



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**

**CAMPUS ERECHIM**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

**CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

**TAÍS CARLA GASPARETO**

**EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO POR ULTRASSOM**

**PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS**

**ERECHIM**

**2019**

**TAÍS CARLA GASPARETO**

**EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO POR ULTRASSOM  
PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Orientadores: Prof. Dr. Airton Kunz

Profa. Dra. Helen Treichel

ERECHIM-RS

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**

Rodovia ERS 135, km 72, nº 200

CEP: 99700-970

Caixa Postal 764 Erechim - RS Brasil

**Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Gaspareto, Taís Carla  
EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO POR  
ULTRASSOM PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS / Taís Carla  
Gaspareto. -- 2019.  
73 f.

Orientador: Prof. Dr. Airton Kunz.  
Co-orientador: Profa. Dra. Helen Treichel.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da  
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia Ambiental-PPGCTA, Erechim, RS, 2019.

1. Hidrólise. Avicultura. Sonoquímica. Cinética.. I.  
Kunz, Airton, orient. II. Treichel, Helen, co-orient.  
III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

---

**TAÍS CARLA GASPARETO**

**EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO POR ULTRASSOM  
PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Erechim/RS - UFFS, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental, defendido em banca examinadora em 22/02/2019.

Orientadores:

Prof. Dr. Airton Kunz

Profa. Dra. Helen Treichel

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Airton Kunz

Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helen Treichel

Orientadora

---

Dr<sup>a</sup>. Fabiane Goldschmidt Antes

Membro externo

---

Dr. Ricardo L.R Steinmetz

Membro externo

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família, em especial, aos meus pais Ari e Noeli, minha irmã Suzana, minha avó Adiles e meu avô Adelino (in memoria) que, no decorrer da minha vida, proporcionaram-me, além de extenso carinho e amor, os conhecimentos da integridade. Vocês são minha inspiração, meu orgulho, minha força diária, luz nessa caminhada e principais responsáveis pela realização desse sonho. EU AMO MUITO VOCÊS.

Aos meus orientadores Prof<sup>o</sup>. Dr. Airton Kunz e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helen Treichel, pela compreensão, transferência de experiência e conhecimento de grande valia em minha vida acadêmica e profissional.

À todos os colegas e amigos do LEAA – Embrapa Suínos e Aves, especialmente Alice, Bruno, Deisi, Fernanda, Gabriela, Heitor, Helga, Rafael, William. Também aos funcionários Ricardo e Fabiane por todo conhecimento compartilhado.

Aos integrantes do grupo de pesquisa LAMIBI – UFFS pela compreensão durante a fase experimental deste estudo, especialmente a Aline e Thamarys pela disposição em ajudar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Embrapa Suínos e Aves e Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

Em decorrência ao sistema intensivo de produção de frangos de corte, são geradas elevadas quantidades de resíduos com potencial poluidor, como a cama de frango. A digestão anaeróbia é uma tecnologia promissora para o tratamento de resíduos provenientes da agroindústria brasileira. No entanto, quando aplicada a cama de frango apresenta limitações devido as características recalcitrantes provenientes da fração lignocelulósica presente na mesma, sendo aconselhável a aplicação de um pré-tratamento. Para este estudo, inicialmente objetivou-se avaliar as diferenças na produção de biogás utilizando ensaios cinéticos de potencial de produção de biogás (PBB) da maravalha e da cama de frango com 2, 12 e 18 lotes de produção. Posteriormente realizou-se a avaliação preliminar da influência de diferentes pré-tratamentos com peróxido de hidrogênio e ultrassom nos parâmetros cinéticos de produção de metano a partir da digestão anaeróbia de cama de frango com 12 lotes e por fim, utilizando metodologia de planejamento de experimentos, avaliou-se a influência do pré-tratamento com ultrassom na solubilização de açúcares redutores totais (ART) e carbono orgânico Solúvel (COS) e na cinética de produção de biogás a partir da cama de frango com 12 lotes. A maravalha apresentou o PBB de  $75 \pm 2 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{g}_{\text{SVadic}}^{-1}$ . Para a cama de frango com 2, 12 e 18 lotes encontrou-se respectivamente  $165 \pm 10$ ,  $156 \pm 21$  e  $172 \pm 23 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{g}_{\text{SVadic}}^{-1}$ . Esses valores não diferiram estatisticamente ( $p \leq 0.05$ ), sendo definida a cama de frango com 12 lotes para a condução dos pré-tratamentos. Na avaliação preliminar, o peróxido de hidrogênio não apresentou influência na cinética de produção de metano. Já o ultrassom ocasionou redução da fase adaptativa ( $\text{lag} - \lambda$ ), refletindo na redução de tempo da ocorrência das velocidades máximas de produção de metano ( $\text{dia da } m$ ). A partir dos resultados promissores da etapa preliminar, o pré-tratamento utilizando ultrassom foi avaliado por meio de um DCC 2<sup>2</sup>. Aumento na concentração de ART e COS, bem como mudanças estruturais aparentes, tornaram a cama de frango um substrato mais propício a produção de biogás. O potencial máximo de produção de biogás da cama de frango foi melhorado em 10% no ensaio E2 (100% amplitude e 20% matéria seca), evidenciando que o ultrassom proporcionou mudanças na cinética de produção de biogás da cama de frango. Os resultados obtidos demonstram que o pré-tratamento da cama de frango com ultrassom é uma alternativa potencialmente válida para a produção de biogás.

**Palavras-chave:** Hidrólise. Avicultura. Sonoquímica. Cinética.

## ABSTRACT

Due to the intensive broilers production system, high amounts of residues with polluting potential such as poultry litter are generated. Anaerobic digestion is a promising technology for the treatment of residues from the Brazilian agroindustry. However, when applied to poultry litter, it has limitations because of its recalcitrant characteristics and the application of pretreatments is recommended. The present study aimed to evaluate the differences in the biochemical methane potential (BMP) of wood shavings and poultry litter with 2, 12 and 18 production lots. After that a preliminary evaluation of the influence of different pretreatments with hydrogen peroxide and ultrasound in the kinetic parameters of methane production of poultry litter with 12 lots was performed. Additionally, using design of experiments methodology, the influence of the pre-treatment with ultrasound in the solubilization of total reducing sugars (TRS) and soluble organic carbon (SOC), in the production of biogas and kinetics of biogas production from the poultry litter with 12 lots was studied. The wood shavings showed the BMP of  $75 \pm 2 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{g}_{\text{SVadic}}^{-1}$ . For the poultry litter with 2, 12 and 18 lots,  $165 \pm 10$ ,  $156 \pm 21$  and  $172 \pm 23 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{g}_{\text{SVadic}}^{-1}$  were respectively found. These values did not differ statistically ( $p \leq 0.05$ ). The poultry litter was defined as 12 lots for the pretreatments. In the preliminary evaluation, the hydrogen peroxide had no influence on the kinetics of methane production. The ultrasound brought a reduction of the adaptive phase (lag-  $\lambda$ ), reflecting in the reduction of the time occurrence of the maximum methane production velocity. The promising results of the preliminary step, pretreatment using ultrasound was assessed by means of a central composite design (CCD) 2<sup>2</sup>. Enhancements in the amount of ART and COS, as well as apparent structural changes, have made poultry litter a suitable substrate to biogas production. The maximum biogas production potential of poultry litter was improved by 10% in the E2 test (20% amplitude and 10% dry matter), evidencing that ultrasound provides changes in the kinetics of biogas production of poultry litter. The results obtained demonstrate that pre-treatment of poultry litter with ultrasound is a promising alternative for the biogas production.

**Keywords:** Hydrolysis. Poultry farming. Sonochemical. Kinetic.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Rotas metabólicas simplificadas das fases de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. ....	19
Figura 2: Crescimento relativo entre as arqueas metanogênicas em relação à temperatura. Fonte: Adaptado de Lettinga, Rebac e Zeeman (2001). ....	22
Figura 3: Ilustração dos principais componentes do material lignocelulósico presentes na maravalha. ....	24
Figura 4: Diagrama esquemático do pré-tratamento de material lignocelulósico para produção de biogás. ....	26
Figura 5: Formação e colapso das bolhas resultantes da sonicação. ....	30
Figura 6: Curvas típicas de produção cumulativa de biogás/metano ....	33
Figura 7: Curva de crescimento microbiano. ....	34
Figura 8: Fluxograma das etapas desenvolvidas no presente trabalho. ....	35
Figura 9: Potencial Bioquímico de Biogás da maravalha e cama de frango com 2, 12 e 18 lotes de produção. ....	45
Figura 10: Perfil da produção acumulada de CH <sub>4</sub> para os pré-tratamentos da cama de frango de 12 lotes. ....	47
Figura 11: Superfície de resposta para influência da amplitude ultrassônica e da matéria seca da cama de frango na solubilização de ART. ....	51
Figura 12: Superfície de resposta para influência da matéria seca e amplitude ultrassônica na solubilização de COS. ....	54
Figura 13: Perfil da produção acumulada de biogás para os pré-tratamentos da cama de frango de 12 lotes. ....	57
Figura 14: Superfície de resposta para influência da matéria seca e amplitude ultrassônica na energia aplicada durante o pré-tratamento da amostra de cama de frango. ....	60
Figura 15 – Imagem obtida por MEV para a amostra de cama de frango nas diferentes quantidades de matéria seca e condições de pré-tratamento com ultrassom. <b><u>Erro! Indicador não definido.</u></b> 6+	

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição da cama de frango com 12 lotes de produção tendo como material inicial maravalha. ....	17
Tabela 2: Matriz do DCC apresentando os valores codificados e reais.....	40
Tabela 3: Características físicas e químicas das amostras de cama de frango com 2,12 e 18 lotes de produção. ....	43
Tabela 4: PBB para os diferentes lotes de cama de frango.....	45
Tabela 5: Parâmetros cinéticos obtidos com o uso o Modelo de Gompertz para os parâmetros de potencial máximo de produção de metano para os pré-tratamentos da cama de frango de 12 lotes. ....	47
Tabela 6: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados obtidos para a solubilização de Açúcar Redutor Total (ART) após pré-tratamento ultrassônico.....	49
Tabela 7: Análise de variância dos dados obtidos, para validação da significância estatística a $p < 0,05$ . ....	50
Tabela 8: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados obtidos para a solubilização de Carbono Orgânico Solúvel (COS) após pré-tratamento ultrassônico.....	52
Tabela 9: Análise de variância dos dados obtidos, para validação da significância estatística a $p < 0,05$ . ....	53
Tabela 10: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados dos parâmetros cinéticos obtidos com o uso o Modelo de Gompertz para os parâmetros de potencial máximo de produção de metano para os pré-tratamentos por ultrassom da cama de frango. ....	55
Tabela 11: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados da energia aplicada para os pré-tratamentos por ultrassom da cama de frango. ....	58
Tabela 12: Análise de variância dos dados obtidos, para validação da significância estatística a $p < 0,05$ . ....	59

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.1 OBJETIVOS .....	15
1.1.1 Objetivo Geral.....	15
1.1.2 Objetivos Específicos .....	15
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>16</b>
2.1 CAMA DE FRANGO.....	16
2.1.1 Reutilização da cama de frango.....	17
2.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	18
2.2.1 Hidrólise .....	19
2.2.2 Acidogênese .....	20
2.2.3 Acetogênese.....	20
2.2.4 Metanogênese .....	20
2.3 LIMITAÇÕES DA DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	21
2.3.1 pH, alcalinidade e ácidos de cadeia curta.....	21
2.3.2 Temperatura.....	21
2.3.3 Relação C/N.....	22
2.3.4 Biodegradabilidade do substrato .....	23
2.4 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA.....	23
2.4.1 Celulose .....	24
2.4.2 Hemicelulose .....	24
2.4.3 Lignina.....	25
2.5 DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA.....	25
2.5.1 Pré-tratamentos para biomassa lignocelulosica.....	26
2.5.2 Ultrassom.....	27
2.5.2.1 Cavitação .....	28
2.5.2.2 Transdutores .....	27
2.5.3 PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO .....	30
2.6 ENSAIOS CINÉTICOS DE POTENCIAL BIOQUÍMICO DE BIOGÁS (PBB) E MODELO MATEMÁTICO DE GOMPERTZ.....	31
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
3.1 COLETA E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	35
3.1.1 Coleta das amostras .....	35

3.1.2 Metodologias analíticas para caracterização das amostras.....	36
3.2 AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E/OU METANO: ENSAIOS CINÉTICOS.....	36
3.2.1 Análise do biogás .....	37
3.3 AVALIAÇÕES PRELIMINARES DE PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO UTILIZANDO ULTRASSOM E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO .....	37
3.3.1 Pré-tratamento preliminar com ultrassom e peróxido de hidrogênio ....	37
3.3.2 Ensaio cinético de Potencial Bioquímico de Metano (PBM).....	38
3.3.3 Modelo Matemático de Gompertz.....	39
3.4 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL 2 <sup>2</sup> PARA AVALIAÇÃO DO EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO COM ULTRASSOM...	39
3.4.1 Determinação de Açúcares Redutores Totais (ART) .....	40
3.4.2 Determinação de Carbono orgânico Solúvel (COS).....	41
3.4.3 Ensaio cinético de Potencial Bioquímico de Biogás (PBB) e Modelo Matemático de Gompertz .....	41
3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	41
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	42
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	43
4.2 PBB DA MARAVALHA E DA CAMA DE FRANGO COM DIFERENTES LOTES DE PRODUÇÃO.....	44
4.3 ESTUDO PRELIMINAR COM ULTRASSOM E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO.....	46
4.4 ULTRASSOM COMO PRÉ-TRATAMENTO DE CAMA DE FRANGO AVALIADA POR MEIO DE DCC 2 <sup>2</sup> .....	49
4.4.1 Solubilização de Açúcar Redutor Total (ART) da cama de frango após pré-tratamento com ultrassom.....	49
4.4.2 Solubilização de Carbono Orgânico Solúvel (COS) após pré-tratamento ultrassônico.....	52
4.4.3 Ensaio cinético de Potencial Bioquímico De Biogás (PBB) após pré-tratamento ultrassônico.....	54
4.4.4 Energia Aplicada .....	60
4.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	60
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>64</b>

5.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	64
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Impulsionada pelo aumento do consumo de carne de frango e seus derivados, a indústria avícola vem crescendo rapidamente (BÖJTI et al., 2017). Com uma produção de 13,05 milhões de toneladas de carne de frango anualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial (ABPA, 2017).

A avicultura está presente em todas as regiões brasileiras, sendo que o Sul do país destaca-se por apresentar cerca de 64,35% do abate de animais, seguido pela região sudeste (17,08%), Centro-Oeste (14,89%), Nordeste (2,3%) e Norte (1,36%) (ABPA, 2017). Apesar de ser uma atividade lucrativa, a avicultura resulta na geração de grandes quantidades de resíduos com potencial poluente quando não corretamente manejados (MATUSIAK et al., 2016), como é o caso da cama de frango que é uma das principais fontes de resíduos dessa atividade (BURRA et al., 2016).

A indústria avícola busca constantemente oportunidades para tornar o setor ainda mais rentável. A geração sustentável de energia renovável, utilizando a cama de frango como substrato para a digestão anaeróbia apresenta-se como uma alternativa interessante e promissora para agregar valor à produção (RICO-CONTRERAS et al., 2017).

No entanto, a rota anaeróbia aplicada à cama de frango é caracterizada por algumas limitações, como uma velocidade de hidrólise extremamente baixa na cama seca e degradação pouco eficiente (SHEN; ZHU, 2018). Além disso, a cama de frango possui em sua composição biomassa lignocelulósica (maravalha) que vem ganhando muita atenção como matéria-prima para produzir bioenergia utilizando a digestão anaeróbia (SAWATDEENARUNAT et al., 2015).

Os componentes de carboidratos da lignocelulose (celulose e hemicelulose) são fermentáveis em sua forma natural após a hidrólise, o que torna a biomassa lignocelulósica uma matéria-prima adequada para o processo de digestão anaeróbia (PATIL et al., 2016). Porém, o grande entrave na conversão de compostos lignocelulósicos em biogás se deve à forte ligação química entre lignina (recalcitrante), celulose e hemicelulose, sendo interessante a aplicação de um pré-tratamento antes da digestão anaeróbia para facilitar a ação dos microrganismos envolvidos no processo de digestão (AMIN et al., 2017; KUMAR et al., 2009; YADAV et al., 2019).

O pré-tratamento da cama de frango visa reduzir as barreiras estruturais presentes na biomassa lignocelulósica expondo as cadeias poliméricas de celulose e hemicelulose à

degradação anaeróbia, acelerando a velocidade de hidrólise e produção de biogás (PATIL et al., 2016).

O ultrassom é um pré-tratamento que pode ser aplicado ao material lignocelulósico para redução da recalcitrância e aumento da área biodisponível do substrato através da quebra estrutural da lignina (SINGH; SUHAG; DHAKA, 2015), acelerando o processo de hidrólise e melhorando a produção final de biogás ou metano (FERNANDES et al., 2009; ZOU et al, 2016).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar pré-tratamentos da cama de frango visando o aumento da produção de biogás e melhoria na cinética de degradação do substrato.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar as diferenças entre a produção de biogás da maravalha e da cama de frango com 2, 12 e 18 lotes de produção utilizando ensaios cinéticos de Potencial Bioquímico de Biogás (PBB).
- Avaliar a influência de pré-tratamentos com peróxido de hidrogênio e ultrassom nos parâmetros cinéticos de produção de metano a partir da digestão anaeróbia de cama de frango.
- Avaliar a influência do pré-tratamento com ultrassom na solubilização da cama de frango;
- Investigar a estabilidade e o desempenho da cama de frango pré-tratada com ultrassom na digestão anaeróbia utilizando-se testes cinéticos de PBB

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 CAMA DE FRANGO

A cama de frango é um material friável e heterogêneo, gerado após um ciclo de produção de frangos e corresponde a soma do material utilizado como cama juntamente com as fezes dos animais, pele morta, restos de alimento, água, penas e a microbiota resultante (BURRA et al., 2016; LYNCH et al., 2013; MANTE; AGBLEVOR, 2010), todos com diferentes graus de degradabilidade (KELLEHER et al., 2002). Além disso, também pode conter resíduos de antibióticos, utilizados para o tratamento de infecções, e resíduos de pesticidas e herbicidas, aplicados no cultivo dos grãos utilizados na fabricação de alimentos para os animais (JENKINS et al., 2006).

Utilizada no piso de galpões de criação a cama de frango tem a função de absorver umidade, fornecer isolamento térmico, amortecimento da terra/piso de concreto e permitir que as aves demonstrem alguns comportamentos naturais, como siscar e banhos de pó (COLLETT, 2012; DUNLOP; BLACKALL; STUETZ, 2016).

A composição físico-química da cama de frango depende de certos parâmetros, como o tipo de material a partir do qual a cama é produzida, por quantos lotes consecutivos ela foi empregada, as práticas de gestão utilizadas durante a produção das aves, a fase de crescimento do animal, a acumulação de excretas, adição de umidade (excreção de aves, condensação e vazamento de bebedores), perda de umidade devido à ventilação e atividades das aves como siscar, sentar e usar preferencialmente algumas partes do galpão (DALÓLIO et al., 2017; DUNLOP; BLACKALL; STUETZ, 2016; GARCIA et al., 2012).

Para que um material seja utilizado como cama, o mesmo deve apresentar boa capacidade de absorção sem endurecimento, liberar facilmente a umidade presa, ter baixa condutividade térmica e, o mais importante, ser de baixo custo (DUNLOP; BLACKALL; STUETZ, 2016).

Os materiais utilizados unicialmente como cama são aqueles dispostos sobre o piso do aviário no início do ciclo de produção e são tipicamente compostos de biomassa lignocelulósica, como maravalha, serragem, palha de trigo, cascas de amendoim, cascas de arroz, entre outros, dependendo da disponibilidade na região de produção avícola (COLLETT, 2012; DUNLOP; BLACKALL; STUETZ, 2016; GARCÊS et al., 2017; PAIN; MENZI, 2011). Segundo Perondi et al. (2017) a cama de frango é composta por 29,8 % de hemicelulose, 19,3% de celulose e 12,7% de lignina.

