



## OBTENÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS DE SEGUNDA GERAÇÃO (BIOGÁS) A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA EM BIOREATORES DE DUPLO ESTÁGIOS

Fabio de Melo Resende<sup>1</sup>, Silvanito A. Barbosa<sup>2</sup>, Carlos Cabral<sup>3</sup>, Roberto R. de Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba, Núcleo de Bioenergia Biomassa e Biocombustíveis (NUBIO),  
[fabiomresende@ig.com.br](mailto:fabiomresende@ig.com.br)

<sup>2</sup>Instituto Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia de Petróleo  
[silvanito@ifs.edu.br](mailto:silvanito@ifs.edu.br)

<sup>3</sup>Universidade Federal da Paraíba, Rede Cooperativa Norte Nordeste de Gás,  
[carloscabral@yahoo.com.br](mailto:carloscabral@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Química,  
[rrsouza@ufs.br](mailto:rrsouza@ufs.br)

### RESUMO

O objetivo do trabalho foi desenvolver um bioprocesso de obtenção de biocombustíveis de segunda geração (biogás) a partir do bagaço de cana, baseando-se no uso de biorreatores anaeróbios de duplo estágios, que funcionam com diferentes microrganismos como o fungo anaeróbio *Neocallimastix frontalis*, e as bactérias metanogênicas (*Methanosarcina sp.* e *Methanosaeta sp.*). No biorreator de primeiro estágio utilizou-se a tecnologia da hidrólise enzimática, para converter as frações de celulose, hemicelulose e lignina, presentes no bagaço de cana. No biorreator de segundo estágio foi utilizada a digestão anaeróbia, o qual recebeu a mistura reacional originária do biorreator de primeiro estágio, este foi inoculado com as bactérias (*Metanosarcinas sp.* e *Methanosaetas sp.*). O uso dos biorreatores de primeiro e segundo estágios, nas etapas de hidrólise enzimática realizada pelo fungo *Neocallimastix frontalis* e na etapa de metanogênese, desenvolvida pelas bactérias (*Methanosarcina sp.* e *Methanosaeta sp.*) apresentaram viabilidade técnica, ou seja, para cada quilo de bagaço de cana pré-tratado e sem deslignificação, houve a formação de 1.197,12 mL de biogás, isto é cerca de 814,04 mL de biometano considerando-se uma eficiência máxima de processo de 76,50% e uma composição de 68% de metano. A eficiência de 70% do biorreator de segundo estágio, se justifica pelo fato da mistura reacional originária do biorreator de primeiro estágio, ter apresentado uma conversão de 76,5% em termos dos monômeros de glicose. O volume total de biogás foi de 1.197,12 mL considerando-se os volumes gerados nos biorreatores de primeiro e segundo estágios. A produtividade total do bioprocesso foi da ordem de 814 mL.CH<sub>4</sub>/Kg.h.

**Palavras Chaves:** Hidrólise, biometano, bioprocesso.

### 1. INTRODUÇÃO

Os estudos das tecnologias de hidrólises enzimáticas, aplicadas à quebra

do complexo celulose-hemicelulose-lignina trarão avanços significativos, para o aumento da produtividade dos



bioprocessos de geração do biogás de 2ª geração.

A proposta de um bioprocesso, para a produção do biogás, envolve a hidrólise enzimática do bagaço de cana, realizada pelo fungo anaeróbio *Neocallimastix frontalis*, que liberam as enzimas exoglucanases e endoglucanases. Estas enzimas apresentam a capacidade, de decompor a cadeia de celulose e hemicelulose, possibilitando a ação posterior das bactérias metanogênicas acetoclásticas (*Methanosarcinas*), no biorreator de segundo estágio, no qual ocorre a fermentação metânica, produzindo mais biogás, e assim aumentando o rendimento do bioprocessos.

A diferença dessa proposta, com a tecnologia de digestão anaeróbia (DA), e é que a tecnologia atual produz biogás a partir da fração orgânica do resíduo sólido urbano (FORSU), e não a partir do bagaço de cana. Além disso, o bioprocessos, envolve biorreatores anaeróbios de primeiro e segundo estágios, os quais funcionam de forma independente embora a eficiência do bioprocessos dependa de ambos os estágios.

