



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E  
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL**

**Gustavo Henrique Loureiro Ferreira**

**Avaliação do Potencial Metanogênico da Biomassa algácea  
submetida à hidrólise térmica e hidrólise alcalina**

**Vitória**

**2017**

**Gustavo Henrique Loureiro Ferreira**

**Avaliação do Potencial Metanogênico da Biomassa algácea  
submetida à hidrólise térmica e hidrólise alcalina**

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do grau de mestre em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável.

Orientador: Prof. D. Ing. Ricardo Franci Gonçalves

**Vitória  
2017**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial Tecnológica,  
Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

F383a Ferreira, Gustavo Henrique Loureiro, 1989-  
Avaliação do potencial metanogênico da biomassa algácea  
submetida à hidrólise térmica e hidrólise alcalina / Gustavo  
Henrique Loureiro Ferreira. – 2017.  
102 f. : il.

Orientador: Ricardo Franci Gonçalves.  
Dissertação (Mestrado em Engenharia e Desenvolvimento  
Sustentável) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro  
Tecnológico.

1. Energia. 2. Esgotos – Tratamento. 3. Microalga. 4. Biogás.  
5. Digestão anaeróbia. 6. Hidrólise. 7. Testes AME (Atividade  
metanogênica específica). I. Gonçalves, Ricardo Franci. II.  
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Tecnológico. III.  
Título.

CDU: 628

---

**GUSTAVO HENRIQUE LOUREIRO FERREIRA**

**Avaliação do Potencial Metanogênico da Biomassa  
Algácea Submetida à Hidrólise Térmica e Hidrólise Alcalina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável (Modalidade Profissional) da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável na área de concentração Gestão Sustentável e Energia.

Aprovada em 22 de março de 2017.

**COMISSÃO EXAMINADORA**



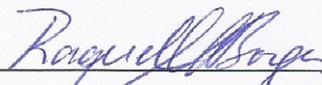
---

Prof. D.Ing. Ricardo Franci Gonçalves  
Orientador - PPGES / CT / UFES



---

Prof. PhD. Sérgio Túlio Alves Cassini  
Examinador Interno - PPGES / CT / UFES



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Raquel Machado Borges  
Examinadora Externa - IFES / Vitória

Aos meus pais e irmão.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais José Maria e Thereza, pelo apoio incondicional, incentivo e por entenderem o fato de eu “ainda estar estudando”.

Ao meu irmão Gabriel, pelo apoio e diversão nos momentos em casa.

Ao meu orientador e amigo, Ricardo Franci Gonçalves, por ter me guiado e orientado, sempre acreditando no meu potencial.

À Gisele, por tornar todos os intermináveis dias que passamos juntos dentro do caminhãozinho divertidos e mais toleráveis, além de ampliar minha visão, me ensinando e aprendendo junto comigo.

Ao meu amigo João, por todos os cafés (ou algo do tipo) e debates filosóficos-científicos que se sucediam nesse período do dia.

À Larissa, pelo apoio em todos os momentos.

Ao operador Adeir, por toda a simpatia e ajuda com todos os imprevistos durante as coletas na ETE de Vale Encantado.

A todos os meus colegas do Núcleo Água, pelo apoio durante a pesquisa e todos os momentos de diversão fora da UFES, em especial Ludimila, Gabriel e Letícia.

A todos os colegas do LABSAN pela ajuda nas análises e interpretação de resultados, assim como momentos de descontração.

À minha turma de mestrado 2014/2 por confiarem a mim o papel de “presidente” e por todo o companheirismo durante o curso.

Aos meus amigos do DOTA, me ajudando a relaxar e me renovar para mais um dia de pesquisa.

À Companhia Espírito Santense de Saneamento por permitir que realizássemos as coletas nas Estações de Tratamento de Esgoto por ela operadas.

À FAPES, pela bolsa de mestrado.

"O problema com o mundo é que as pessoas inteligentes estão cheias de dúvidas, enquanto os estúpidos estão cheios de confiança."

**Charles Bukowski**

## RESUMO

A digestão anaeróbia de microalgas é apontada com uma promissora alternativa para produção de biocombustíveis sustentáveis e consequente solução para o problema de escassez de combustíveis fósseis. Além de atenuar as consequências da liberação de gases de efeito estufa na atmosfera, a produção de biogás a partir da digestão desse substrato gerado a partir do tratamento de esgoto sanitário é capaz de prevenir também a eutrofização de corpos hídricos, aprimorando a qualidade do efluente a ser lançado. A etapa de hidrólise é considerada limitante nos processos de digestão anaeróbia, podendo ter seu efeito minimizado através de processos de pré-tratamento objetivando a hidrólise do substrato antes da sua digestão. Essa pesquisa visou verificar os efeitos dos pré-tratamentos hidrolíticos sobre a produção de metano a partir da digestão anaeróbia dessa biomassa, bem como caracterizar a biomassa antes e após a hidrólise. Esse estudo é uma das etapas de uma proposta de concepção de uma estação de tratamento de esgoto superavitária em energia elétrica, localizada na ETE de Araçás – Vila Velha/ES. A biomassa utilizada apresentou concentração média de sólidos totais de 3,5% e uma DQO média de 36,6g/L. Apesar de apresentar menor solubilização de matéria orgânica e carboidratos, a hidrólise térmica a 80°C apresentou um maior aumento na produção de metano, atingindo 1,10 gDQOCH<sub>4</sub>/gSSV.d, valor 61% maior do que o volume produzido a partir da digestão anaeróbia de biomassa não submetida à hidrólise (0,68 gDQOCH<sub>4</sub>/gSSV.d). A biomassa hidrolisada pela via alcalina apresentou uma produção de 0,88 gDQOCH<sub>4</sub>/gSSV.d, apenas 29% maior do que a produção observada na biomassa sem pré-tratamento. Esses resultados apontam a hidrólise térmica como uma melhor opção para o tratamento hidrolítico, quando comparado à hidrólise alcalina. O balanço de energia produzido a partir desses valores apresentou um *Energy Return on Investment* de 5,2 para a biomassa sem tratamento, 5,5 para a biomassa hidrolisada pela via térmica e 5,3 para a biomassa pela via alcalina, indicando que a estação baseada na tecnologia proposta é superavitária do ponto de vista energético.

**Palavras chave:** Energia elétrica, Tratamento de Esgoto, Microalgas, Biogás, Digestão Anaeróbia, AME, Hidrólise.

## ABSTRACT

The anaerobic digestion of microalgae is pointed out as a promising sustainable biofuel production option and hence a possible solution for the forecasted fossil fuels shortage. Besides diminishing the effects of greenhouse gas emission on the atmosphere, biogas production from anaerobic digestion of microalgae produced from wastewater treatment is also capable of preventing the eutrophication of receiving water bodies, generating a better-quality final effluent. The hydrolysis stage is considered to be the limiting stage of anaerobic digestion processes, having its effect minimized by pretreatments that can hydrolyze the substrate before its digestion. This research aims to verify pretreatment effects on the production of methane from anaerobic digestion, besides characterizing the biomass before and after the thermal and alkaline hydrolytic processes. This study is part of a conception proposal of an energy producing Wastewater Treatment Plant (WWTP), located on Araçás WWTP – Vila Velha/ES. The biomass used presented 3,5% solid concentration and a mean Chemical Organic Demand (COD) value of 36,6g/L. Although presenting less organic matter and carbohydrates solubilization, the thermal hydrolysis presented a higher methane production, producing 1,10gCODCH<sub>4</sub>/gVSS.d, 61% more than the production by the biomass not submitted to any hydrolytic pretreatment (0,68gCODCH<sub>4</sub>/gVSS.d). The alkaline hydrolyzed biomass produced 0,88gCODCH<sub>4</sub>/gVSSV.d, only 29% higher than the biomass not submitted to hydrolysis. These results confirm the thermal hydrolysis as a more suitable option than the chemical alkaline hydrolysis. The energy balance generated from these results produced an Energy Return on the Investment (EROI) of 5,2 for biomass not submitted to pretreatments, 5,5 for biomass submitted to thermal hydrolysis and 5,3 for the alkaline treatment, pointing out this WWTP, based on the proposed technology, as an energy producer.

**Keywords:** WWTP energy; Microalgae; Anaerobic digestion; SMA; Hydrolysis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquema de funcionamento de uma lagoa facultativa. ....	21
Figura 2: Lagoas utilizadas para cultivo de microalgas e tratamento de esgoto. .....	22
Figura 3: Fotobiorreatores abertos, fechados e imobilizados. ....	24
Figura 4: Lagoas de alta taxa para cultivo de microalgas. ....	26
Figura 5: Estrutura molecular dos pigmentos encontrados nos diferentes grupos de microalgas. ....	28
Figura 6: Microscopia eletrônica de uma célula de <i>Microcystis</i> sp. e <i>Arthrospira</i> sp. ....	29
Figura 7: Fluxograma de digestão anaeróbia (Adaptado de van Haandel e Lettinga, 1994). ....	33
Figura 8: Fontes atuais de biocombustíveis vs. Algas. ....	37
Figura 9: Tratamentos hidrolíticos visando melhor produção de biogás. ....	39
Figura 10: Aparato experimental para Quantificação de produção de Biogás. 46	
Figura 11: Respirômetro originalmente proposto por Monteggia (1991) ....	48
Figura 12: Esquema de Tratamento de Esgoto Sanitário do piloto da ETE Araçás. .....	50
Figura 13: Localização da ETE Vale Encantado. ....	50
Figura 14: Sistema Polilag em operação na lagoa facultativa de Vale Encantado - Vila Velha (ES). ....	50
Figura 15: Fluxograma de coleta e caracterização da biomassa algácea. ....	51
Figura 16: Polilag em operação na ETE Vale Encantado. ....	52
Figura 17: Padrão de Ácidos Orgânicos Voláteis utilizado. ....	54
Figura 18: Fluxograma de avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de biomassa algácea hidrolisada quimicamente pela via alcalina. ....	55
Figura 19: Detalhe da conexão das mangueiras de silicone no frasco contendo água. ....	57
Figura 20: Detalhe do frasco de reação e frasco de deslocamento de líquido. 57	
Figura 21: Percentual de solubilização de matéria orgânica (DQOf) nos tratamentos hidrolíticos. ....	67
Figura 22: Cinética de reação do processo de hidrólise térmica. ....	67
Figura 23: Cinética de reação do processo de hidrólise alcalina. ....	68

Figura 24: Comportamento dos compostos nitrogenados durante os tratamentos hidrolíticos. ....	70
Figura 25: Concentração de Ácidos Graxos Livres. ....	72
Figura 28: Gráfico cumulativo de Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP) da biomassa submetida a tratamento hidrolíticos. ....	73
Figura 29: Equação da reta da porção linear de produção de metano.....	74
Figura 30: Potencial de Produção de Metano do inóculo. ....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Níveis de tratamento de esgoto sanitário e parâmetro removido. ....	22
Tabela 2: Descrição dos diferentes tipos de cultivo de microalgas .....	25
Tabela 3: Composição geral de diferentes grupos e algas (% de matéria seca). .....	31
Tabela 4: Principais relações observadas em um reator UASB e seus efeitos	35
Tabela 5: Produção de biocombustíveis a partir de diferentes processos utilizando microalgas.....	38
Tabela 6: Produção de metano a partir da digestão anaeróbia de algumas espécies de microalgas.....	40
Tabela 7: Compilado de resultados e parâmetros experimentais de estudos de AME/BMP encontrados na literatura. ....	42
Tabela 8: Sumário de técnicas utilizadas para medir a produção de biogás em ensaios de biodegradabilidade.....	43
Tabela 9: Modelo de ensaio para determinação da atividade de diferentes grupos tróficos em um reator anaeróbio.....	45
Tabela 10: Aplicações da técnica da garrafa de soro para AME.....	46
Tabela 11: Análises físico-químicas para caracterização qualitativa da biomassa coletada.....	52
Tabela 12: Solução de tampão e nutrientes.....	56
Tabela 13: Caracterização da biomassa algácea coletada. ....	65
Tabela 14: Comportamento da concentração de carboidratos durante os processos hidrolíticos.....	71
Tabela 15: Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP) da biomassa submetida a diferentes tratamentos hidrolíticos. ....	74
Tabela 16: Produção teórica de alguns componentes celulares. ....	76
Tabela 17: Potencial de Produção de Metano (PPM) de lodo anaeróbio.....	79
Tabela 18: Relação BMP/PPM para os três substratos utilizados nessa pesquisa. .....	80
Tabela 19: Dados fixos de projeto do reator UASB da Estação Piloto.....	82
Tabela 20: Valores de entrada no reator UASB da Estação Piloto. ....	82
Tabela 21: Balanço de massa do reator UASB localizado na ETE Araçás.....	83
Tabela 22: Produção de biogás e metano em reatores UASB.....	84

Tabela 23: Balanço de Massa em uma Lagoa de Alta Taxa. ....	84
Tabela 24:Disponibilidade Energética do Sistema de acordo com a biomassa utilizada. ....	85

## LISTA DE ABREVIações

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AME	Atividade Metanogênica Específica
BMP	<i>Biomethane Potential</i>
CESAN	Companhia Espírito Santense de Saneamento
CH <sub>4</sub>	Metano
d	Dia
EROI	Energy Return on Investment
FINEP	Financiadora de Estudos e Pesquisas
H <sub>2</sub> S	Sulfeto de Hidrogênio
hab	Habitantes
L	Litro
min	Minutos
mg	Miligrama
mL	Mililitros
mm	Milímetros
N	Nitrogênio
nm	Nanômetros
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
O&G	Óleos e Graxas
P	Fósforo
PPM	Potencial de Produção de Metano
s	Segundos
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
SST	Sólidos Suspensos Totais
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
T	Temperatura
µm	Micrometros

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	17
2.	OBJETIVOS .....	20
2.1.	OBJETIVOS GERAIS.....	20
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1.	SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO A BASE DE FOTOSSÍNTESE .....	21
3.2.	MICROALGAS.....	28
3.3.	PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE MICROALGAS .....	33
3.4.	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE BIOMETANO.. .....	41
4.	METODOLOGIA .....	49
4.1.	CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA DA BIOMASSA ALGÁCEA COLETADA EM UM SISTEMA DE SEPARAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO APLICADO AO PÓS TRATAMENTO DO EFLUENTE DE UMA LAGOA FACULTATIVA TRATANDO ESGOTO SANITÁRIO.....	51
4.1.1.	Determinação de Ácidos Graxos Livres (C <sub>1</sub> -C <sub>4</sub> ) .....	53
4.2.	MONTAGEM DOS FRASCOS PARA OS ENSAIOS POTENCIAL BIOLÓGICO DE PRODUÇÃO DE METANO (BMP) .....	55
4.3.	BALANÇO DE MASSA E ENERGIA.....	59
4.3.1.	Balanço de Massa em um reator UASB .....	59
4.3.2.	Balanço de Massa em uma Lagoa de Alta Taxa .....	62
4.3.3.	Balanço de Energia do Sistema.....	64
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	65
5.1.	CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA DO LODO COLETADO .....	65
5.1.1.	Fração Carbonácea .....	66
5.1.2.	Fração Nitrogenada .....	69
5.1.3.	Carboidratos e lipídeos .....	70
5.1.4.	Ácidos Graxos Livres.....	72
5.2.	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DE PRODUÇÃO DE METANO (BMP).....	72
5.3.	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE METANO DO LODO ANAERÓBIO.....	78
5.4.	BALANÇO DE MASSA E ENERGIA.....	82
5.4.1.	Balanço de Massa em um reator UASB .....	82
5.4.2.	Balanço de Massa em uma Lagoa de Alta Taxa .....	84
5.4.3.	Balanço de Energia do Sistema.....	85
6.	<b>CONCLUSÃO</b> .....	87

7.	REFERÊNCIAS.....	89
8.	<b>ANEXOS .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo de energia no tratamento de águas residuárias é responsável pela maior fração dos custos operacionais de estações de tratamento de esgoto, representando mais de 30% dos custos de operação e manutenção (USEPA, 2010), além de ser responsável por cerca de 80% das emissões de gases de efeito estufa (WERF, 2010). Porém, quando capturado e gerenciado corretamente, esse biogás tem a capacidade de transformar estações de tratamento de esgoto tradicionalmente consumidoras de energia em produtoras de energia (SHEN *et al.*, 2015).

Dessa forma, o esgoto sanitário pode ser considerado uma fonte importante de matéria prima para produção de energia, recuperação de subprodutos – principalmente nutrientes – e geração de água de reuso (LEITÃO *et al.*, 2006). Seu tratamento tem um papel essencial nos dias atuais, para proteção da saúde coletiva e preservação do meio ambiente (YAAKOB *et al.*, 2011).

Os processos biológicos mais comumente utilizados no tratamento de esgoto podem ser realizados tanto pela via aeróbia como anaeróbia. Os processos anaeróbios geram energia na forma de biogás, produzem menor volume de lodo e consomem menos energia, quando comparados aos processos aeróbios. Entretanto, apesar do elevado consumo de energia presente e do alto custo de gerenciamento do lodo produzido nas estações de tratamento de esgoto baseadas em processos aeróbios, ainda existe uma pequena resistência na utilização dos processos anaeróbios, principalmente em sistemas centralizados de tratamento de esgoto municipal (LEITÃO *et al.*, 2006).

Contudo, os sistemas de tratamento de esgoto baseados em processos anaeróbios não removem com eficiência os nutrientes, necessitando assim de um pós-tratamento. As pesquisas sobre a utilização do cultivo de algas (*Chlorella* sp.) como processo terciário no tratamento de esgoto tiveram início em 1970 a fim de prevenir a eutrofização (MCGRIFF e MCKENNY, 1971). Esse procedimento removeu nutrientes de esgoto sanitário mais eficientemente do que aqueles que utilizavam lodos ativados, constituindo-se em um sistema mais econômico (TAM e WONG, 1989). Porém, observou-se que esse processo tinha como consequência a produção de efluentes com elevadas densidades

populacionais de algas, dificultando assim a manutenção e operação dos sistemas.

Visando a redução dessa biomassa algácea nos efluentes de sistemas de tratamento e a geração de produtos relevantes do ponto de vista econômico, pesquisas sobre sua utilização no enriquecimento nutricional de alimentos e rações animais vem sendo realizadas, com foco especial na aquicultura. Além disso, as microalgas têm atraído atenção quando aplicadas à produção de biocombustíveis por sua elevada produtividade, comparadas às plantas terrestres, podendo atingir até 20 vezes mais produção de biodiesel (WIGMOSTA *et al.*, 2011). Entretanto, o custo elevado para extração de lipídeos pode ser um fator limitante para a produção de biodiesel a partir de biomassa algácea em larga escala. Sendo assim, a digestão anaeróbia com vistas à produção de metano pode ser uma alternativa para produção de energia proveniente de microalgas, principalmente em casos onde o teor de lipídeos é inferior a 40% (WANG *et al.*, 2013, SIALVE *et al.*, 2009). É importante ressaltar que ainda existem outras possibilidades interessantes, como sua incorporação em cosméticos e o uso na fabricação de corantes (SPOLAORE *et al.*, 2006; BECKER, 2007).