### 2.1.1 Reutilização da cama de frango

A reutilização da cama de frango em mais de um lote de produção é uma alternativa à redução do impacto ambiental provindo do acúmulo deste resíduo, porém devido ao modelo intensivo de produção, grandes quantidades continuam sendo geradas. Segundo Dalólio et al. (2017), os dados disponíveis na literatura em relação à quantidade de cama de frango gerada por ave em um ciclo de produção de 42 dias varia de 1,5 a 5,7/kg de cama /ave.

As principais opções para a exploração e eliminação da cama de frango incluem usos agronômicos, compostagem e incineração. No entanto, os riscos elevados de contaminação da água, do ar e do solo associados aos métodos de disposição tradicionais atuais levaram a dúvidas contínuas e tornaram essas opções menos aceitáveis (DALÓLIO et al., 2017).

O uso da cama de frango como fertilizante orgânico para enriquecimento do solo é muito comum, pois sua composição é abundante em nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio como mostra a Tabela 1. Porém, se aplicada em excesso pode ocasionar eutrofização de corpos d'água, disseminação de agentes patogênicos, produção de substâncias fitotóxicas, poluição do ar e emissão de gases de efeito estufa (BAYRAKDAR et al., 2017; BURRA et al., 2016; KELLEHER et al., 2002; SHEN; ZHU, 2017).

Tabela 1: Composição da cama de frango com 12 lotes de produção tendo como material inicial maravalha.

<b>Parâmetro</b>	<b>Concentração</b>
ST (g kg <sup>-1</sup> )	760
SV (g kg <sup>-1</sup> )	490
SV/ST (g kg <sup>-1</sup> )	0,6
K (g kg <sup>-1</sup> )	23
P (g kg <sup>-1</sup> )	13
N (g kg <sup>-1</sup> )	24
C (g kg <sup>-1</sup> )	222
C/N	9

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

A pirólise, processo utilizado para produzir energia com o aquecimento da cama de frango a altas temperaturas e restrição de oxigênio, resulta em um impacto negativo no meio

ambiente, devido à emissão de GEE produzidos na etapa de combustão (MA; PAUDEL; CUI, 2018). Assim, os problemas ambientais associados aos métodos tradicionais de descarte da cama de frango estimularam o interesse no uso de alternativas ambientalmente adequadas.

A digestão anaeróbia aplicada à cama de frango é considerada um processo promissor, pois os benefícios associados incluem redução de patógenos e gases do efeito estufa, remoção de odores, geração de biofertilizante rico em nutrientes e recuperação de energia na forma de metano (HOSSEINI KOUAIE et al., 2018; POLESEK-KARCZEWSKA et al., 2018; RICO-CONTRERAS et al., 2017). Essa energia pode ser utilizada como fonte de calor destinada ao aquecimento do aviário que é um dos principais custos operacionais para os produtores (CHAUMP et al., 2018).

## 2.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é um processo biológico de ocorrência natural destinado a degradação de substratos orgânicos e é realizada por microrganismos de cultura mista na ausência de oxigênio tendo como produto final o biogás (KHANAL, 2008).

O biogás é composto por 50-70% de gás metano ( $\text{CH}_4$ ), 30-50% de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e apresenta gases traço como sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ), amônia ( $\text{NH}_3$ ), hidrogênio ( $\text{H}_2$ ), oxigênio ( $\text{O}_2$ ), nitrogênio ( $\text{N}_2$ ), monóxido de carbono ( $\text{CO}$ ), hidrocarbonetos, compostos orgânicos voláteis (COV) e siloxanos (ANGELIDAKI et al., 2018; BÖRJESSON; MATTIASSON, 2008).

A produção de biogás consiste em uma fonte versátil de energia renovável, pois o metano pode ser usado para a geração de calor, energia e como combustível para veículos (MATHERI et al., 2017; WEILAND, 2010), sendo considerado fundamental na transição para a independência dos combustíveis fósseis (ARYAL et al., 2018).

A digestão anaeróbia depende da atividade sinérgica dos microrganismos envolvidos no processo e ocorre em quatro etapas complexas que seguem sucessivamente: Hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, como mostrado na Figura 1 (ARYAL et al., 2018; CHERNICHARO, 2010).

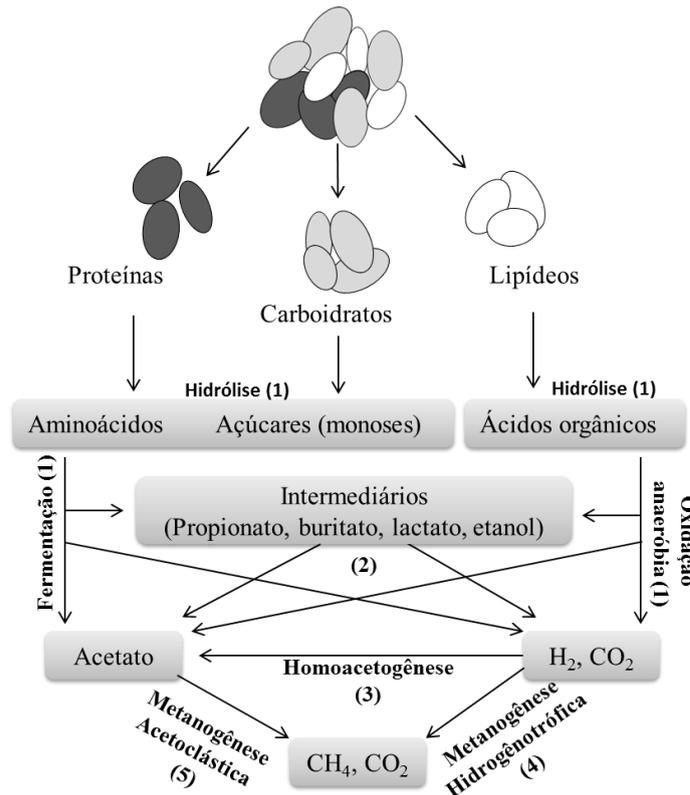


Figura 1: Rotas metabólicas simplificadas das fases de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese.

Fonte: Adaptado de Batstone et al. (2015); Khanal (2008).

### 2.2.1 Hidrólise

A etapa de hidrólise é responsável tanto pela degradação do material orgânico insolúvel quanto dos compostos de alto peso molecular, como lípidos, polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos, em substâncias orgânicas solúveis (APPELS et al., 2008). Os microrganismos hidrolíticos excretam enzimas (exoenzimas) para decompor a estrutura complexa de polímeros orgânicos e convertê-los em monômeros de baixo peso molecular ou solúveis (HOSSEINI KOUAIE et al., 2018).

A complexidade dos constituintes do substrato, como carboidratos, proteínas lipídios e tores de lignina determinará a biodegradabilidade e consequentemente a velocidade do processo de digestão anaeróbia (CHOONG; CHOU; NORLI, 2018; JANG et al., 2013). Assim, a biodisponibilidade da matéria orgânica é fundamental para que os microrganismos possam metabolizar o substrato, resultando em um processo de digestão anaeróbia bem sucedido (CHOONG; CHOU; NORLI, 2018).

### 2.2.2 Acidogênese

Os produtos solúveis oriundos da fase de hidrólise são metabolizados no interior das células das bactérias fermentativas acidogênicas, sendo convertidos em diversos compostos mais simples. Os compostos produzidos incluem ácidos graxos voláteis, álcoois, ácido láctico, gás carbônico, hidrogênio, amônia e sulfeto de hidrogênio, além de novas células bacterianas (CHERNICHARO, 2010).

Os microrganismos acidogênicos, são em maior parte anaeróbios estritos, porem cerca de 1% consiste em bactérias facultativas como *Ruminococcus*, *Paenibacillus*, *Streptococci* etc. (ARYAL et al., 2018; ZIGANSHIN et al., 2013). Essas bactérias apresentam um metabolismo que utiliza reações de oxidação para sintetizar o substrato. Esta situação singular torna-se importante uma vez que as bactérias anaeróbias são protegidas contra a exposição ao oxigênio eventualmente presente no meio (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994).

### 2.2.3 Acetogênese

As bactérias acetogênicas como *Aminobacterium*, *Acidaminococcus*, *Desulfovibrio* etc. (ZIGANSHIN et al., 2013), são responsáveis pela oxidação dos produtos gerados na fase acidogênica em substrato apropriado para as bactérias metanogênicas, resultando em dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), hidrogênio ( $\text{H}_2$ ), acetato e ácidos orgânicos de cadeia curta (SOUZA, 2005). Nesse ponto, a pressão parcial do hidrogênio é decisiva (APPELS et al., 2008).

Uma concentração de hidrogênio muito elevada impede a conversão dos compostos intermediários da acidogênese resultando em acúmulo de ácidos orgânicos que inibem a metanogênese, tais como o ácido propiônico, ácido isobutírico, ácido isovalérico e ácido capróico (CHERNICHARO, 2010).

### 2.2.4 Metanogênese

A etapa final no processo de degradação anaeróbia de compostos orgânicos em metano e dióxido de carbono é operada por microrganismos metanogênicos dentro do domínio *archae* (grupo archeobactéria) diferente das bactérias típicas (eubactérias) e ocorre em condições estritamente anaeróbias (CHERNICHARO, 2010).

Nessa etapa o metano é produzido por dois grupos de arqueas metanogênicas. O primeiro grupo converte acetato em metano e dióxido de carbono (metanogênicas

acetoclásticas) e o segundo grupo utiliza hidrogênio como doador de elétrons e dióxido de carbono como aceptor para produzir metano (metanogênicas hidrogênotróficas) (APPELS et al., 2008; BORJA; RINCÓN, 2017).

## 2.3 LIMITAÇÕES DA DIGESTÃO ANAERÓBIA

Para o sucesso da digestão anaeróbia são necessárias condições favoráveis para o bom desempenho metabólico dos microrganismos anaeróbios, uma vez que fatores como pH, alcalinidade, ácidos graxos voláteis, temperatura, biodegradabilidade do substrato e relação C/N precisam ser considerados.

### 2.3.1 pH, alcalinidade e ácidos de cadeia curta

As bactérias envolvidas na digestão anaeróbia possuem preferências distintas para faixas ótimas de pH e podem ser classificadas como produtoras de ácidos (ácidogênicas) e produtoras de metano (metanogênicas) (BORJA; RINCÓN, 2017). Enquanto as acidogênicas trabalham com pH entre 5,2 a 6,3 (podendo transformar o substrato mesmo com pH ligeiramente elevado), as metanogênicas são extremamente sensíveis a variações e necessitam de faixas restritas de pH entre 6,7 e 7,5 (WELLINGER; MURPHY; BAXTER, 2013).

Os principais determinantes para o valor do pH em sistemas anaeróbios são os metabólitos ácidos e alcalinos formados com a degradação do substrato (WEILAND, 2010). Os ácidos de cadeia curta como o acético, propiônico e butírico, resultantes das etapas de acidogênese e acetogênese desempenham um papel fundamental na formação de metano (BHUI et al., 2018). Porém, sua produção excessiva pode exceder a capacidade de tamponamento, ou seja, alcalinidade do sistema, ocasionando declínio no valor de pH, inibindo a atividade metanogênica (CHERNICHARO, 2010).

### 2.3.2 Temperatura

A temperatura influencia consideravelmente o desempenho da digestão anaeróbia na formação de biogás (TIAN et al, 2018). Os microrganismos envolvidos no processo podem ser classificados em função de sua faixa ótima de temperatura em psicrófilicos, mesófilicos e termófilicos (KHANAL, 2008).

Os microrganismos psicrófilicos tem sua atividade metabólica ótima em temperaturas

abaixo de 20°C, em temperaturas mesofílicas, os microrganismos realizam o processo de fermentação nas faixas de 20 à 45°C e as temperaturas termofílicas variam de 50 à 65°C (BORJA; RINCÓN, 2017; DROSG, 2013).

A Figura 2 apresenta o crescimento relativo das arqueas metanogênicas conforme sua faixa de temperatura ótima de crescimento. Embora o pico de crescimento dos microrganismos seja maior em temperaturas termofílicas, a manutenção do processo em faixas mesofílicas proporciona maior estabilidade e controle do processo, além de custos reduzidos com aquecimento (MAO et al., 2015).

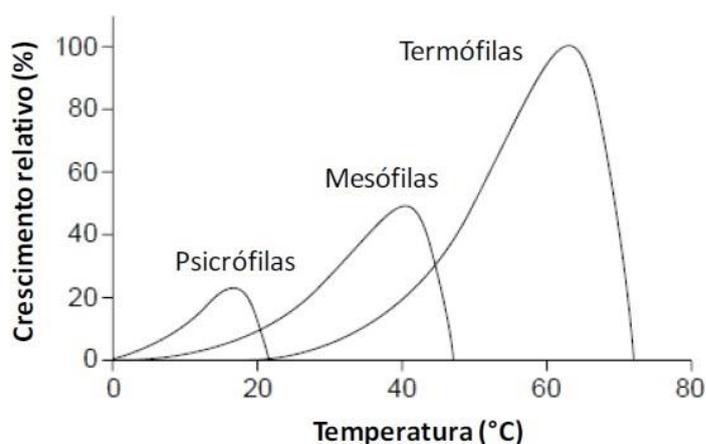


Figura 2: Crescimento relativo entre as arqueas metanogênicas em relação à temperatura. Fonte: Adaptado de Lettinga, Rebac e Zeeman (2001).

### 2.3.3 Relação C/N

A proporção adequada de nutrientes é um pré-requisito à estabilidade do processo. A relação C/N (carbono/nitrogênio) é um indicador importante para o controle de sistemas de digestão anaeróbia, pois o equilíbrio entre esses nutrientes é essencial para o bom desempenho dos microrganismos (HASSAN; WILLIAMS; JAISWAL, 2018). Enquanto o carbono fornece energia, o nitrogênio auxilia no desenvolvimento de novas células microbianas (WANG et al., 2012).

A relação C/N mais adequada é de 20 a 30 ou 20 a 35, sendo 25 a concentração ótima normalmente utilizada (BORJA; RINCÓN, 2017; BOROWSKI; DOMAŃSKI; WEATHERLEY, 2014). Um dos desafios na digestão da cama de frango é devido sua baixa relação C/N (<10). Quando a relação C/N é muito baixa (pouco carbono e muito nitrogênio) o sistema fica propício a formação de amônia livre (NH<sub>3</sub>) que influencia negativamente no

metabolismo e na estrutura dos microrganismos, comprometendo o crescimento celular. Uma relação C/N elevada (muito carbono e pouco nitrogênio) pode reduzir a atividade dos microrganismos levando a degradação incompleta do carbono e baixa produção de biogás (KHANAL, 2008).

### **2.3.4 Biodegradabilidade do substrato**

Um processo de digestão anaeróbia equilibrado exige que todas as etapas de degradação ocorram sintrófica e sincronizadamente (BORJA; RINCÓN, 2017). Para isso as características do substrato exercem fundamental importância, pois definem o potencial e a velocidade de degradação anaeróbia (STEINMETZ, 2016).

Quando o substrato apresenta elevada biodegradabilidade as primeiras etapas da digestão anaeróbia (hidrólise e acidogênese) ocorrem muito rapidamente. Isso aumenta a quantidade de ácidos e reduz o pH no sistema, podendo inibir a atividade metanogênica (BORJA; RINCÓN, 2017).

Substratos com características recalcitrantes como a biomassa lignocelulósica dificultam a hidrólise e limitam a quantidade de substrato nas etapas seguintes, refletindo negativamente na produção de biogás (BORJA; RINCÓN, 2017; SAWATDEENARUNAT et al., 2015). Portanto, exigem longos tempos de retenção hidráulica sendo necessário grandes volumes de reator, o que aumenta os custos de construção e manutenção (LIPPERT et al., 2018).

## **2.4 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA**

A biomassa lignocelulósica refere-se à polímeros presentes na matéria seca da planta e sua composição é caracterizada principalmente pela presença celulose (30 a 60%), hemicelulose (20 a 40%) e lignina (15 a 25%) (HOSSEINI KOUPAIE et al., 2018) que variam quantitativa e qualitativamente de acordo com o material vegetal (FERNANDES et al., 2009). Esses polímeros são organizados em estruturas tridimensionais complexas e não uniformes com diferentes graus de recalcitrância que decorrem da cristalinidade da celulose, hidrofobicidade da lignina, e encapsulamento de celulose pela lignina-hemicelulose como mostra a Figura 3 (ISIKGOR; BECER, 2015).

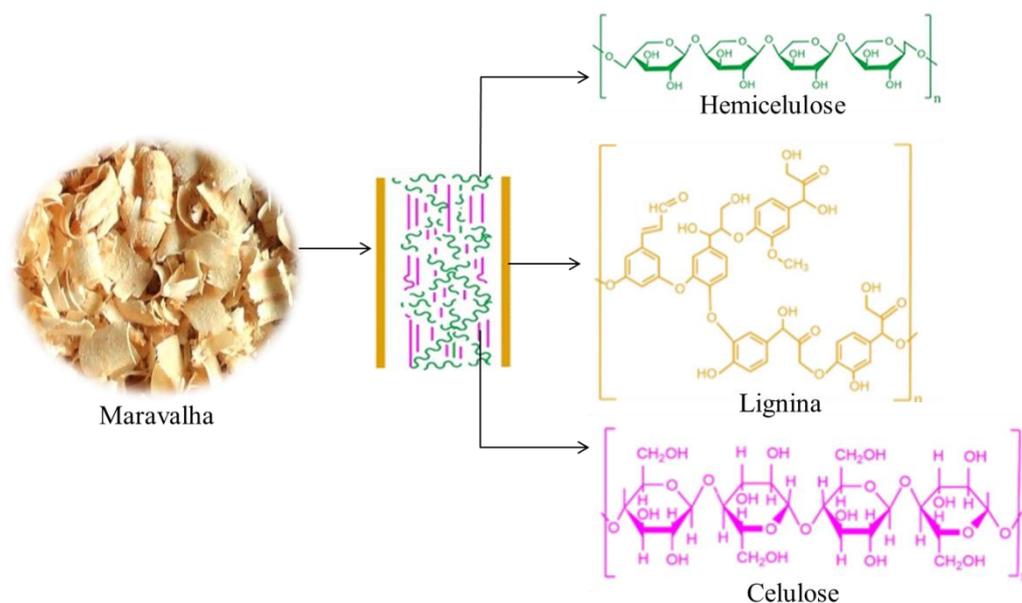


Figura 3: Ilustração dos principais componentes do material lignocelulósico presentes na maravalha.

Fonte: Adaptado de Amin et al. (2017); Bonassa et al. (2018).

### 2.4.1 Celulose

A celulose é o principal constituinte de praticamente todas as paredes celulares das plantas, tornando este composto um dos polímeros mais renováveis e abundantes no planeta. No nível molecular, a celulose  $(C_6H_{10}O_5)_n$  é linear (não ramificada) e um homopolissacarídeo que consiste em 10.000 – 15.000 unidades de D-glicose ligadas por ligações covalentes  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4) (SAWATDEENARUNAT et al., 2015). A celobiose é o dissacarídeo repetitivo da celulose e sua estrutura consiste em extensas ligações de hidrogênio intra e intermolecular que unem fortemente as unidades de glicose (ISIKGOR; BECER, 2015; SAHER et al., 2018).

Devido à localização da fração de celulose dentro da parede celular, o acesso enzimático é restrito pela interferência da lignina e da hemicelulose (LAUREANO-PEREZ et al., 2005). Assim, como cerca de metade do carbono orgânico na biosfera é presente na forma de celulose, sua conversão em combustíveis e produtos químicos valiosos têm uma importância fundamental (ISIKGOR; BECER, 2015).