A tecnologia de hidrólise enzimática utilizada na biodegradação do substrato, presente no bagaço de cana, é vista como promissora por apresentar condições menos dispendiosas do ponto de vista do consumo de energia para geração do biogás. O uso das enzimas celulolíticas (celulases, carboximetilcelulases e -glicosidase), hemicelulolíticas (xilanase) e ligninolíticas (lignina peroxidases), produzidas por fungos como o *Neocallimastix frontalis*, dentre outros, terminam por agregar valor ao bioprocessos pelo fato de não produzirem contaminantes, a exemplo dos furfurais e fenois, quando comparado com as tecnologias que envolvem a hidrólise alcalina ou ácida dos resíduos lignocelulósicos.

A rota adotada no bioprocessos em escala de bancada, quando comparada com outras existentes. A opção pela fermentação metânica para produzir o biogás justifica-se, pelo fato dos subprodutos gerados no biorreator de primeiro estágio (aldoses e hexoses), serem mais suscetíveis ao metabolismo das arqueias metanogênicas: *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina frigus* e, além disso, se adequar melhor ao biorreator de segundo estágio.

A escolha do bagaço de cana se deve ao fato de ser um resíduo lignocelulósico disponível no Brasil. Nas usinas sucroalcooleiras, onde após o término da safra, permanece uma quantidade ociosa, armazenada nas usinas.

### 1.1 O Bagaço de Cana como Resíduo Agroindustrial

Dos resíduos agroindustriais de maior importância atualmente no território nacional, o bagaço de cana ocupa uma posição de destaque. No ano de 2014, a agroindústria brasileira, no setor sucroalcooleiro encontrava-se formada por aproximadamente 320 usinas, e chegou a processar  $3,84 \times 10^8$  toneladas de cana produzindo  $1,67 \times 10^7$  m<sup>3</sup> de álcool hidratado. A quantidade de cana processada gerou  $2,0 \times 10^8$  toneladas de bagaço de cana e  $8,9 \times 10^8$  toneladas de palha CERQUEIRA *et al.*, (2009).

Segundo os levantamentos da Empresa de Pesquisa Energética e do próprio setor sucroalcooleiro, estima-se que o setor tenha potencial para suprir 15% da demanda de energia do país a partir de 2020, gerando mais 14.000 MW/h a partir da combustão (queima) de 75% do bagaço da cana e de 50% da palha disponível BORGES, (2008).

De acordo com Gamez *et al.*, (2006), o processamento de uma tonelada de cana gera em média 240 a 270 Kg de bagaço. Embora boa parte desse bagaço, seja usado para fins energéticos, essa



quantidade representa uma grande oportunidade para a agroindústria nacional. O reaproveitamento desse resíduo amplia o campo de desenvolvimento do potencial biomássico, para a geração dos biocombustíveis, sobretudo o etanol de 2ª geração.

Segundo Gamez *et al.*, (2006) a utilização do bagaço de cana excedente, viabilizaria economicamente o investimento necessário, para adaptação das usinas de açúcar e álcool, a produção de biogás de 2ª geração.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 – Biorreatores anaeróbios

O biorreator de primeiro estágio, tem a parte inferior constituída de aço inoxidável (ASI 304), com altura de 250 mm, e a parte superior formada por vidro de 6 mm com altura de 100 mm, foi construído a partir da concepção do desenho ( layout ) na figura 1.

A parte superior é constituída por 3 saídas, sendo que a saída central é utilizada para captar o biogás. A saída central encontra-se conectada a uma mangueira (cristal trançada) de 4 mm de espessura com tamanho de 7,5 mm. A mangueira é conectada a um cilindro graduado de plástico com capacidade de 1,0 L o qual foi preenchido com uma solução de Hidróxido de sódio 5 M.

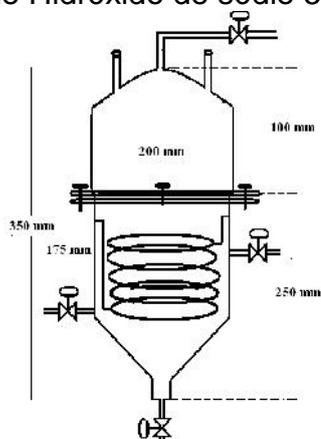


Figura 1: Biorreator de 1º estágio

O biorreator de primeiro estágio foi confeccionado, seguindo as cotas apresentadas na figura 1. Em seguida o protótipo (figura 2) foi testado no bioprocesso, para realização da etapa de hidrólise enzimática do bagaço de cana, com o inóculo do fungo *Neocallimastix frontalis*.