Alguns pesquisadores sinalizaram que a digestão anaeróbia de biomassa derivada de microalgas resultou em uma baixa produção de biogás, quando comparada à digestão de efluente de laticínios ou resíduos agrícolas (ZHAO *et al.*, 2014). Acredita-se que isso ocorra devido à presença de paredes celulares espessas, dificultando seu rompimento e, conseqüentemente, o acesso dos microrganismos presentes no reator anaeróbio ao conteúdo intracelular (TAKÁČOVÁ *et al.*, 2012). Desta forma, uma possível maneira de incrementar a produção de biogás oriundo da digestão anaeróbia de biomassa microalgácea é através de pré-tratamentos físicos ou químicos, que promovem a hidrólise da parede celular (CHU *et al.*, 2002). Dentre os tratamentos hidrolíticos conhecidos estão os processos térmicos, ultrassônicos, alcalinos, agitação mecânica e uma combinação destes (WANG *et al.*, 2013).

O projeto de pesquisa ora em pauta, como de resto o projeto de desenvolvimento de um novo tipo estação de tratamento de esgoto superavitária em energia, se alinha à crescente preocupação com a utilização de biocombustíveis oriundos

de plantações, como a cana de açúcar e devido ao impacto que esta prática pode causar sobre a disponibilidade de alimentos (HILL *et al.*, 2006). Por conta da expansão demográfica em curso, espera-se que a demanda global por alimentos dobre até 2050 (FEDOROFF e COHEN, 1999) e a demanda por combustíveis utilizados para transporte aumente ainda mais rapidamente (SHEEHAN *et al.*, 1998).

Assim, considerando a característica não sustentável da utilização de combustíveis fósseis a longo prazo, devido à emissão dos gases de efeito estufa e seus impactos no aquecimento global (PITTMAN *et al.*, 2011), vários grupos de pesquisa têm se mobilizado para encontrar alternativas mais amigáveis do ponto de vista ambiental e da sustentabilidade. Desta forma, a busca por combustíveis derivados de fontes renováveis, como os biocombustíveis, tem crescido exponencialmente, visando principalmente uma redução no impacto ambiental gerado pelos combustíveis fósseis e, principalmente, reduzindo o efeito estufa (DEMIRBAS, 2009). Contudo, para que um biocombustível possa ser considerado viável, o balanço de energia positivo durante sua produção e a presença de benefícios ambientais, possibilidade de produção em larga escala sem afetar a disponibilidade de alimentos e sua competitividade econômica são de extrema relevância (HILL *et al.*, 2006).

Nessa perspectiva, o presente projeto de pesquisa enfocou a produção de biogás a partir da digestão anaeróbia de lodo de microalgas gerado a partir de um processo de floculação de efluente de uma lagoa facultativa, submetido a diferentes processos pré-tratamento, por meio de hidrólise térmica e alcalina.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVOS GERAIS

Estudar o potencial de produção biológico de metano a partir da digestão anaeróbia de biomassa algácea submetida a tratamentos hidrolíticos pela via térmica e pela via química alcalina através de lodo anaeróbio, coletado de um reator UASB tratando esgoto doméstico.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Caracterizar físico-quimicamente a biomassa algácea coletada em um sistema de separação sólido-líquido aplicado ao pós-tratamento do efluente de uma lagoa facultativa tratando esgoto sanitário;
- ✓ Avaliar o Potencial Metanogênico da Biomassa (PMB) da biomassa algácea hidrolisada quimicamente pela via química alcalina e pela via térmica;
- ✓ Avaliar o Potencial de Máximo de Produção de Metano (PMP) do lodo anaeróbio coletado a partir de um UASB tratando esgoto sanitário;
- ✓ Realizar um balanço de massa e energia do sistema integrado de produção de microalgas em desenvolvimento no Núcleo Água da UFES;

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO A BASE DE FOTOSSÍNTESE

Os sistemas de tratamento de esgoto sanitário a base de fotossíntese são processos que utilizam a radiação solar, através da conversão de energia luminosa em energia química, juntamente com o consumo de matéria orgânica e nutrientes responsáveis pela eutrofização, como o nitrogênio e fósforo (GONÇALVES, 2008; MASOJÍDEK, KOLÍŽEK e TORZILLO, 1999). As lagoas facultativas são um exemplo de processo de tratamento de esgoto a base de fotossíntese (Figura 1 ).

Figura 1: Esquema de funcionamento de uma lagoa facultativa.



Fonte: <http://slideplayer.com.br/slide/2974418/>

A associação de reatores anaeróbios do tipo UASB com lagoas de polimento rasas se constitui em uma tecnologia de tratamento anaeróbio seguido de aeróbio desenvolvida a partir da década de 1990 no Brasil, que apresenta elevada eficiência e custos reduzidos comparada às alternativas mais tradicionais, como o processo de lodos ativados, por exemplo. O tratamento de esgoto em reatores anaeróbios é realizado basicamente através da degradação biológica da matéria orgânica, podendo essa ocorrer pela via anaeróbia ou aeróbia. Entretanto, o efluente desses tratamentos ainda contém compostos inorgânicos, como nitrato, amônia e fosfato, que podem ser apontados como causadores de processos de eutrofização e florações de microalgas (SAWAYAMA *et al.*, 1998; GEDDES, 1984; PRASED, 1982).

As lagoas de estabilização (Figura 2) constituem sistemas biológicos de tratamento de esgotos que merecem destaque devido à sua eficiência e baixo custo de implantação e manutenção (GONÇALVES, 2008). Nesse tipo de tratamento, a penetração de luz solar na maior parte da coluna d'água proporciona um aumento na fotossíntese e, conseqüentemente, nas taxas de produção de oxigênio. O fator limitante para determinação do tempo de detenção hidráulica mínimo em lagoas de alta taxa, consiste na remoção de organismos patogênicos, e não mais na remoção de matéria orgânica (MASCARENHAS, VON SPERLING, CHERNICHARO, 2004).

Figura 2: Lagoas utilizadas para cultivo de microalgas e tratamento de esgoto.



Fonte: Israel 21c e Biorremediação Biotec (acesso em 2016).

O tratamento de esgoto sanitário pode ser dividido em quatro níveis principais: tratamento preliminar, tratamento primário, tratamento secundário e tratamento terciário. Alguns autores defendem a existência até mesmo de um quinto nível de tratamento, o tratamento quaternário (GONÇALVES, 2008). A Tabela 1: *Níveis de tratamento de esgoto sanitário e parâmetro removido*, apresenta os parâmetros removidos em cada nível de tratamento.

Tabela 1: Níveis de tratamento de esgoto sanitário e parâmetro removido.

<b>Nível</b>	<b>Remoção</b>
Preliminar	Sólidos grosseiros e areia
Primário	Matéria orgânica em suspensão
Secundário	Matéria orgânica dissolvida e em suspensão, sólidos não sedimentáveis, nutrientes (parcialmente), patógenos (parcialmente)
Terciário	Nutrientes, patógenos, compostos não biodegradáveis, metais pesados, sólidos inorgânicos suspensos
Quaternário	Disruptores endócrinos e metais pesados

Fonte: Próprio autor.

O tratamento terciário, quando voltado apenas para remoção de fósforo e nitrogênio, pode representar um custo até quatro vezes maior do que o necessário para tratamento primário. O tratamento quaternário, por sua vez, quando utilizado para remoção de metais, implica em despesas de implementação e operação que correspondem a cerca de sete vezes aqueles do tratamento primário (ABDEL-RAOUF, AL-HOMAIDAN, IBRAHEEM, 2012). Dessa forma, as algas são vistas como uma boa opção para o tratamento terciário devido à sua elevada capacidade de diminuir rapidamente os níveis de metais pesados, nitrato e fosfato no efluente. Esse tipo de tratamento apresenta relativo baixo custo e interessante capacidade de desinfecção do efluente, através da maior incidência de radiação ultravioleta, devido às menores profundidades, bem como da elevação do pH e presença de toxinas produzidas pelas microalgas. Em seus estudos, Malina e Yousef (1964) indicaram taxas de remoção de coliformes de até 99% a partir do uso de lagoas de alta taxa e lagoas de estabilização e uma capacidade de remoção de até 99% de *Salmonella* do efluente tratados nessas lagoas (COOKE *et al.*, 1978).

Existem três tipos principais de sistemas utilizados para cultivo de microalgas (Figura 3): sistemas abertos, sistemas fechados e sistemas imobilizados; sendo o primeiro o mais visado devido à sua simplicidade de operação e baixo custo de implantação (YAAKOB *et al.*, 2011). Apesar dos sistemas do tipo aberto serem mais comuns, os sistemas fechados, especialmente os fotobiorreatores tubulares, apresentam-se como a tecnologia de cultivo mais eficaz por fornecerem uma melhor penetração de luz e possibilitar o cultivo foto autotrófico com baixos níveis de contaminação. No entanto, este tipo de cultivo apresenta relativa complexidade operacional, por exigir operadores altamente especializados, e seus custos de construção e operação podem ser até dez vezes maiores quando comparado aos sistemas abertos (NAUMANN *et al.*, 2013). Além disso, a presença de aeração constante se torna indispensável, promovendo circulação para todas as algas presentes no efluente e, por conseguinte, melhor disponibilidade de luz (BUHRER, 2000).

Figura 3: Fotobiorreatores abertos, fechados e imobilizados.



Fonte: Ira A. Fulton College e UPM (acesso em 2016).

Atualmente, o procedimento mais comum para cultivo de microalgas é a cultura foto autotrófica. Nesse tipo de cultivo, as células absorvem a energia luminosa e usam o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) como fonte de carbono. Entretanto, essa cultura apresenta produção de biomassa limitada devido ao sombreamento causado pelas células, dificultando a disponibilidade luminosa nas etapas finais do crescimento. Como alternativa para aumentar a produção de biomassa e reduzir o custo de produção, a cultura heterotrófica utiliza carbono orgânico (açúcares e ácidos orgânicos) como fonte de carbono na ausência de luz (BOROWITZKA, 1999). Por fim, outra estratégia que visa aprimorar o uso eficiente da luz e reduzir o custo de produção é a utilização de culturas mixotróficas. Esse tipo de cultura consiste em uma variante da cultura heterotrófica, onde  $\text{CO}_2$  e carbono orgânico são simultaneamente assimilados e o metabolismo respiratório e fotossintético acontecem concomitantemente (LEE, 2004).

Através do crescimento das atividades humanas e seus efeitos sobre os ciclos biogeoquímicos, observou-se um aumento na entrada de nutrientes nestes ciclos, principalmente nitrogênio e fósforo, oriundos de práticas agrícolas, urbanização e industrialização (ASLAN e KAPDAN, 2006). Diversos estudos apontam as microalgas como elemento chave na remoção desses nutrientes de efluentes de tratamento de esgoto, apresentando um baixo custo de operação e ainda a possibilidade de reuso do lodo gerado, além de aumentar a oxigenação do efluente lançado no corpo hídrico receptor (De-BASHAN e BASHAM, 2004).

A eutrofização de corpos hídricos consiste na presença excessiva de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, promovendo um aumento excessivo da população de algas. Quando descartado sem o tratamento adequado, o efluente de estações de tratamento de esgoto é indicado como uma fonte de poluição

secundária, podendo ser apontado como principal responsável pelos processos de eutrofização em corpos hídricos localizados próximo aos centros urbanos, sendo capaz de deteriorar os corpos hídricos em uma escala global (ABDEL-RAOUF, AL-HOMAIDAN, IBRAHEEM, 2012).

A Tabela 2 apresenta a descrição dos diferentes tipos de cultivo de microalgas, usados ou não no tratamento de esgoto.

Tabela 2: Descrição dos diferentes tipos de cultivo de microalgas

<b>Tratamento</b>	<b>Descrição</b>	<b>Referência</b>
Lagoa de estabilização	O tratamento de águas residuárias em lagoas de estabilização é chamado de “tratamento verde” atingido pelo crescimento mutualístico de microalgas e bactérias heterotróficas. As algas fornecem oxigênio através da fotossíntese. Esse oxigênio é utilizado então pelas bactérias na bio-oxidação da matéria orgânica presente no esgoto. Um produto final dessa oxidação é o dióxido de carbono, que é fixado em carbono celular durante a fotossíntese.	Oilgae, 2009.
Lagoas de alta taxa	As lagoas de alta taxa constituem de uma combinação de lagoas com oxidação intensificada e um reator algáceo. Essas lagoas são rasas, e quando movimentadas por um misturador mecânico, fornecem uma eficiência de tratamento muito maior se comparadas às lagoas de oxidação tradicional. Isso é creditado a uma intensa atividade fotossintética, fornecendo oxigênio para o tratamento aeróbio e assimilação de nutrientes dos esgotos à biomassa algácea. São mais comuns por serem mais baratas e fáceis de operar do que os sistemas fechados.	Oilgae, 2009.
Lagoa de polimento	As lagoas de polimento são utilizadas para aprimorar a qualidade do efluente oriundo de tratamento anaeróbio (como UASB) A remoção de matéria orgânica é considerada um interesse secundário nas lagoas de polimento, sendo a remoção de patógenos, considerado o objetivo principal. Tal objetivo é melhor alcançado, quando a lagoa apresenta chicanas, reduzindo a mistura e favorecendo a deposição do lodo anaeróbio na primeira divisão da lagoa.	Cavalcanti, van Haandel e Lettinga, 2002.
Fotobiorreator tubular horizontal	Os fotobiorreatores tubulares horizontais apresentam grande área de superfície de iluminação e são recomendados para culturas externas. Tem uma produtividade de biomassa relativamente alta. Requer cuidado com o gradiente de pH, oxigênio dissolvido e CO <sub>2</sub> , entupimento e aderência de algas à parede.	Ugwu, Aoyagi e Uchiyama, 2008.
Fotobiorreator de coluna vertical	Os fotobiorreatores de coluna vertical possuem elevada transferência de massa, relativo baixo consumo de energia, facilidade de esterilização, excelente imobilização de algas, foto-inibição e foto-oxidação reduzidas.	Ugwu, Aoyagi e Uchiyama, 2008.

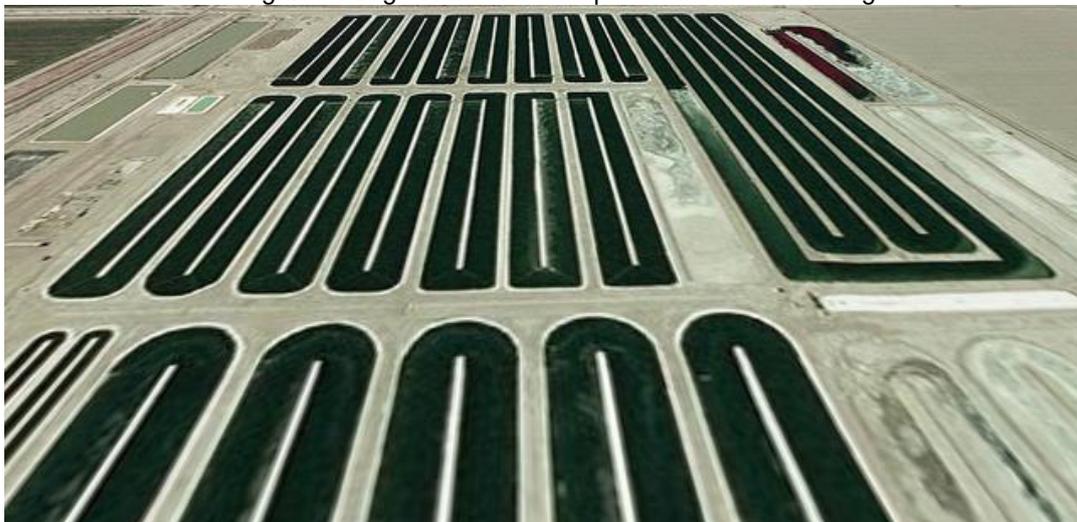
Fotobiorreator de placa plana	Os fotobiorreatores de placa plana apresentam grande área de superfície de iluminação e facilidade de imobilização de algas, recomendado para culturas externas, boa penetração de luz e produtividade de biomassa, custo baixo e são fáceis de limpar.	Ugwu, Aoyagi e Uchiyama, 2008.
-------------------------------	---	--------------------------------

Fonte: Próprio autor.

Do ponto de vista econômico, a associação de reatores UASB com sistemas de fotobiorreatores se mostra uma alternativa muito interessante, devido à sua capacidade de aproveitamento dos nutrientes presentes no efluente do reator para produção de microalgas. Estas, por sua vez, podem ser utilizadas para produção de diversos subprodutos de elevado interesse econômico, a saber: cosméticos, ração animal, suplementação para alimentação humana e biocombustíveis (YAAKOB *et al.*, 2011).

As lagoas de alta taxa são tanques em formato oval, com uma chicana dividindo os dois lados, com profundidades que variam entre 0,20 e 0,50 m, TDH de 3-10 dias e propulsores que fornecem movimentação do efluente (Figura 4) (SANTIAGO *et al.*, 2013; CRAGGS, SUTHERLAND e CAMPBELL, 2012; PARK e CRAGGS, 2011; OSWALD, 1988).

Figura 4: Lagoas de alta taxa para cultivo de microalgas.



Fonte: <http://cfnewsads.thomasnet.com/images/sites/3/2013/02/Open-pond-algae-production.-Pacific-Northwest-National-Laboratory-300x190.jpeg> (Acesso em :11 fev. 2017)

A principal contribuição das lagoas de alta taxa no tratamento de efluente oriundo de reatores anaeróbios se configura principalmente pela eficiência de remoção de matéria orgânica e ovos de helmintos. Em um de seus estudos, Mascarenhas,

Von Sperling e Chernicharo (2004), atingiram porcentagens variando de 76 a 86% de ovos viáveis removidos no lodo que se acumulou ao fundo da lagoa.

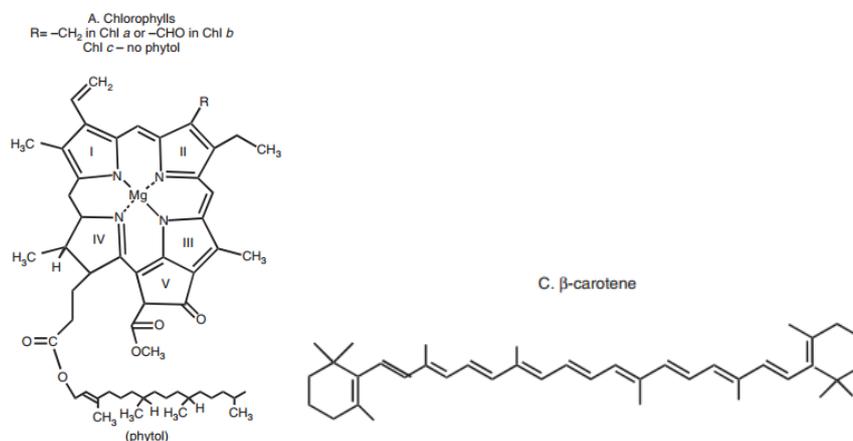
Devido à sua elevada eficiência de fotossíntese e possibilidade de cultivo em ambientes salinos, e até mesmo em esgoto, além de um curto ciclo de vida, possibilitando uma cultura quase contínua, as microalgas se destacam na produção de bioenergia e biocombustíveis, sejam eles em sistemas naturais ou artificiais (LARKUM *et al.*, 2012; STEPHENSON *et al.*, 2011). Um crescente consumo de combustíveis fósseis dificilmente será mantido a longo prazo, principalmente devido à emissão de gases de efeito estufa e seus impactos no aquecimento global (HILL *et al.*, 2006).

