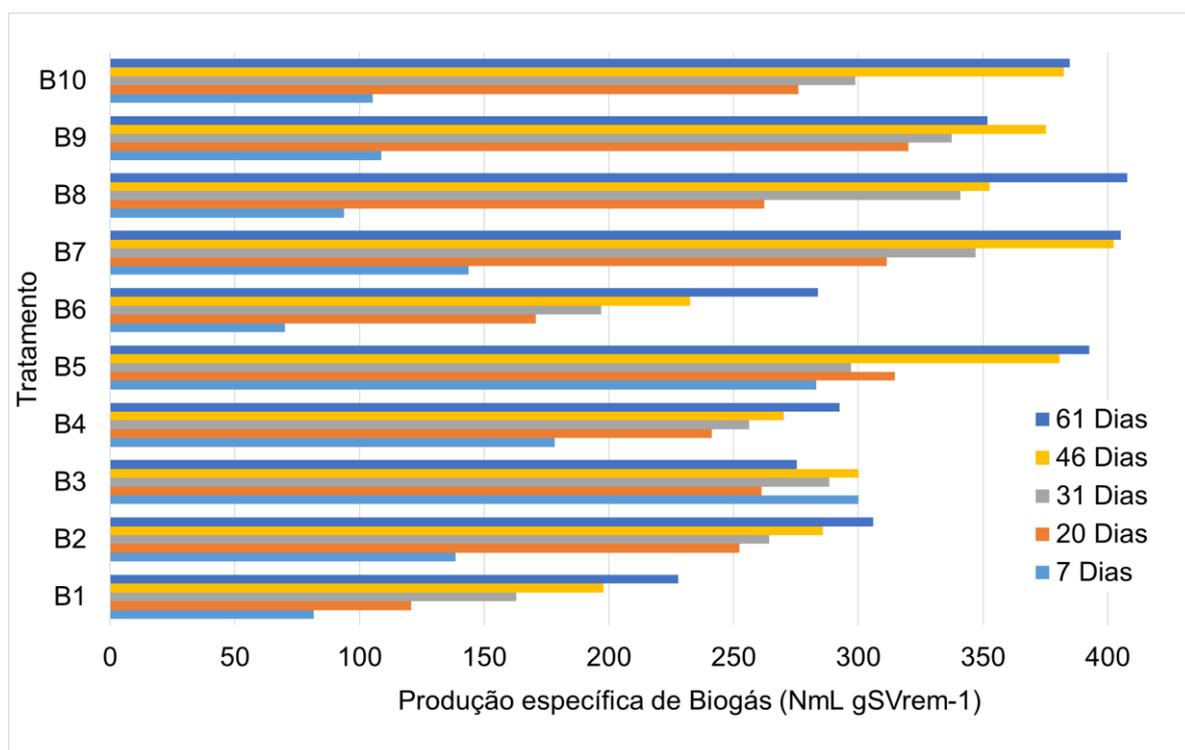


Figura 41 Produção específica de biogás pelo tempo de detenção hidráulica.

Da partida dos reatores até o dia 09 houve uma produção acentuada de biogás nos tratamentos B3, B4 e B5, fase esta que pode ser classificada como ácida; posteriormente ocorre a metanogênica, que tem tempo de adaptação mais longo e taxa de reprodução lenta. Por este motivo estes reatores apresentam produção de biogás difusa com latência na partida. O mesmo foi também verificado nos tratamentos B2 e média do B7 ao B10, os quais apresentaram uma taxa de latência superior aos tratamentos B3, B4 e B5.

Liu et al. (2016) atrelaram o aumento da carga de sólidos com a diminuição do rendimento em biogás, o que se verificou também no atual trabalho. O aumento no teor de sólidos com o emprego da palha de sorgo sacarino ocasionou diminuição na produção de biogás pela remoção de SV, sendo que um reator foi alimentado sem a palha de sorgo e apresentou rendimentos de  $2,4 \text{ NL gSVr L}^{-1}$  de biogás – ou seja, rendimento muito superior aos alimentados com palha de sorgo sacarino. Quando observada a produção de biogás isoladamente, pelos reatores, houve maior produção de biogás quando alimentados com cargas maiores, independentemente do tempo de permanência avaliado. O fato, por sua vez, possibilita interpretar que os reatores se tornaram mais eficientes ao passo que geram mais biogás no mesmo volume, mesmo não apresentando rendimentos em biogás/SVr tão expressivos.