### 2.4.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo altamente ramificado que consiste em uma

ampla variedade de açúcares (C-5 e C-6) (SAWATDEENARUNAT et al., 2015). A estrutura complexa de carboidratos da hemicelulose consiste em diferentes polímeros como pentoses (xilose e arabinose), hexoses (manose, glicose e galactose) e ácidos de açúcar que podem ser convertidos em biogás através de microrganismos anaeróbios (SAHA, 2003).

A hemicelulose serve de ligação entre a lignina e as fibras de celulose e confere maior rigidez a toda a rede celulose-hemicelulose-lignina (LAUREANO-PEREZ et al., 2005).

### 2.4.3 Lignina

A lignina é um heteropolímero amorfo que consiste em três diferentes unidades fenilpropano ( *p*-ordernil, coniferil e álcool sinapil) unidas por diferentes tipos de ligações (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Com pouco valor para produção de bioenergia, o principal objetivo da lignina é dar suporte estrutural à planta, impermeabilidade e resistência contra estresse oxidativo. A estrutura da lignina cria uma barreira física impedindo a ação dos microrganismos responsáveis pela digestão anaeróbia sobre a fração de carboidratos na biomassa lignocelulósica (SAWATDEENARUNAT et al., 2015).

## 2.5 DIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

A biomassa lignocelulósica vem despertando crescente interesse como matéria-prima para produzir bioenergia através da digestão anaeróbia (SAWATDEENARUNAT et al., 2015; VELUCHAMY; KALAMDHAD, 2017). A produção de biogás depende em sua maior parte da taxa de biodegradabilidade do substrato, conseqüentemente, a hidrólise da lignocelulose torna-se o passo limitante durante a digestão anaeróbia (FAN et al., 2019; FERNANDES et al., 2009; KHANAL, 2008).

Os carboidratos presentes na cama de frango provindos da fração lignocelulósica da maravalha (celulose e hemicelulose) podem ser utilizados para obtenção de açúcares solúveis e posterior produção de biogás. Porém, a interação das fibras de lignina com a celulose e hemicelulose, cria uma estrutura de biomassa altamente resistente e recalcitrante (COLLARD; BLIN, 2014; SAWATDEENARUNAT et al., 2015), que dificulta a capacidade dos microrganismos anaeróbios em utilizar os açúcares provenientes da quebra da lignocelulose e, assim, o potencial para um alto rendimento de biogás através do processo de digestão anaeróbia é minimizado (AMIN et al., 2017; KUMAR et al., 2009).

A realização de um pré-tratamento é aplicável para desintegrar a composição da

biomassa lignocelulósica e aumentar a sua biodegradabilidade, resultando em uma maior taxa de produção de biogás, como mostra a Figura 4 (HOSSEINI KOUPAIE et al., 2018; SUN et al., 2016).

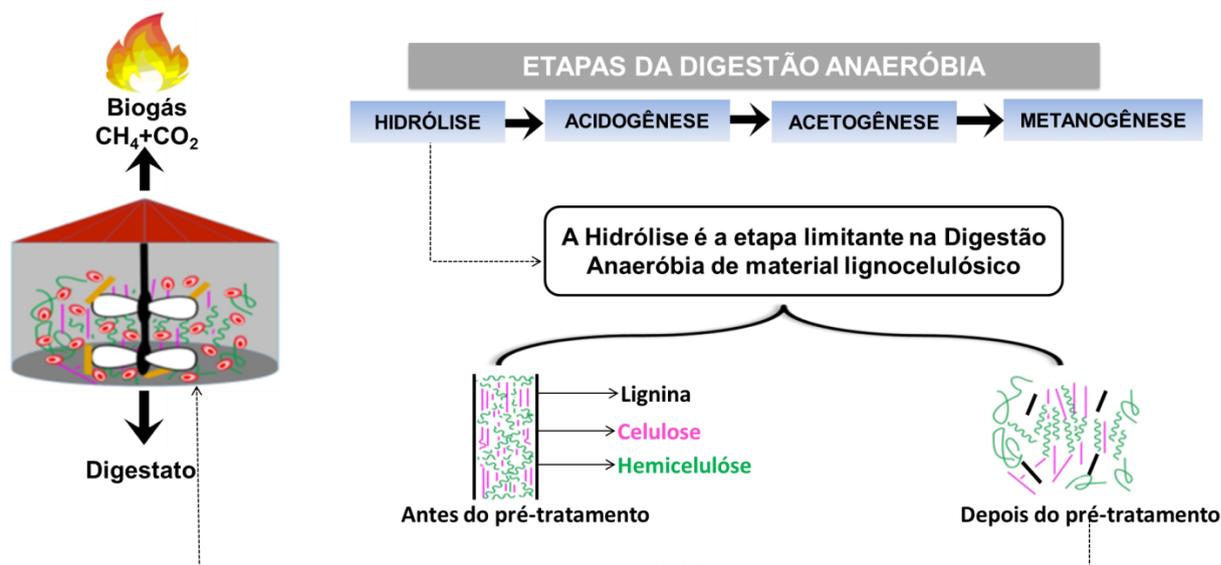


Figura 4: Diagrama esquemático do pré-tratamento de material lignocelulósico para produção de biogás.

Fonte: Adaptado de Veluchamy e Kalamdhad (2017).

### 2.5.1 Pré-tratamentos para biomassa lignocelulósica

Diversos estudos têm sido realizados com o intuito de aumentar a biodisponibilidade da biomassa lignocelulósica utilizando pré-tratamentos físicos, químicos e biológicos, como a explosão a vapor, moagem mecânica, micro-ondas, pré-tratamento ácido, alcalino, enzimático, hidrotérmico, entre outros (BARAKAT et al., 2014; LIZASOAIN et al., 2017; PELLERA; GIDARAKOS, 2018; SUN et al., 2016; VENTURIN et al., 2018; ZHU et al., 2006).

Muitos desses pré-tratamentos, no entanto, são economicamente ou ambientalmente desfavoráveis devido ao alto custo de aplicação e à produção de resíduos sólidos/líquidos (SAWATDEENARUNAT et al., 2015). Em alguns casos, o metano adicional produzido devido ao pré-tratamento é insuficiente para recuperar os custos adicionais, tornando assim o processo inviável financeiramente (LIM; WANG, 2013).

O tipo do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica depende principalmente dos produtos desejados, evitando a formação de inibidores e priorizando a economia, sustentabilidade e conservação da fração de interesse (HASSAN; WILLIAMS; JAISWAL,

2018; RAVIDRAN et al., 2018).

Para que os sistemas de digestão anaeróbia sejam passíveis de aplicação em locais com pouca área disponível, há a necessidade de biodigestores anaeróbios compactos. O que pode ser parcialmente conseguido com a redução do tempo de retenção hidráulica do processo através da aplicação de métodos adequados de pré-tratamento (LIM; WANG, 2013).

Os tratamentos físicos como a tecnologia de ultrassom, quando aplicados a compostos lignocelulósicos, visam principalmente romper as fibras de lignina que envolvem a celulose e a hemicelulose auxiliando a hidrólise dos polissacarídeos lignocelulósicos em monossacarídeos que podem ser facilmente degradados durante a digestão anaeróbia (BARUA; GOUD; KALAMDHAD, 2018; SURESH et al., 2014). Já tratamentos químicos como o peróxido de hidrogênio podem causar oxidação da estrutura da lignina (deslignificação) e aumento da porosidade da matriz lignocelulósica facilitando a hidrólise da biomassa lignocelulósica.

### **2.5.2 Ultrassom**

O pré-tratamento ultrassônico é considerado uma tecnologia ambientalmente correta (SHCHUKIN et al., 2011) e seus efeitos em substratos destinados a digestão anaeróbia tem sido amplamente estudados (DONG et al., 2018).

Melhorias efetivas têm sido alcançadas no rendimento de biogás a partir de lodos ativados pré-tratados com ultrassom (KIM et al., 2003; LIZAMA et al., 2017; LIZAMA et al., 2018). A sonicação desintegra os flocos de lodo e rompe a parede celular dos microrganismos liberando materiais particulados solúveis (KIM; LEE, 2012).

Resultados promissores também têm sido alcançados com o uso da sonicação para auxiliar a conversão biológica de biomassa lignocelulósica em biocombustíveis como o biogás (BUNDHOO; MOHEE, 2018; DONG et al 2018). Essa tecnologia pode contribuir para a quebra de ligações poliméricas, especialmente no fracionamento da lignina, homogeneidade da biomassa, desintegração e solubilização da matéria orgânica complexa, resultando na liberação de substâncias solúveis e biodegradáveis (LUO; FANG; SMITH, 2014; ZHENG et al, 2014).

Boni et al, (2016) avaliaram o efeito da sonicação no digestato de uma planta de biogás trabalhando com codigestão de resíduos orgânicos contendo elevado teor de lignocelulose e fibras, juntamente com lodo ativado de uma estação de tratamento de águas residuais. Os resultados corresponderam a 30% mais biogás em comparação com a amostra

não sonicada. Os autores correlacionam esses resultados com a maior solubilização de compostos orgânicos complexos (ocasionada pelo ultrassom) que não foram hidrolisados durante a digestão anaeróbia.

Zou et al (2016), estudaram o efeito do pré-tratamento por ultrassom da palha de milho e dejetos bovinos antes da digestão anaeróbia. Os resultados mostraram que a sonicação diminuiu o tamanho das partículas especialmente da palha de milho, aumentando a área biodisponível para os microrganismos e melhorando significativamente a produção de biogás, onde  $240,32 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$  foram obtidos quando a palha de milho foi pré-tratada minutos, em comparação a  $141,65 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$  com a amostra não pré-tratada.

El Achkar et al (2018), avaliaram diferentes pré-tratamentos na fração lignocelulósicas do bagaço de uva, entre eles, o pré-tratamento por ultrassom, onde atingiram um aumento de 35% na produção de metano em relação a amostra não pré-tratada.

KIM; LEE, (2012) ao estudarem o efeito da sonicação na desintegração de lodo relataram que o TRH do processo reduziu de 21 para 7 dias, com uma produtividade máxima de metano 79 vezes maior em relação ao controle (sem pré-tratamento).

Apesar de a maioria dos trabalhos disponíveis relatarem melhorias na digestão anaeróbia de substratos pré-tratados com ultrassom, alguns estudos também apresentaram diminuição ou nenhuma mudança na produção de biogás/metano após sonicação (BUNDHOO et al, 2017).

Park et al (2012) avaliaram a combinação de pré-tratamento alcalino com NaOH ( $0,206 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}\text{ST}$ ) e ultrassônico ( $39,6 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}\text{ST}$ ) de lodos ativados ( $25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}\text{ST}$ ) visando melhorias na produção de biogás. Apesar de o pré-tratamento aumentar a quantidade SV solúvel (9 vezes mais em relação ao lodo não tratado), não ocorreu melhora significativa na produção de biogás. Porém, 80% da produção total de biogás foi alcançada 6 dias antes para o lodo pré-tratado em comparação com o não pré-tratado.

Pérez-Rodríguez et al (2016), ao sonicar sabugo de milho e podas de videira a 150, 450 e 750 W (20%, 60% e 100% de amplitude) durante 62,5 s, relataram decréscimos na produção de metano para ambas as amostras. Foi obtido 60,8% menos  $\text{CH}_4$  em comparação com o substrato bruto para a amostra de poda de videira e menos 4,6% para a amostra de sabugo de milho.

### 2.5.2.1 Cavitação

O ultrassom consiste de ondas sonoras com frequências superiores a 20 kHz que viajam em um determinado meio com uma sequência de compressões (pressão no líquido) e rarefações, dando origem a um dos principais efeitos do ultrassom que é a cavitação (PILLI et al., 2011).

À medida que a energia acústica se propaga através do meio líquido em áreas de baixa pressão (rarefações), numerosas microbolhas de gás e vapor são formadas (LE; JULCOUR-LEBIGUE; DELMAS, 2015). Estas microbolhas crescem até um diâmetro máximo de 4-300 mm e podem ser estáveis ou transitórias (ASHOKKUMAR, 2011; BUNDHOO; MOHEE, 2018).

Com baixa intensidade acústica, as microbolhas periodicamente e repetidamente expandem e encolhem (oscilação radial) dentro de vários ciclos acústicos. Quando a frequência de ressonância das microbolhas excede a do campo ultrassônico, as mesmas colapsam dentro de vários nanossegundos criando o fenômeno conhecido como cavitação (LUO; FANG; SMITH, 2014).

O colapso das microbolhas libera uma grande quantidade de energia e dá origem a condições de alta temperatura e pressão, podendo atingir no centro da bolha até 5000 K, 500 bar e uma alta velocidade radial (velocidade do som) como mostra a Figura 5 (LE; JULCOUR-LEBIGUE; DELMAS, 2015).

Segundo Dewil et al (2006), a cavitação pode promover 1) aceleração de reações químicas resultantes da alta pressão e temperatura; 2) fortes forças de cisalhamento no líquido, que agem mecanicamente nos componentes presentes; 3) formação de radicais altamente reativos ( $H \cdot$  e  $OH$ ) que podem auxiliar em reações químicas a levar a destruição adicional de compostos.

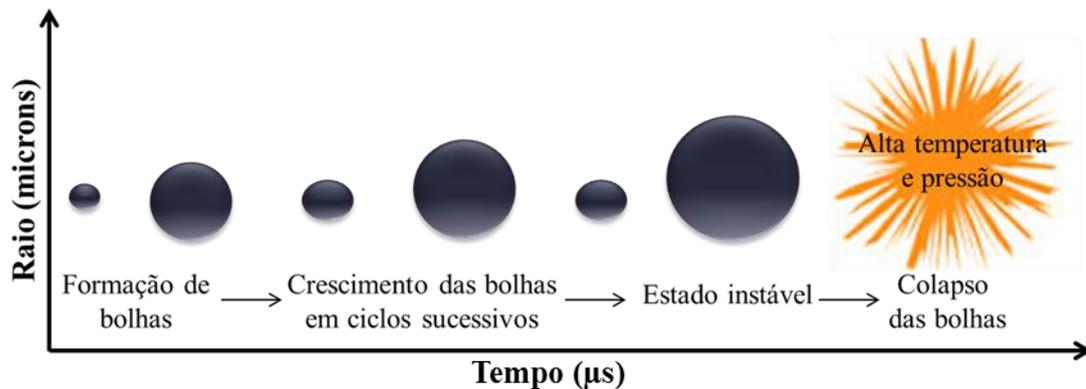


Figura 5: Formação e colapso das bolhas resultantes da sonicação.

Fonte: Adaptado de Bundhoo e Mohee (2018); Pilli et al. (2011).

### 2.5.2.2 Transdutores

Os transdutores ultrassônicos são responsáveis por transformar energia elétrica em energia mecânica (transformação de voltagem em vibração). Para a construção de um transdutor normalmente utiliza-se cristais piezoelétricos como sulfato de lítio, titanato de bário, quartzo e a mistura zirconato-titanato de chumbo. Esses cristais tem a propriedade de gerar diferença de potencial entre suas superfícies quando submetidos a uma compressão, assim quando uma corrente elétrica de alta frequência atravessa o cristal ele vibra na mesma frequência da corrente elétrica, essa vibração gera a cavitação (MASON, 1990).

Os equipamentos normalmente utilizados para geração de ondas de ultrassom em escala laboratorial são os banhos e as sondas. Os banhos consistem de um sistema de baixa intensidade e são compostos por: 1) gerador (que produz o sinal elétrico); 2) transdutor (que recebe o sinal elétrico e transforma em movimento/vibração) e 3) tanque (que recebe a vibração e transfere para o líquido localizado em seu interior, dando origem a cavitação).

Em sondas de ultrassom, um gerador transforma energia elétrica em um sinal acima de 20 kHz acionando um transdutor piezoelétrico que quando submetido a uma tensão alternada, expande e contrai convertendo o sinal em vibração mecânica. Diferente dos banhos de ultrassom, nas sondas as ondas ultrassônicas são aplicadas diretamente no meio reacional (THOMPSON et al, 1999).

### 2.5.3 TRATAMENTO QUÍMICO: PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é utilizado para diversos fins e pode ser empregado de forma isolada ou combinada. Na indústria de celulose e papel o  $H_2O_2$  é utilizado para branquear polpas ricas em lignina (SU et al, 2015), na produção de etanol pode ser utilizado para auxiliar na hidrólise enzimática da celulose (CHEN; HAN; XU, 2008), ou combinado com outros métodos de pré-tratamento como a explosão a vapor (VERARDI et al., 2018), na produção de biogás tem sido estudado no pré-tratamento de resíduos de baixa biodegradabilidade como resíduos de azeitona (SICILIANO; STILLITANO; DE ROSA, 2016) e também de materiais lignocelulósicos como caule de milho (VENTURIN et al, 2018).

Tratando-se de material lignocelulósico, estudos relatam que o  $H_2O_2$  pode promover a deslignificação de biomassa lignocelulósica, devido à sua forte capacidade oxidante que acarreta na solubilização e no desprendimento da lignina na matriz lignocelulósica. A deslignificação é induzida por produtos de  $H_2O_2$ , tais como os radicais hidroxila e os radicais superóxido que provocam a oxidação da estrutura da lignina (CHEN; HAN; XU, 2008; VERARDI et al., 2018).

O peróxido de hidrogênio variando de 0,2% a 1% (v/v) apresenta baixa toxicidade e corrosividade e não deixa resíduos na biomassa, pois se degrada em água e oxigênio, onde a formação de produtos secundários é praticamente inexistente. Além disso, o  $H_2O_2$  apresenta menor custo de compra em relação a outros produtos químicos (RABELO et al, 2012; VERARDI et al., 2018). Quando combinado com o uso de ultrassom, ocorre a produção de espécies radicalares ( $\cdot OH$ ), altamente reativas, aumentando o potencial oxidante do  $H_2O_2$ .

### 2.6 ENSAIOS CINÉTICOS DE POTENCIAL BIOQUÍMICO DE BIOGÁS (PBB) E MODELO MATEMÁTICO DE GOMPERTZ

O potencial bioquímico de biogás é fundamental para decidir se um resíduo pode ser utilizado como substrato para produzir biogás, além de ser um dado primordial para o dimensionamento de reatores/biodigestores (STEINMETZ et al., 2016).

O ensaio cinético de PBB é uma técnica analítica chave para avaliar a implementação e otimização de biotecnologias anaeróbias (DA SILVA et al., 2018), sendo a metodologia mais utilizada por profissionais e acadêmicos para estabelecer a produção de biogás/metano de um determinado substrato (RAPOSO et al., 2011).

Para realização dos ensaios de PBB é preciso seguir algumas normas para aferição e

avaliação do biogás produzido como a VDI 4630. Esta é uma norma alemã reconhecida na União Européia e estabelece condições para execução de ensaios cinéticos em batelada, semi-contínuos e contínuos para avaliação da degradação anaeróbia de substratos orgânicos.

Os resultados dos testes de fermentação dependem primeiramente da atividade do lodo (inóculo anaeróbio) utilizado. O inóculo geralmente é coletado em uma planta de biogás, com intuito de fornecer a maior diversidade de microrganismos anaeróbios possíveis (STEINMETZ et al., 2016).

Para prevenir inibições no ensaio em batelada, a quantidade de substrato não deve superar a quantidade de inóculo ( $SV_{\text{substrato}}/SV_{\text{inóculo}} \leq 0,5$ ), a produção de biogás a partir do substrato deve ser, no mínimo, 80% maior do que a contribuição do inóculo e a concentração de sólidos no teste de batelada não deve exceder 10%, assegurando transferência de massa adequada durante o ensaio (VDI 4630, 2006).

Para assegurar a atividade do inóculo anaeróbio utilizam-se materiais com capacidade de produção de biogás conhecida. Um possível material de referência é a celulose microcristalina, que produz  $740-750 \text{ mL}_{\text{Nbiogás}} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ . Esses valores devem ser recuperados em no mínimo 80% em um teste controle. Atingindo esse valor de recuperação, garante-se que o inóculo possui atividade biológica satisfatória e é adequado para realização de testes de PBB (VDI 4630, 2006).