### 3.2. MICROALGAS

De acordo com Lee (1989), uma alga é qualquer organismo que apresente clorofila *a* e um talo não diferenciado em raízes, haste e folhas. Dessa forma, as microalgas podem ser definidas como um grupo de pequenos organismos, em sua maioria unicelulares, eucariontes e fotossintéticos que tecnicamente, inclui as cianobactérias. Acredita-se que a origem do cloroplasto presente nas macroalgas e plantas terrestres tenha ocorrido a partir destes organismos procariontes (BRODIE e ZUCCARELLO, 2007). As microalgas e as cianobactérias desempenham um papel crucial na captura da luz solar para posterior transformação e armazenamento como energia química (fotossíntese), apresentando inúmeras vantagens neste processo, quando comparadas às plantas.

Para absorção de energia luminosa, esses organismos apresentam uma variada gama de pigmentos como a clorofila *a*, astaxantina, carotenoides e ficobiliproteínas (Figura 5). Essas moléculas têm um amplo leque de aplicações comerciais, podendo aumentar em até 40% o valor de mercado de diversos animais, fornecendo assim qualidades interessantes às microalgas que podem ser aplicadas na nutrição animal e humana (SPOLAORE *et al.*, 2006). A clorofila *a* é encontrada dentro de organelas presentes no citoplasma, conhecidas como cloroplastos. Essas organelas apresentam membranas fotossintéticas e são responsáveis por absorver a energia luminosa oriunda da radiação solar para posterior utilização no processo de fotossíntese.

Figura 5: Estrutura molecular dos pigmentos encontrados nos diferentes grupos de microalgas.

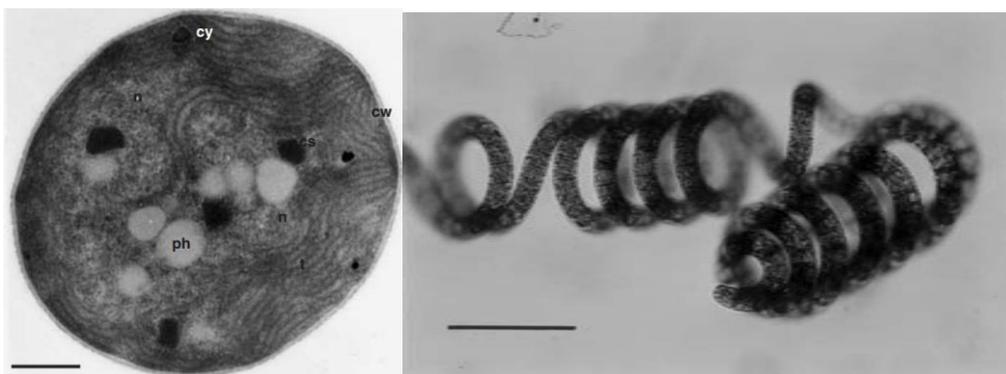


Fonte: TOMASELLI, 2004

A fotossíntese é um processo único de conversão de energia luminosa em energia química. Nesse processo, os organismos fotoautotróficos convertem compostos inorgânicos e energia luminosa em compostos orgânicos. Essa reação pode ser definida como uma reação redox que transforma Dióxido de Carbono e água em carboidratos e oxigênio, através da energia luminosa absorvida pelos cloroplastos (MASOJÍDEK, KOLÍŽEK e TORZILLO, 1999). Tradicionalmente, a fotossíntese é dividida em duas fases: fase escura e fase clara. Na fase clara, que ocorre nas membranas fotossintéticas, a energia luminosa é convertida em energia química, fornecendo  $\text{NADPH}_2$  e ATP. Na fase escura, esses compostos são consumidos e utilizados na redução do  $\text{CO}_2$  em carboidratos.

Nos procariotos, a parede celular das cianobactérias e *Prochlorophytes* (Figura 6) é composta por quatro camadas, do tipo gram negativo. A parte estrutural da parede celular é composta por uma camada de peptídeoglicanos, enquanto a parte externa é composta por uma camada de lipopolisacarídeos. Em alguns gêneros, os indivíduos podem apresentar um envelope extracelular mucilaginoso (glicocalix), utilizado como proteção ou para formação de colônias. Sua parede celular pode ser perfurada por pequenos poros ou apresentar apêndices. A ausência da celulose na parede celular de cianobactérias facilita sua digestão e assim, sua utilização para alimentação humana (TOMASELLI, 2004).

Figura 6: Microscopia eletrônica de uma célula de *Microcystis* sp. e *Arthrospira* sp.



Fonte: TOMASELLI, 2004.

A parede celular das microalgas é composta por 25- 30% de celulose, 15 - 25% de hemicelulose, 35% de pectina e de 5-10% de glicoproteínas (WANG e EVANGELOU, 1995). A celulose, principal componente da biomassa de microalgas, é um polissacarídeo linear composto por  $\beta$ -D-glicopirranose ligada

por ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas, formando um material cristalino (MITTAL *et al.*, 2011). A celulose contém regiões amorfas que afetam diretamente sua digestibilidade enzimática (HALL *et al.*, 2010). Segundo Mittal *et al.* (2011), a celulose pode ser encontrada em quatro diferentes formas (I, II, III e IV) na natureza, de acordo com seus padrões de difração em raio-X, sendo o subtipo celulose I $\alpha$ , o mais abundante em algas e bactérias.

Por se tratar de um carboidrato estrutural, a celulose representa uma barreira importante na digestão das microalgas, conferindo proteção contra ataques de bactérias. Dessa forma, o pré-tratamento da biomassa representa uma etapa importante para aumentar a concentração de glicose, através da quebra enzimática das moléculas de celulose (MITTAL, 2011). Visando incrementar a eficiência da ação da enzima celulase sobre esse açúcar, é indispensável a realização de um processo químico ou térmico, a fim de modificar a estrutura celular da celulose, modificando sua cristalinidade, área de superfície, porosidade e grau de polimerização (HALL *et al.*, 2010). O tratamento da celulose com amônia, por exemplo, resulta em uma interação entre o íon amônia e os grupos hidroxila presentes na celulose, resultando em um rompimento das ligações de hidrogênio (LEWIN e ROLDAN, 1971).

Seja em laboratório ou em ambientes externos, o cultivo de microalgas depende da relação entre diversos fatores, como por exemplo: irradiação média por célula, presença ou ausência e grau de mistura, troca de gases e temperatura. Em teoria, a produção máxima de microalgas deve ser equivalente à taxa máxima de fotossíntese (MASOJÍDEK, KOLÍŽEK e TORZILLO, 1999). Entretanto, em todo tipo de cultivo, o crescimento está limitado também pelas condições do recipiente, sejam elas as dimensões físicas, a vazão do meio líquido ou dos nutrientes. Sendo assim, para que ocorra um aproveitamento efetivo da luz incidida sobre a cultura, é indispensável uma mistura eficiente, evitando sobreposição de células e conseqüente sombreamento (NEDBAL *et al.*, 1996).

Para o cultivo de microalgas, diferentes parâmetros devem ser observados, uma vez que diferentes espécies apresentam diferentes necessidades para seu desenvolvimento ótimo. Por exemplo, a *Spirulina* sp. é cultivada em elevados níveis de alcalinidade (~16g/L de bicarbonato), já a *Dunaliella salina*, por sua vez, apresenta um maior crescimento em ambientes muito salinos (100g/L, >3x

água do mar) (BENEMANN, 2013). De forma geral, as algas necessitam de nitrogênio e fósforo como fonte de nutrientes para seu crescimento e a possibilidade de utilizar esses elementos presentes nos efluentes provenientes do tratamento de esgoto sanitário pode resultar em uma redução nos custos finais do tratamento (ASLAN e KAPDAN, 2006; CHO *et al.*, 2011). Ademais, ao realizar a fotossíntese, as algas assimilam CO<sub>2</sub> e, o íon bicarbonato do esgoto (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) tende a se converter em OH<sup>-</sup>, aumentando o pH do meio. Esta elevação do pH, além de elevar a toxicidade da amônia, é um dos principais fatores de decaimento bacteriano e possível remoção de nutrientes: nitrogênio, por meio da volatilização e fósforo por precipitação (GONÇALVES, 2008).

Diversas análises de composição química bruta de diferentes algas foram publicadas na literatura e compiladas por Becker (2007) conforme a Tabela 3.

Tabela 3: Composição geral de diferentes grupos e algas (% de matéria seca).

Alga	Proteínas	Carboidratos	Lipídeos	Referência
Diatomáceas	30	8	14	Brown <i>et al.</i> , 1997
Clorófitas	24	15	15	Brown <i>et al.</i> , 1997
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	62	23	3	Becker, 2007
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	Spolaore <i>et al.</i> , 2006
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	Becker, 2007
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	Becker, 2007
<i>Chlorella vulgaris</i>	29	51	18	Illman <i>et al.</i> , 2013
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	Spolaore <i>et al.</i> , 2006
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	Becker, 2007
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	Becker, 2007
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	Spolaore <i>et al.</i> , 2006
<i>Spirogyra sp.</i>	6-20	33-64	11-21	Becker, 2007
<i>Arthrospira máxima</i>	60-71	13-16	6-7	Spolaore <i>et al.</i> , 2006
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	Becker, 2007
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7	Spolaore <i>et al.</i> , 2006
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11	Spolaore <i>et al.</i> , 2006

Fonte: Próprio autor.

O elevado conteúdo proteico de várias espécies de microalgas é uma das principais razões que as fez serem consideradas como uma fonte não-convencional de proteínas (SOLETTO *et al.*, 2005). Além disso, o padrão de

aminoácidos de quase todas as algas se compara favoravelmente com o de outras proteínas alimentares (GUIL-GUERRERO *et al.*, 2004).

Os carboidratos das microalgas, por sua vez, podem ser encontrados na forma de amido, glicose, açúcares e outros polissacarídeos. Sua digestibilidade é alta e, devido a isso, não existe limitação para o uso de microalgas secas em alimentos ou rações (BECKER, 2007). Já o conteúdo lipídico médio das células algáceas varia entre 1% e 70%, mas pode atingir até 90% de massa seca sob certas condições (METTING, 1996). Microalgas também apresentam uma fonte valiosa de praticamente todas as vitaminas essenciais (BECKER, 2007).

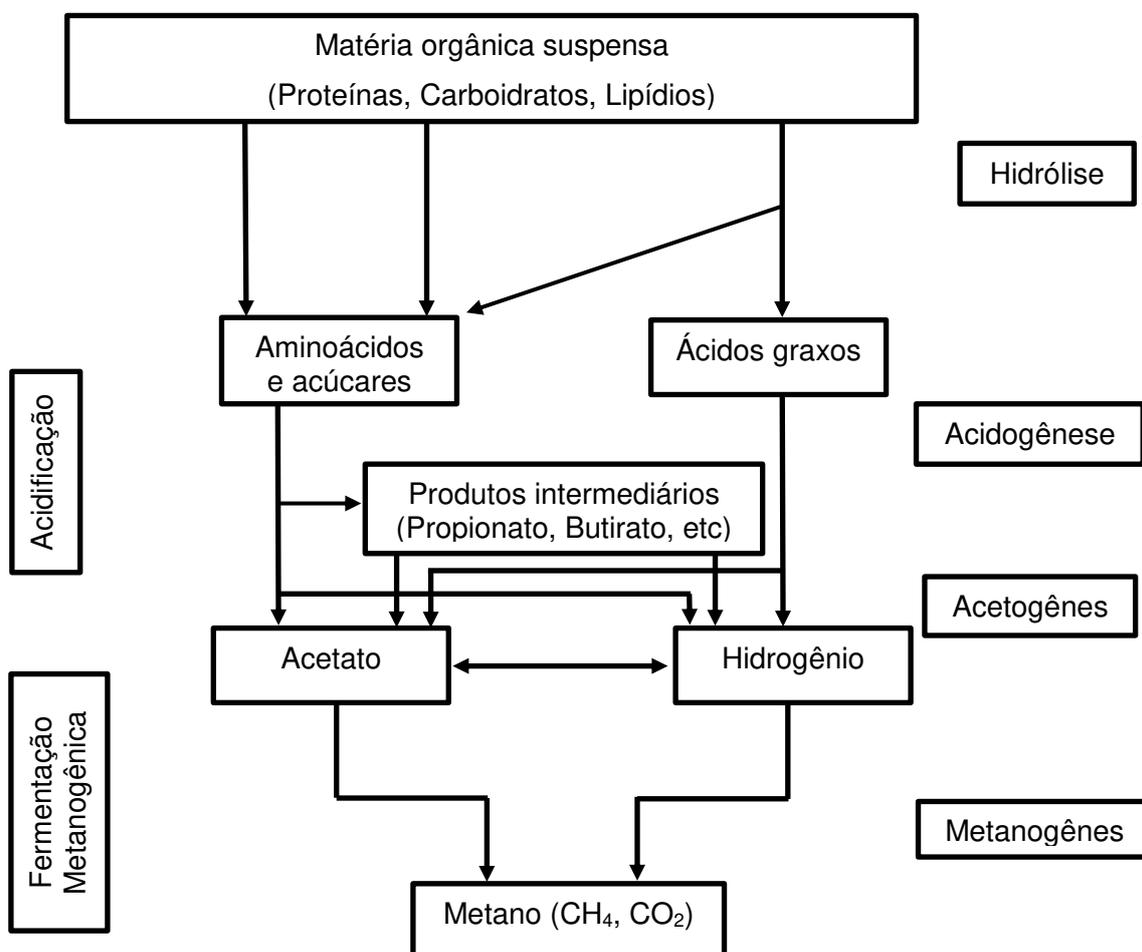
Segundo Torres, Cassini e Gonçalves (2014) afirmam, em experimento feito com efluente de esgoto sanitário, a alga *Chlorella* sp. apresentou melhor taxa de sobrevivência (90%) durante os dez dias de cultivo. Contudo, as algas que apresentaram melhor eficiência na redução de N e P do esgoto sanitário foram as representantes dos gêneros *Desmodesmus* sp. e *Tetradismus* sp. A coleta das microalgas é um processo importante do tratamento de esgoto sanitário, uma vez que resulta em uma redução dos níveis de DBO, DQO e metais pesados. Existem três formas de coleta de microalgas em lagoas: filtração (mais simples), sedimentação (mais comum) e centrifugação (pode ser utilizado com qualquer tipo de microalga) (YAAKOB *et al.*, 2011).

As microalgas, particularmente as verdes (BENEMANN, *et al.*, 1977; OSWALD e GOULEKE, 1960), podem ser utilizadas na produção de biocombustíveis por diferentes vias: produção de metano através da fermentação anaeróbia da biomassa (FRIGON *et al.*, 2013), produção de biohidrogênio, etanol (CHEN *et al.*, 2013) e óleos para produção de biodiesel (PITTMAN *et al.*, 2011; QIN, 2005). Os resíduos gerados após a extração para produção de biodiesel podem chegar até 65% da biomassa total. Entretanto, a utilização ou disposição desses resíduos caracteriza um fator chave, quando considerados os aspectos energéticos e econômicos da comercialização de biocombustíveis derivados da indústria (KWIETNIEWSKA e TYS, 2014).

### 3.3. PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE MICROALGAS

A digestão anaeróbia é um processo de decomposição da matéria orgânica realizado por microrganismos em ausência de oxigênio. Esse processo envolve uma série de reações metabólicas complexas (hidrólise, acidogênese, acetogênese, metanogênese), realizadas por populações de microrganismos, muitas vezes conectados através do substrato utilizado ou de especificidades de produtos (CHELLAPANDI, PRABAHARAN e UMA, 2010) (Figura 7).

Figura 7: Fluxograma de digestão anaeróbia (Adaptado de van Haandel e Lettinga, 1994).



Fonte: Próprio autor.

O primeiro grupo de bactérias é responsável por hidrolisar enzimaticamente compostos orgânicos complexos, transformando-os em açúcares, ácidos graxos e aminoácidos em um processo conhecido como hidrólise. Esse processo – análogo ao mecanismo de digestão no sistema digestivo humano, onde o alimento é preparado para passagem através da membrana do intestino – se faz necessário para converter a matéria prima em substâncias permeáveis através

da membrana celular das bactérias. Essencialmente, nenhum processo de estabilização ocorre nessa fase da digestão anaeróbia, sendo observada apenas uma solubilização de substâncias que não estão disponíveis na forma encontrada nas águas residuárias (glicose e celulose, por exemplo) (PARKIN e OWEN, 1986).

Porém, é importante destacar que nem todo composto orgânico pode ser hidrolisado enzimaticamente (compostos recalcitrantes) e se tornar disponível para assimilação e absorção bacteriana, justificando nesses casos, uma etapa prévia de tratamento hidrolítico, a fim de modificar a estrutura molecular e quebrar ligações que as enzimas não seriam capazes de romper. A fração recalcitrante do esgoto pode variar de 35 a 80% da matéria orgânica, dependendo da presença de tratamentos preliminares ou da origem das águas residuárias (PARKIN e OWEN, 1986).

Durante o processo de acidogênese, os aminoácidos, açúcares e ácidos graxos são transformados em butirato, proprionato e ácido acético, através da fermentação. (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994). Posteriormente, os microrganismos conhecidos como acetogênicos convertem esses compostos em hidrogênio e ácido acético (acetogênese), podendo formar, a partir da acidogênese de açúcares e aminoácidos, produtos intermediários. Durante esse processo, é necessário que seja mantida uma concentração controlada de hidrogênio já que, em altas concentrações, a produção de metano é inibida e a concentração de ácidos orgânicos, elevada (PARKIN e OWEN, 1986). Nesse aspecto, uma associação sintrófica de uma grande e estável população de microrganismos metanogênicos redutores de dióxido de carbono, será responsável por manter uma baixa concentração de hidrogênio, permitindo a conversão deste e acetato, em metano e dióxido de carbono (KWIETNIEWSKA e TYS, 2014).

Por fim, a estabilização da matéria orgânica é concluída na fase de metanogênese, através da conversão de ácido acético em metano, insolúvel em água e rapidamente liberado do sistema (PARKIN e OWEN, 1986). O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) também é produzido nessa fase, sendo liberado do sistema na forma de gás, ou convertido em bicarbonato. Para ocorrência da metanogênese, são conhecidos poucos substratos que possuem a capacidade de agir como

fonte de energia para as bactérias metanogênicas, sendo o acetato o substrato principal (KASPAR e WUHRMANN, 1978).

Em seu artigo, Aiyuk *et al.* (2006) compilou algumas relações entre parâmetros que apresentam importante influência no processo de digestão anaeróbia. Tais relações estão descritas na Tabela 4: *Principais relações observadas em um reator UASB e seus efeitos.*

Tabela 4: Principais relações observadas em um reator UASB e seus efeitos

<b>Relação</b>	<b>Efeito</b>	<b>Referência</b>
SSV:SST	Indica um aprimoramento bacteriano e incremento da biodegradabilidade;	Wu (1985), Amatya (1996), Mahmoud (2002)
DQOs:SSV	Representa um menor volume reacional;	Kalogo (2001), Aiyuk <i>et al.</i> (2004)
DQOs:SS	Indica um menor TDH e a possibilidade de compactar o reator;	Aiyuk <i>et al.</i> (2004)
DQOp:SSV	Indica um elevado conteúdo lipídico;	Mahmound (2002)
SST:DQO	Compromete a performance do reator e a granulação;	De Smedt <i>et al.</i> (2001), Aiyuk <i>et al.</i> (2004)
DQO:N:P	Deve ser mantido em 300:5:1 para um rápido <i>start-up</i> ;	Amatya (1996), Aiyuk <i>et al.</i> (2004)
C:N:P	Deve ser mantido em um mínimo de 400:5:1 ou 100:28:6;	Alphenaar <i>et al.</i> (1993), Thaveesri (1995)
DQO:N	Deve ser mantida acima de 70;	Brunetti <i>et al.</i> (1983)
DQO:P	Deve ser mantida acima de 350;	Brunetti <i>et al.</i> (1983)
DQO:SO <sub>4</sub>	Se abaixo de 10:1, ocorre inibição por H <sub>2</sub> S;	Lettinga (1981), Souza (1986)
AGV:Alcalinidade	Indica uma instabilidade do reator;	Amatya (1996), Switzembaum <i>et al.</i> (1990)

Fonte: Adaptado de Aiyuk *et al.* (2006).