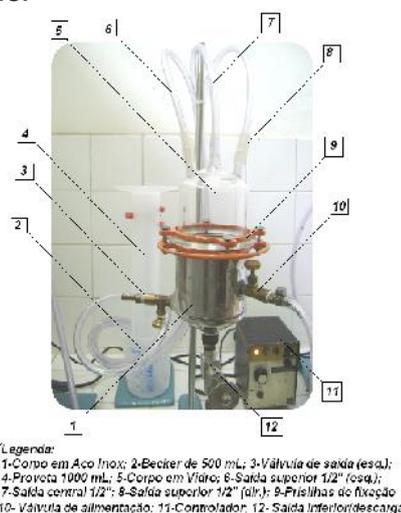


Figura 2: Biorreator de 1º estágio

O biorreator anaeróbio de segundo estágio (figura 3) é constituído de aço inoxidável (ASI 304), com 3 (três) válvulas na parte superior e um motor, que esta acoplado a uma rodana na parte superior e um medidor de pressão em Kgf/cm<sup>2</sup>. Neste equipamento se processam as etapas da digestão anaeróbia (DA), acetogênese e metanogênese.



Figura 3: Biorreator de 2º estágio



A Tabela 4.1 mostra as variáveis de operações dos biorreatores de primeiro e segundo estágio, bem como suas dimensões e características.

Tabela 1. Parâmetros do biorreator de primeiro estágio

Parâmetro	Estágio	
	1º	2º
Volume do reator (mL)	500	1.000
Altura total (mm)	350	500
Diâmetro (mm)	200	250
Material de constituição	Aço e vidro	Aço inox

O biorreator do primeiro estágio foi alimentado com os seguintes percentuais: 60% (p/v) de bagaço de cana sem deslignificação com granulometria de 1 mm, 10% (p/v) do inóculo do *Neocallimastix frontalis* e 30% (p/v) da solução nutritiva contendo em g.L<sup>-1</sup>: sulfato amoniacal 1,0; fosfato monobásico de potássio 2,0; Uréia 0,1; Sulfato de Magnésio 0,3; tioglicolato de sódio 1,0; rezasurina 0,5.

O pH foi ajustado para 3,75 com uma solução de ácido fosfórico 2 M, e monitorado com um auxílio de um medidor de pH marca Tecnal, cujo eletrodo de vidro foi acoplado ao biorreator pela saída superior esquerda.

A homogeneização da mistura reacional foi feita pela base, com o auxílio de uma bomba peristáltica Tecnal, na rotação de 30 rpm. A conexão entre o biorreator e bomba foi feita com uma mangueira de 4 mm de espessura e tamanho 50 mm.

Os 10% (p/v) do inóculo em anaerobiose foram provenientes do biorreator de cultivo com capacidade de 100 mL. A quantidade de 50 mL do inóculo foi transferida com auxílio da

bomba peristáltica, que se encontra conectada ao biorreator de inóculo. A conexão entre ambos foi feita com uma mangueira de 4 mm de espessura e tamanho 30 mm.

Após o tempo de residência de 72 h, no biorreator de primeiro estágio, 2/3 (dois terços) da mistura reacional foi transferida para o biorreator de segundo estágio. O restante da mistura reacional, 1/3 (um terço) foi mantida no biorreator. A biomassa restante foi acrescida por uma carga nova de bagaço sem deslignificação (300 g) com a granulometria de 1 mm.

O gás nitrogênio foi injetado pela base do biorreator, com a pressão de 2 psi por 10 minutos para promover uma atmosfera de anaerobiose.

O biogás originado a partir da hidrólise enzimática do bagaço é retido em uma proveta de polietileno contendo 1,0 L de uma solução de hidróxido de sódio 5 M. O volume de biogás foi medido pelo deslocamento da coluna de líquido e expansão do gás.

O biorreator de segundo estágio foi dosado com os seguintes percentuais: 70% (p/v) da mistura reacional (proveniente do biorreator de primeiro estágio), 10% (p/v) do inóculo da *Metanosarcina barkeri* e 20% (p/v) da solução nutritiva contendo em (g.L<sup>-1</sup>): sulfato ferroso 1,0; sulfato de mangânes 1,0; tioglicolato de sódio 1,0

O pH foi ajustado para 7,0 com uma solução de Hidróxido de sódio 5 M, e monitorado com um auxílio de um medidor de pH da Tecnal, cujo eletrodo de vidro foi acoplado ao biorreator. A homogeneização da mistura reacional foi feita com o agitador mecânico, na rotação de 80 rpm. O gás nitrogênio foi injetado com a pressão de 2 psi por 5 minutos para promover uma atmosfera de anaerobiose e agitação da mistura reacional.