Os ensaios cinéticos de PBB fornecem uma série de informações sobre o substrato, incluindo quanto do material pode ser degradado em condições ideais, a velocidade de ocorrência do processo, potencial de produção de biogás/metano do material desejado e ainda é possível obter as curvas de produção cumulativa de biogás/metano que auxiliam a monitorar e detectar mudanças no desempenho do processo de digestão anaeróbia (STRÖMBERG; NISTOR; LIU, 2014).

Para as curvas de produção cumulativa, a produção de biogás/metano é plotada em função do tempo e a forma das curvas é definida principalmente pela biodegradabilidade do substrato (VDI 4630, (2006). Algumas curvas típicas de produção de biogás/metano são mostradas na Figura 6.

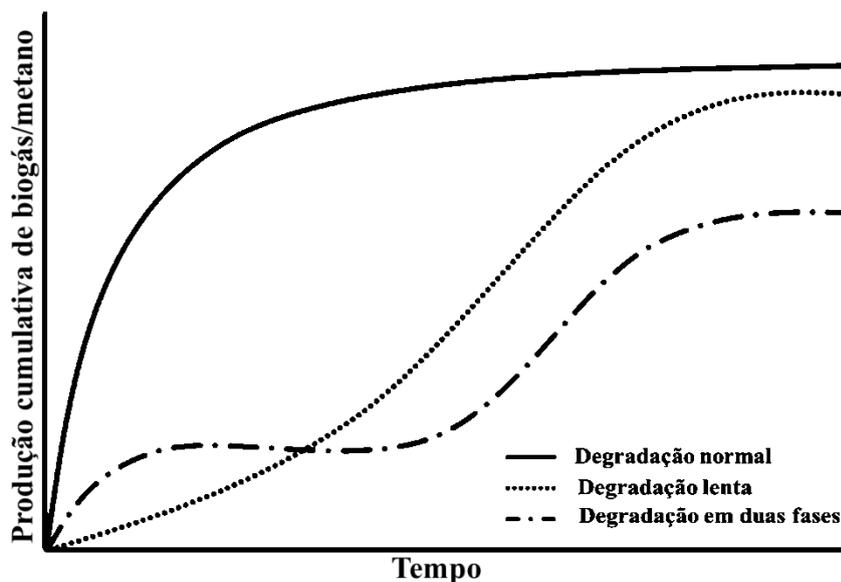


Figura 6: Curvas típicas de produção cumulativa de biogás/metano  
 Fonte: Adaptado de VDI 4630, (2006); WARE; POWER, (2017).

O uso de modelagem matemática pode contribuir significativamente para a avaliação da cinética de produção de biogás/metano (WARE; POWER, 2017). O crescimento de microrganismos é representado por uma curva sigmoideal que apresenta três fases: fase lag, fase exponencial e fase estacionária (ZWIETERING et al, 1990).

A fase lag (ou fase de latência) corresponde ao tempo em que os microrganismos demoram a se adaptar ao meio em que foram inoculados. Na fase exponencial os microrganismos iniciam sua divisão celular, onde o crescimento dos microrganismos é constante e se atinge uma taxa específica de crescimento máxima de microrganismos. A fase exponencial é de grande interesse uma vez que a degradação da matéria orgânica em tratamentos biológicos está relacionada ao número de microrganismos presentes no meio. Já na fase estacionária juntamente com o esgotamento de nutrientes a duplicação de microrganismos também é interrompida (ZWIETERING et al, 1990).

As curvas de produção cumulativa de biogás/metano (Figura 6) observadas nos ensaios cinéticos de PBB, onde três fases são observadas: Fase de produção lenta de gás (fase lag), fase de produção rápida de gás (fase exponencial) e fase em que a taxa de produção de gás diminui e chega a zero (estacionária), podem ser relacionadas a curva de crescimento microbiano, utilizando-se modelagem matemática (VDI 4630, 2006; WARE; POWER, 2017).

O modelo matemático de Gompertz é uma ferramenta utilizada para descrever o comportamento dos microrganismos anaeróbios e do substrato durante o processo de digestão anaeróbia e auxiliar na obtenção de parâmetros operacionais como: Potencial máximo de

produção de biogás ou metano ( $A$ ), velocidade máxima de produção de biogás/metano ( $r_m$ ) e também a fase lag do processo ( $\lambda$ ), sendo o modelo mais utilizado para estimar a produção de biogás/metano (SELVARAJ et al., 2018).

A figura 7 apresenta como são obtidos os parâmetros biológicos determinados a partir do modelo matemático de Gompertz, onde:  $r_m$  é dada pela inclinação da linha durante a produção de gás exponencial,  $\lambda$  é a interseção do eixo x dessa inclinação e  $A$  é a interceptação de eixo y do ponto mais alto da curva (WARE; POWER, 2017).

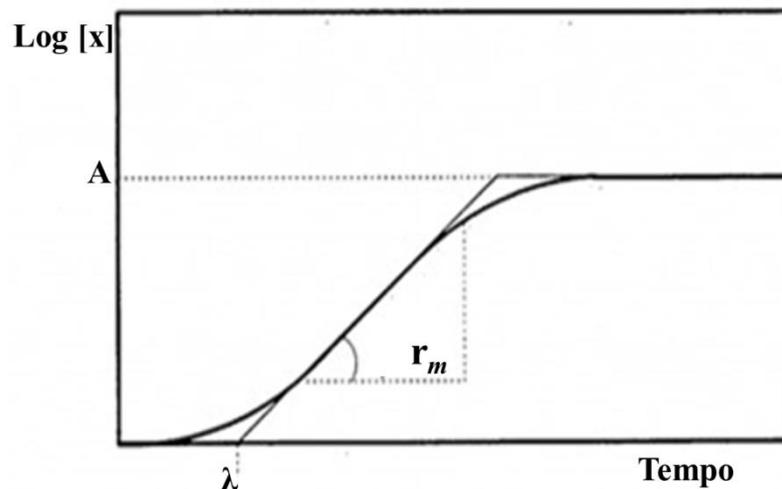


Figura 7: Curva de crescimento microbiano.  
Fonte: Adaptado de WARE; POWER, (2017).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Estudos em Biogás – LEB da Embrapa Suínos e Aves – Concórdia/SC e no Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos - LAMIBI da Universidade Federal da Fronteira Sul – Erechim/RS. A Figura 8 apresenta o fluxograma das etapas desenvolvidas, o qual está detalhado nos próximos itens.

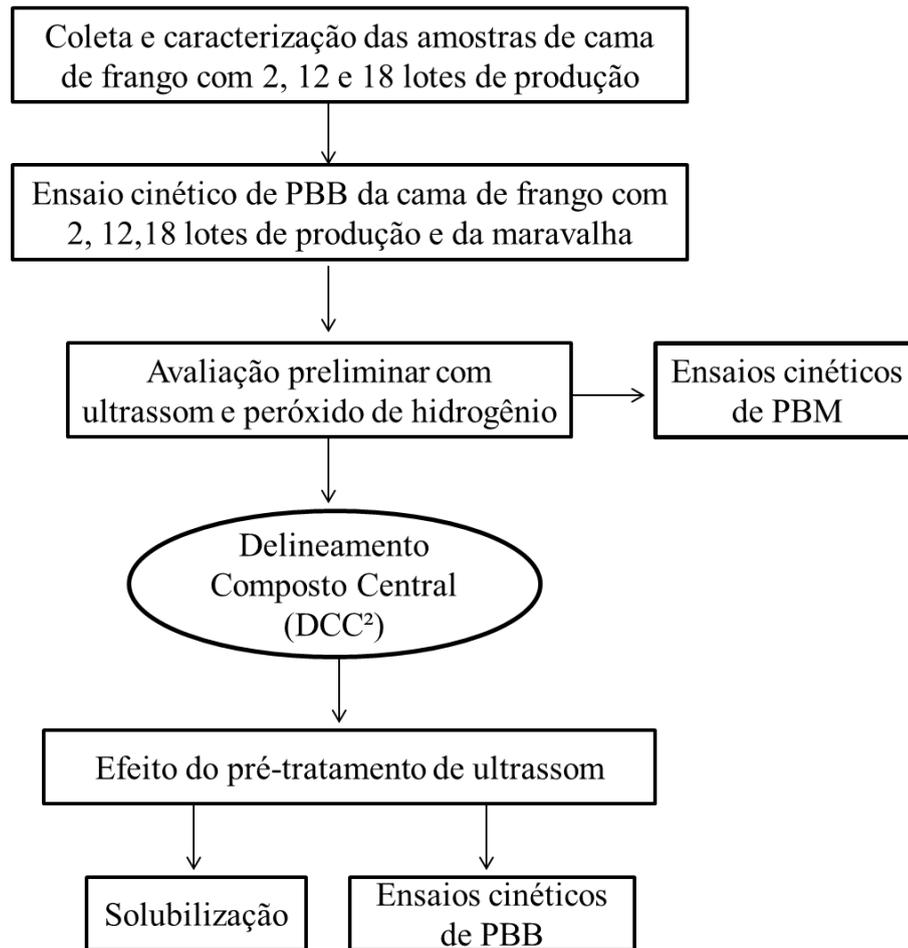


Figura 8: Fluxograma das etapas desenvolvidas no presente trabalho.

### 3.1 COLETA E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

#### 3.1.1 Coleta das amostras

As amostras de cama de frango (2, 12, 18 lotes de produção) e maravalha utilizadas no estudo foram coletadas em duas granjas comerciais destinadas à criação de frango de corte, localizadas na cidade de Jaborá – SC. O material inicial utilizado nas propriedades foi maravalha de pinus. Para cama com 2 e 12 lotes, as coordenadas geográficas compreenderam latitude  $-27^{\circ}10'33''$  e longitude  $-51^{\circ}44'01''$ , e para 18 lotes e maravalha  $-27^{\circ}09'58.3''$  e longitude  $-51^{\circ}48'20.1''$ .

A coleta da amostra de 2 lotes foi realizada em diferentes pontos (início, meio e fim) no interior do aviário durante o período de criação dos frangos. A amostra com 12 lotes foi removida do aviário e armazenada na propriedade em sacos durante um mês, após este

período foram realizadas as coletas das amostras. A amostra de 18 lotes foi armazenada em leiras no interior do aviário durante 7 dias, após realizou-se coleta. Também foi realizada a coleta da maravalha antes de ser disposta sobre o piso do aviário, com o objetivo de avaliar a influência da fração lignocelulósica da maravalha na produção de biogás da cama de frango.

Devido a heterogeneidade da cama de frango, as amostras coletadas foram homogeneizadas (homogeneizador em Y) e quarteadas (Marca Humboldt, modelo H-3980) a fim de se obter frações semelhantes. Posterior a isso, as frações foram embaladas a vácuo em embalagens de alumínio e congeladas a -20 °C.

### **3.1.2 Metodologias analíticas para caracterização das amostras**

Para caracterização das amostras de cama de frango com 2, 12 e 18 lotes de produção realizou-se análise da série de sólidos (ST, SF, SV), nitrogênio total kjedahl (NTK), fósforo total, potássio total e carbono total. Com exceção do carbono total e nitrogênio total kjedahl (NTK), as demais análises foram realizadas segundo procedimento descrito no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012).

Para série de sólidos as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 60 minutos (ST) e calcinadas em mufla a 550 °C por 60 minutos (SF), os sólidos voláteis (SV) foram obtidos pela diferença dos sólidos fixos em relação aos sólidos totais. O NTK foi determinado pela digestão, destilação e titulação das amostras pelo método Kjeldhal. A análise da concentração de fósforo foi realizada por colorimetria (método molibdovanadato), com espectrofotômetro UVVis (modelo Cary50, marca Agilent). Para potássio a análise deu-se por fotometria de chama (modelo B-462, marca Micronal). O carbono total foi quantificado pelo analisador elementar modelo Flash 2000, da marca Thermo Scientific (CHNS-O), de acordo com as recomendações do fabricante do equipamento.

### **3.2 AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E/OU METANO: ENSAIOS CINÉTICOS**

Os ensaios cinéticos foram realizados em batelada e em triplicata, utilizando-se de reatores de vidro de 250 mL conectados a tubos eudiômetros de vidro de 500 mL. Para a amostra de maravalha os reatores foram incubados com  $\cong$  250 g de inóculo e  $\cong$  1,5 g de amostra em cada repetição da triplicata. Para todas as amostra de cama de frango de 2,12 e 18 lotes utilizou-se cerca de 200 g de inóculo e respectivamente cerca de 2,4, 3,4 e 2,5 g de

amostra em cada repetição da triplicata. Esses valores foram definidos respeitando a proporção  $SV_{amostra}/SV_{inóculo} \leq 0.5$  (VDI 4630 2006).

O sistema foi mantido a 37 °C e a produção de biogás foi mensurada diariamente até estabilidade ( $dV/dt < 1\%$  do volume acumulado de biogás). A produção de biogás foi efetuada por deslocamento do nível do líquido selante (solução de  $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$  a 200 g.L<sup>-1</sup> e pH 4, conforme DIN 38414-8, 1985) no tubo eudiômetro. O volume de biogás e após o volume de biogás foi normalizado a 273 K e 1013 hPa (VDI 4630 2006).

O inóculo para todos os ensaios foi obtido de reator anaeróbio aclimatado em condições mesofílicas ( $37 \pm 1$  °C), preparado conforme descrito por Steinmetz et al. (2016). A contribuição do gás proveniente do inóculo foi avaliada em ensaio paralelo (sem adição de substrato), o qual foi subtraído da fração de inóculo adicionado em cada teste. Como controle positivo para o ensaio de digestão anaeróbia utilizou-se celulose microcristalina de alta pureza (SIGMA Aldrich, Brasil).

### **3.2.1 Análise do biogás**

A composição de CH<sub>4</sub> no biogás foi determinada com o equipamento BIOGAS 5000 (Landtec, USA), o metano é medido utilizando espectrometria de absorção no infravermelho de feixe duplo.

## **3.3 AVALIAÇÕES PRELIMINARES DE PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO UTILIZANDO ULTRASSOM E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO**

Neste tópico avaliações preliminares foram conduzidas a fim de determinar o efeito dos pré-tratamentos com ultrassom e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) na cinética de degradação do substrato para produção de metano da cama de frango com 12 lotes utilizando-se de testes de PBM e aplicação do modelo matemático de Gompertz.

### **3.3.1 Pré-tratamento preliminar com ultrassom e peróxido de hidrogênio**

Os pré-tratamentos com peróxido de hidrogênio e ultrassom utilizados nesta etapa foram conduzidos aplicando-se a combinação de três ensaios com diferentes condições de pré-tratamento com peróxido de hidrogênio a 0,14% v.v<sup>-1</sup> (Essa concentração foi definida uma vez que concentrações maiores ocasionaram efeito efervescente ao entrar em contato

com a amostra de cama) e ultrassom a 700 W (100% de amplitude) durante 3 minutos. Como condição controle foi utilizada somente a amostra suspensa em água. Na primeira condição de ensaio a amostra suspensa em água foi pré-tratada somente com ultrassom, na segunda condição foi pré-tratada com peróxido de hidrogênio e na terceira condição foi pré-tratada com peróxido seguido de ultrassom.

Os pré-tratamentos foram conduzidos em triplicata em frascos plásticos de 100 mL. Posteriormente as amostras pré-tratadas nas diferentes condições definidas foram destinadas para os ensaios cinéticos de metano (PBM), conforme item 3.3.2. Para os pré-tratamentos com ultrassom utilizou-se o equipamento da marca QSonica, modelo Q700 Sonicator, com frequência de operação de 20 kHz e potência máxima de 700 W. O equipamento apresenta controle de amplitude o que permitiu que as vibrações ultrassônicas (1,27 cm) fossem ajustadas nos diferentes níveis desejados. Para evitar o superaquecimento do equipamento devido as suas limitações de trabalho a altas temperaturas no meio reacional, a sonicação foi conduzida em banho de gelo (5 °C). Utilizou-se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> da marca Química Moderna com concentração de 30% v v<sup>-1</sup>.

### 3.3.2 Ensaio cinéticos de PBM

Em cada ensaio dos testes cinéticos de PBM foram utilizados 6,79 g de amostra em 68 mL de água (<10% de matéria seca). Esta condição foi escolhida para reproduzir a quantidade máxima de matéria seca sugerida para o bom desempenho de reatores anaeróbios do tipo CSTR (do inglês “Continuous Stirred Tank Reactor”) (KARIYAMA; ZHAI; WU, 2018).

A produção de metano foi mensurada por meio do sistema automático para testes de Potencial Bioquímico de Metano (AMPTS II, Bioprocess Control, Suécia). Aos reatores contendo as amostras pré-tratadas, como descrito anteriormente, foram adicionados  $\cong$  400 g de inóculo aclimatado em condições mesofílicas (37  $\pm$  1 °C), preparado conforme descrito por Steinmetz et al. (2016).

A contribuição do gás proveniente do inóculo foi avaliada em ensaio paralelo (sem adição de substrato), o qual foi subtraído da fração de inóculo adicionado em cada teste. Como controle positivo para o ensaio de digestão anaeróbia utilizou-se celulose microcristalina de alta pureza (SIGMA Aldrich, Brasil). A concentração de sólidos voláteis em cada reator foi fixada em 10% (m.v<sup>-1</sup>) e os testes foram considerados finalizados quando a produção diária de metano foi inferior a 1% do montante produzido (VDI 4630, 2006).

### 3.3.3 Modelo Matemático de Gompertz

O efeito dos pré-tratamentos na cinética de degradação do substrato foi avaliado utilizando o cálculo dos parâmetros de desempenho da reação (potencial máximo de produção de biogás/metano, velocidade máxima de produção de biogás/metano e tempo de duração da fase lag) aplicando-se o modelo matemático de Gompertz (Equação 1) (WARE; POWER, 2017).

$$M(t) = A * \exp \left( -\exp \left( \left( \frac{r_m}{A} \right) * (\lambda - t) * e^1 + 1 \right) \right) \quad (1)$$

Onde:

$M(t)$ : Produção cumulativa de biogás/metano ( $\text{mL}_{\text{Nbiogás/metano}} \cdot \text{gSV}^{-1}$ ) no tempo  $t$  (d);

$A$ : Potencial máximo de produção de biogás ou metano ( $\text{mL}_{\text{Nbiogás/metano}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic}^1 \cdot \text{d}^{-1}$ );

$r_m$ : Velocidade máxima de produção de biogás ( $\text{mL}_{\text{Nbiogás/metano}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic}^1 \cdot \text{d}^{-1}$ );

$\lambda$ : Fase lag (d).

A comparação dos parâmetros do modelo de regressão não linear ( $A$ ,  $r_m$ ,  $\lambda$ ), foi realizada com o auxílio do *Software Statistic 8*.

### 3.4 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL 2<sup>2</sup> PARA AVALIAÇÃO DO EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO COM ULTRASSOM

O efeito do pré-tratamento com ultrassom na cama de frango de 12 lotes de produção foi avaliado por meio de planejamento estatístico utilizando delineamento composto central 2<sup>2</sup> (DCC), composto por quatro ensaios nos pontos fatoriais e três ensaios nos pontos centrais, que visa à identificação e otimização de variáveis que influenciam no processo (GHAEDI et al., 2016). Foram avaliadas as seguintes variáveis experimentais: quantidade de matéria seca da amostra e amplitude da frequência do ultrassom. As variáveis dependentes avaliadas foram: solubilização de açúcares redutores, solubilização de carbono orgânico solúvel, produção de biogás e cinética de produção de biogás, utilizando a cama de frango de 12 lotes. Na Tabela 2 são apresentados os valores reais e codificados da matriz experimental.

Tabela 2: Matriz do DCC apresentando os valores codificados e reais.