A digestão anaeróbia ocorre naturalmente em ambientes aquáticos, podendo ser observada quando organismos fitoplanctônicos morrem e afundam até a zona afótica e anóxica do corpo hídrico, tornando-se parte do sedimento de fundo dos reservatórios. Os detritos algáceos passam então por um processo de fermentação, liberando amônia, fosfato e substâncias tóxicas, como o H<sub>2</sub>S,

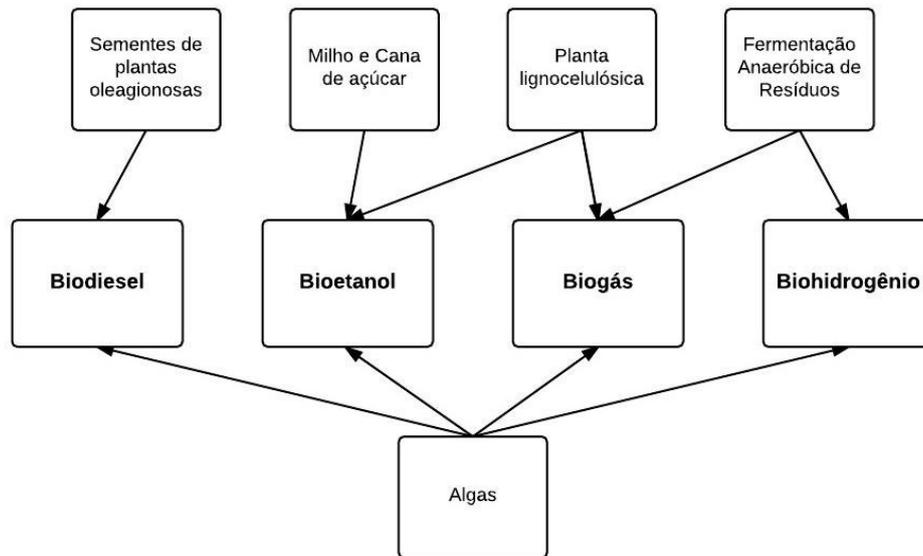
reduzindo a concentração de oxigênio dissolvido na água (GOLUEKE *et al.*, 1957). Acredita-se que esse processo produza até cerca de  $620 \times 10^6$  t de CH<sub>4</sub> por ano e que este valor cresça aproximadamente 1% ao ano (KWIETNIEWSKA e TYS, 2014).

Apesar de apresentar diversos desafios que devem ser superados para que sua utilização na produção de biocombustíveis seja competitiva (WARD *et al.*, 2015), a biomassa algácea se destaca por apresentar uma produção constante durante todas as estações do ano, podendo atingir valores de até 60 toneladas/ha.a (BENEMANN *et al.*, 2013), quase 10 vezes mais altos que aqueles encontrados em plantas terrestres cultivadas para produção de energia (CRAGGS *et al.*, 2011). Em 1960, Oswald e Golueke propuseram pela primeira vez, a produção de microalgas em larga escala através da utilização das Lagoas de Alta Taxa tratando esgoto sanitário, responsável por fornecer o meio de cultivo contendo os nutrientes necessários ao crescimento.

Em 1998, Sheehan resumiu em seu estudo, uma pesquisa realizada pelo programa do Departamento de Energia do governo americano, visando produção de energia proveniente de espécies aquáticas. Segundo a pesquisa, a conversão da biomassa em biocombustíveis pode ocorrer por quatro caminhos principais: digestão anaeróbia para produção de biogás (metano), extração e transesterificação dos lipídeos para produção de biodiesel, fermentação dos carboidratos para produção de etanol e butanol, e gaseificação ou conversão termoquímica das algas (CRAGGS *et al.*, 2011). Ressalta-se que todos esses processos de geração de biocombustíveis já existiam, porém cada um utilizando diferentes partes e espécies de plantas terrestres. Em 2012, Jones e Mayfield destacaram as microalgas como substrato convergente para todos os processos utilizando plantas terrestres (Figura 8).

Em seu estudo, Shen *et al.* (2015), afirma que a digestão anaeróbia já é a tecnologia mais comum para tratamento de águas residuárias nos Estados Unidos, sendo utilizada para tratar 48% da vazão total de esgoto do país. O autor destaca também que, segundo a *US Environmental Protection Agency* (USEPA), 1484 das estações em operação digerem lodo para produção de biogás. Contudo, menos de 10% dessas estações utilizam esse biogás para aquecimento ou produção de energia (USEPA, 2011).

Figura 8: Fontes atuais de biocombustíveis vs. Algas



Fonte: Adaptado de Jones e Mayfield (2012)

O potencial de produção de metano a partir de microalgas pode ser explorado para produção de energia através da associação de processos de cultivo de microalgas e processos de digestão anaeróbia. A biomassa gerada pelo cultivo de microalgas é utilizada como fonte de nutrientes e matéria prima (substrato) para as bactérias presentes no lodo dos reatores anaeróbios produzirem metano (SAMSON e LeDUY, 1982). Uma das vantagens da digestão anaeróbia de microalgas está no fato de apresentar baixa liberação de  $H_2S$ , quando comparada com outros substratos, devido ao baixo teor de aminoácidos sulfurados em suas proteínas (SIALVE, BERNET e BERNARD, 2009).

Segundo Oswald e Golueke (1960), 1 kg de microalgas é capaz de gerar  $0,3m^3$  de metano, com uma conversão de aproximadamente 50-60% em sólidos voláteis. Esse valor de produção relativamente pequeno pode ser explicado pela composição da parede celular, inibindo a etapa de hidrólise na digestão anaeróbia. A partir da década de 90, diversos estudos exploraram a utilização de microalgas submetidas a pré-tratamentos hidrolíticos, a fim de aprimorar a taxa de produção de metano (CHEN e OSWALD, 1998; YEN e BRUNE, 2007).

Contudo, após ensaios explorando a codigestão de biomassa com sólidos removidos por tratamento primário de águas residuárias, verificou-se a possibilidade de dobrar as taxas de produção geral de metano a partir do

tratamento de esgoto integrado às lagoas de alta taxa (BENEMANN e OSWALD, 1996; HEUBECK e CRAGGS, 2007). Para uma produção economicamente efetiva, é possível utilizar biomassa coletada e adensada à 3%, diminuindo o custo do processo se comparado ao adensamento até 5-10% necessários para digestão em biodigestores aquecidos (CRAGGS *et al.*, 2011). A Tabela 5 apresenta os valores de produção de metano presentes na literatura para diferentes processos utilizando microalgas na geração de biocombustíveis.

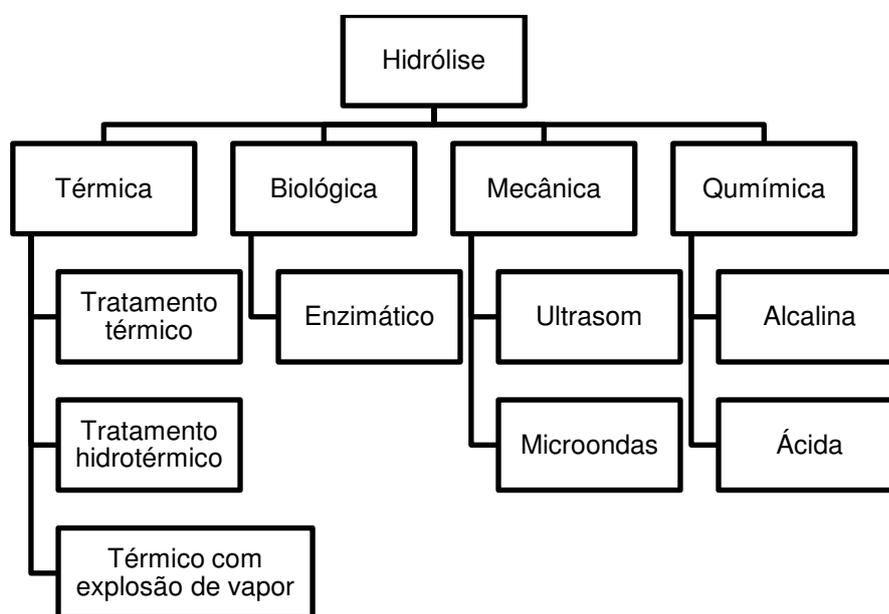
Tabela 5: Produção de biocombustíveis a partir de diferentes processos utilizando microalgas.

<b>Espécie de alga</b>	<b>Biocombustível</b>	<b>Produção</b>	<b>Referência</b>
<i>Synechococcus</i>	Hidrogênio	0,02 $\mu\text{mol H}_2/\text{mg chl a/h}$	LEVIN, PITT e LOVE, 2004
<i>Aphanocaspa montana</i>	Hidrogênio	0,4 $\mu\text{mol H}_2/\text{mg chl a/h}$	LEVIN, PITT e LOVE, 2004
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Hidrogênio	22 $\text{mmol H}_2/(\text{mol Chl})/\text{s}$	MELI <i>et al.</i> , 2000
<i>Chlorococum sp</i>	Bioetanol	3,8g bioetanol/g BMS	HARUN <i>et al.</i> , 2010
<i>Chlorella sp</i>	Bioetanol	448 $\mu\text{mol etanol/g BMS}$	UENO, KURANO e MIYACHI, 1998
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Bioetanol	0,5g bioetanol/g BMS	HIRAYAMA <i>et al.</i> , 1998
<i>Chlorococum sp</i>	Biodiesel	0,01-0,015 g EMAG/g BMS	HALIM <i>et al.</i> , 2011
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Biodiesel	0,36 g EMAG/g BMS	WAHLEN, WILLIS e SEEFELDT, 2011
<i>Tetraselmis suecica</i>	Biodiesel	0,18 g EMAG /g BMS	WAHLEN, WILLIS e SEEFELDT, 2011
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Biodiesel	0,22 g EMAG /g BMS	TANG <i>et al.</i> , 2011
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Biodiesel	0,7-0,24 g lipídeos/g BMS	CONVERTI <i>et al.</i> 2009
<i>Chlorella vulgaris</i>	Biodiesel	0,06-0,14 g lipídeos/g BMS	CONVERTI <i>et al.</i> 2009

Fonte: Adaptado de GONZÁLEZ-FERNANDEZ, SIALVE e BERNET, 2011

As microalgas, por serem organismos resistentes ao ataque enzimático dos microrganismos responsáveis pela digestão anaeróbia, podem ser encontradas até 30 dias após sua inserção em reatores anaeróbios (GOLUEKE, OSWALD e GOTAAS, 1957). Desta forma, um processo hidrolítico é considerado indispensável para os processos de extração de lipídeos e digestão ou codigestão de microalgas em reatores anaeróbios (WARD *et al.*, 2014). Os tratamentos hidrolíticos comumente utilizados para digestão anaeróbia de microalgas podem ser divididos em quatro categorias: térmico, mecânico, químico e biológico (Figura 9) (PASSOS *et al.*, 2014).

Figura 9: Tratamentos hidrolíticos visando melhor produção de biogás.



Fonte: Adaptado de Passos *et al.*(2014).

Chen e Oswald (1998) testaram pré-tratamentos da biomassa utilizando hidrólise térmica e química, através da utilização de hidróxido de sódio (NaOH) em variáveis tempos de exposição. O tratamento mais efetivo foi o tratamento térmico à temperatura de 100°C durante 8 horas, sem modificação no pH, resultando em um aumento de 33% na produção de biogás. É importante ressaltar o efeito da temperatura sobre a biomassa. Um incremento de 20°C (70-90°C), é capaz de ocasionar um aumento de 48% na produção de metano a partir da digestão anaeróbia de biomassa composta por *Scenedesmus* sp. (GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2012a). Em contrapartida, De Schamphelaire e Vestraete (2009) não observaram qualquer aumento na produção de biogás a

partir do tratamento de biomassa composta por *Chlorella*, *Pseudokirchneriella*, *Chlamydomonas* à 80°C durante 150 minutos.

Os pré-tratamentos mecânicos através de sonicação, por sua vez, produziram resultados semelhantes aqueles encontrados no tratamento térmico a 150°C (SAMSON e LeDUY, 1983), apesar de exigir menor tempo de tratamento (10 minutos de sonicação vs. 1h de térmico). Gonzalez-Fernandez *et al.* (2012b) obteve um aumento de 21% na biodegradabilidade, quando comparado à biomassa sem tratamento. Porém, diversos autores afirmam que o consumo energético durante os processos de pré-tratamento é equivalente e por vezes até superior ao ganho de energia gerado pelo mesmo (WARD *et al.*, 2014).

Em seu estudo, Ward *et al.* (2014) compilou os resultados de produção de metano a partir da digestão anaeróbia apresentados por diversos autores. A Tabela 6 apresenta os resultados de produção de metano para algumas espécies de microalgas.

Tabela 6: Produção de metano a partir da digestão anaeróbia de algumas espécies de microalgas.

<b>Espécie</b>	<b>Produção de metano</b>	<b>Concentração</b>	<b>Referências</b>
<i>Arthrospira</i> sp.	173ml/gSV	500mgST/L	INGLESBY e FISHER, 2012; MUSSGNUG, <i>et al.</i> , 2010
<i>Chlorella</i> sp.	170-800ml/gSV	402-5000mgSV/L	GOLUEKE, OSWALD e GOTAAS, 1957; GOLUEKE e OSWALD, 1959
<i>Dunaliella</i> sp.	24-440ml/gSV	910-5000mgSV/L	MUSSGNUG, <i>et al.</i> , 2010; LAKANIEMI <i>et al.</i> , 2011
<i>Euglena gracilis</i>	485ml/gSV	2000mgST/L	MUSSGNUG, <i>et al.</i> , 2010
<i>Microcystis</i> sp.	70,33-153,51ml/gSV	1500-6000mgSV/L	ZENG <i>et al.</i> , 2010
<i>Nannochloropsis oculata</i>	204ml/gSV	-	BUXY, DILTZ e PULLAMMANAPPALLIL, 2013
<i>Scenedesmus</i> sp.	240-354ml/gSV	2000-18000mgSV/L	ZAMALLOA <i>et al.</i> , 2012; YANG <i>et al.</i> , 2011
<i>Spirulina</i> sp.	320-330ml/gSV	910-22.500mgSV/L	CHEN, 1987; VAREL, CHEN e HASHIMOTO, 1988

Fonte: Adaptado de Ward *et al.* (2014)

### 3.4. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE BIOMETANO

Inicialmente, os testes de atividade metanogênica (AME) eram usados principalmente para selecionar um lodo adaptado apropriadamente como inóculo (JAMES *et al.*, 1990). Atualmente, esses testes são utilizados para avaliar a capacidade do lodo de converter um substrato orgânico em metano, carreando para a fase gasosa, os componentes responsáveis por gerar a demanda química de oxigênio (DQO) ou a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) na fase líquida (SOUTO *et al.*, 2010). Ademais, os ensaios de Atividade Metanogênica Específica podem ser utilizados para delinear as condições de operação de reatores anaeróbios, uma vez que constituem um importante parâmetro indicativo da performance do sistema e sua estabilidade (HUSSAIN e DUBEY, 2015), além de determinação da atividade do lodo, capacidade de digestão de carga orgânica (JAWED e TARE, 1999), taxa de degradação de vários substratos (STEWART *et al.*, 1995) e o efeito de compostos inibitórios (McHUGH *et al.*, 2004).

Os ensaios de Potencial Metanogênico da Biomassa (PMB) são ensaios amplamente utilizados para definir a capacidade de produção de metano de um sólido orgânico (ESPOSITO *et al.*, 2012). Por sua vez, os ensaios de Potencial Máximo de Produção de Metano (PMP) são utilizados para avaliar o potencial de produção de máxima de metano de um inóculo de lodo anaeróbio, através da utilização de acetato como substrato (INCE *et al.*, 2001). Ambos ensaios apresentam diversos parâmetros a serem observados durante a montagem do experimento. Diversos autores apontam a variação desses parâmetros como a principal deficiência desse método, prejudicando assim a consolidação de uma metodologia universal que permita a comparação dos valores obtidos por diferente substrato ou inóculos utilizados. A Tabela 7 apresenta um compilado dos parâmetros monitorados e dos resultados de diversos ensaios de AME encontrados na literatura

Tabela 7: Compilado de resultados e parâmetros experimentais de estudos de AME/PMB encontrados na literatura.

Regime	F/M	Agitação (rpm)	T (°C)	Substrato	Tempo de ensaio	Volume (mL)	AME	Unidade	Referência
Batelada	0,24	90,00	35,00	Acetato	36 horas	5.000,00	67,00	cm <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /gSSV.d <sup>1</sup>	Ince <i>et al.</i> , 2001
	0,48				60 horas		71,00		
	0,72				90 horas		72,00		
	0,96				90 horas		61,00		
Batelada	-	-	35,00	Ácido Acético	-	500,00	0,635	gDQOCH <sub>4</sub> /gSSV.d <sup>1</sup>	Jawed e Tare, 1999
							0,604		
							0,887		
Batelada	0,5	120,00	35,00	Biomassa de microalgas	60 dias	160,00	198-398	mLCH <sub>4</sub> /gSV	Alzate <i>et al.</i> , 2012
	1,0								
	3,0								
Batelada	0,5	Contínua	40,00	<i>Nannochloropsis</i>	49 dias	500,00	0,51-0,57	m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kgSV	Schwede <i>et al.</i> , 2013
Semi-contínuo	0,6	Presente	35,00	<i>Scenedesmus</i>	23 TDH	1.000,00	61-133	dm <sup>3</sup> /kg	González-Fernandéz <i>et al.</i> , 2012
Batelada	0,5	Presente	35,00		33 dias	500,00	76	dm <sup>3</sup> /kg	
Batelada	0,1	200	35,00	<i>N. salina</i>	30 dias	250	0,304-0,557	LCH <sub>4</sub> /gSV	Zhao <i>et al.</i> , 2014
	0,5								
	1,0								
	1,5								
	2,0								
Batelada	0,5	-	35,00	Biomassa de microalgas	45 dias	160,00	110,94-169,88	mLCH <sub>4</sub> /gSV	Passos <i>et al.</i> , 2013
	1,0								
	2,0								
	4,0								

Fonte: Próprio autor

A taxa de produção máxima de metano pelos microrganismos é uma ferramenta importante para avaliar a capacidade do lodo anaeróbio de tratar certos tipos de efluentes. Para avaliar essa produção, um habitat semelhante ao lodo anaeróbio deve ser simulado, através de uma alíquota desse ecossistema suplementada com um excesso de substrato (DOLFING e BLOEMEN, 1985). Para realização dos testes de AME, uma quantidade conhecida de lodo (Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) 2-5g/L) e uma quantidade de substrato conhecida, geralmente respeitando uma relação de 0,5gDQO/gSSV entre a Demanda Química de Oxigênio (DQO) do substrato e a concentração de SSV do inóculo, presentes no frasco, são adicionadas aos frascos de volume conhecido, preenchendo 70-80% do volume do frasco (JAWED e TARE, 1999). A produção de biogás pode então ser mensurada através de diversos métodos (Tabela 8), porém é necessário avaliar também a qualidade da população de microrganismos do inóculo a ser utilizado (ANGELIDAKI *et al.*, 2007).