O pH se manteve estável e um fator essencial para isto é a alcalinidade presente, fornecida pelo co-substrato e/ou inóculo. De maneira semelhante, Zhang et al. (2016b), ao biodigerir sorgo, relataram a estabilidade do pH à utilização do cosubstrato estrume bovino.

### 3.6. Perfil da AV:AT e composição em AV nos tratamentos

O tratamento B1 apresentou uma maior relação AV:AT, dada em  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{HAc} \cdot \text{CaCO}_3^{-1}$  (Figura 21), o que pode justificar a menor proporção de metano. O tratamento B1 foi o que apresentou maior dificuldade em reduzir a relação AV:AT, com valores abaixo de 0,4 apenas após 61 dias de biodigestão, provavelmente devido ao retardo inicial na fase ácida devido à recalcitrância deste material não pré-tratado, enquanto os outros tratamentos já apresentavam valores abaixo deste ou muito próximos a este logo aos 20 dias de biodigestão. Van Haandel (1994) e Borja et al. (2004) afirmam que a relação AV:AT deve estar abaixo de 0,4 para que o processo de digestão ocorra de forma estável. É possível correlacionar com a acidez volátil disponibilizada na Figura 22.

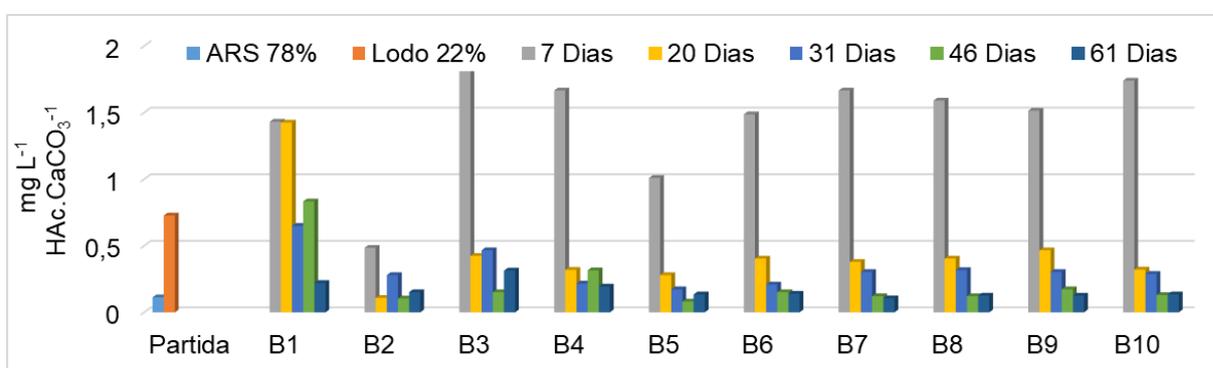


Figura 42 Ácidos voláteis pela alcalinidade total, tratamentos e inóculo.

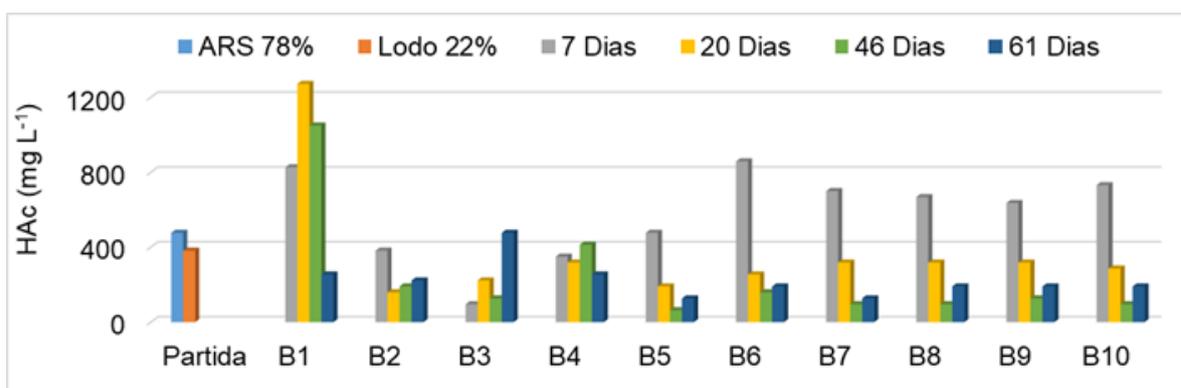


Figura 43 Acidez volátil em cada tratamento pelo tempo de detenção hidráulica.