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis experimentais	
	X1 Matéria Seca	X2 Amplitude ultrassom	X1 (%)	X2 (%)
E1	-1	-1	10	20
E2	-1	1	10	100
E3	1	-1	20	20
E4	1	1	20	100
E5	0	0	15	60
E6	0	0	15	60
E7	0	0	15	60

A fim de se obter amostras com 10%, 15% e 20% de matéria seca proveniente da cama de frango estudada, diluiu-se 3,4 gramas de amostra em 27, 18 e 13 mL de H<sub>2</sub>O (utilizada também como meio de propagação). Posteriormente, as amostras foram sonicadas durante 2 minutos nas amplitudes de 20%, 60% e 100%, conforme planejamento experimental. Além disso, foi possível obter a quantidade acumulada de energia em Joules (J) entregue à sonda durante a sonicação das amostras.

Como controle para as determinações analíticas de açúcar redutor total (ART), carbono orgânico solúvel (COS) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizou-se somente amostra suspensa em água nas diferentes quantidades de matéria seca estudadas.

### 3.4.1 Determinação de Açúcares Redutores Totais (ART)

Os açúcares redutores totais foram determinados pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) e leitura em espectrofotômetro de UV/VIS, de acordo com Miller (1959). O método baseia-se na oxidação simultânea de grupos funcionais de açúcar e na redução do DNS para o ácido 3-amino-5-nitrosalicílico na aplicação de condições alcalinas e calor, que absorvem radiação a 540 nm (TEIXEIRA et al., 2012). Após sonicação, as amostras foram centrifugadas (centrífuga marca Hettich modelo UNIVERSAL 320) a 3500 rpm durante 5 minutos. Transferiu-se 0,5 mL do sobrenadante resultante da centrifugação juntamente com 0,5 mL de DNS para um tubo de ensaio, em seguida foi levado para banho (100°C) por 10 minutos. Após o tempo de reação a amostra foi transferida da água fervente

para um banho gelado. Adicionou-se 8 mL de tartarato duplo de sódio e potássio  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Cromoline Química Fina, Brasil) para estabilizar a reação. Realizou-se a leitura da amostra em espectrofotômetro de UV/VIS, a 540 nm, por absorbância. A concentração de ART foi dada pela equação 2.

$$\text{ART (g kg}^{-1}\text{)} = \text{DH} \times \text{ABS} \times \text{FCP/MA} \quad (2)$$

Onde:

**ART:** açúcar redutor total ( $\text{g.L}^{-1}$ )

**DH:** diluição da hidrólise (mL)

**ABS:** absorbância (nm)

**FCP:** fator da curva padrão

**MA:** massa de amostra (g)

### 3.4.2 Determinação de Carbono Orgânico Solúvel (COS)

Para análise de COS as amostras foram centrifugadas (Hettich UNIVERSAL 320) a 3.500 rpm durante 5 minutos, a fração sobrenadante foi analisada em um analisador Shimadzu TOC (marca Shimadzu Corporation, modelo TOC-L CPN).

### 3.4.3 Ensaios cinéticos de PBB e Modelo Matemático de Gompertz

Os ensaios cinéticos de PBB foram realizados em batelada e em triplicata, utilizando-se de reatores de vidro de 250 mL conectados a tubos eudiômetros de vidro de 500 mL. Para todos os ensaios do Delinemaneto Composto Central 2<sup>2</sup> os reatores foram incubados com cerca de 200 g de inóculo e 3,4 g de amostra de cama de frango de 12 lotes. A metodologia para realização dos testes de PBB encontra-se descrita no item 3.2. A análise da composição do biogás seguiu conforme descrito no item 3.2.1. O efeito dos pré-tratamentos na cinética de degradação do substrato foi avaliado utilizando Modelo Matemático de Gompertz conforme item 3.3.3.

## 3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A cama de frango bruta com 12 lotes e todas as condições determinadas no DCC 2<sup>2</sup>

foram destinadas a realização de MEV. A análise foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (Modelo- HITACHI -TM3030). O equipamento opera com filamento de tungstênio à baixo vácuo, resolução variando de 3 – 4 nm de tensão, tensão de aceleração de 0,5 a 30 kV e magnificação de 25 a 300.000 vezes. Para esta análise, as amostras foram recobertas com material condutivo (ouro) por 30 segundos para possibilitar a visualização da sua superfície e as micrografias MEV foram obtidas a 15kV.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística das respostas obtidas ao longo do estudo foi feita utilizando-se o software STATISTICA 8. O nível de confiança utilizado nos experimentos foi de 95% ( $p < 0,05$ ). Realizou-se análise de variância (ANOVA), de efeitos e teste de comparação de médias (Tukey).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para melhor discussão dos dados, os resultados obtidos nesse estudo foram divididos em 3 tópicos. Inicialmente realizou-se a caracterização da cama de frango (2, 12 e 18 lotes) seguida de testes de PBB da cama de frango com 2, 12,18 lotes e da maravalha. Posterior a isso, é abordado a avaliação dos pré-tratamentos preliminares com ultrassom e peróxido de hidrogênio nos parâmetros cinéticos de produção de metano a partir da cama de frango e por fim, o desempenho do pré-tratamento com ultrassom na quebra da fração lignocelulósica da cama de frango, na estabilidade da digestão anaeróbia e nos parâmetros cinéticos de produção de biogás, foram avaliados por meio de DCC 2<sup>2</sup>.

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A cama de frango pode representar uma fonte de renda adicional à atividade avícola com a aplicação da digestão anaeróbia e sua composição (física e química) determinará o rendimento de biogás obtido. Para este estudo as características físicas e químicas das amostras estudadas encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3: Características físicas e químicas das amostras de cama de frango com 2, 12 e 18 lotes de produção.

Parâmetro	Lotes de produção		
	2	12	18
Sólidos Totais (% $\cdot$ m m <sup>-1</sup> )	69,6	76,88	74,2
Sólidos Fixos (% $\cdot$ m m <sup>-1</sup> )	17,2	37,7	26,7
Sólidos voláteis (% $\cdot$ m m <sup>-1</sup> )	52,4	39,17	47,5
Relação SV/ST	0,75	0,5	0,73
Relação C/N	10,3	7,73	9,4
N <sub>Total</sub> (% $\cdot$ m m <sup>-1</sup> )	2,63	2,68	2,82
C <sub>Total</sub> (% $\cdot$ m m <sup>-1</sup> )	27,1	20,71	26,5
P <sub>Total</sub> (% $\cdot$ m m <sup>-1</sup> )	0,92	1,45	1,4
K <sub>Total</sub> (% $\cdot$ m m <sup>-1</sup> )	2,1	2,95	2,66

A menor quantidade de sólidos voláteis (SV) (39,2 %,  $m\ m^{-1}$ ) e maior quantidade de sólidos fixos (SF) (37,7 %,  $m\ m^{-1}$ ) obtidas neste estudo foram encontradas na cama de frango com 12 lotes de produção. Esses resultados podem ser atribuídos às práticas de criação e especialmente as condições de armazenamento da amostra antes da coleta. Segundo CHAUMP et al., (2018), a cama pode ser armazenada antes da digestão, mas algumas perdas no potencial de biogás devem ser esperadas devido à decomposição de matéria orgânica durante o armazenamento.

A composição predominante para as amostras de 2, 12 e 18 lotes é carbono (C) sendo respectivamente 27,1, 20,7, 26,52 (% ,  $m\ m^{-1}$ ). Os valores foram próximos aos encontrado por Marchioro et al. (2018) que relataram o conteúdo de C de 22,2 (% ,  $m\ m^{-1}$ ) na cama resultante de 12 lotes de produção de frangos de corte, com menores quantidades de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (Tabela 3) (KELLEHER et al., 2002). A variedade de nutrientes encontrados nas amostras indica potencial uso como fertilizante multicomponente, ou seja, com misturas de elementos básicos (nitrogênio, fósforo e potássio) (POLESEK-KARCZEWSKA et al., 2018),

A relação C/N encontrada para todas as amostras de 2, 12 e 18 lotes foi respectivamente 10,3, 7,73 e 9,4 %,  $m\ m^{-1}$ . Tratando-se de materiais com alto teor de compostos lignocelulósicos como a cama de frango, a relação C/N pode não representar a realidade da amostra, porque a maior parte do carbono é retido na lignocelulose recalcitrante e, portanto, de uso limitado para a digestão anaeróbia. Assim, a relação C/N “efetiva” pode ser menor do que a taxa nominal (CHAUMP et al., 2018; SHEN; ZHU, 2016).

#### 4.2 PBB DA MARAVALHA E DA CAMA DE FRANGO COM DIFERENTES LOTES DE PRODUÇÃO

A Tabela 4 apresenta os resultados dos testes cinéticos de PBB das amostras estudadas. A Figura 9 expressa o desempenho dos testes de PBB para as amostras estudadas. O volume de biogás obtido para maravalha foi de  $75 \pm 2\ mL_{Nbiogas.gSVadic^{-1}}$  e para as amostras com 2, 12 e 18 lotes foi respectivamente de  $165 \pm 10$ ,  $156 \pm 21$  e  $172 \pm 23\ mL_{Nbiogas.gSVadic^{-1}}$ .

Tabela 4: PBB para os diferentes lotes de cama de frango.

Amostra	PBB ( $\text{mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gS}_{\text{Vadic}}^{-1}$ )	Desvio padrão ( $\text{mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gS}_{\text{Vadic}}^{-1}$ )	CH <sub>4</sub> (%)
Maravalha	75 <sup>a</sup>	2	47
2 lotes	165 <sup>b</sup>	10	65
12 lotes	156 <sup>b</sup>	21	63
18 lotes	172 <sup>b</sup>	23	63

\*Letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

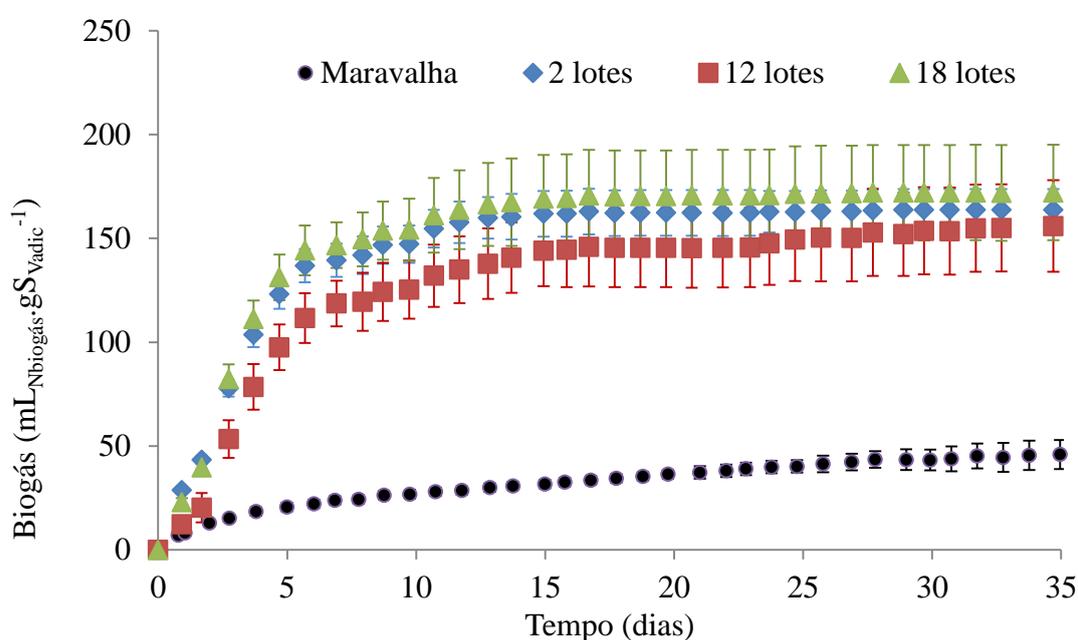


Figura 9: Potencial Bioquímico de Biogás da maravalha e cama de frango com 2, 12 e 18 lotes de produção.

A produção de biogás a partir do padrão de celulose microcristalina para este estudo correspondeu a  $602 \pm 72 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gS}_{\text{Vadic}}^{-1}$ . A faixa de referência de PBB para celulose é de  $740\text{-}750 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gS}_{\text{Vadic}}^{-1}$ , onde a recuperação de 80% desse valor ( $600 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gS}_{\text{Vadic}}^{-1}$ ) é considerado satisfatório. Assim, o resultado obtido atesta a atividade anaeróbia adequada do inóculo bem como a validade dos testes realizados, conforme rege a norma VDI 4630 (2006).

O baixo valor de PBB observado para maravalha reforça a recalcitrância exercida pela fração de lignina existente na mesma (MANTE et al., 2010). Perondi et al (2017) relataram a quantidade de lignina de 12,7 % em amostra de cama de frango com 3 lotes de produção composta principalmente por maravalha e serragem. Orrico et al (2012) encontraram 10,2 %

de lignina em cama de frango contendo maravalha como material inicial, porém não especificaram a quantidade de lotes da amostra.

A lignina representa uma barreira aos microrganismos anaeróbios, dificultando a hidrólise da celulose/hemicelulose e sendo o principal obstáculo para geração de biogás a partir de materiais lignocelulósicos como a maravalha (KHALID et al., 2019; MONLAU et al., 2012 PERONDI et al., 2017; SHEN; ZHU, 2017).

Embora o PBB para os diferentes lotes de cama de frango apresente diferença numérica, estatisticamente os valores não diferem entre si com  $p \leq 0.05$  (Teste de Tukey). Os resultados para amostra com 2, 12 e 18 lotes foram respectivamente 120%, 108% e 129% superiores em relação a maravalha. Esses resultados podem ser explicados pela mudança nas características físicas e químicas da cama de frango ao decorrer dos lotes de produção, devido ao incremento de matéria orgânica resultante principalmente das excretas dos animais, desperdícios de alimento, descamações epiteliais, etc (DALÓLIO et al., 2017). O que não anula o potencial energético não aproveitado da fração lignocelulósica da maravalha presente na cama de frango.

Os resultados obtidos indicam que para as amostras de cama de frango estudadas os diferentes tempos de uso não interferem na produção de biogás (as amostras não diferem estatisticamente) e podem ser utilizadas como substrato para digestão anaeróbia. Não existe normativa brasileira sobre a quantidade de lotes em que esse resíduo pode ser reutilizado, assim é comum seu uso em mais de um lote de produção (DALÓLIO et al 2017). Na região Sul do Brasil, normalmente reutiliza-se a cama de frango por aproximadamente 12 lotes produtivos. Assim, a cama de frango com 12 lotes foi definida para a condução dos estudos com pré-tratamentos.

#### 4.3 ESTUDO PRELIMINAR COM ULTRASSOM E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NO PRÉ-TRATAMENTO DA CAMA DE FRANGO

A Tabela 5 apresenta o efeito dos pré-tratamentos com ultrassom e peróxido de hidrogênio nos parâmetros cinéticos de produção de metano da cama de frango com 12 lotes utilizando o modelo matemático de Gompertz. A Figura 10 apresenta o perfil da produção acumulada de CH<sub>4</sub> para os pré-tratamentos com ultrassom e peróxido de hidrogênio nos parâmetros cinéticos de produção de metano da cama de frango com 12 lotes utilizando o modelo matemático de Gompertz..

Tabela 5: Parâmetros cinéticos obtidos com o uso o Modelo de Gompertz para os parâmetros de potencial máximo de produção de metano para os pré-tratamentos da cama de frango de 12 lotes.

Pré-Tratamento	A (NmL <sub>CH<sub>4</sub></sub> g SV <sup>adic-1</sup> )	<i>r<sub>m</sub></i> (NmL <sub>CH<sub>4</sub></sub> g SV <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Dia da <i>r<sub>m</sub></i> (d)	λ (d)	R <sup>2</sup>
Controle	70,9 ± 3,3 <sup>a</sup>	17,6 ± 2,8 <sup>bc</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>d</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>f</sup>	0,9965 ± 0,0028
US	69,8 ± 3,1 <sup>a</sup>	20,4 ± 3,3 <sup>c</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>e</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>g</sup>	0,9905 ± 0,0056
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	58,7 ± 8,6 <sup>a</sup>	15,5 ± 2,6 <sup>b</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>d</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>f</sup>	0,9922 ± 0,0114
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +US	64,7 ± 2,2 <sup>a</sup>	18,9 ± 0,6 <sup>bc</sup>	1,4 ± 0,0 <sup>e</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>g</sup>	0,9972 ± 0,0002

Onde: (A) Potencial máximo de produção de metano; (*r<sub>m</sub>*) velocidade máxima de produção de metano; (Dia da *r<sub>m</sub>*) dia de ocorrência da velocidade máxima de produção de metano; (λ) fase lag; (R<sup>2</sup>) coeficiente de determinação.

\*Letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

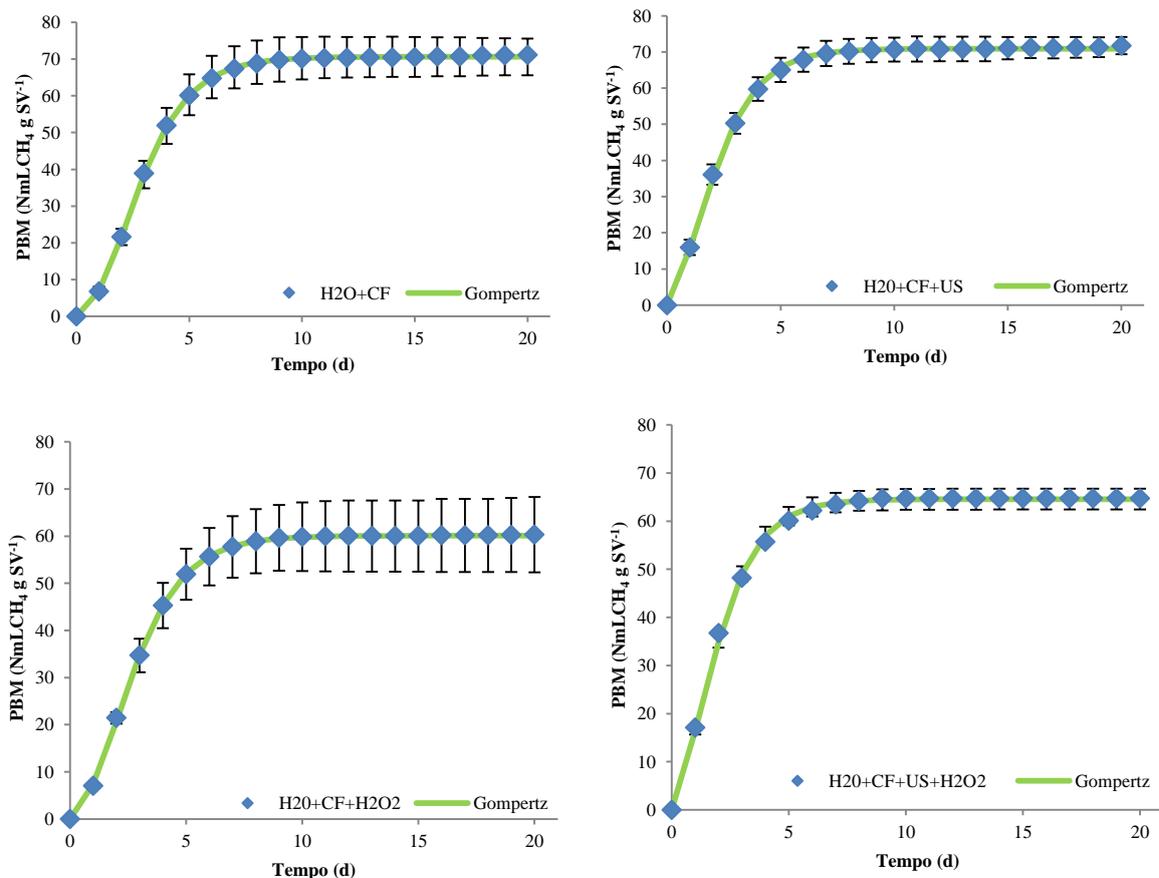


Figura 10: Perfil da produção acumulada de CH<sub>4</sub> para os pré-tratamentos da cama de frango de 12 lotes (CF: cama de frango).