Tabela 8: Sumário de técnicas utilizadas para medir a produção de biogás em ensaios de biodegradabilidade.

<b>Método</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Volumétrico	Baixo custo de montagem	Imprecisão devido às variações na pressão atmosférica
	Simplicidade operacional	Imprecisão pode ser significativa devido às variações de carbono inorgânico na fase líquido (influenciado por pH) Evaporação de água nos sistemas de deslocamento de líquido
Manométrico	Alta sensibilidade “User-friendly”	Limite de precisão Imprecisão pode ser significativa devido às variações de carbono inorgânico na fase líquido
	Transdutores manuais são mais convenientes	Transdutores múltiplos apresentam maior probabilidade de vazamento

Cromatografia gasosa	–	Várias amostras simultâneas	Cromatógrafo gasoso
Detecção térmica de condutividade		Medições diretas e precisas	necessário
			2 – 3 Minutos por amostra
Cromatografia gasosa	–	Medições rápidas, 20 segundos por amostra	Cromatógrafo gasoso
Detecção por ionização de chama		Várias amostras simultâneas	necessário
		Medições diretas e precisas	

Fonte: Adaptado de ANGELIDAKI *et al.* (2007).

Um dos métodos descritos na literatura, o Respirômetro de Warburg é usado frequentemente em métodos de Avaliação da Atividade Metanogênica em batelada, para determinação da biodegradabilidade e medição de toxicidade tanto em sistemas aeróbios como em anaeróbios (STUCKEY *et al.*, 1980). Suas restrições de uso estão principalmente no fato de ser um sistema relativamente caro, requerer treinamento específico para operação, tamanho de amostra limitado e dificuldade de amostragem de gases e líquidos (HUSSAIN e DUBEY, 2015).

#### 3.4.1. Avaliação da atividade de diferentes níveis tróficos presentes no inóculo

Para seleção de um inóculo apropriado, a caracterização quanto à qualidade é importante para determinar o *start up* de reatores anaeróbios. Baseado nos resultados desses testes, as cargas orgânicas dos reatores podem ser aumentadas ou diminuídas, a fim de aprimorar sua performance e atingir condições estáveis de operação (ANGELIDAKI *et al.*, 2007). Para avaliação da qualidade e dos diferentes níveis tróficos presentes em um inóculo, podem ser realizados diversos testes, propostos por Angelidaki *et al.* (2007), utilizando-se diferentes tipos de substratos e em diferentes concentrações, conforme Tabela 9:

Tabela 9: Modelo de ensaio para determinação da atividade de diferentes grupos tróficos em um reator anaeróbio.

População	Concentração inicial de substrato
Hidrolíticas	1g de celulose/L
Acidogênica	1g de glicose/L
Proteolítica	1g de caseína/L
Acetogênica	0,5g de ácido propionico/L 0,5g de ácido butírico/L
Acetoclásticas	1g de ácido acético/L
Hidrogenotróficas	Pressão de 1 atm gerada por injeção de uma mistura de H <sub>2</sub> /C <sub>2</sub> (80/20)

Fonte: Adaptado de ANGELIDAKI *et al.* (2007).

### 3.4.2. Métodos volumétricos de medição

#### 3.4.2.1. Método da garrafa de soro (Frasco de Mariotte alcalino):

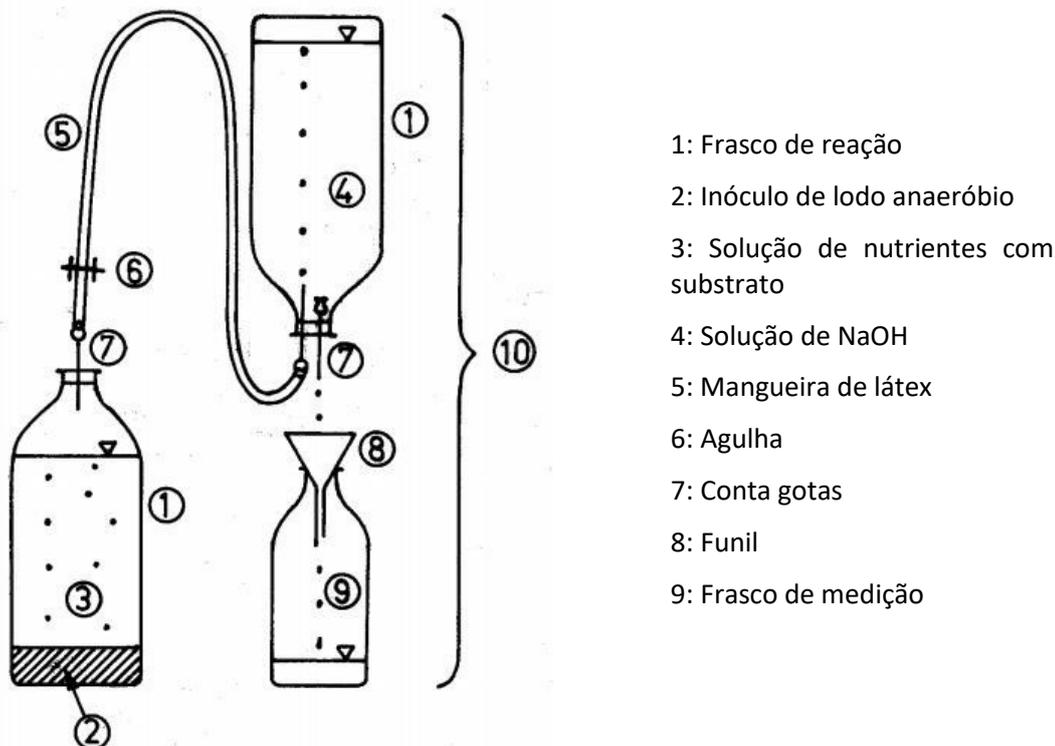
O método da garrafa de soro, conforme proposto por Jawed e Tare (1999) propõe, para avaliação da atividade metanogênica específica (AME), um aparato experimental (Figura 10) utilizando uma quantidade conhecida de lodo (SSV=1-2g/L) inoculada em frascos com volume total de 500mL. A fim de manter concentrações de DQO entre 2 e 2,5g/L, quantidades apropriadas de substrato são adicionadas aos frascos e o volume é completado até a marca de 500mL, utilizando água destilada e respeitando uma porcentagem destinada ao “*headspace*” (cerca de 20-30% do volume total do frasco).

A metodologia proposta não adiciona nutrientes aos frascos, com o objetivo de limitar o crescimento da biomassa durante o período de avaliação (SOTO *et al.*, 1993). A produção de biogás, nesses casos, pode ser medida por deslocamento de líquido. Para monitoramento de produção de metano, é possível utilizar, no lugar de água, uma solução alcalina de NaOH 6N, que reagirá com o CO<sub>2</sub> presente no biogás, solubilizando-o e permitindo que apenas o volume de CH<sub>4</sub> seja estimado através do deslocamento de líquido.

Durante o ensaio, os dados cumulativos de medições diárias são plotados em um gráfico do tipo dispersão até que seja observada a formação de uma assíntota horizontal, indicando a estabilização da produção de biogás (SOTO *et al.*, 1993; JAWED e TARE, 1999; FERNANDÉZ-GONZALÉZ *et al.*, 2012.). Utiliza-se então a inclinação da porção linear da curva formada (*a* na equação

da reta), multiplicado por um fator de correção de volume de metano para gDQO de CH<sub>4</sub>, dividido pelo volume reacional e a massa de sólidos voláteis utilizada no ensaio (HUSSAIN e DUBEY, 2015).

Figura 10: Aparato experimental para Quantificação de produção de Biogás.



Fonte: Jawed e Tare (1999).

Em seu estudo, Hussain e Dubey (2015) compilaram dados da literatura a respeito da aplicação do método da garrafa de soro para Ensaios de AME. As aplicações estão descritas na Tabela 10: *Aplicações da técnica da garrafa de soro para AME.*

Tabela 10: Aplicações da técnica da garrafa de soro para AME.

Objetivo	Método	Referência
Avaliação do efeito da toxicidade de zinco na degradação anaeróbia	Batelada e semicontínuo	DAVIS <i>et al.</i> , 1980
Avaliação da toxicidade anaeróbia	Batelada e semicontínuo	STUCKEY <i>et al.</i> , 1980
Efeito do cianeto na fermentação de metano	Batelada e semicontínuo	YANG e SPEECE, 1985
Inibição por sulfeto da atividade metanogênica do lodo granular em diferentes valores de pH	Batelada	KOSTER <i>et al.</i> , 1986

Degradabilidade anaeróbia de tanino hidrolisável	Batelada	FIELD e LETTINGA, 1987
Determinação da inibição e de níveis tóxicos de zinco, crômio e cobre na digestão anaeróbia de lodo de esgoto	Batelada	KUOZELI-KATSIRI <i>et al.</i> , 1988
Efeito do cobre, zinco e cádmio nos níveis de metano, hidrogênio e monóxido de carbono durante a digestão anaeróbia de lodo	Batelada	HICKEY <i>et al.</i> , 1989
Efeito da pré-ozonização na biodegradabilidade anaeróbia de O-cresol	Batelada	WANG <i>et al.</i> , 1989
BMP de componentes de resíduos sólidos municipais	Batelada	OWENS e CHYNOWETH, 1993
BMP e digestão anaeróbia de resíduos alimentares coreanos	Batelada e contínuo	CHO <i>et al.</i> , 1995
BMP de lodo submetido à pré-tratamentos químicos	Batelada	LIN <i>et al.</i> , 1999
Avaliação da atividade metanogênica e da cinética do lodo anaeróbio granular	Batelada	KAYRANLI e UGURLU, 2012

Adaptado de Hussain e Dubey, 2015.

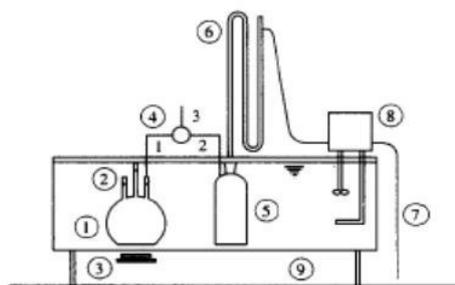
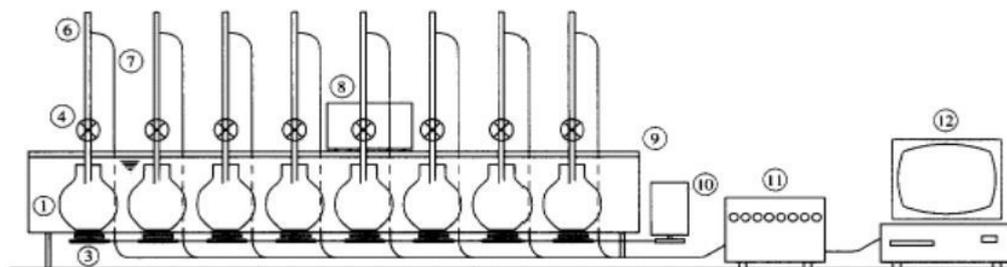
### 3.4.3. Método da medição manométrica

A partir da aplicação do princípio de Avogrado, que afirma que dois gases diferentes ocupam o mesmo volume quando em mesmas condições de temperatura e pressão, é possível utilizar a variação de pressão produzida pela produção de gás para determinar o volume produzido. Essa técnica de monitoramento é chamada de método manométrico. Esses métodos manométricos de medição apresentam como principal vantagem a possibilidade de conectarem-se a um computador para armazenamento dos dados produzidos. Essa metodologia consiste no monitoramento na pressão exercida pela produção de gás sobre um sensor ou uma seringa, acoplados ao frasco de reação. Uma vez que é possível correlacionar a pressão produzida com a concentração de metano no biogás a partir da calibração do sistema, pode-se

então determinar a produção diária de metano e, conseqüentemente, a Atividade Metanogênica Específica (AME) da amostra estudada (AQUINO *et al.*, 2007).

Em seu estudo, Aquino *et al.* (2007) descreve a metodologia utilizada por Monteggia (1991), que consiste em transdutores de pressão conectados a uma válvula solenoide de três vias (Figura 11– 4). Esta, por sua vez, está conectada ao frasco de reação, controlada por um medidor de pressão (manômetro ou transdutor de pressão), fazendo com que duas vias estejam normalmente abertas, permitindo uma comunicação dos frascos com o reservatório de gás. Ao atingir o limite de pressão estipulado, o controlador emite um sinal elétrico fechando a via de entrada para o reator e abrindo a via de purga. Após o término do processo de despressurização, o controlador envia um novo sinal, fechando a via de purga e abrindo as demais, iniciando assim um novo ciclo de medição (Figura 11).

Figura 11: Respirômetro originalmente proposto por Monteggia (1991)



- 1- Frascos de reação (V =1 L)
- 2- Septa para amostragem
- 3- Agitadores magnéticos
- 4- Válvula solenóide de 3 vias
- 5- Reservatório de gás (V = 80 ml)
- 6- Manômetro
- 7- Cabos elétricos
- 8- Termostato de imersão
- 9- Banho de água
- 10- Motor do agitador magnético
- 11- Painel de controle da válvula solenóide
- 12- Computador par a aquisição de dados

Fonte: Adaptado de Aquino *et al.*, 2007.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. SISTEMA DE TRATAMENTO DE ESGOTO

O sistema de tratamento de esgoto sanitário que serviu de base para esta pesquisa encontra-se instalado em uma estação de tratamento de esgoto sanitário da Companhia Espírito Santense de Saneamento (CESAN), localizada no bairro Araçás em Vila Velha/ES (Figura 12). Esse projeto de pesquisa faz parte de um conjunto de projetos financiados pelas Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e utilizou a biomassa originada por outro projeto que estuda diferentes tratamentos de separação algácea dos efluentes de lagoas de estabilização. O esgoto sanitário chega na estação de tratamento e passa por um tratamento preliminar formado por uma grade, uma caixa de areia e caixa de gordura. Após retirada de sólidos grosseiros, o efluente é encaminhado para o RAFA (reator anaeróbio de fluxo ascendente) (1), onde estima-se uma remoção de aproximadamente 70% da DBO<sub>5</sub> afluente (Van HAANDEL e LETTINGA, 1994). O metano gerado nesse processo será queimado para produção de energia e CO<sub>2</sub> (2) para posterior injeção no fotobiorreator (3). No fotobiorreator ocorrerá o pós-tratamento do efluente anaeróbio, com as microalgas utilizando o dióxido de carbono como fonte carbonácea. Será realizada então a etapa de separação das microalgas do efluente (4), a partir da qual o lodo gerado será submetido a um processo de hidrólise (5). O lodo hidrolisado será submetido então aos ensaios de Potencial Biológico de Produção de Metano (BPM) (6). Por fim, o efluente tratado será encaminhado para a destinação final.

Tendo em vista os atrasos na construção do sistema piloto, todas as amostras foram coletadas através da utilização de um piloto separador sólido-líquido móvel, denominado Polilag (Figura 14). O sistema Polilag é composto por um tanque floculador, preenchido com um meio, composto por tubos de diferentes diâmetros, responsável por produzir um gradiente de granulometria e um tanque decantador, com lamelas. No primeiro tanque, o efluente bombeado de uma profundidade de 70cm da lâmina d'água da lagoa da ETE Vale Encantado, composta por um reator UASB seguido de lagoa facultativa (

Figura 13), à uma vazão de 0,8L/s recebe o coagulante polimérico Tanfloc S, à uma concentração de 25% (m/m), através de uma bomba dosadora regulada em

15% da sua vazão (7,2L/h). Após a mistura, o efluente com o coagulante é direcionado até o tanque decantador, onde as microalgas coaguladas se acumulam no fundo do tanque, sendo coletadas ao final de 4 horas de operação do sistema e transportadas até o laboratório.

Figura 12: Esquema de Tratamento de Esgoto Sanitário do piloto da ETE Araçás.

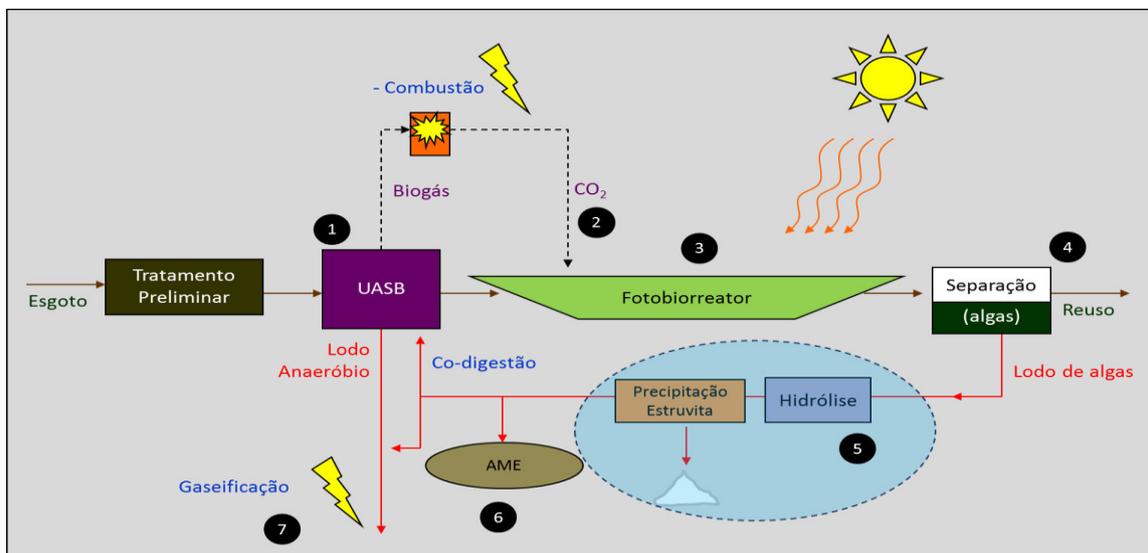


Figura 13: Localização da ETE Vale Encantado. Figura 14: Sistema Polilag em operação na lagoa facultativa de Vale Encantado - Vila Velha (ES).