O processo de digestão anaeróbia (DA) inicia-se no biorreator de segundo estágio, recebendo 2/3 (dois terços) da



mistura reacional originária do primeiro estágio.

Após 96 h do funcionamento dos biorreatores, 2/3 (dois terços) da mistura reacional presente no biorreator 2 foi retirado com auxílio de uma bomba dosadora e o bioprocessamento entra em regime semi-contínuo.

O biogás gerado passou por um frasco de polietileno contendo 1,0 L de uma solução de hidróxido de sódio 5 M, e em seguida foi armazenado em erlenmeyer, com capacidade de 1,0 L.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta os resultados do volume de biogás, no biorreator de 1º e 2º estágios, a partir dos quais foram calculados a vazão de metano e o rendimento.

Tabela 2 – Volumes de biogás (Vbg)

Ensaio	Vbg 1º Estágio (mL)	Vbg 2º Estágio (mL)
1	364,75 ± 0,112	350,25 ± 0,112
2	360,00 ± 0,105	345,25 ± 0,112
3	250,00 ± 0,050	270,00 ± 0,050
4	120,50 ± 0,224	180,25 ± 0,112
5	345,00 ± 0,050	335,00 ± 0,050
6	453,50 ± 0,224	425,00 ± 0,050
7	501,00 ± 0,447	485,00 ± 0,050
8	265,50 ± 0,224	290,50 ± 0,224
<b>9</b>	<b>575,50 ± 0,224</b>	<b>621,50 ± 0,152</b>
10	561,50 ± 0,224	600,00 ± 0,050
11	505,00 ± 0,050	615,00 ± 0,050

Vbg: Volume de biogás (mL)

Com base nos resultados da Tabela 2 e aplicação do teste de significância, para um nível ( $\alpha = 5\%$ ). Verificou-se que o volume máximo de metano foi alcançado no ensaio 09, com os valores de  $575,50 \pm 0,224$  e  $621,20 \pm 0,152$  (mL) para um limite de confiança de 95%. O ensaio 09 foi realizado sob as condições de pH = 3,75 e 7,0 ; T = 34 °C

e Agitação = 80 rpm no biorreator de segundo estágio.

A melhor condição experimental encontrado a partir do teste de significância na qual se verificou um maior volume na produção de biogás foi no experimento 9 (nove) para os biorreatores de primeiro e segundo estágios. Conforme ilustra a figura 4 a seguir

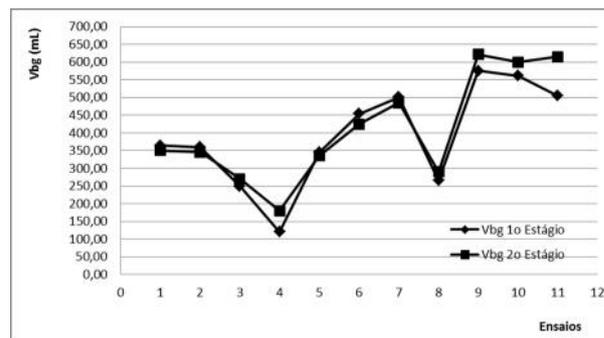


Figura 4. Resultados do Biogás

Estudos desenvolvidos por Ma *et al.* (2010) com espigas de milho, para produção de biogás em biorreatores de bancada, apresentaram valores de  $435,12 \pm 0,14$  mL enquanto que Kaparaju *et al.* (2010) trabalhando com vinhaça em biorreatores de bancada, obtiveram  $605,35 \pm 0,34$  mL.