Pode-se observar na Tabela 5 valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,99 em todos os tratamentos, as curvas de produção acumulada ressaltam o ajuste satisfatório do modelo aos dados obtidos (Figura 10). A avaliação da produção máxima de metano não apresentou diferença significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre os pré-tratamentos, tendo resultados entre  $60,1 \pm 7,6$  e  $70,9 \pm 3,1 \text{ mL}_{\text{NCH}_4} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ .

Na velocidade máxima de produção de metano ( $rm$ ) nenhum dos pré-tratamentos diferiram estatisticamente do controle ( $17,4 \pm 1,9 \text{ mL}_{\text{NCH}_4} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ ), porém observa-se que numericamente as condições com ultrassom tanto na ausência ( $20,4 \pm 3,3 \text{ mL}_{\text{NCH}_4} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ ) quanto na presença de peróxido de hidrogênio ( $18,9 \pm 0,6 \text{ mL}_{\text{NCH}_4} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ ) proporcionaram médias levemente superiores.

Os pré-tratamentos com ultrassom também apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0.05$ ) na redução da fase adaptativa ( $\text{lag} - \lambda$ ), refletindo na redução de tempo da ocorrência das velocidades máximas de produção de metano (dia da  $rm$ ), que foram de  $2,3 \pm 0,1$  dias para o controle,  $1,6 \pm 0,1$  para US e  $1,4 \pm 0,0$  para  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{US}$ . Possivelmente o ultrassom proporcionou a quebra estrutural de compostos complexos, redução da dimensão das partículas e aumento da área biodisponível da cama de frango, favorecendo a aclimação e desenvolvimento dos microrganismos no meio (CHU et al., 2001; ZOU et al, 2016).

Venturin et al (2016), obtiveram aumento de 22% no potencial bioquímico de biogás ao estudar o efeito do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio (12% v.v<sup>-1</sup>), sobre a fração lignocelulósica do caule de milho. Porém, para este estudo, no pré-tratamento com peróxido de hidrogênio, não foi observada influência na cinética, possivelmente devido a baixa concentração usada nos testes.

Embora os pré-tratamentos com ultrassom e peróxido de hidrogênio não tenham ocasionado mudanças no potencial bioquímico de metano da amostra, o processo de ultrassom mostrou-se promissor, pois promoveu redução do tempo de duração da fase lag, tornando a cama de frango um substrato mais propício para o processo de digestão anaeróbia. Assim o pré-tratamento com ultrassom foi definido para a condução dos experimentos utilizando DCC.

#### 4.4 ULTRASSOM COMO PRÉ-TRATAMENTO DE CAMA DE FRANGO AVALIADA POR MEIO DE DCC 2<sup>2</sup>

##### 4.4.1 Solubilização de Açúcar Redutor Total (ART) da cama de frango após pré-tratamento com ultrassom

A partir dos resultados promissores da etapa preliminar, o pré-tratamento utilizando ultrassom foi avaliado por meio de um DCC 2<sup>2</sup>, conforme descrito na Tabela 6, onde avaliou-se como variável resposta a solubilização de ART e como variáveis independentes a amplitude do ultrassom e a quantidade de matéria seca da cama de frango de 12 lotes.

Tabela 6: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados obtidos para a solubilização de ART após pré-tratamento ultrassônico.

Ensaio	Amplitude (%)	Matéria Seca (%)	ART (g kg <sup>-1</sup> )
E1	-1(20)	-1 (10)	6,51
E2	1(100)	-1 (10)	13,02
E3	-1 (20)	1 (20)	6,58
E4	1 (100)	1 (20)	8,30
E5	0 (60)	0 (15)	9,42
E6	0 (60)	0 (15)	8,21
E7	0 (60)	0 (15)	8,21

Observa-se na Tabela 6, que o ensaio E1 (20% de amplitude e 10% de matéria seca) e E3 (20% de amplitude e 20% de matéria seca) resultaram nas menores quantidades de ART, sendo respectivamente 6,51 e 6,58 g kg<sup>-1</sup>. Percebe-se também que estes foram conduzidos na condição de menor energia de ultrassom aplicada (20% de amplitude). O ensaio E2 (100% de amplitude e 10% de matéria seca), apresentou a maior quantidade de ART na amostra após pré-tratamento (13,02 g kg<sup>-1</sup>), sendo 100 e 97% maior em relação a E1 e E3.

A fim de confirmar a influência das variáveis independentes em relação a variável resposta estudada neste tópico, os resultados foram avaliados estatisticamente (STATISTICA 8.0) por meio de ANOVA e gráfico de superfície de resposta, sendo possível gerar um modelo matemático de segunda ordem, apresentado na Equação 3.

$$\text{Açúcar Redutor Total} = 8,6063025210084 + 2,0580882352941x \text{ Amplitude} - 1,1654411764706 x \text{ Matéria Seca} - 1,1977941176471x \text{ Amplitude} x \text{ Matéria Seca} \quad (3)$$

A Tabela 7 apresenta a análise de variância (ANOVA), onde pode-se verificar a validade do modelo matemático gerado (Equação 3), uma vez que o F calculado apresenta o valor de 28,44 sendo maior que o F tabelado que foi de 9,28, com um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 96% (MONTGOMERY, 2001). Esses resultados capacitam o modelo a estimar a liberação de ART utilizando-se o gráfico de superfície de resposta.

Tabela 7: Análise de variância dos dados obtidos, para validação da significância estatística a  $p < 0,05$ .

<b>Fonte de Variação</b>	<b>Soma dos quadrados</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>F<sub>calculado</sub></b>	<b>R<sup>2</sup> (%)</b>
Regressão	28,115	3	9,372	28,44	96
Resíduo	0,98860	3	0,330		
Total	29,10336	6			

\*F<sub>tabelado</sub> 95% = 9,28

Observa-se na Figura 11 que independente da quantidade de matéria seca, quanto maior a amplitude do ultrassom, maior é a solubilização de ART. Esses resultados contribuem e ressaltam a influência de tais parâmetros na solubilização de ART na amostra após pré-tratamento.

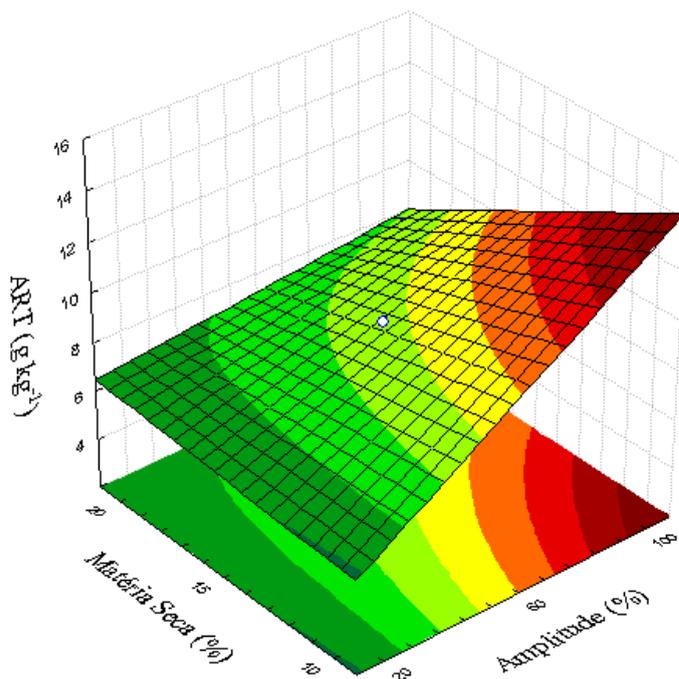


Figura 11: Superfície de resposta para influência da amplitude ultrassônica e da matéria seca da cama de frango na solubilização de ART.

A intensidade acústica está relacionada com a amplitude de vibração da fonte de ultrassom, assim quanto maior a amplitude maior será o efeito sobre o material desejado (MASON et al., 2011). As forças de cisalhamento geradas pela cavitação podem ter desintegrado a matriz lignocelulósica da cama de frango disponibilizando açúcares solúveis e fermentecíveis.

Os resultados obtidos nesse estudo assemelham-se com dados apresentados na literatura. Revin et al. (2016) estudaram o efeito do pré-tratamento de moagem e ultrassom na madeira de pinus para posterior conversão enzimática em etanol. Os resultados mostraram melhorias significativas na quantidade de ART na amostra, concluindo que o ultrassom aumenta o número de pontos de acesso para a formação de complexos enzima-substrato.

Xi et al., (2013) ao pré-tratar com ultrassom bagaço de cana-de-açúcar a uma potência de 150 W, durante 40 minutos aumentaram em 29,5% a quantidade de ART na amostra. Nitayavardhana et al. (2008) obtiveram um incremento na quantidade de ART de 180% a partir da sonicação de chips de mandioca. Cabe ressaltar que no presente trabalho, o tempo de aplicação do ultrassom foi de apenas 2 minutos.

#### 4.4.2 Solubilização de COS após pré-tratamento ultrassônico

A Tabela 8 apresenta a matriz do planejamento aplicando-se o DCC onde avaliou-se como variável resposta a solubilização de COS e como variáveis independentes a quantidade de matéria seca da cama de frango e a amplitude do ultrassom.

Tabela 8: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados obtidos para a solubilização de Carbono Orgânico Solúvel (COS) após pré-tratamento ultrassônico.

<b>Ensaio</b>	<b>Amplitude (%)</b>	<b>Matéria Seca (%)</b>	<b>COS (g kg<sup>-1</sup>)</b>
E1	-1(20)	-1 (10)	14,14
E2	1(100)	-1 (10)	24,66
E3	-1 (20)	1 (20)	16,40
E4	1 (100)	1 (20)	21,14
E5	0 (60)	0 (15)	16,91
E6	0 (60)	0 (15)	20,44
E7	0 (60)	0 (15)	19,87

Avaliando-se a Tabela 8 é possível visualizar que o ensaio E2, referente a menor quantidade de matéria seca e maior amplitude ultrassônica estudadas (10% de matéria seca e 100% de amplitude) apresentou a maior solubilização de COS, que foi de 24,66 g kg<sup>-1</sup>. Conforme apresentado anteriormente (Tabela 3) a quantidade de carbono total obtida com a caracterização da amostra de cama de frango de 12 lotes bruta foi de 20,70 (%), assim o pré-tratamento estabelecido para o ensaio E2 proporcionou a solubilização de 19% do carbono total na amostra.

Os dados obtidos foram tratados estatisticamente (STATISTICA 8.0), possibilitando definir as variáveis significativas e gerar um modelo matemático de segunda ordem, apresentado na Equação 4.

$$\text{Carbono Orgânico Solúvel} = 19,079789915966 + 3,8158088235294 \times \text{Amplitude} - 31139705882353 \times \text{Matéria Seca} - 1,4452205882353 \times \text{Amplitude} \times \text{Matéria Seca} \quad (4)$$

A Tabela 9 apresenta a análise de variância (ANOVA), onde verifica-se a validade do modelo matemático gerado (Equação 3) a 95% de confiança, uma vez que o F calculado apresenta o valor de 9,37 sendo maior que o F tabelado que foi de 9,28, com um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 90% (MONTGOMERY, 2001). Esses resultados capacitam o modelo a estimar a liberação de COS utilizando gráfico de superfície de resposta.

Tabela 9: Análise de variância dos dados obtidos, para validação da significância estatística a  $p < 0,05$ .

<b>Fonte de Variação</b>	<b>Soma dos quadrados</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>F<sub>calculado</sub></b>	<b>R<sup>2</sup> (%)</b>
Regressão	66,984	3	22,328	9,37	90
Resíduo	7,14766	3	2,383		
Total	74,13177	6			

\*F<sub>tabelado</sub> 95% = 9,28

Ao avaliar a superfície de resposta obtida, observa-se na Figura 12 que independente da quantidade de matéria seca a solubilização de COS é maior conforme ocorre o aumento da amplitude do ultrassom. Assim como obtido para ART, esses resultados salientam a influência do ultrassom na solubilização de COS na amostra após pré-tratamento.

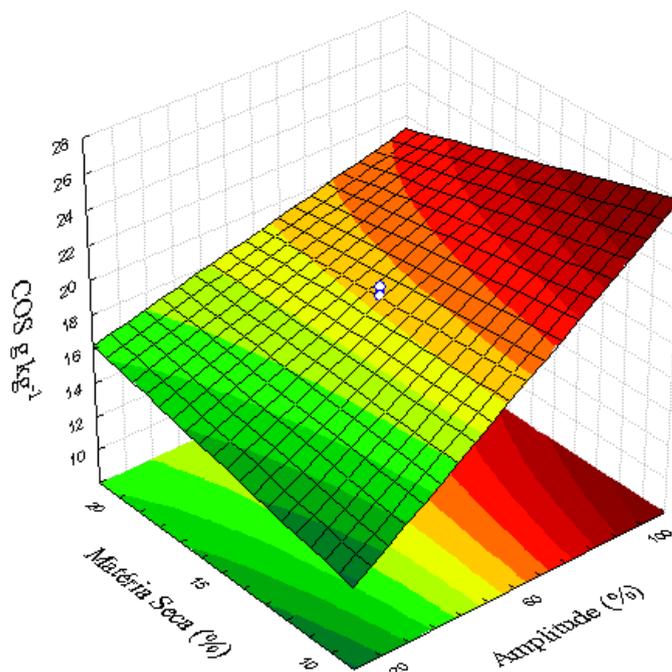


Figura 12: Superfície de resposta para influência da matéria seca e amplitude ultrassônica na solubilização de COS.

Garoma et al, (2018) estudaram o efeito do ultrassom na solubilização do digestato provindo de uma planta de tratamento de efluentes domésticos e relataram que a quantidade de COS também aumentou com o aumento da intensidade ultrassônica, resultando em 165% mais COS em relação a amostra sem pré-tratamento. Segundo Thien, Nickel e Neis (1997) o ultrassom quando usado para o pré-tratamento promove principalmente efeitos físicos, que favorecem a solubilização da matéria orgânica, resultando em maiores quantidades de substrato prontamente disponíveis para digestão anaeróbia (BUNDHOO; MOHEE, 2018; CESARO; BELGIORNO, 2013).

O aumento de carbono biodisponível em sistemas de digestão anaeróbia pode melhorar o rendimento de biogás, pois facilita a transferência de elétrons entre as bactérias fermentadoras e as arqueas metanogênicas, acelerando a assimilação de acetato (YUN et al., 2018) pelas metanogênicas acetoclásticas que são os microrganismos predominantes na digestão anaeróbia e responsáveis pela produção de 60 a 70% de metano (CHERNICHARO, 2010).

#### 4.4.3 Ensaio cinéticos de PBB após pré-tratamento ultrassônico

Testes cinéticos de PBB foram realizados a fim de determinar as mudanças na produção de biogás da amostra de cama de frango após o pré-tratamento com ultrassom.

Considerando os incrementos na quantidade de ART e COS obtidos, assim como relatos disponíveis na literatura (CESARO et al., 2014; KARRAY; HAMZA; SAYADI, 2015; PARK et al., 2013), espera-se que o pré-tratamento ultrassônico apresente melhorias na produção de biogás da cama de frango.

A produção de biogás a partir do padrão de celulose microcristalina para este estudo correspondeu a  $733 \pm 5 \text{ mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ . A faixa de referência de PBB para celulose é de 740-750  $\text{mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ , onde a recuperação de 80% desse valor (600  $\text{mL}_{\text{Nbiogas}} \cdot \text{gSV}_{\text{adic}}^{-1}$ ) é considerado satisfatório. Assim, o resultado obtido atesta a atividade anaeróbia adequada do inóculo bem como a validade dos testes realizados, conforme descrito na norma VDI 4630 (2006).

Baseado nos dados cumulativos de produção de biogás dos ensaios de PBB realizados, os parâmetros cinéticos (potencial máximo de produção de biogás, velocidade máxima de produção de biogás, dia de ocorrência da velocidade máxima de produção de biogás e tempo de duração da fase lag) foram calculados utilizando o modelo de Gompertz modificado. A Tabela 10 apresenta o modelo não linear de Gompertz ajustado às cinéticas de produção de biogás da cama bruta (sem pré-tratamento) e de cada pré-tratamento.

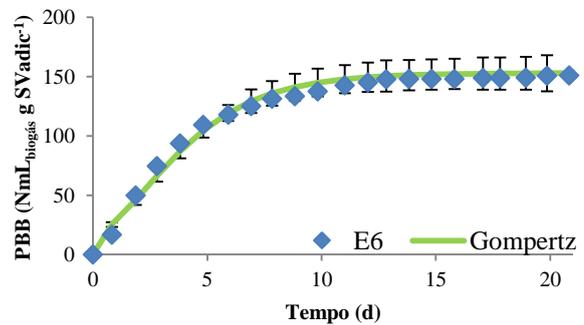
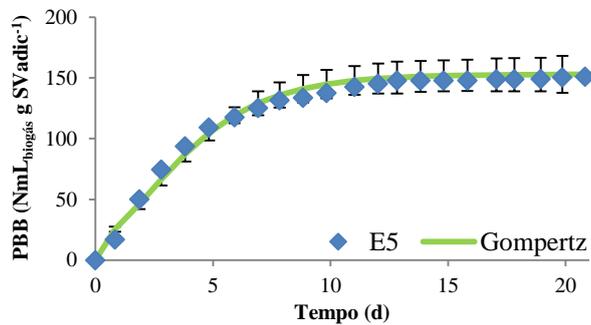
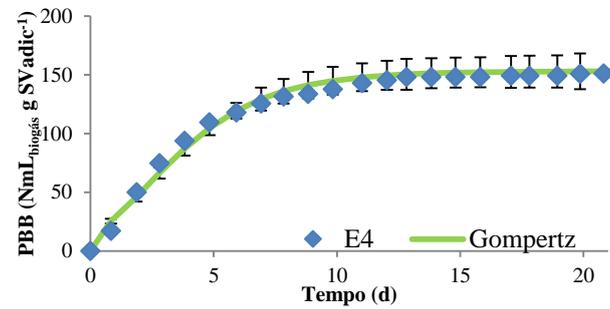
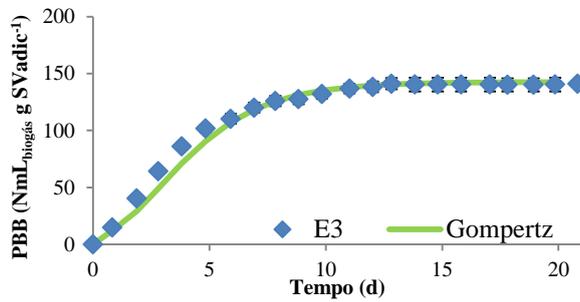
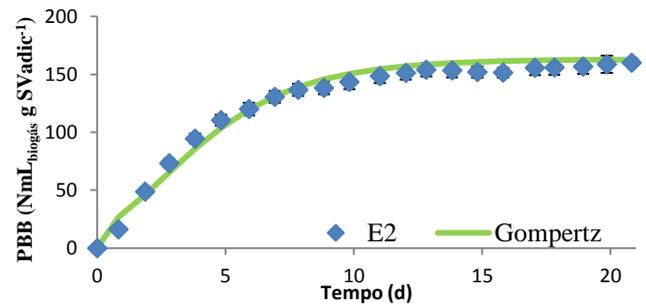
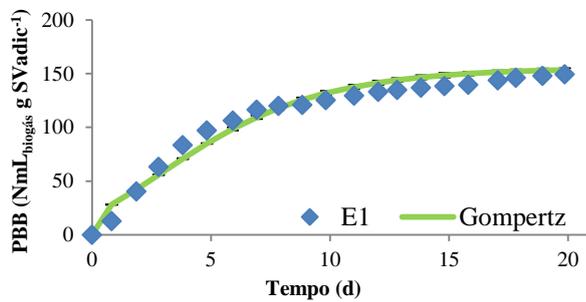
A Tabela 10 apresenta o efeito das diferentes condições de pré-tratamento com ultrassom nos parâmetros cinéticos de produção de biogás da cama de frango com 12 lotes utilizando o modelo matemático de Gompertz. A Figura 13 apresenta o perfil da produção acumulada de biogás das diferentes condições de pré-tratamento com ultrassom nos parâmetros cinéticos de produção de biogás da cama de frango com 12 lotes utilizando o modelo matemático de Gompertz.