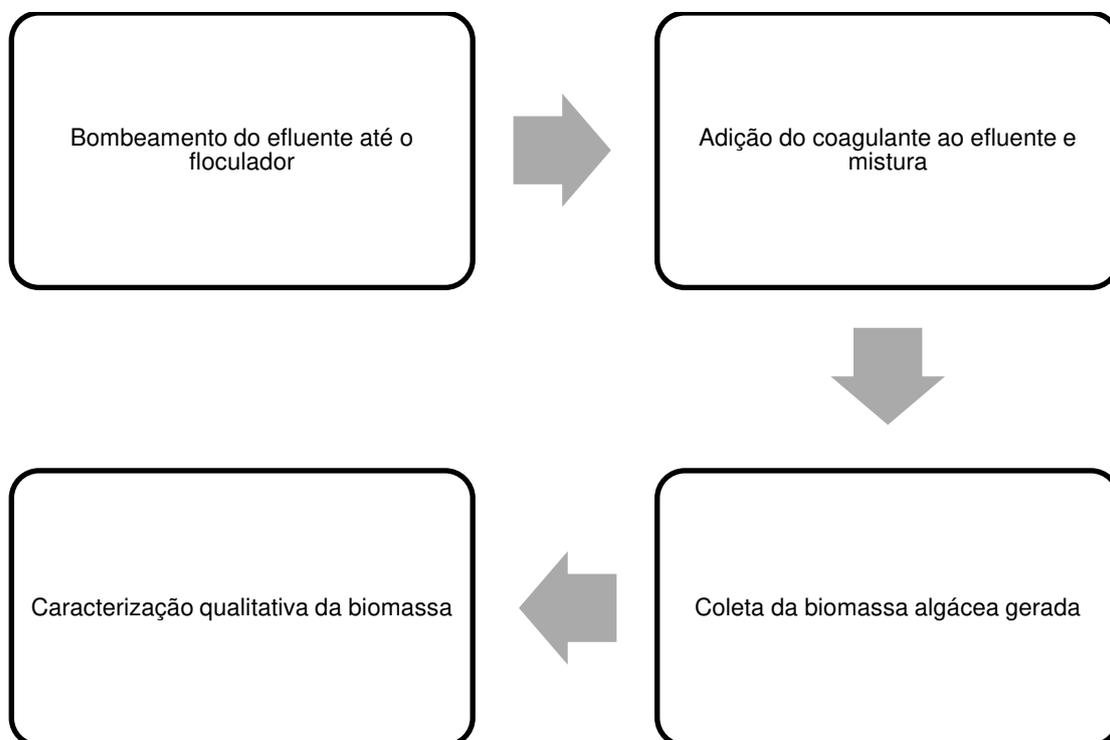
Fonte: Google Maps, 2016.

Fonte: Próprio autor.

## 4.2. CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA DA BIOMASSA ALGÁCEA COLETADA EM UM SISTEMA DE SEPARAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO APLICADO AO PÓS TRATAMENTO DO EFLUENTE DE UMA LAGOA FACULTATIVA TRATANDO ESGOTO SANITÁRIO

A Figura 15 apresenta o fluxograma resumido das etapas dessa metodologia:

Figura 15: Fluxograma de coleta e caracterização da biomassa algácea.



As amostras coletadas através do Polilag, foram transportadas até o laboratório, onde adensou-se através de filtração em tecido até atingir teor de sólidos de 3,5% desejado. Após os processos de hidrólise, realizou-se filtração das amostras através da utilização de bomba de vácuo e um sistema kitassato com membranas de  $0,45\mu\text{m}$ , a fim de caracterizar apenas os parâmetros presentes na fração dissolvida da solução, verificando assim, o efeito da solubilização promovida pela hidrólise.

Calculou-se também o grau de solubilização de diversos parâmetros através da análise do comportamento destes na amostra bruta e amostra filtrada após hidrólise

Figura 16: Polilag em operação na ETE Vale Encantado.



Fonte: Próprio autor.

A biomassa algácea coletada através foi caracterizada, antes e após hidrólise, segundo metodologia descrita no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), apresentada na Tabela 11 para caracterização qualitativa de acordo com estes parâmetros.

Tabela 11: Análises físico-químicas para caracterização qualitativa da biomassa coletada.

PARÂMETROS	TÉCNICA ANALÍTICA	UNIDADE
Série de Sólidos (ST, SV, SST, SSV)	APHA (2012), Gravimétrico	mg/L
DQO	APHA (2012), Titulométrico	g/L
Série de nitrogênio (NTK e N-NH <sub>4</sub> )	APHA (2012), Titulométrico	mg/L
Fósforo total	APHA (2012), Titulométrico	mg/L
Proteínas	Lourenço (2006), Titulométrico	mg/L
Lipídeos	PROSAB (2001), Titulométrico	mg/L
Carboidratos	PROSAB (2001), Colorimétrico	mg/L
Clorofila a	Raschke (1993), Fluorimetria	mg/L

Fonte: Próprio autor.

Utilizou-se então a concentração de clorofila *a* e a concentração de SSV da biomassa filtrada para estimar a concentração de biomassa algácea, de acordo com a Equação 2 (RASCHKE, 1993).

$$\text{Biomassa algácea (mg/L)} = \text{Clorofila } \frac{a}{1,5} \times 100$$

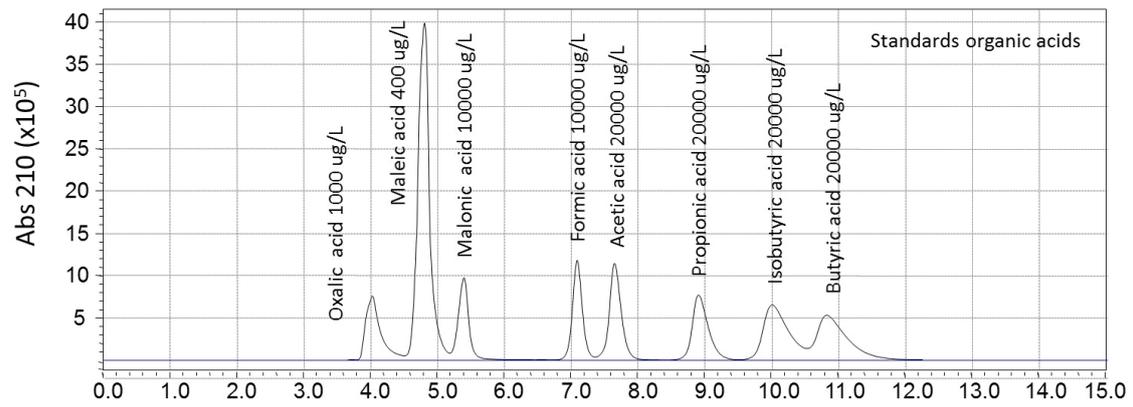
Onde

Clorofila *a* é a concentração de Clorofila *a* na amostra filtrada (mg/L)

#### 4.2.1. Determinação de Ácidos Graxos Livres (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)

Antes da realização da análise de ácidos graxos livres, foi realizada a centrifugação da amostra bruta a 2000RPM e posterior filtração em membrana de 0,45µm do sobrenadante. A análise de ácidos graxos foi realizada em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da série Shimadzu CBM-20A, equipado com um desgaseificador de solventes DGU-20AS, uma bomba quaternária de gradiente LC-20AT, um injetor automático de amostras SIL-20AHT e um detector de arranjo de diodos SPD-M20A. A coluna cromatográfica utilizada neste estudo foi a coluna analítica Kinetex™ C18 (100x2,1 mm, 2,6 µm, 100 nm). O comprimento de onda de detecção utilizado foi de 255 nm. Para as análises foram injetadas 50 µL dos padrões e amostras. A análise da pureza do pico foi realizada ao longo de um intervalo de comprimento de onda de 200 a 300 nm. A solução de Água Ultrapura acidificada com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, até pH = 2,5, foi utilizada como fase móvel A, enquanto a fase B consistiu de uma solução de Metanol 100%. O fluxo utilizado nas análises foi de 0,200 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida em 37°C, durante todos os experimentos. Todas as soluções preparadas para compor as fases móveis foram previamente filtradas e mantidas por 15 minutos em banho de ultrassom (Limpsonic®, Brasil) antes de serem utilizadas (CASSINI *et al.*, 2013). O padrão utilizado para determinação dos Ácidos Orgânicos Voláteis é apresentado na Figura 17.

Figura 17: Calibração com padrão de Ácidos Orgânicos Voláteis utilizado.

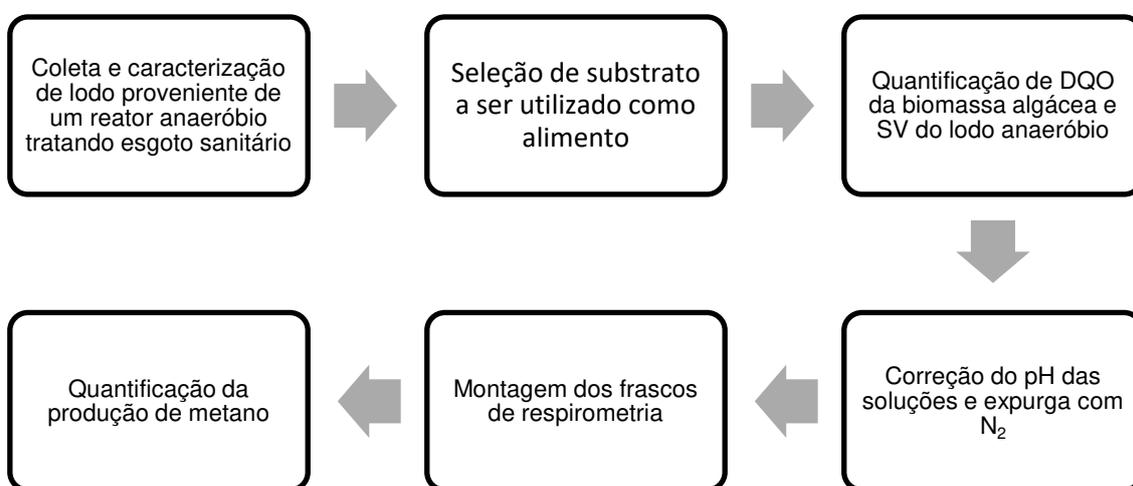


### 4.3. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL METANOGENÉTICO DA BIOMASSA (PMB)

#### 4.3.1. Montagem do aparato experimental

A Figura 18 apresenta o fluxograma resumido das etapas da montagem dos frascos para avaliação do Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP):

Figura 18: Fluxograma de avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de biomassa algácea hidrolisada quimicamente pela via alcalina.



A avaliação do Potencial Metanogênico da Biomassa (PMB) foi realizada através da alimentação do lodo de UASB utilizando o substrato algácea de interesse em um ensaio de respirometria, segundo metodologia proposta por Jawed e Tare (1999). Em um primeiro momento, caracterizou-se o inóculo a ser utilizado (lodo de leite, coletado a partir da segunda torneira (1,5m) do UASB localizado na ETE de Ulisses Guimarães tratando esgoto doméstico) quanto aos Sólidos Voláteis (SV) e a Demanda Química de Oxigênio (DQO) do substrato, segundo metodologia descrita em Apha, 2012. Realizou-se então o preparo da solução de nutrientes proposta por Monteggia (1991), misturando 1 ml da solução 2 para cada litro de solução 1, a fim de tamponar o pH e impedir a limitação da atividade metanogênica dos microrganismos presentes no inóculo por privação de elementos traço durante o experimento (Tabela 12).

Tabela 12: Solução de tampão e nutrientes

Solução	Reagente	Concentração	Função
1	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1500 mg/L	Tampão
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1500 mg/L	
	NH <sub>4</sub> Cl	500 mg/L	Macronutrientes
	Na <sub>2</sub> S.7H <sub>2</sub> O	50 mg/L	
2	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	2000 mg/L	Micronutrientes
	ZnCl <sub>2</sub>	50 mg/L	
	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	24,77 mg/L	
	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	611 mg/L	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> .Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> 4H <sub>2</sub> O	50 mg/L	
	AlCl <sub>3</sub>	90,84 mg/L	
	CoCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	2000 mg/L	
HCl (P.A.)	1 ml		

Fonte: Adaptado de Monteggia (1991).

Adicionou-se então 110mL da solução de nutrientes preparada em frascos de 250mL de volume total (Figura 19 Figura 20). Inoculou-se então 7 ml da amostra de lodo proveniente de UASB tratando esgoto doméstico nos frascos, mantendo uma concentração de 2,5g SV/L (ESPOSITO *et al.*, 2012; VAL DEL RÍO *et al.*, 2011; AQUINO *et al.*, 2007; INCE, INCE e YENIGUN, 2001; JAWED e TARE, 1999). Realizou-se então a purga dos frascos a partir da injeção de N<sub>2</sub>, à uma pressão de 5 psi, durante 2 minutos, objetivando a criação de um ambiente anaeróbio. Selou-se os frascos com tampa de látex adaptadas e aclimatou-se os mesmos durante 24 horas a uma temperatura de 35±1°C. Por fim, adicionou-se 5 ml do substrato algáceo, a fim de atingir uma concentração de 1,3 g/L DQO, respeitando a relação de 0,5 gDQO/gSV (alimento/microrganismo - A/M) a fim de evitar acúmulo de AGV e, conseqüentemente, um desequilíbrio da reação de tamponação (HUSSAIN e DUBEY, 2015, AQUINO *et al.*, 2007, MONTEGGIA, 1991). Realizou-se então uma nova purga com N<sub>2</sub>, à uma pressão de 5 psi, durante 1 minuto. O ensaio foi realizado com agitação manual diária, nos momentos de aferição do volume deslocado, uma vez que não foi observada nenhuma diferença significativa na produção de biogás em ausência ou presença de agitação (HUSSAIN e DUBEY, 2015). Conectou-se então as mangueiras de silicone nos frascos contendo água (Figura 20) para monitorar a produção de biogás, por meio de deslocamento de líquido (ESPOSITO *et*

al.,2012; JAWED e TARE, 1999), até estabilização da curva gerando uma assíntota horizontal (ESPOSITO *et al.*, 2012). Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Figura 19: Detalhe da conexão das mangueiras de silicone no frasco contendo água.



Figura 20: Detalhe do frasco de reação e frasco de deslocamento de líquido.



Fonte: Próprio autor.

A partir do valor de  $a$  (inclinação da reta) na equação da linha de tendência gerada a partir da porção linear do gráfico cumulativo plotado com os dados monitorados durante o experimento, dividido pela massa de Sólidos Voláteis do inóculo, calculou-se Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP) da amostra, multiplicando-se o valor encontrado pelo fator de correção do volume de metano produzido, segundo Equação 3 (HUSSAIN E DUBEY, 2015):

$$AME = A.B.C/(D.E) \text{ gDQOCH}_4/\text{gSV.d} \quad (3)$$

Onde

$A$  é a inclinação da reta da porção linear de produção cumulativa de metano (mL),

$B$  é a porcentagem de metano presente no biogás(%)

$C$  é o fator de correção de volume de metano produzido para grama de DQO em metano

*D* o volume reacional(L)

*E* a massa de lodo do inóculo adicionado(gSV)

#### 4.3.2. PBM de biomassa hidrolisada

Para avaliação do Potencial Metanogênico da Biomassa (PMB), foram realizados testes com duração de 45 dias, a fim de determinar a produção de biogás a partir da digestão anaeróbia de biomassa submetido à processos hidrolíticos. Sendo assim, após o processo de separação e concentração já descritos anteriormente, a biomassa concentrada foi caracterizada físico-quimicamente e submetida a processos de hidrólise térmica e alcalina. No processo de hidrólise alcalina, o pH da amostra é elevado através da dosagem de uma base (NaOH 1M) até atingir pH 12, durante um período de quatro horas, sendo seu pH neutralizado com uma solução ácida (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5M) ao final desse período de tempo. Por sua vez, no processo de hidrólise térmica, a temperatura da amostra é elevada através de banho maria até 80°C, durante um período de quatro horas, retirando-se a amostra do banho maria após esse período e resfriando à temperatura ambiente.

Os valores de PMB (gDQOCH<sub>4</sub>/g.SV.d) da biomassa bruta (não hidrolisada) foram comparados aos valores encontrados para biomassa hidrolisada térmicamente, biomassa hidrolisada pela via alcalina, bem como a produção máxima, através da utilização de uma solução de acetato de sódio como substrato.

#### 4.3.3. Avaliação de Potencial de Produção de Metano

Para avaliação da Potencial Máximo de Produção de Metano (PMP) foram utilizados 7 ml do inóculo de lodo coletado a partir de um UASB tratando esgoto doméstico (descrito em 4.2.) e 5 ml de uma solução de 100 g/L de Acetato de Sódio. Para avaliação da Atividade das Bactérias Acidogênicas, utilizou-se 7 ml desse mesmo lodo coletado e 5 ml de uma solução de 45 g/L de Glicose. A produção de biogás foi medida diariamente e seus valores plotados em um gráfico cumulativo, até ser observada uma assíntota horizontal, indicando a estabilização da curva. Assim como nos ensaios utilizando biomassa hidrolisada, utilizou-se a Equação 3 para calcular o Potencial de Produção de Metano do lodo coletado.

#### 4.4. BALANÇO DE MASSA E ENERGIA

Para elaboração do balanço de massa e energia, foi utilizado o software Microsoft Excel a partir de valores estimados para alguns parâmetros e dos dados monitorados na Estação Piloto localizada na Estação de Tratamento de Esgoto de Araçás/Vila Velha – ES. Os cálculos foram realizados baseados na metodologia proposta por Azeredo (2016). Após o equacionamento inicial, utilizou-se os dados encontrados durante os ensaios de Produção Máxima de Metano e de Potencial Biológico de produção de Metano para calcular a produção de energia a partir do balanço de massa e energia.