Ao se avaliar o tratamento B1, foi possível verificar dificuldades em propiciar um composto favorável às arqueas metanogênicas. Apesar de conter variedade e quantidade de ácidos voláteis e substrato para as arqueas metanogênicas, houve acúmulo destes, como pode ser visualizado na Figura 24, referente às análises nos dias 07 e 20. Esta demora no consumo dos AV gerados manteve o pH muito próximo a 6, até o dia 31 (Figura 23), não ocorrendo redução abaixo deste, provavelmente devido à característica alcalina do

lodo inoculado e à dificuldade do consórcio de microrganismos gerar mais ácido, sendo que o material estava em seu estado mais recalcitrante.

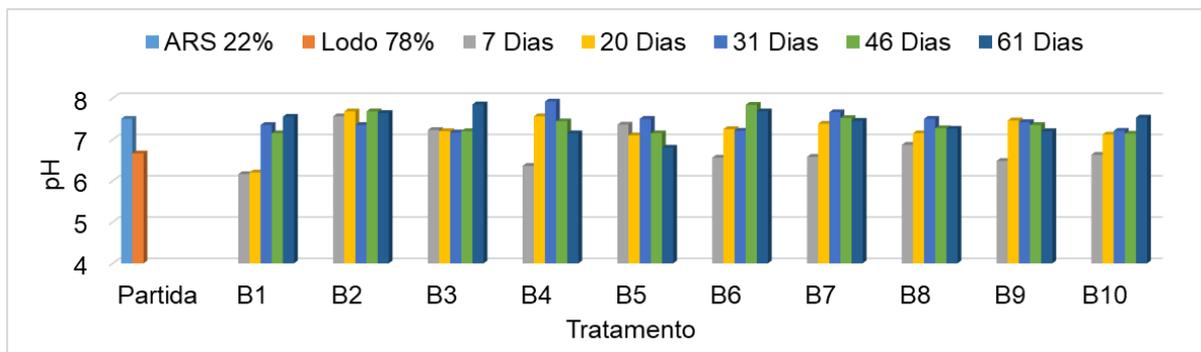


Figura 44 Potencial hidrogeniônico por tempo de detenção hidráulica, inóculo e meio.

A composição e a concentração dos AV se correlacionam ao estágio metabólico dos microrganismos envolvidos no processo de degradação (YE et al., 2013). A partir da Figura 24, pode-se visualizar o perfil de produção de ácidos voláteis nos tratamentos, distribuídos nos dias de análise das amostras controle e final. Considerando as características recalcitrantes do material, compreende-se que nem mesmo os maiores teores ultrapassaram a concentração de  $1800 \text{ mg L}^{-1}$ .