Tabela 10: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados dos parâmetros cinéticos obtidos com o uso o Modelo de Gompertz para os parâmetros de potencial máximo de produção de metano para os pré-tratamentos por ultrassom da cama de frango.

Ensaio	Amplitude (%)	Matéria Seca (%)	A ( $\text{NmL}_{\text{biogás}} \text{ g SV}_{\text{adic}}^{-1}$ )	$r_m$ ( $\text{NmL}_{\text{biogás}} \text{ g SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ )	Dia da $r_m$ (d)	$\lambda$ (d)	R <sup>2</sup> (%)
Cama Bruta	-	-	147,9	20,0	3,3	0,3	98,0
E1	-1(20)	-1 (10)	155,3	14,9	3,5	0	96,4
E2	1(100)	-1 (10)	163,0	20,9	2,9	0	97,6
E3	-1 (20)	1 (20)	146,7	22,2	2,8	0,6	99,3
E4	1 (100)	1 (20)	153,0	21,9	2,6	0	98,3
E5	0 (60)	0 (15)	134,1	24,7	2,4	0	99,1

E6	0 (60)	0 (15)	143,0	25,4	2,3	0	98,8
E7	0 (60)	0 (15)	140,3	24,7	2,3	0	98,2

Legenda: Potencial máximo de produção de biogás (A), velocidade máxima de produção de biogás ( $rm$ ), dia de ocorrência da velocidade máxima de produção de biogás (Dia da  $rm$ ), fase lag ( $\lambda$ ) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Onde: (E1) 20% de amplitude e 10% de matéria seca; (E2) 100% de amplitude e 10% de matéria seca; (E3) 20% de amplitude e 20% de matéria seca; (E4) 100% de amplitude e 20% de matéria seca; (E5) 60% de amplitude e 15% de matéria seca; (E6) 60% de amplitude e 15% de matéria seca (E7) 60% de amplitude e 15% de matéria seca.



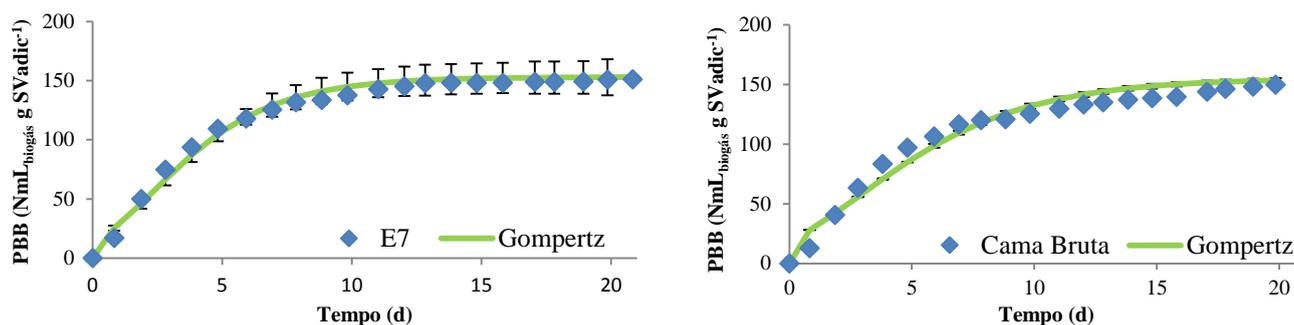


Figura 13: Perfil da produção acumulada de biogás para os pré-tratamentos da cama de frango de 12 lotes.

Nota-se na Figura 13 um ajuste aceitável do modelo aos dados experimentais obtidos. Na tabela 10 é possível observar valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) superiores a 96% em todos os ensaios. O potencial máximo de produção de biogás para a cama de frango bruta (sem pré-tratamento) foi de  $147,9 \text{ mL}_{\text{Nbiogás}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic.}$  Quando comparado aos resultados obtidos após pré-tratamento ultrassônico, o ensaio E2 (100% amplitude e 10% matéria seca) atingiu  $163,0 \text{ mL}_{\text{Nbiogás}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic.}$  sendo 10,2% maior em relação a cama bruta. O ensaio E2 foi conduzido com a quantidade máxima ideal de matéria seca (10%) para o bom desempenho de reatores anaeróbios do tipo CSTR (KARIYAMA; ZHAI; WU, 2018) e com a maior amplitude ultrassônica testada.

Os ensaios E1 (20% amplitude e 10% matéria seca) e E4 (100% de amplitude e 20% de matéria seca) foram respectivamente 5,0% e 3,4 % maiores que o potencial máximo de produção de biogás da cama bruta. Já os ensaios E3, E5, E6 e E7 apresentaram resultados inferiores em relação a cama bruta, sendo respectivamente 0,9%, 10,3%, 3,4%, 5,4%.

Na velocidade máxima de produção de biogás ( $rm$ ) somente E1 ( $14,9 \text{ mL}_{\text{Nbiogás}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic} \cdot \text{d}^{-1}$ ) foi numericamente inferior em comparação com a cama bruta ( $20,0 \text{ mL}_{\text{Nbiogás}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic} \cdot \text{d}^{-1}$ ). As maiores velocidades foram encontradas nos ensaios E6, E7 e E5 ( $25,4$ ,  $24,7$ ,  $24,6 \text{ mL}_{\text{Nbiogás}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic} \cdot \text{d}^{-1}$ ) seguidos por E3, E4 e E2 ( $22,2$ ,  $21,9$ ,  $20,9 \text{ mL}_{\text{Nbiogás}} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{adic} \cdot \text{d}^{-1}$ ).

O dia de ocorrência da velocidade máxima de produção de biogás (Dia da  $rm$ ) para a cama de frango bruta deu-se no dia 3,3. Assim, os melhores resultados ocorreram em E5, E6 e E7, sendo respectivamente 2,4, 2,3 e 2,3 dias.

A fase adaptativa ( $\text{lag} - \lambda$ ) foi similar tanto para a amostra de cama bruta (0,3 dia), quando para as amostras após pré-tratamento ultrassônico. Para o ensaio E3 a fase lag foi de 0,6 dia, para os ensaios E1, E2, E4, E5, E6 e E7 a fase lag correspondeu a zero.

Lizama et al, (2017) estudaram os efeitos do pré-tratamento ultrassônico na solubilização e no estudo cinético da produção de biogás a partir da digestão anaeróbia de lodo ativado. Além de a produção de biogás aumentar em 31,43%, melhorias no potencial máximo de produção de biogás, bem como na velocidade máxima de produção também foram alcançadas. A fase adaptativa foi inferior a 0,01 tanto para a amostra controle quanto para as amostras pré-tratadas.

Para as condições testadas nesse estudo o percentual de metano não apresentou mudanças expressivas em relação a cama bruta (63%), sendo de 65% para E7, 64% para E1, E3 e E5, 63% para E4 e E6 e 62% para E2 .

A análise de variância (ANOVA), não validou o modelo matemático gerado para  $A$ ,  $r_m$ , dia da  $r_m$  e  $\lambda$  a uma confiança de 95%, uma vez que o  $F$  calculado apresenta valor menor em relação a  $F$  tabelado (MONTGOMER, 2001).

#### 4.4.4 Energia aplicada

A Tabela 11 apresenta a matriz do planejamento aplicando-se o DCC, tendo como variáveis independentes a quantidade de matéria seca da cama de frango e a amplitude do ultrassom e como variável dependente a energia aplicada durante as diferentes condições de pré-tratamento.

Tabela 11: Matriz do planejamento (DCC) com os fatores (codificados e reais) e resultados da energia aplicada para os pré-tratamentos por ultrassom da cama de frango.

<b>Ensaio</b>	<b>Amplitude (%)</b>	<b>Matéria Seca (%)</b>	<b>Energia aplicada (kJ L<sup>-1</sup>)</b>
E1	-1(20)	-1 (10)	0,13
E2	1(100)	-1 (10)	0,44
E3	-1 (20)	1 (20)	0,24
E4	1 (100)	1 (20)	0,70
E5	0 (60)	0 (15)	0,40
E6	0 (60)	0 (15)	0,40
E7	0 (60)	0 (15)	0,40

Observa-se na Tabela 11 que a menor quantidade de energia aplicada ocorreu no ensaio E1 (20% de amplitude e 10% de matéria seca) sendo de 0,13 kJ L<sup>-1</sup>. No teste feito a

100% de amplitude e 20% de matéria seca houve um aumento de 6 vezes na energia aplicada, correspondente ao ensaio E4. No entanto, as maiores solubilizações de ART e COS e maior quantidade de biogás foram obtidas no ensaio E2 (100% de amplitude e 10% de matéria seca), que demandou  $0,44 \text{ kJ L}^{-1}$  para pré-tratar a amostra de cama de frango. Os ensaios E3 (20% de amplitude e 20% de matéria seca), E5, E6 e E7 (60% de amplitude e 15% de matéria seca) demandaram respectivamente 0,24, 0,40, 0,40 e 0,40 kJ/L para realização dos pré-tratamentos.

Visando confirmar a influência das variáveis independentes em relação a energia aplicada (variável dependente) durante o pré-tratamento ultrassônico da amostra de cama de frango, os resultados foram avaliados estatisticamente (STATISTICA 8.0) por meio de ANOVA e gráfico de superfície de resposta, sendo possível gerar um modelo matemático de segunda ordem, apresentado na Equação 4.

$$\text{Energia aplicada} = 38714285714286 + 1925 \times \text{amplitude} + 0925 \times \text{matéria seca} + 0375 \times \text{amplitude} \times \text{matéria seca} \quad (4)$$

A Tabela 12 apresenta a análise de variância (ANOVA), onde verifica-se a validade do modelo matemático gerado (Equação 4), uma vez que o F calculado apresenta o valor de 216,71 sendo maior que F tabelado que foi de 9,28, com um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 99% (MONTGOMERY, 2001). Assim, foi possível estimar a energia aplicada utilizando gráfico de superfície de resposta.

Tabela 12: Análise de variância dos dados obtidos, para validação da significância estatística a  $p < 0,05$ .

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F <sub>calculado</sub>	R <sup>2</sup> (%)
Regressão	0,188	3	0,063	216,71	99
Resíduo	0,000868	3	0,000289		
Total	0,188943	6			

\*F<sub>tabelado</sub> 95% = 9,28

A Figura 14 apresenta a superfície de resposta obtida. Observa-se que a variável que exerce maior influência na quantidade de energia necessária para realização dos pré-tratamentos definidos para este estudo é a amplitude.

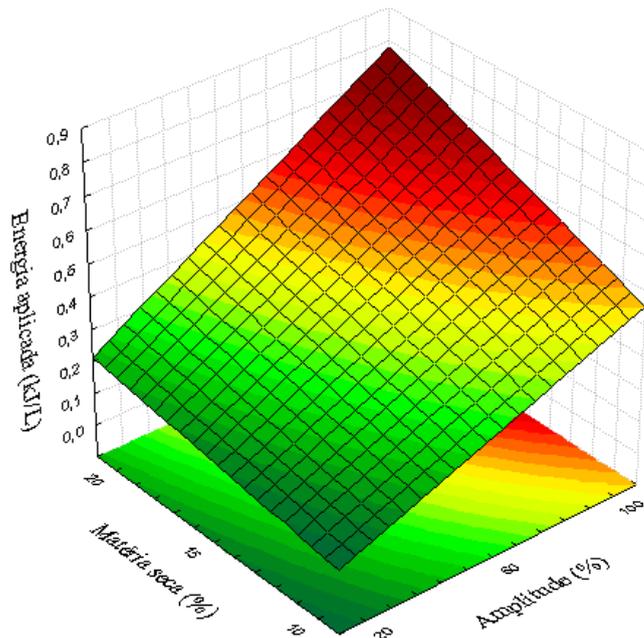


Figura 14: Superfície de resposta para influência da matéria seca e amplitude ultrassônica na energia aplicada durante o pré-tratamento da amostra de cama de frango.

Quando a energia aplicada ( $0,44 \text{ kJ L}^{-1}$ ) na melhor condição obtida neste estudo (E2) é comparada com a energia aplicada em estudos em escala laboratorial disponíveis na literatura observa-se uma grande diferença, uma vez que esses valores variam entre 110 a  $900 \text{ kJ L}^{-1}$  (PÉREZ-ELVIRA et al., 2009). Considerando que a energia aplicada é proporcional ao tempo de aplicação, estudos relatam que a solubilização de lodo ativado foi melhorada conforme aumento no tempo de sonicação (LE et al, 2015). Shimizu et al, (1993) relataram que para solubilizar 50% de lodo ativado foram necessários 30 a 40 minutos de sonicação, para atingir 75% a 80% de solubilização foram necessários 90 minutos. Assim, é possível inferir que no presente estudo um maior tempo de aplicação de ultrassom teria proporcionado maior solubilização de ART e COS, o que acarretaria maior PBB.

#### 4.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para observar a morfologia da superfície das amostras antes e depois do pré-tratamento com ultrassom. Os resultados são apresentados na Figura 15.

Pode-se observar que todas as amostras apresentam uma superfície heterogênea com

partículas de tamanhos diferenciados. O E0 (controle contendo cama bruta) apresenta uma superfície menos rugosa em relação a todas as demais condições estudadas, mantendo sua estrutura superficial preservada. Nota-se em todas as amostras pré-tratadas uma maior distribuição e aumento da rugosidade da matéria superficial em relação ao controle (como apontam as setas). Esses resultados indicam que pode ocorrer aumento da área de contato dos microrganismos com o substrato disponível para produção de biogás (ZOU et al., 2016).

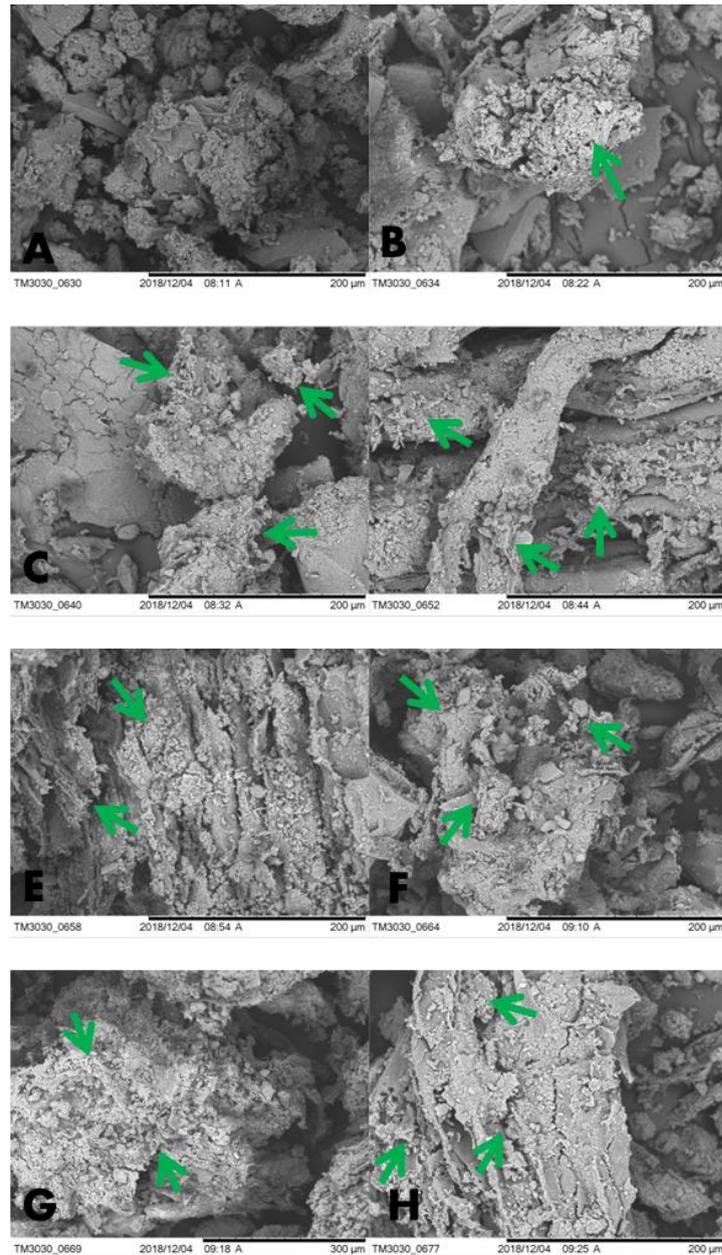


Figura 15: Imagem obtida por MEV para a amostra de cama de frango nas diferentes quantidades de matéria seca e condições de pré-tratamento com ultrassom. Onde: (A) cama de frango bruta; (B) 20% de amplitude e 10% de matéria seca; (C) 100% de amplitude e 10% de matéria seca; (D) 20% de amplitude e 20% de matéria seca; (E) 100% de amplitude e 20% de matéria seca; (F) 60% de amplitude e 15% de matéria seca; (G) 60% de amplitude e 15% de matéria seca; (H) 60% de amplitude e 15% de matéria seca.

O efeito de cavitação gerado pelo ultrassom atua com forças de cisalhamento sob a amostra, danificando sua estrutura física (LIPPERT et al., 2018). Segundo Mason et al (2011), o colapso das bolhas de cavitação na água e próximo a materiais sólidos (no caso deste trabalho, a cama de frango) pode acarretar em modificações na superfície desejada em termos de danos mecânicos gerados pelo colapso assimétrico das bolhas, resultando em erosão e abrasão.

Os resultados de MEV corroboram com os resultados já expostos para liberação de ART e COS e também com os obtidos por Zou et al, (2016) que ao estudarem o efeito do pré-tratamento com ultrassom na palha de milho e dejetos bovinos relataram que a sonicação reduziu o diâmetro das partículas e aumentou a rugosidade da palha de milho, além de tornar a superfície do dejetos bovino mais distribuída.

## 5 CONCLUSÃO

Considerando os objetivos traçados e os resultados alcançados, pode-se concluir que o potencial bioquímico de biogás da cama de frango com 2, 12 e 18 lotes foi respectivamente 120, 108 e 129% superior em relação a maravalha, reforçando a recalcitrância exercida pela lignina. Além disso, o PBB das amostras de cama de frango para este estudo não diferiram estatisticamente mesmo com as diferentes características e praticas de manejo.

As avaliações preliminares de pré-tratamento da cama de frango utilizando ultrassom e peróxido de hidrogênio mostraram que o peróxido de hidrogênio não causou influência na cinética do processo. Já o ultrassom promoveu a redução do tempo de duração da fase lag, bem como reduziu o tempo da ocorrência das velocidades máximas de produção de metano, mostrando-se promissor para a condução dos experimentos a partir do DCC 2<sup>2</sup>.

O pré-tratamento com ultrassom nas condições definidas para o DCC 2<sup>2</sup> ressaltou a influência do ultrassom na solubilização de ART e COS. Quando a amostra de cama de frango (12 lotes) contendo 10% de matéria seca foi pré-tratada a 100% de amplitude ultrassônica a quantidade de biogás foi aumentada em 10% (Ensaio E2). Esses resultados apontam que o ultrassom é um pré-tratamento promissor para realização de melhorias no processo de digestão anaeróbia da cama de frango.

### 5.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O ultrassom mostrou-se uma opção potencialmente válida para o tratamento de substratos orgânicos contendo substâncias recalcitrantes para a digestão anaeróbia, os resultados do presente estudo também sugerem que esforços adicionais podem ser realizados, os mesmos seguem a baixo.

- Solubilização (em H<sub>2</sub>O) da cama de frango, seguido por um processo de separação da fração lignocelulósica e solúvel, com aplicação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na fração fibrosa.
- Condução e investigação das melhores condições experimentais em reatores do tipo CSTR em escala laboratorial.
- Avaliação da viabilidade econômica da aplicação do ultrassom em conjunto com a digestão anaeróbia em vista de sua aplicação em escala real.
- Investigação de outras condições de ultrassom para melhoria na produção de biogás (aumento do tempo de aplicação para aumentar a energia aplicada de

acordo com outros trabalhos descritos na literatura), avaliar outros equipamentos de ultrassom como *cup horn* e sistemas para aplicação em fluxo.

## REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira Proteína Animal. **Relatórios Anuais**. 2017. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2017>>. Acesso em: 14 dez. 2017.

AMIN, F. R. et al. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. **AMB Express**, v. 7, n 1, 2017.

ANGELIDAKI, I. et al. Biogas upgrading and utilization: current status and perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 2, p. 452–466, 2018.

APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22th ed. Washington: APHA, 2012.

APPELS, L. et al. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, p. 755–781, 2008.

ARYAL, N. et al. An overview of microbial biogas enrichment. **Bioresource Technology**, v. 264, p. 359–369, 2018.

ASHOKKUMAR, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles: an overview. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 864–872, 2011.

BARAKAT, A. et al. Mechanical pretreatments of lignocellulosic biomass: towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production. **RSC Advances**, v. 4, p. 48109–48127, 2014.

BARUA, V. B.; GOUD, V. V.; KALAMDHAD, A. S. Microbial pretreatment of water hyacinth for enhanced hydrolysis followed by biogas production. **Renewable Energy**, v. 126, p. 21–29, 2018.

BATSTONE, D. J. et al. Mathematical modelling of anaerobic digestion processes: applications and future needs. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 595–613, 2015.

BAYRAKDAR, A et al.. Biogas production from chicken manure: co-digestion with spent poppy straw. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 205–210, 2017.

BHUI, I. et al. Influence of volatile fatty acids in different inoculum to substrate ratio and enhancement of biogas production using water hyacinth and salvinia. **Bioresource Technology**, v. 270, p. 409–415, 2018.

BÖJTI, T. et al. Pretreatment of poultry manure for efficient biogas production as monosubstrate or co-fermentation with maize silage and corn stover. **Anaerobe**, v. 46, p. 138–145, 2017.

BONASSA, G. et al. Scenarios and prospects of solid biofuel use in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2365–2378, 2018.

BORJA, R.; RINCÓN, B. Biogas Production. **Reference Module in Life Sciences**, p. 1–24, 2017.

BÖRJESSON, P.; MATTIASSON, B. Biogas as a resource-efficient vehicle fuel. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 7–13, 2008.

BOROWSKI, S.; DOMANSKI, J.; WEATHERLEY, L. Anaerobic co-digestion of swine and poultry manure with municipal sewage sludge. **Waste Management**, v. 34, n. 2, p. 513–521, 2014.

BUNDHOO, Z. M. A.; MOHEE, R. Ultrasound-assisted biological conversion of biomass and waste materials to biofuels: a review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 40, n. July 2017, p. 298–313, 2018.

BURRA, K. G. et al. Syngas evolutionary behavior during chicken manure pyrolysis and air gasification. **Applied Energy**, v. 181, p. 408–415, 2016.

CESARO, A.; BELGIORNO, V. Sonolysis and ozonation as pretreatment for anaerobic digestion of solid organic waste. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 3, p. 931–936, 2013.

CESARO, A. et al. Enhanced anaerobic digestion by ultrasonic pretreatment of organic residues for energy production. **Journal of Cleaner Production**, v. 74, p. 119–124, 2014.

CHAUMP, K. et al. Leaching and anaerobic digestion of poultry litter for biogas production and nutrient transformation. **Waste Management**, nov. 2018.

CHEN, H.; HAN, Y.; XU, J. Simultaneous saccharification and fermentation of steam exploded wheat straw pretreated with alkaline peroxide. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 12, p. 1462–1466, 2008.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2010.

CHOONG, Y. Y.; CHOU, K. W.; NORLI, I. Strategies for improving biogas production of palm oil mill effluent (POME) anaerobic digestion: a critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2993–3006, 2018.

COLLARD, F. X.; BLIN, J. A review on pyrolysis of biomass constituents: mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose,

hemicelluloses and lignin. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p. 594–608, 2014.

COLLETT, S. R. Nutrition and wet litter problems in poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1–2, p. 65–75, 2012.

CUI, M. et al. Optimization of biohydrogen production from beer lees using anaerobic mixed bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 19, p. 7971–7978, 2009.

DALÓLIO, F.S. et al. Poultry litter as biomass energy: a review and future perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 941–949, 2017.

DA SILVA, C. et al. Biochemical methane potential (BMP) tests: Reducing test time by early parameter estimation. **Waste Management**, v. 71, p. 19–24, 2018.

DEWIL, R.; BAEYENS, J.; GOUTVRIND, R. Ultrasonic treatment of waste activated sludge. **Environmental Progress**, v. 25, n. 2, p. 121–128, 2006.

DONG, C. et al. Dual-frequency ultrasound combined with alkali pretreatment of corn stalk for enhanced biogas production. **Renewable Energy**, v. 127, p. 444–451, 2018.

DROSG, B. **Process monitoring in biogas plants**. Programme of Research - Development and Demonstration on Bioenergy. International Energy Agency – Bioenergy, 2013.

DUNLOP, M.W.; BLACKALL, P.J.; STUETZ, R.M. Odour emissions from poultry litter: a review litter properties, odour formation and odorant emissions from porous materials. **Journal of Environmental Management**, v.177, p. 306–319, 2016.

EL ACHKAR, J. H. et al. Influence of pretreatment conditions on lignocellulosic fractions and methane production from grape pomace. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 881–889, 2018.

FAN, Y. et al. Anaerobic digestion of lignocellulosic waste: environmental impact and economic assessment. **Journal of Environmental Management**, v. 231, p. 352–363, 2019.

FERNANDES, T. V. et al. Effects of thermo-chemical pre-treatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 9, p. 2575–2579, 2009.

GARCÊS, A. P. J. T. et al. Evaluation of different litter materials for broiler production in a hot and humid environment: 2. Productive performance and carcass characteristics. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, n. 2, p. 369–374, 2017.

GARCIA, R. G. et al. Selecting the most adequate bedding material for broiler production in Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 14, n. 2, p. 71–158, 2012.

GHAEDI, M. et al. Central composite design and genetic algorithm applied for the optimization of ultrasonic-assisted removal of malachite green by ZnO nanorod-loaded

activated carbon. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 167, p. 157-164, 2016.

GAROMA, T.; PAPPATERRA, D. An investigation of ultrasound effect on digestate solubilization and methane yield. **Waste Management**, v. 71, p. 728–733, 2018.

HASSAN, S. S.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. Emerging Technologies for the Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. **Bioresource Technology**, v. 262, p. 310–318, 2018.

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

HOSSEINI KOUPAIE, E. et al. Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production: a review. **Journal of Environmental Management**, p. 1–11, 2018.

ISIKGOR, F. H.; BECER, C. R. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers. **Polymer Chemistry**, v. 6, n. 25, p. 4497–4559, 2015.

JANG, H. M. et al. Microbial community structure in a thermophilic aerobic digester used as a sludge pretreatment process for the mesophilic anaerobic digestion and the enhancement of methane production. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 80–89, 2013.

JENKINS, M. B. Fecal bacteria and sex hormones in soil and runoff from cropped watersheds amended with poultry litter. **Science of The Total Environment**, v. 358, p. 164–177, 2006.

KARIYAMA, I. D.; ZHAI, X.; WU, B. Influence of mixing on anaerobic digestion efficiency in stirred tank digesters: A review. **Water Research**, v. 143, p. 503–517, 2018.

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**, v. 187, p. 205–213, 2015.

KELLEHER, B. P. et al. Advances in poultry litter disposal technology: a review. **Bioresource Technology**, v. 83, n. 1, p. 27–36, 2002.

KHALID, M. J. et al. Synergistic effect of alkaline pretreatment and magnetite nanoparticle application on biogas production from rice straw. **Bioresource Technology**, v. 275, n. 275, p. 288–296, 2019.

KHANAL, S. K. **Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: principles and applications**. 1. ed. Ames, Iowa/USA: Wiley-Blackwell, 2008.

KIM, D. J.; LEE, J. Ultrasonic sludge disintegration for enhanced methane production in anaerobic digestion: Effects of sludge hydrolysis efficiency and hydraulic retention time. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 35, n. 1–2, p. 289–296, 2012.

KIM, J. et al. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.95, n. 3, p. 271-275, 2003.

KUMAR, P. et al. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3713–3729, 2009.

KUMAR, G.; SEN, B.; LIN, C. Y. Pretreatment and hydrolysis methods for recovery of fermentable sugars from de-oiled Jatropha waste. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 275–279, 2013.

LAUREANO-PEREZ, L. et al. Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 124, p. 1081–1099, 2005.

LE, N. T.; JULCOUR-LEBIGUE, C.; DELMAS, H. An executive review of sludge pretreatment by sonication. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 37, n. 2011, p. 139–153, 2015.

LETTINGA, G.; REBAC, S.; ZEEMAN, G. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. **Trends in Biotechnology**, v. 19, 2001.

LIM, J. W.; WANG, J. Y. Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste. **Waste Management**, v. 33, n. 4, p. 813–819, 2013.

LIPPERT, T. et al. Energy-positive sewage sludge pre-treatment with a novel ultrasonic flatbed reactor at low energy input. **Bioresource Technology**, v. 264, p. 298–305, 2018.

LIZAMA, A. C. et al. Effects of ultrasonic pretreatment on the solubilization and kinetic study of biogas production from anaerobic digestion of waste activated sludge. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 123, p. 1–9, 2017.

LIZAMA, A. C. et al. Effect of ultrasonic pretreatment on the semicontinuous anaerobic digestion of waste activated sludge with increasing loading rates. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 130, 32–39, 2018.

LIZASOAIN, J. et al. Corn stover for biogas production: effect of steam explosion pretreatment on the gas yields and on the biodegradation kinetics of the primary structural compounds. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 949–956, 2017.

LUO, J.; FANG, Z.; SMITH, R. L. Ultrasound-enhanced conversion of biomass to biofuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 41, n. 1, p. 56–93, 2014.

LYNCH, D. et al. Utilisation of poultry litter as an energy feedstock. **Biomass and Bioenergy**, v. 49, n. 0, p. 197–204, 2013.

MA, Q; PADEL, K. P.; CUI, L. A multi-objective optimization problem for using poultry litter in electricity production. **Applied Energy**, v. 228, p. 1220-1242, 2018.

MANTE, O. D.; AGBLEVOR, F. A. Influence of pine wood shavings on the pyrolysis of poultry litter. **Waste Management**, v. 30, n. 12, p. 2537–2547, 2010.

MAO, C. et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 540–555, 2015.

MARCHIORO, V. et al. Poultry litter solid state anaerobic digestion: effect of digestate recirculation intervals and substrate/inoculum ratios on process efficiency. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, p. 1–10, 2018.

MASON, T. J. et al. New evidence for the inverse dependence of mechanical and chemical effects on the frequency of ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 1, p. 226–230, 2011.

MATHERI, A. N. et al. Optimising biogas production from anaerobic co-digestion of chicken manure and organic fraction of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 80, p. 756–764, 2017.

MATUSIAK, K. et al. The use of *Yucca schidigera* and microbial preparation for poultry manure deodorization and hygienization. **Journal of Environmental Management**, v. 170, p. 50–59, 2016.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426–428, 1959.

MONLAU, F. et al. Predictive models of biohydrogen and biomethane production based on the compositional and structural features of lignocellulosic materials. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 21, p. 12217–12225, 2012.

MONTGOMERY, D. C. Design and analysis of experiments. John Wiley & Sons, New York, 2001.

NGUYEN, D. D. et al. Dry thermophilic semi-continuous anaerobic digestion of food waste: Performance evaluation, modified Gompertz model analysis, and energy balance. **Energy Conversion and Management**, v. 128, p. 203–210, 2016.

NITAYAVARDHANA, S. et al. Ultrasound pretreatment of cassava chip slurry to enhance sugar release for subsequent ethanol production. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 101, n. 3, 2008.

PAIN, B.; MENZI, H. Recycling Agricultural, Municipal and Industrial Residues in Agriculture Network. Glossary of terms on livestock and manure management. 2011.

PARK, N. D.; HELLE, S. S.; THRING, R. W. Combined alkaline and ultrasound pretreatment of thickened pulp mill waste activated sludge for improved anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**, v. 46, p. 750–756, 2012.

PATIL, P.N. et al. Intensification of biogas production using pretreatment based on hydrodynamic cavitation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 30, p. 79–86, 2016.

PELLERA, F. M.; GIDARAKOS, E. Chemical pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. **Waste Management**, v. 71, n. 1, p. 689–703, 2018.

PÉREZ-ELVIRA, S. et al. Ultrasound pre-treatment for anaerobic digestion improvement. **Water Science and Technology**, v. 60, n. 6, p. 1525–1532, 2009.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, N.; GARCÍA-BERNET, D.; DOMÍNGUEZ, J. M. Effects of enzymatic hydrolysis and ultrasounds pretreatments on corn cob and vine trimming shoots for biogas production. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 130–138, 2016.

PERONDI, D. et al. Steam gasification of poultry litter biochar for bio-syngas production. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 109, p. 478–488, 2017.

PILLI, S. et al. Ultrasonic pretreatment of sludge: a review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 1, p. 1–18, 2011.

POLESEK-KARCZEWSKA, S. et al. Front velocity in the combustion of blends of poultry litter with straw. **Fuel Processing Technology**, v. 176, n. April, p. 307–315, 2018.

RABELO, S.C. et al. Enhancement of the enzymatic digestibility of sugarcane bagasse by steam pretreatment impregnated with hydrogen peroxide. **Biotechnology Progress**, v. 28, p. 1207-1217, 2012.

RAPOSO, F. et al. Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: Evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 86, n. 8, p. 1088–1098, 2011.

RAVINDRAN, R. et al. A comparative analysis of pretreatment strategies on the properties and hydrolysis of brewers' spent grain. **Bioresource Technology**, v. 248, part A, p. 272-279, 2018.

REVIN, V. et al. Enzymatic hydrolysis and fermentation of ultradispersed wood particles after ultrasonic pretreatment. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 20, p. 14-19, 2016.

RICO-CONTRERAS, J. O. et al. Moisture content prediction in poultry litter using artificial intelligence techniques and Monte Carlo simulation to determine the economic yield from energy use. **Journal of Environmental Management**, v. 202, p. 254–267, 2017.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 279–291, 2003.

SAHER, S. et al. Pyridinium based ionic liquid: a pretreatment solvent and reaction medium for catalytic conversion of cellulose to total reducing sugars (TRS). **Journal of Molecular Liquids**, v. 272, p. 330–336, 2018.

SAWATDEENARUNAT, C. et al. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 178, p. 178–186, 2015.

SELVARAJ, B. et al. Kinetic modelling of augmenting biomethane yield from poultry litter by mitigating ammonia. **International Journal of Green Energy**, v. 15, n. 12, p. 766–772, 2018.

SICILIANO, A.; STILLITANO, M. A.; DE ROSA, S. Biogas production from wet olive mill wastes pretreated with hydrogen peroxide in alkaline conditions. **Renewable Energy**, v. 85, p. 903–916, 2016.

SHCHUKIN, D. G., SKORB, E., BELOVA, V., MÖHWALD, H., Ultrasonic cavitation at solid surfaces. **Advanced Materials**, v. 23, n. 17, p. 1922–1934, 2011.

SHEN, J.; ZHU, J. Kinetics of poultry litter in a leach bed reactor with agitation based on two mechanisms: Enzymatic hydrolysis and direct solubilization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 135, p. 115–122, 2018.

SHEN, J.; ZHU, J. Methane production in an upflow anaerobic biofilm digester from leachates derived from poultry litter at different organic loading rates and hydraulic retention times. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 5, p. 5124–5130, 2017.

SHEN, J.; ZHU, J. Optimization of methane production in anaerobic co-digestion of poultry litter and wheat straw at different percentages of total solid and volatile solid using a developed response surface model. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 51, n. 4, p. 325–334, 2016.

SHIMIZU, T.; KUDO, K.; NASU, Y. Anaerobic waste-activated sludge digestion—a bioconversion mechanism and kinetic model. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 41, n. 11, p. 1082–1091, 1993.

SINGH, J.; SUHAG, M.; DHAKA, A. Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 624–631, 2015.

SOUZA, C. de F. Produção de biogás e tratamento de resíduos: biodigestão anaeróbia. **Ação Ambiental**, Viçosa, n. 34, p.26-29, nov./dez. 2005.

STEINMETZ, R. L. R. **Avaliação do efeito de drogas veterinárias na produção específica de biogás de substratos agropecuários**. 2016. 168 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2016.

STEINMETZ, R. L. R. et al. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 21–28, 2016.

STRÖMBERG, S.; NISTOR, M.; LIU, J. Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. **Waste Management**, v. 34, n. 11, p. 1939–1948, 2014.

SUN, S. et al. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 49–58, 2016.

SURESH, K. et al. Mechanistic investigations in sono-hybrid techniques for rice straw pretreatment. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 1, p. 200–207, 2014.

TEIXEIRA, R. S. S. et al. Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid assay mislead carbohydrase activity measurements. **Carbohydrate Research**, v. 363, p. 33–37, 2012.

THIEN, A.; NICKEL, K.; NEIS, U. The use of ultrasound to accelerate the anaerobic digestion of sewage sludge. **Water Science and Technology**, v. 36, n. 11, p. 121–128, 1997.

THOMPSON, L. H., DORAISWAMY, L. K., Sonochemistry: Science and engineering, **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 38, p. 1215-1249, 1999.

TIAN, G. et al. The effect of temperature on the microbial communities of peak biogas production in batch biogas reactors. **Renewable Energy**, v. 123, p. 15–25, 2018.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbico de esgoto: um manual para regiões de clima quente**. Campina Grande, PB: Universidade Federal da Paraíba, 1994.

VDI 4630. Fermentation of organic materials: characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. **The Association of German Engineers**, Düsseldorf, Germany. 2006.

VELUCHAMY, C.; KALAMDHAD, A. S. Enhanced methane production and its kinetics model of thermally pretreated lignocellulose waste material. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1–9, 2017.

VERARDI, A. et al. Effect of steam-pretreatment combined with hydrogen peroxide on lignocellulosic agricultural wastes for bioethanol production: Analysis of derived sugars and other by-products. **Journal of Energy Chemistry**, v. 27, n. 2, p. 535–543, 2018.

WANG, X. et al. 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.

WARE, A.; POWER, N. Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions. **Renewable Energy**, v. 104, p. 50–59, 2017.

WEILAND, P. Biogas production: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 4, p. 849–860, 2010.

WELLINGER, A.; MURPHY, J.; BAXTER, D. **The biogas handbook: science, production and applications**. Cambridge, UK: Woodhead Publishing, 2013.

XI, Y. et al. Ultrasonic pretreatment and acid hydrolysis of sugarcane bagasse for succinic acid production using *Actinobacillus succinogenes*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 36, n. 11, p. 1779–1785, 2013.

YADAV, M. et al. Coupled treatment of lignocellulosic agricultural residues for augmented biomethanation. **Journal of Cleaner Production**, v. 213, p. 75-88, 2019.

YUN, S. et al. Use of bio-based carbon materials for improving biogas yield and digestate stability. **Energy**, v. 164, p. 898–909, 2018.

YUSOF, N. S. M. et al. Physical and chemical effects of acoustic cavitation in selected ultrasonic cleaning applications. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 29, p. 568–576, 2016.

ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, n. 1, p. 35–53, 2014.

ZHU, S. et al. Microwave-assisted Alkali Pre-treatment of Wheat Straw and its Enzymatic Hydrolysis. **Biosystems Engineering**, v. 94, n. 3, p. 437–442, 2006.

ZIGANSHIN, A. M. et al. Microbial community structure and dynamics during anaerobic digestion of various agricultural waste materials. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 11, p. 5161–5174, 2013.

ZOU, S. et al. Enhancement of biogas production in anaerobic co-digestion by ultrasonic pretreatment. **Energy Conversion and Management**, v. 112, p. 226–235, 2016.