##### 4.4.1. Balanço de Massa em um reator UASB

Em um primeiro momento, calculou-se a Carga Hidráulica Volumétrica (CHV) segundo a Equação 4:

$$CHV = Q/V \quad (4)$$

Onde

CHV é a Carga Hidráulica Volumétrica

Q é a vazão do reator UASB (m<sup>3</sup>/s)

V é o volume total do reator (m<sup>3</sup>)

Após o cálculo da Carga Hidráulica Volumétrica (CHV), utilizou-se esse valor para o cálculo do Tempo de Detenção Hidráulica (TDH), segundo a Equação 5:

$$TDH = 1/CHV \quad (5)$$

Após a determinação dos parâmetros volumétricos. Calculou-se a Carga Orgânica Volumétrica (COV), utilizando a Equação 6:

$$COV = (Q * S)/V \quad (6)$$

Onde

COV é a Carga Orgânica Volumétrica (KgDQO/m<sup>3</sup>.s)

Q é a vazão do reator UASB(m<sup>3</sup>/s)

S é a concentração de DQO no esgoto afluente(KgDQO/m<sup>3</sup>)

V é o volume do reator(m<sup>3</sup>)

Calculou-se então a eficiência de remoção de DQO e DBO no reator, segundo a Equação 7:

$$E = S - S_0 / S_0 * 100 \quad (7)$$

Onde

E é a eficiência de remoção de DQO(%)

S é a concentração de DQO ou DBO efluente(mg/L)

S<sub>0</sub> é a concentração de DQO ou DBO no afluente(mg/L)

Após a definição da eficiência de remoção, utilizou-se o valor encontrado para determinar a concentração de DQO e DBO no efluente dos reatores, de acordo com a Equação 8:

$$S = S_0 - (E * S_0) / 100 \quad (8)$$

Calculou-se então a concentração de Sólidos Suspensos Totais no efluente do UASB, utilizando a equação 9:

$$SST = \left( \frac{250}{TDH} \right) + 10 \quad (9)$$

Onde

SST é a concentração de Sólidos Suspensos Totais(mg/L)

TDH é o Tempo de Detenção Hidráulica(h)

A partir da Equação 10, encontrou-se então a produção mássica de lodo do reator, em KgSST/d.

$$P_{\text{lodo}} = Y * DQO_{\text{apl}} \quad (10)$$

Onde

P<sub>lodo</sub> é a produção de lodo no reator(KgSST/d)

Y é o coeficiente de produção de lodo (adotou-se 0,21)

DQO<sub>apl</sub> é a carga de DQO aplicada ao sistema(KgDQO/d)

Definiu-se então o Volume de Lodo produzido, segundo a Equação 11:

$$V_{\text{lodo}} = \frac{P_{\text{lodo}}}{Y * C} \quad (11)$$

Onde

$V_{\text{lodo}}$  é o volume de lodo produzido( $\text{m}^3/\text{d}$ )

$P_{\text{lodo}}$  é a produção de lodo no reator( $\text{KgSST}/\text{d}$ )

$Y$  é a densidade do lodo( $\text{Kg}/\text{m}^3$ )

$C$  é a concentração do lodo(%)

Calculou-se então a Carga de metano do reator UASB, segundo a Equação 12:

$$DQO_{\text{CH}_4} = Q[(S_o - S) - Y_{\text{obs}} * S_o] \quad (12)$$

Onde

$DQO_{\text{CH}_4}$  é a carga de metano produzida no reator UASB ( $\text{KgDQO}_{\text{CH}_4}/\text{d}$ )

$S$  é a concentração de DQO no efluente ( $\text{mg}/\text{L}$ )

$S_o$  é a concentração de DQO no afluente ( $\text{mg}/\text{L}$ )

$Y_{\text{obs}}$  é o coeficiente de produção de sólidos no sistema ( $\text{KgSST}/\text{KgDQO}_{\text{apl.}}$ )

Corrigiu-se então a temperatura de operação a partir do cálculo de um fator de correção  $K(t)$  em  $\text{KgDQO}/\text{m}^3$ , segundo a Equação 13:

$$K(t) = \frac{P * K}{[R * (273 + t)]} \quad (13)$$

Onde

$K(t)$  é o fator de correção da temperatura de operação ( $\text{KgDQO}/\text{m}^3$ )

$P$  é a pressão atmosférica (atm)

$K$  é a temperatura de operação do reator ( $^{\circ}\text{C}$ )

$R$  é a constante dos gases ( $\text{atm.L}/\text{mol.}^{\circ}\text{K}$ )

Calculou-se então a vazão de metano produzida no reator UASB em  $\text{m}^3/\text{d}$ , a partir da Equação 14:

$$Q_{\text{CH}_4} = \frac{DQO_{\text{CH}_4}}{K(t)} \quad (14)$$

Onde

$Q_{\text{CH}_4}$  é a produção diária de metano ( $\text{m}^3/\text{d}$ )

$DQO_{CH_4}$  é o fator de correção de volume de metano para KgDQO, segundo Van Haandel e Lettinga (1983)

$K(t)$  é o fator de correção da temperatura ( $KgDQO/m^3$ ), calculado na Equação 12.

Aplicou-se então um fator de correção para as perdas de metano em reatores UASB, segundo a Equação 15:

$$P = Q_{CH_4} * t \quad (15)$$

Onde

$P$  é a o volume de metano perdido na operação do UASB ( $m^3/d$ )

$Q_{CH_4}$  é a vazão de metano produzida ( $m^3/d$ )

$t$  é a porcentagem de metano perdida durante a operação do UASB (adotou-se 35%).

Por fim, estimou-se então a vazão de biogás produzida, aplicando a Equação 16:

$$Q_{biogás} = \frac{Q_{CH_4} - P}{\mu} \quad (16)$$

Onde

$Q_{biogás}$  é a vazão de biogás produzida( $m^3/d$ )

$Q_{CH_4}$  é a produção volumétrica de metano( $m^3/d$ )

$\mu$  é a porcentagem de metano presente no biogás (adotou-se 70%) (Van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

#### 4.4.2. Balanço de Massa em uma Lagoa de Alta Taxa

Estimou-se a produção de biomassa algácea em uma lagoa, segundo a Equação 17:

$$P_{ba} = (I_o * \eta_{máx})/H \quad 17$$

Onde

$P_{ba}$  é a produção de biomassa algácea ( $g/m^2dia$ )

$I_o$  é a radiação solar média ( $MJ/m^2dia$ )

$\eta_{\text{máx}}$  é a eficiência máxima de conversão fotossintética da luz solar(%)

H é o valor energético da biomassa algácea quando convertida em calor (Kcal)

Calculou-se também a Demanda de Área per capita ( $A_{pc}$ ), segundo a Equação 18:

$$A_{pc} = (Q * TDH)/h \quad (18)$$

Onde

$A_{pc}$  é a Demanda de Área per capita ( $m^2/\text{hab}$ )

Q é a vazão ( $m^3/\text{dia}$ )

TDH é o Tempo de Detenção Hidráulica (dias)

h é a altura da coluna d'água(m)

A partir dos resultados das Equações 16 e 17, calculou-se então a Produção de Biomassa Algácea per capita ( $P_{pc}$ ), aplicando a Equação 19:

$$P_{pc} = P_{ba} * A_{pc} \quad (19)$$

Onde

$P_{pc}$  é a Produção de biomassa Algácea ( $g/\text{hab.d}$ )

$P_{ba}$  é a Produção de Biomassa Algácea ( $g/m^2d$ )

$A_{pc}$  é Demanda de Área per capita ( $m^2/\text{hab}$ )

Determinou-se então a Área Total da Lagoa de Alta Taxa, de acordo com a Equação 20:

$$A_t = A_{pc} * P \quad (20)$$

Onde

$A_t$  é a Área Total da Lagoa de Alta Taxa( $m^2$ )

$A_{pc}$  é a Demanda de Área per capita( $m^2/\text{hab}$ )

P é a população atendida(habitantes)

Por fim, calculou-se a Produção Total Diária de Biomassa Algácea, segundo a Equação 21:

$$P_t = P_{ba} * A_t \quad (21)$$

Onde

$P_t$  é a produção total diária (Kg/dia)

$P_{ba}$  é a Produção de Biomassa Algácea (Kg/m<sup>2</sup>d)

$A_t$  é a Área Total da Lagoa de Alta Taxa (m<sup>2</sup>)

#### 4.4.3. Balanço de Energia do Sistema

Para o Balanço de Energia do Sistema UASB + LAT, calculou-se a Disponibilidade Energética para a associação, de acordo com a Equação 22:

$$DIE = C * Q_{\text{biogás}} \quad (22)$$

Onde

DIE é a Disponibilidade Energética da associação UASB + LAT(Wh/hab)

C é o poder calorífico do biogás(kcal/m<sup>3</sup>)

$Q_{\text{biogás}}$  é a vazão de biogás produzida(m<sup>3</sup>/hab.d)

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA DA BIOMASSA ALGÁCEA

A biomassa coletada apresentou elevada concentração de sólidos suspensos voláteis, quando comparada à concentração de sólidos totais, indicando assim um predomínio de microrganismos em sua composição (Tabela 13). Ressalta-se que os parâmetros das amostras de T=80°C e pH=12 são referentes às amostras filtradas, exceto pelos resultados da série de sólidos.

Tabela 13: Caracterização da biomassa algácea.

Lodo Algáceo Misto	Amostra Bruta	Amostra Filtrada	T=80°C	pH=12
ST (g/L)	35,1	0,54	34,1±6,0	33,8±1,2
SV (g/L)	32,4	4,9	31,3±6,0	28,9±1,2
SST (g/L)	34,4	-	29,4±5,8	28,9±1,0
SSV (g/L)	31,5	-	29,4±7,2	27,1±2,3
DQO (gO <sub>2</sub> /L)	36,6±9,9	1,1±0,3	5,4±0,58	7,8±0,91
Fósforo Total P <sub>tot</sub> (g/L)	0,5±0,07	0,1	-	-
Nitrogênio NTK (g/L)	0,4±0,06	0,05	0,17±0,02	0,08±0,02
Amônia NNH <sub>4</sub> (g/L)	0,3	0,04	0,1±0,06	0,07±0,01
Proteínas totais (g/L)	2,7	0,2	6,4	2,9
Carboidratos totais (g/L)	12,6±2,4	0,05	1,5±0,07	1,6±0,01
Clorofila-a (mg/gST)	7,49	-		

Fonte: Próprio autor.

Mudanças na concentração de sólidos totais do substrato apresentam diferenças significantes na produção de metano. Mantendo a mesma proporção S/I (substrato/inóculo), uma mudança na concentração de sólidos totais de 1% para 0,3% é capaz de promover uma redução de até 25% na produção de metano, enquanto uma elevação até 2%, pode apresentar um acréscimo de 9% na produção de metano (ALZATE *et al.*, 2012). A partir do aumento na concentração de sólidos totais da amostra, aumenta-se também o gradiente de contato entre substrato e inóculo, aumentando a produção de metano. Porém, é importante ressaltar que uma elevação na concentração de sólidos da solução promoverá também, um aumento da concentração de nitrogênio amoniacal, podendo assim, ocorrer uma inibição da metanogênese por amônia (HEAVEN, MILLEDGE e ZHANG, 2011). Dessa forma, acredita-se que a concentração de ST atingida

após o processo de adensamento contribuiu para a otimização do processo de produção de metano.

A amostra coletada apresentou uma concentração de 7,49mg de clorofila *a* por grama de Sólidos Totais. A partir da concentração de clorofila *a* e aplicação da Equação 2 (RASCHKE, 1993), encontrou-se a concentração de biomassa algácea de 17g/L, correspondendo à 54% da concentração de Sólidos Suspensos Voláteis da amostra bruta. Os Sólidos Suspensos Voláteis são uma medida indireta da concentração de microrganismos vivos na amostra (APHA, 2012). A partir de análise microscópica (dados não apresentados), observou-se que as amostras coletadas a partir da lagoa de Vale Encantado apresentavam rica população de microrganismos, composta por protozoários, rotíferos, microalgas e cianobactérias. Dessa forma, acredita-se que os 46% restantes da amostra correspondam aos microrganismos que não apresentam pigmentos à base de clorofila em sua composição.

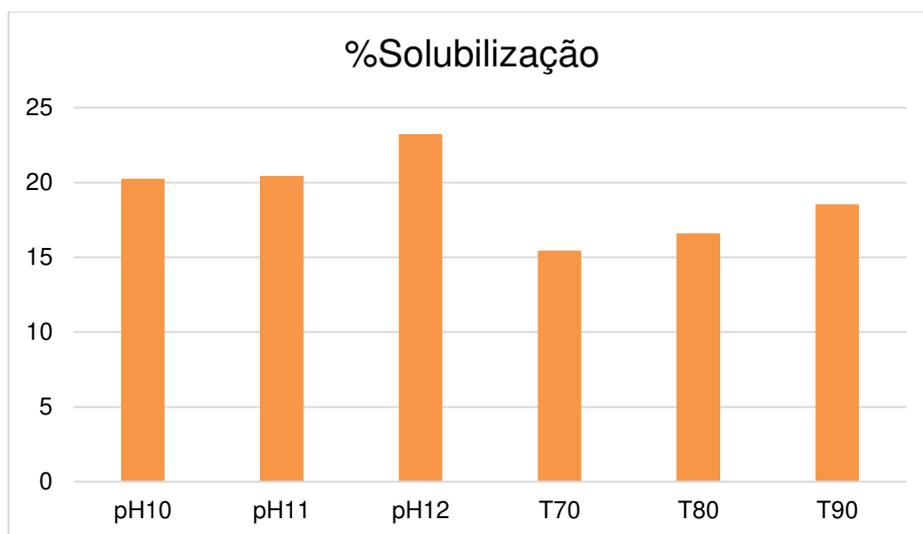
As amostras coletadas de lagoas de alta taxa tratando esgoto sanitário por Park e Craggs (2011) apresentaram uma concentração média de 5mg/L e 5,7mg/L de clorofila *a*, em TDH de 8d e 4d, respectivamente. Utilizando os resultados de clorofila *a* e SSV, os autores encontraram uma proporção de 55,6% (TDH 8d) e 80,5% (TDH 4d) de microalgas na biomassa coletada. Os valores encontrados para clorofila *a* nessa pesquisa foram bem superiores aos valores apresentados pelos autores. Acredita-se que tal diferença se dê a partir do processo de adensamento da biomassa coletada, realizado antes das análises laboratoriais, elevando assim a concentração de sólidos e, conseqüentemente, da concentração de clorofila *a*. Reforça-se essa ideia a partir da comparação da proporção de microalgas nas amostras coletadas nesse estudo e no estudo de Park e Craggs (2011), uma vez que ambos apresentam valores semelhantes para tal parâmetro.

#### 5.1.1. Fração Carbonácea

A partir do cálculo do grau de solubilização de DQO, observou-se uma solubilização de cerca de 15%, 16% e 18% de matéria orgânica nos tratamentos com temperatura de 70°C, 80°C e 90°C, respectivamente. Nos tratamentos pela via alcalina, percebeu-se uma solubilização de 20,25%, 20,44% e 23,23% nos

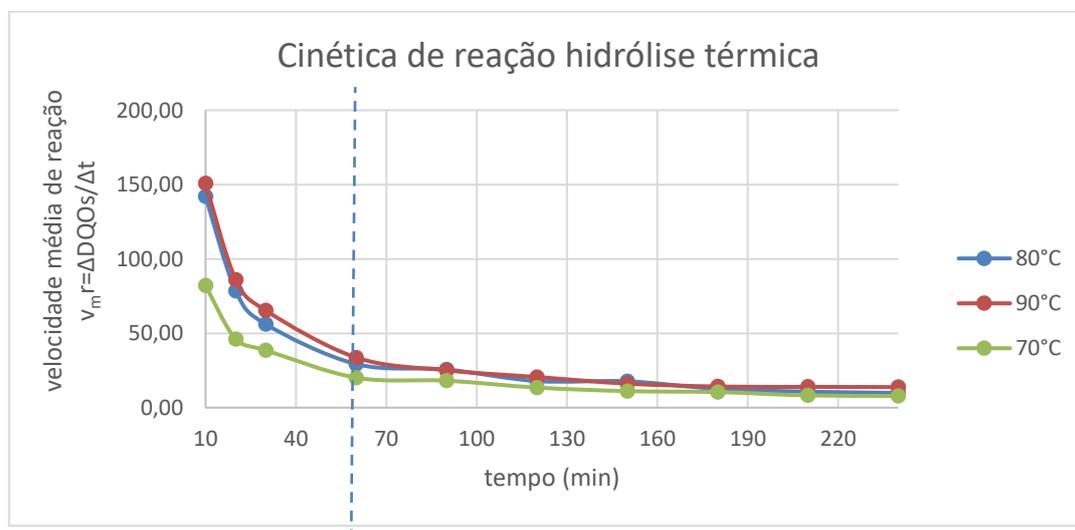
tratamentos com pH10, pH11 e pH12, respectivamente (Figura 21). Acredita-se que tal comportamento possa ser explicado a partir do rompimento da membrana celular dos microrganismos presentes na amostra. Comparando os valores encontrados, a hidrólise alcalina apresentou maior percentual de solubilização de matéria orgânica, quando compara à hidrólise térmica.

Figura 21: Percentual de solubilização de matéria orgânica (DQOf) nos tratamentos hidrolíticos.



Pode-se observar que o maior grau de solubilização de matéria orgânica acontece nos primeiros 70 minutos de experimento, quando a velocidade média de reação se estabiliza (Figura 22). Acredita-se também que o incremento da temperatura apresente maiores efeitos no grau de solubilização apenas nas etapas iniciais da hidrólise, sendo a velocidade da reação estabilizada após 160 minutos de tratamento.

Figura 22: Cinética de reação do processo de hidrólise térmica

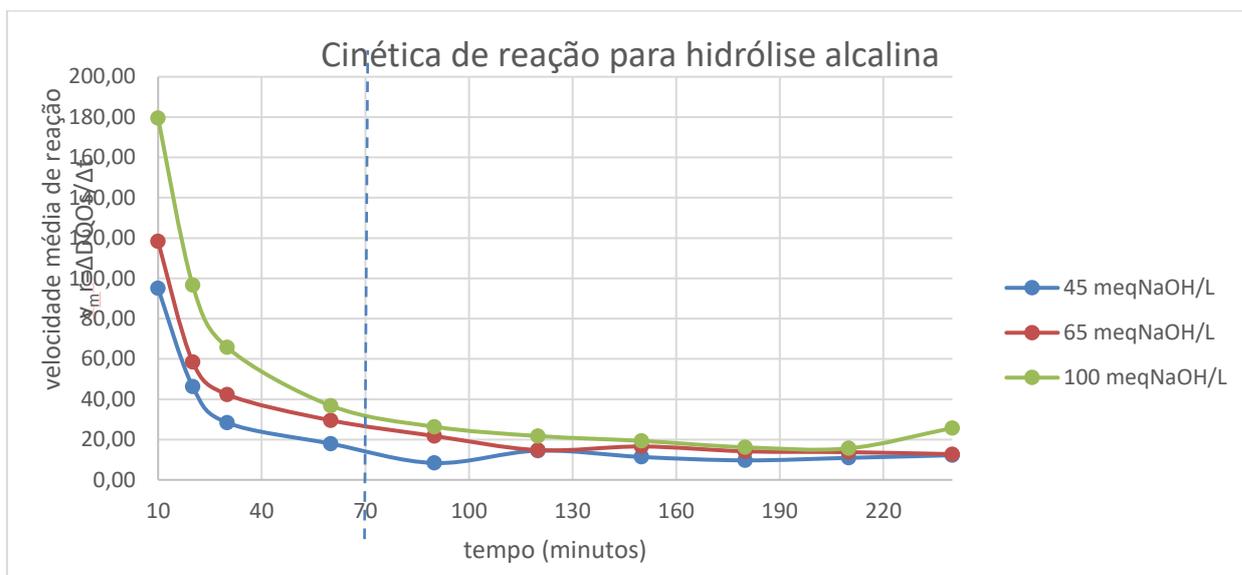


Segundo Passos *et al.* (2014), os primeiros estudos sobre hidrólise térmica de biomassa já afirmavam que o tempo de exposição tem efeito menos relevante do que a temperatura à qual a amostra é submetida durante o tratamento hidrolítico pela via térmica. De acordo com modelagem realizada em seu estudo, Chen e Oswald (1998) afirmaram que a temperatura escolhida é responsável por cerca de 50% da efetividade do pré-tratamentos hidrolítico sobre compostos orgânicos, enquanto os outros 50% são divididos entre tempo de exposição e concentração da biomassa. Outra evidência da importância da temperatura sobre o tempo de exposição na hidrólise térmica de biomassa pode ser observada na relação entre SSV/SV em diferentes temperaturas. A 55°C, observa-se um aumento de 4 vezes na relação de solubilização de sólidos voláteis, enquanto essa relação aumenta 10 vezes à temperatura de 70°C, e 12 vezes a 95°C (PASSOS, GARCIA e FERRER, 2013).

Desta forma, analisando o gráfico e tendo em vista os resultados de DQOs dos diferentes tratamentos hidrolíticos térmicos, bem como a estabilidade dos processos de tratamento, optou-se por utilizar apenas o tratamento com temperatura de 80°C para os ensaios de Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP). A temperatura de 70°C apresentou valores menores de solubilização de DQO, enquanto a temperatura 90°C exigia um monitoramento constante do volume evaporado visando evitar um aumento na concentração de sólidos da amostra, além de apresentar uma menor estabilidade de temperatura.