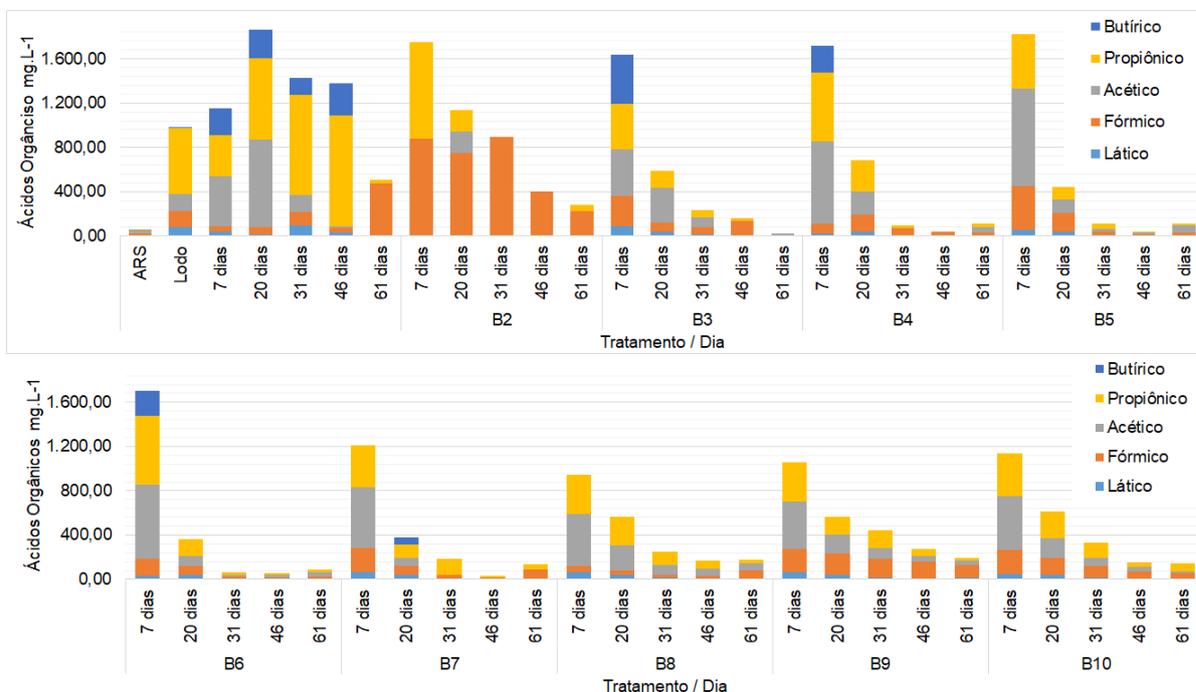
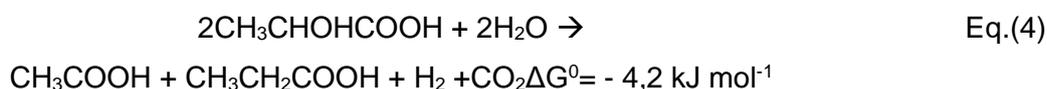
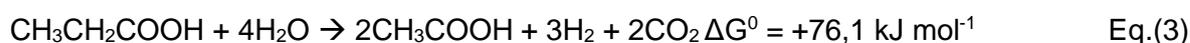


Figura 45 Perfil dos ácidos voláteis nos tratamentos por TDH.

Os ácidos acético e propiônico foram encontrados com maior regularidade proporcional aos outros ácidos em todos os tratamentos, com exceção dos tratamentos B2 em todas as análises e tratamento B1 após decorridos 61 dias, com grande presença de

ácido fórmico. Teores elevados de ácido propiônico frente ao ácido acético indicam processos de degradação e produção de biogás mais lentos, pois o ácido acético pode ser convertido diretamente em CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, enquanto o ácido propiônico ainda precisa ser convertido em ácido acético antes de gerar metano e CO<sub>2</sub> (YE et al., 2013).

Os tratamentos apresentaram seu maior percentual de ácido láctico nas amostras coletadas no dia 07, com exceção do tratamento B1, que apresentou teor máximo deste no dia 31. A presença de ácido láctico pode servir de indicativo de sobrecarga do sistema e este é precursor do ácido propiônico que, por sua vez tem conversão termicamente desfavorável quando comparada aos outros ácidos apresentados (Equações 2, 3, 4) (YE et al. 2013).



Reações de conversão dos ácidos voláteis no processo de biodigestão anaeróbia: (1) Conversão do ácido acético; (2) Conversão do ácido propiônico; (3) Conversão do ácido láctico.

Todos os tratamentos apresentaram AV finais inferiores aos verificados em análises iniciais. Com valores finais de todos os ácidos voláteis em 503 mg L<sup>-1</sup>, 279 mg L<sup>-1</sup>, 25,5 mg L<sup>-1</sup>, 111 mg L<sup>-1</sup>, 109 mg L<sup>-1</sup>, 88 mg L<sup>-1</sup>, 137 mg L<sup>-1</sup>, 174 mg L<sup>-1</sup>, 195,5 mg L<sup>-1</sup> e 141 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, dos tratamentos B1 ao B10.

### 3.7. Avaliação do teor de metano nas amostras de biogás

Com relação ao teor de metano, foram encontrados valores entre 47 e 76% na composição do biogás produzido nos reatores anaeróbios. O tratamento B1 apresentou produção acumulada de biogás, durante um período do experimento, semelhante ao tratamento B6, como exposto na Figura 19. Contudo, a produção pode ser considerada semelhante apenas até o dia 7 da biodigestão, pois quando se consideram os teores de metano após este período há diferença na qualidade do gás gerado (Figura 25).

Posteriormente, ao decorrer de 20 e 31 dias do teste, principalmente com a composição do biogás em metano é possível identificar o reator alimentado com tratamento B6 mais eficiente frente ao B1 quanto à produção de biogás com maior poder calorífico, produto de interesse. O tratamento B1 foi apenas palha de sorgo in natura, e o tratamento

B6 foi a mistura em proporções iguais de palha pré-tratada com ácido cítrico e palha in natura. Estes resultados colocam em evidência a utilização de pré-tratamento para aplicação em reatores anaeróbios.