A tabela 3 apresenta os rendimentos.  
Tabela 3 – Rendimento de Biometano

Ensaio	$Y_{CH_4}$ (g.mL <sup>-1</sup> ) 1º estágio	$Y_{CH_4}$ (g.mL <sup>-1</sup> ) 2º estágio
1	89,10 ± 0,045	35,57 ± 0,031
2	87,25 ± 0,112	35,065 ± 0,029
3	61,32 ± 0,098	27,495 ± 0,02
4	29,56 ± 0,105	18,315 ± 0,007
5	84,31 ± 0,050	34,055 ± 0,025
6	110,70 ± 0,020	43,14 ± 0,063
7	122,09 ± 0,042	49,395 ± 0,002
8	64,88 ± 0,054	29,515 ± 0,007
<b>9</b>	<b>140,51 ± 0,040</b>	<b>63,13 ± 0,05</b>
10	137,30 ± 0,089	61,05 ± 0,022
11	123,45 ± 0,020	62,62 ± 0,05

$Y_{CH_4}$ : Rendimento (mg.mL<sup>-1</sup>)



O ensaio 09 apresentou um melhor rendimento pois as condições de pH foi ajustado para o valor de 3,75 e 7,0 isso fez com que o fungo produtor das enzimas lignilolíticas (*Neocallimastix frontalis*) pudessem degradar uma fração maior de celulose, hemicelulose e lignina, na fase de anaerobiose aumentando-se as frações dos ácidos orgânicos, açúcares, xilose, glicose e frutose. Isso possibilitou uma maior produção de biogás na fase de metanogênese.

#### 4. CONCLUSÕES

A produtividade total de biogás foi de 1.197,0 mililitros que expresso em biometano foi da ordem de 0,814 L.CH<sub>4</sub>.Kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, isto significa dizer que, para cada quilo de bagaço de cana sem deslignificação foram produzidos 0,814 L.CH<sub>4</sub>.Kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> de biometano. Levando-se em consideração respectivamente as eficiências dos biorreatores de primeiro e segundo estágios de 76,5% e 70%. A eficiência de 70% do biorreator de segundo estágio justifica-se pelo fato da mistura reacional originária do biorreator de primeiro estágio, ter apresentado uma conversão de 76,5% em termos de conversão da celulose nos monômeros de glicose.

O percentual inicial da fração de celulose no biorreator de primeiro estágio, presente no bagaço de cana pré-tratado e sem deslignificação foi de 76,5,0% ± 1,75, após o tempo de retenção de 120 h. Parte da fração que não foi consumida foi transferida ao biorreator de segundo estágio, juntamente com os monômeros de glicose e xilose, ou seja, hexoses e aldopentoses. As arqueias metanogênicas (*Methanosarcina* e *Methanosaeta*) degradaram apenas os monossacarídeos, e não as frações de celulose, hemicelulose e lignina, que também estavam presentes na mistura reacional. Uma alternativa para contornar as eficiências seria funcionar o bioprocessamento

com o bagaço de cana pré-tratado e *deslignificado*, uma vez que o fungo *Neocallimastix frontalis* apresentou baixa expressividade para as enzimas ligninolíticas. Isto elevaria a eficiência de conversão do bioprocessamento na produção de biogás a partir de resíduo lignocelulósico em estudo.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*Tese de doutorado:*

BORGES, E.S.M. Tratamento de lodo anaeróbio a partir da queima do biogás produzido em reator UASB objetivando a higienização e melhoria da disponibilidade e biodegradabilidade da fração orgânica. Tese de doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, UFMH, 2004.

*Artigo periódico:*

BORJA, R.; GONZÁLEZ, E.; MILLAN, F. A performance evaluation of a mesophilic anaerobic fluidized- Bed reactor Treating wastewater derived from the production of proteins from extracted sunflower. Facultad de Ciencias. Spain, p. 45-52, 2008.

*Livro:*

CHERNICHARO, C.A.L. Princípio do tratamento biológico de águas residuárias- Reatores anaeróbios, v.5, 2ª edição, Belo Horizonte: Ed. UFMG, 380 p., 2007.

*Dissertação mestrado:*

GONÇALVES, S.C. Efeito da agitação mecânica em digestores anaeróbios de resíduos sólidos orgânicos. *Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil, UFC*. Fortaleza, p.86-90, 2005.

*Artigo periódico:*

KAPARAJU, P.; SERRANO, M.; ANGELIDAKI, I. Optimization of biogas production from wheat straw stillage in



UASB reactor, *Institute of Environment & Resources*, 2010

*Artigo periódico:*

KLIMIUK, E.; POKOJ, T.; BUDZYNSKI, W.; DUBIS, B. Theoretical and observed biogas production from plant biomass of different fibre contents, *Bioresource Technology*, 2010

*Artigo periódico:*

MATA-ALVAREZ J.; CECCHI F.; PAVAN, P. Anaerobic digestion of the bacelona central food market organic wastes. Plans design and feasibility study. *Bioresource Technology*, England, V.42, p. 33-42, 2000