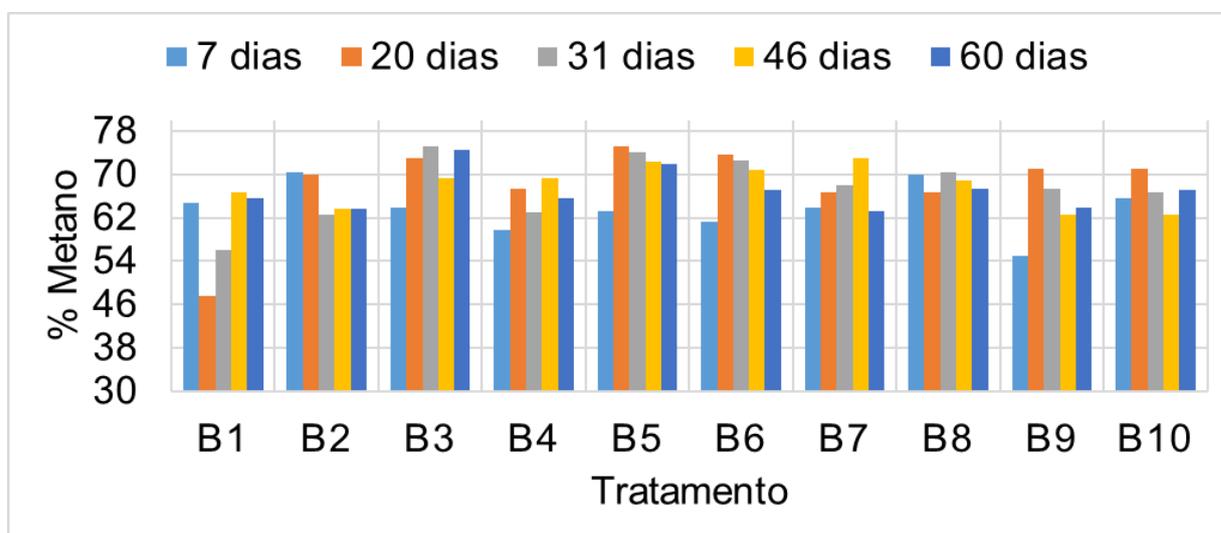


Figura 46 Perfil do teor de metano, nos reatores por TDH.

Há de se destacar também o elevado teor de metano na composição do biogás nos tratamentos B3 e B5, com seus menores teores próximos a 63%, correspondentes à biodigestão até o dia 7, um percentual muito elevado quando se leva em consideração o pequeno TDH.

#### 4. CONCLUSÕES

Pré-tratar a palha de sorgo sacarino influenciou na redução do TDH, indicando que o processo para redução da recalcitrância do material lignocelulósico antes de sua aplicação em biodigestores ocorreu. Além disso, a aplicação deste em mistura de in natura, pré-tratado com NaOH:Ureia e pré-tratado com Ácido Cítrico é sinérgica quanto à obtenção das respostas analisadas, recomendando-se uma proporção diferente de mistura dependendo do tempo de detenção hidráulica desejada.

Os pré-tratamentos, proporcionam maior produção de biogás, um consumo acelerado de SV. A utilização de misturas apresenta efeito sinérgico em todos os períodos testados. Foi possível identificar as misturas ideais para cada período de TDH analisado, sendo que em todos com a utilização de mistura o resultado obtido foi superior a aplicação dos substratos individualmente.

Com o modelo cinético de Gompertz foi possível identificar o máximo potencial de produção de biogás acumulado para o tratamento B5, máxima produção diária de biogás ao utilizar o tratamento B3 e ausência de latência nos tratamentos B3, B4 e B5.

## 5. REFERÊNCIAS

- AMNUAYCHEEWA, P.; HENGAROONPRASAN, R.; RATTANAPORN, K.; KIRDPONPATTARA, S.; CHEENKACHORN, K.; SRIARIYANUN, M. Enhancing enzymatic hydrolysis and biogas production from rice straw by pretreatment with organic acids. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 247-254, 2016.
- ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants, **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3. p. 117-129, 2004.
- APHA. **Standard methods**. 19a. Ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1995.
- BOLADO-RODRÍGUES, S.; TOQUERO, C.; MATRÍN-JUÁREZ, J.; TRAVAINI, R.; GARCÍA-ENSINA, P. A. Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, New York, v. 201, p. 182-190, 2016.
- BORJA, R.; RINCÓN, B.; RAPOSO, F.; DOMÍNGUEZ, J. R.; MILLÁN, F.; MARTÍN, A. Mesophilic anaerobic digestion in a fluidised-bed reactor of wastewater from the production of protein isolates from chickpea flour. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 12. p. 1913-1921, 2004.
- BRASIL - Lei Estadual de São Paulo nº 11.241, de 19 de setembro de 2002, p. 1-5. Disponível em: <http://www.sigam.ambiente.sp.gov.br>. Acesso em: 11 nov. 2018.
- BRASIL - Resolução sma nº 26, de 15 de março - Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Publicada no Documento Oficial da União de 16-03-2018 seção I p. 33-34, 2018. Disponível em: <http://www.sigam.ambiente.sp.gov.br>. Acesso em: 11 nov. 2018.
- CARDOSO, W. S.; TARDIN, F. D.; TAVARES, G. P.; QUEIROZ, P. V.; MOTA, S. S.; KASUYA, M. C. M.; QUEIROZ, J. H. Use of sorghum straw (*Sorghum bicolor*) for second generation ethanol production: pretreatment and enzymatic hydrolysis. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 623-627, 2013.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para a agropecuária**. Vol. 3. Brasília, 2015, p. 1-130.
- DE ROSSI, E.; LINDINO, C. A.; CREMONEZ, P. A.; DOS SANTOS, K. G.; BARICCATTI, R. A.; JHONATAS, A.; TELEKEN, J. G. Biogas production with co-digestion of sugarcane straw. **Management of Environmental Quality**, v. 28, p. 94-106, 2017.
- DIAS, F. F. G.; DE CASTRO, R. J. S.; OHARA, A.; NISHIDE, T. G.; BAGAGLI, M. P.; SATO, H. H. Simplex centroid mixture design to improve L-asparaginase production in solid-state fermentation using agroindustrial wastes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 528-534, 2015.
- EMBRAPA – Cultivo do Sorgo Embrapa Milho e Sorgo. **Sistema de Produção**, 2. 6a. ed. Versão Eletrônica, 2010.
- FERREIRA, L. C.; DONOSO-BRAVO, A.; NILSEN, P. J.; FDZ-POLANCO, F.; PÉREZ-ELVIRA, S. I. Influence of thermal pretreatment on the biochemical methane potential of

wheat straw. **Bioresource Technology**, New York, v. 143, p. 251-257, 2013.

HANDA, C. L.; DE LIMA, F.S.; GUELFY, M. F. G.; GEORGETTI, S. R.; IDA, E. I. Multi-response optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, v. 197, p. 175-184, 2016.

KOOTSTRA, M.; BEEFTINK, H.; SCOTT, E.; SANDER, J. Comparison of dilute mineral and organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of wheat straw. **Biochemical Engineering Journal**, v. 46, p. 126-131, 2009b.

LARSEN, A. C.; GOMES, B. M.; GOMES, S. D.; ZENATTI, D. C.; TORRES, D. G. B. Anaerobic co-digestion of crude glycerin and starch industry effluent. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 341-352, 2013.

LAZARO, C. Z.; VICH, D. V.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Hydrogen production and consumption of organic acids by a phototropic microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 11691-11700, 2012.

LI, W.; KHALID, H.; ZHU, Z.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHEN, C.; THORIN, E. Methane production through anaerobic digestion: Participation and digestion characteristics of cellulose, hemicellulose and lignin. **Applied Energy**, v. 226, p. 1219-1228, 2018.

LIU, C.; LI, H.; ZHANG, Y.; SI, D.; CHEN, Q. Evolution of microbial community along with increasing solid concentration during high-solids anaerobic digestion of sewage sludge. **Bioresource Technology**, New York, v. 216, p. 87-94, 2016.

MANCINI, G.; PAPIRIO, S.; LENS, P. N. L.; ESPOSIO, G. Increased biogas production from wheat straw by chemical pretreatments. **Renewable Energy**, v. 119, p. 608-614, 2018.

MOSET, V.; AL-ZOHAIRIO, N.; MØLLER, H. B. The impact of inoculum source, inoculum to substrate ratio and sample preservation on methane potential from different substrates, **Biomass and Bioenergy**, v. 83, p. 474-482, 2015.

NUNES, D. B. **Rotinas para otimização experimental de misturas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1998.

OSTOVAREH, S.; KARIMI, K.; ZAMANI, A. Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 66, n. 1, p. 170-177, 2015.

PENTEADO, E. D.; LAZARO, C. Z.; SAKAMOTO, I. K.; ZAIAT, M. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen Production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p. 6137-6145, 2013.

QI, H.; CHANG, C.; ZHANG, L. Properties and applications of biodegradable transparent and photoluminescent cellulose films prepared via a green process. **Green Chemistry**, v. 2, n. 11, p. 177-184, 2009.

QIN, L.; LIU, Z.; LI, B.; DALE, B.; YUAN, Y. Mass balance and transformation of corn stover by pretreatment with different dilute organic acids, **Bioresource Technology**, New York, v. 112, p. 319-326, 2012.

RAJPUT, A. A.; ZESHAN, M.; VISVANATHAN, C. Effect of thermal pretreatment on chemical

composition, physical structure and biogas production kinetics of wheat straw. **Journal of Environmental Management**, v. 221, p. 45-52, 2018.

RODRIGUES, R. F.; TREVENZOLI, R. L.; SANTOS, L. R. G.; LEÃO, V. A.; BOTARO, V. R. Adsorção de metais pesados em serragem de madeira tratada com ácido cítrico. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 21-26, 2006.

SILVA, M. O. S. A. **Análises físico-químicas para controle das estações de tratamento de esgotos**. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, 1977.

VAN HAANDEL, A. C. Influence of the Digested Cod Concentration on the Alkalinity Requirement in Anaerobic Digesters. **Water Science Tech**, v. 30, n. 8, p. 23-34, 1994.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 35-83, 1991.

VEDRENNE, F.; BÉLINE, F.; DABERT, P.; BERNET, N. The effect of incubation conditions on the laboratory measurement of the methane producing capacity of livestock wastes, **Bioresource Technology**, New York, v. 99, n. 1, p. 146-155, 2008.

ZHANG, Z.; ZHANG, G.; LI, W.; LI, C.; XU, G. Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 21, p. 9153-9158, 2016b.

YE, J.; LI, D.; SUN, Y.; WANG, G.; YUAN, Z.; ZHEN, F.; WANG, Y. Improved biogas production from rice straw by co-digestion with kitchen waste and pig manure. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2653-2658, 2013.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ácidos e bases utilizados são de fácil manipulação e comercialmente baratos, sem que as condições de temperatura sejam grande empecilho para a aplicação em larga escala, quando comparada a outros métodos de pré-tratamento.

Um fator limitante para o desenvolvimento de um método simples de pré-tratamento baseado nesta abordagem é a recuperação ou reutilização eficiente das soluções após a solubilização de ligninas e não foi investigada nesta pesquisa.

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se afirmar que:

- a) É possível diferenciar a intensidade dos pré-tratamentos com a identificação dos compostos removidos solubilizados nas soluções. Com maior solubilização, foram verificadas modificações nas intensidades no espectro de absorção na região do infravermelho referente ao material sólido após pré-tratamento. Ao se aplicar o teste de cristalinidade e cristalinidade total, foi possível correlacioná-los com os resultados da análise de solubilização;
- b) Para o pré-tratamento ácido: Dentro dos limites testados recomenda-se, para maior solubilização, concentração de ácido cítrico em  $90 \text{ g L}^{-1}$ , tempo de reação em autoclave  $36 \text{ min e } 49 \text{ s}$  e concentração de palha em solução em  $100 \text{ g L}^{-1}$ ;
- c) Para o tratamento alcalino, a maximização na solubilização dos compostos orgânicos ocorre na concentração de palha em solução entre  $90 \text{ e } 95 \text{ g L}^{-1}$  e a temperatura em  $-11,6 \text{ }^\circ\text{C}$ ;
- d) Considerando que os resultados dos parâmetros cinéticos, obtidos a partir da análise de regressão, podem ser usados para predizer o potencial de produção de biogás ou metano, para determinar a taxa máxima específica de produção de biogás, além do tempo mínimo necessário para microorganismos anaeróbios para se adaptarem ao meio, sob condições operacionais específicas, torna-se necessária a avaliação individual dos tratamentos pelos TDH.