Por outro lado, a hidrólise alcalina apresentou uma maior velocidade de solubilização de matéria orgânica nos primeiros 40 minutos de ensaio, tendendo a se estabilizar após os 70 minutos (**Erro! Autoreferência de indicador não válida.**). Levando em consideração o tratamento hidrolítico alcalino e observando o gráfico gerado, observa-se que o pH 12 (100meqNaOH/L) apresentou maior velocidade de solubilização de matéria orgânica, atingindo também valores mais altos ao final de 240 minutos de tratamento.

Figura 23: Cinética de reação do processo de hidrólise alcalina

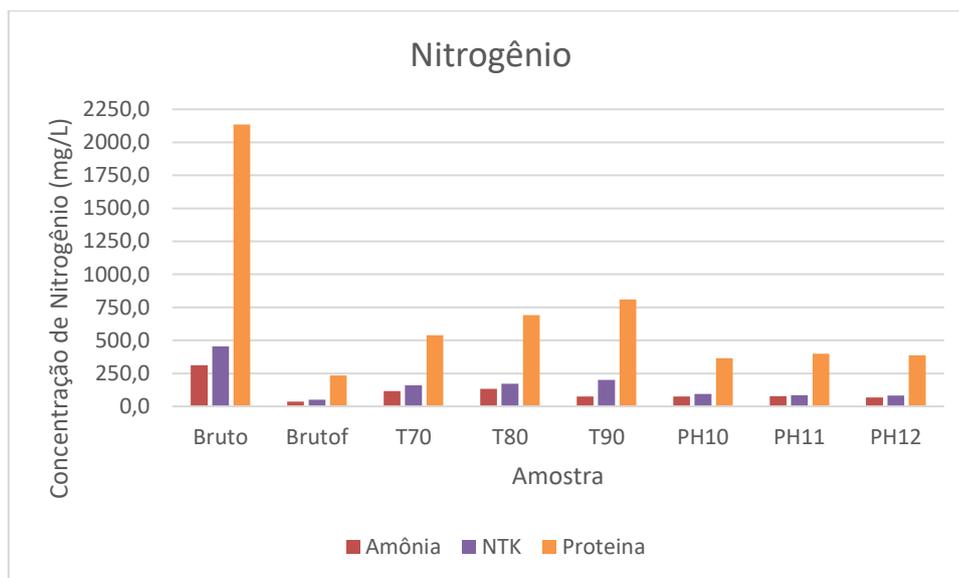


Apesar de ser menos aplicado e, por isso, apresentar menos estudos quando comparado aos pré-tratamentos térmico ou mecânico, o pré-tratamento químico alcalino é o muito aplicado em microalgas, geralmente associado ao tratamento térmico (hidrólise termo-alcalina) (PASSOS *et al.*, 2014). Bohutskyi *et al.* (2014) testou em seu estudo a produção de metano de 5 espécies de microalgas submetida a diferentes dosagens de NaOH. De acordo com seus resultados, o tratamento alcalino foi considerado não efetivo, enquanto o tratamento termo-alcalino foi capaz de aumentar a produção de metano em aproximadamente 35%.

#### 5.1.2. Fração Nitrogenada

A partir da análise dos valores de NTK na Tabela 13, observou-se um aumento de 30% da concentração na amostra bruta, através da solubilização de proteínas por meio dos tratamentos hidrolíticos (Figura 24).

Figura 24: Comportamento dos compostos nitrogenados durante os tratamentos hidrolíticos.



Acredita-se que o rompimento da parede celular ocasionou a solubilização do conteúdo intracelular, incrementando também a concentração de Nitrogênio, amônia, proteínas e carboidratos nas amostras hidrolisadas, quando comparada à amostra bruta filtrada. Ao observar as amostras coletadas à nível microscópico (dados não mostrados), percebeu-se que algumas células se apresentavam com a parede rompida.

A partir dos valores de proteínas encontrados na Tabela 13, pode-se comparar os resultados da amostra bruta e após os tratamentos hidrolíticos. Essa comparação permite perceber que o tratamento térmico ocasionou em um maior aumento da solubilização de proteínas na amostra. Acredita-se que as proteínas, assim como os lipídeos, apresentam um maior potencial de produção de metano, principalmente por conta das glicoproteínas presentes na parede celular, solubilizadas no processo de hidrólise (PASSOS *et al.*, 2014).

### 5.1.3. Carboidratos e lipídeos

Os tratamentos hidrolíticos ocasionaram a solubilização de carboidratos nas amostras tratadas, quando comparadas à amostra filtrada sem tratamento (Tabela 14).

Tabela 14: Variação da concentração de carboidratos durante os processos hidrolíticos.

<b>Amostra</b>	<b>Concentração (g/L)</b>	<b>% de aumento</b>
Biomassa sem tratamento	0,05	-
Hidrólise a 80°C	1,5	3.000
Hidrólise a pH12	1,6	3.200

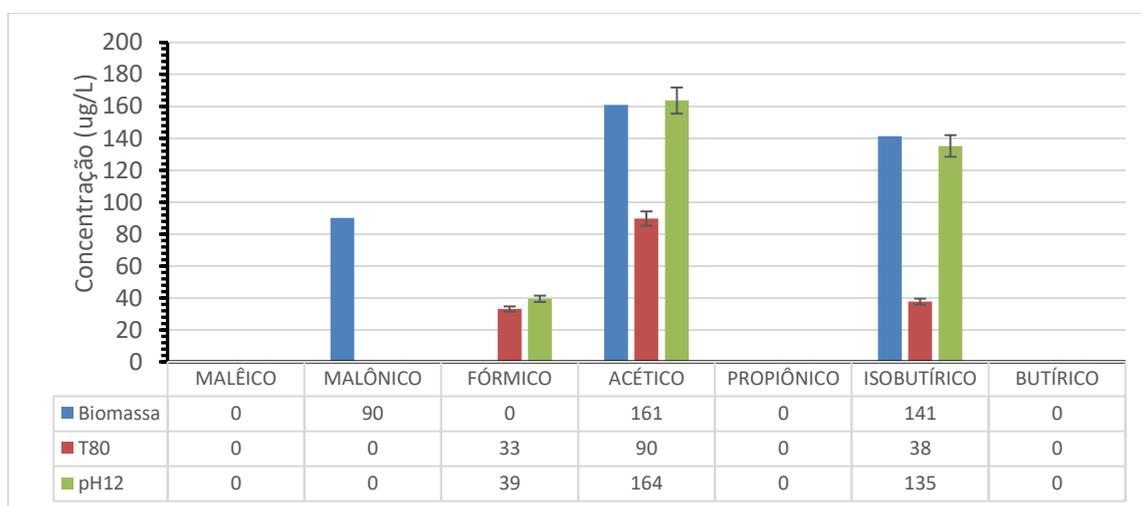
A celulose, principal componente da parede celular das microalgas, é uma molécula formada por diversos agrupamentos de monômeros (glicose). Esse composto de fórmula molecular  $(C_6H_{10}O_5)_n$  é rompido em compostos menores, como a glicose, durante o tratamento hidrolítico, ocasionando em um aumento da concentração de carboidratos na amostra (GONZÁLEZ-FERNANDÉZ *et al.*, 2012). Por serem moléculas menores, esses carboidratos se tornam mais biodisponíveis para os microrganismos anaeróbios. A glicose é um componente indispensável na etapa de acidogêneses, sendo acidificada pelas bactérias e convertida em ácido acético, posteriormente transformado em metano pelas *Archeas* metanogênicas.

As análises de lipídeos totais pelos métodos escolhidos nessa pesquisa não apresentaram resultados coerentes e, por isso, não foram utilizadas. Apesar disso, através da análise de cromatografia foi possível definir o comportamento das moléculas de ácidos orgânicos voláteis durante os tratamentos hidrolíticos.

#### 5.1.4. Ácidos Graxos Livres

Os tratamentos hidrolíticos ocasionaram em uma maior formação de Ácido Fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ), provavelmente originado da quebra do Ácido Malônico ( $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_4$ ) (Figura 25). A formação desses compostos favorece a produção de biogás, uma vez que por serem ácidos orgânicos formados por apenas um carbono, são facilmente absorvidos pelos microrganismos do consórcio de anaerobiose. O aumento na concentração de Ácido Acético e Isobutírico nos processos de hidrólise alcalina pode ser explicado pela formação de compostos desconhecidos a partir da inserção de uma base (NaOH) e consequente aumento do pH durante o tratamento (XIONG *et al.*, 2012).

Figura 25: Concentração de Ácidos Graxos Livres.



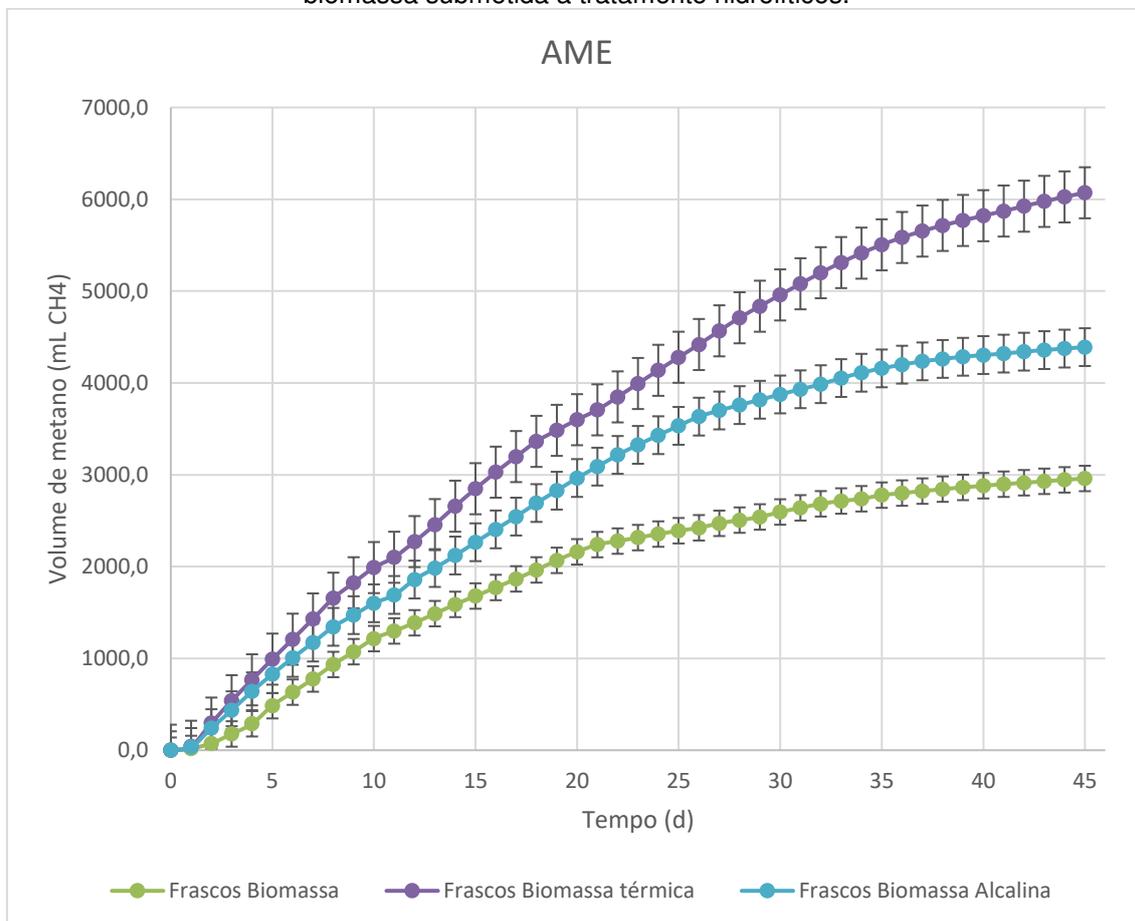
Observa-se também que a hidrólise térmica ocasionou uma diminuição geral da concentração de ácidos graxos livres. Tal comportamento pode ser atribuído ao fato de diversos ácidos orgânicos voláteis sofrerem volatilização a partir da temperatura de 60°C, inferior à temperatura do ensaio de hidrólise térmica realizado (80°C) (XIONG *et al.*, 2012).

## 5.2. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DE PRODUÇÃO DE METANO (BPM)

Comumente, as curvas cumulativas de produção de biogás se apresentam em formato de L invertido ou S, tendendo a assíntotas horizontais, representando a taxa máxima de produção de biometano por grama de SV do substrato a ser analisado. Ambos tipos de curva podem ser divididos em três fases: inicial,

intermediária e final, sendo a inclinação da sua tangente, em qualquer ponto específico, um indicativo da taxa de biometanização (ESPOSITO *et al.*, 2012).

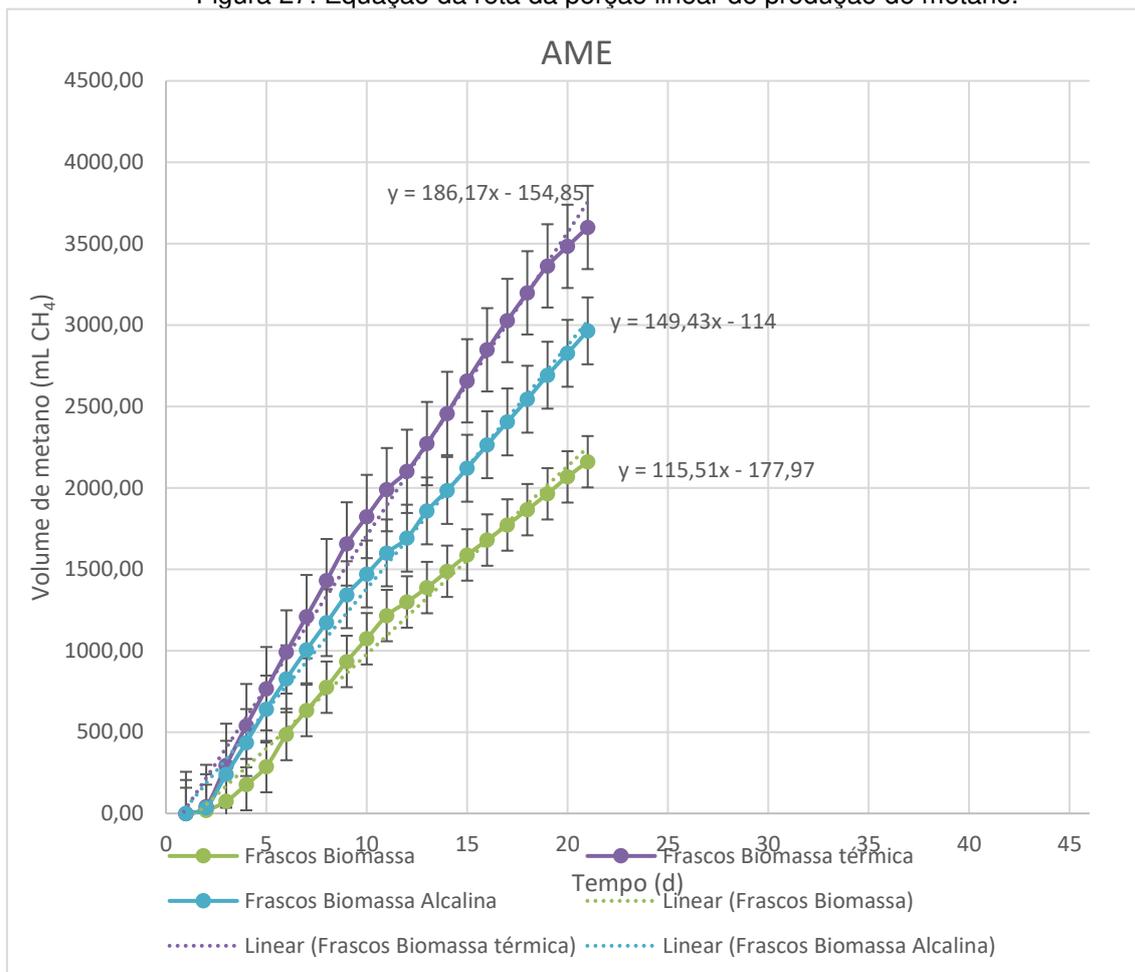
Figura 26: Gráfico cumulativo de Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP) da biomassa submetida a tratamento hidrolíticos.



A porção inicial da curva, compreendendo a produção de biogás nos primeiros 5 dias de ensaio, representa a etapa limitante do processo, uma vez que esta indica a fase de hidrólise ou desintegração, sendo a sua distância para o eixo Y, inversamente proporcional à biodegradabilidade da amostra (ESPOSITO *et al.*, 2012). Desta forma, pode-se observar que ambos tratamentos hidrolíticos testados apresentaram um aumento na biodegradabilidade da amostra, aproximando a porção inicial das curvas ao eixo Y do gráfico.

A partir da realização de uma regressão linear das curvas, encontrou-se as Equações da reta para cada um dos experimentos, segundo a Figura 27: *Equação da reta da porção linear de produção de metano.*

Figura 27: Equação da reta da porção linear de produção de metano.



Utilizando a Equação 3, e o valor da inclinação da reta (a) encontrado a partir da regressão linear das curvas apresentadas na Figura 27: *Equação da reta da porção linear de produção de metano*, pôde-se estimar o PMB para cada um dos substratos, durante a realização do ensaio (Tabela 15).

Tabela 15: Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP) da biomassa não hidrolisada e submetida a diferentes tratamentos hidrolíticos.

Substrato	PMB (gCH <sub>4</sub> -DQO/gVSS.d)	PMB (mLCH <sub>4</sub> /gVSS.d)	% de aumento na produção de metano
Biomassa não hidrolisada	0,679	271,78	-
Biomassa hidrolisada termicamente	1,095	438,04	61%
Biomassa hidrolisada pela via alcalina	0,879	351,60	29%

A biomassa submetida à hidrólise térmica de baixa temperatura (<100°C) apresentou melhores resultados no incremento da produção de biogás durante a duração do experimento. Enquanto a biomassa hidrolisada pela via alcalina

apresentou 29% de aumento, a biomassa hidrolisada termicamente atingiu 61% de aumento na produção de metano.

Diversos estudos apontaram as hidrólises térmica e mecânica como principais vias para incremento na produção de biogás. Chen e Oswald (1998) estudaram o efeito da ruptura da parede celular de microalgas através do incremento da temperatura, atingindo 100°C durante um período de 8h, sem alterações no pH e produzindo cerca de 33% mais biogás do que o controle negativo, sem tratamento. Contudo, existem registros dos mais diferentes efeitos da hidrólise térmica na produção de biogás nos mais diferentes substratos. O pré-tratamento de baixa temperatura em biomassa composta de *Scenedesmus* realizado por González-Fernández *et al.* (2012) apresentou um aumento pouco significativo à temperatura de 70°C (9-12%) e células aparentemente intactas, em microscopia. Porém, ao elevar a temperatura até valores mais próximos de 100°C, observou-se um aumento de 57% e 120%, nas temperaturas de 80 e 90°C, respectivamente.

Durante a revisão bibliográfica, encontrou-se diversos trabalhos abordando o efeito dos pré-tratamentos pela via térmica sobre biomassa composta por diversas espécies de algas, variando desde 13% de decréscimo (ALZATE *et al.*, 2012) até 108% (SCHWEDE *et al.*, 2013) e 220% (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012) de aumento. Ressalta-se que tamanha variação na produção de metano se deve, principalmente a dois fatores principais: a composição macromolecular e as características da parede celular das diferentes espécies de microalgas, uma vez que diferentes compostos orgânicos apresentam diferentes potenciais de produção de metano (PASSOS *et al.*, 2014). Segundo a conversão estequiométrica teórica, os lipídeos apresentam maior potencial de produção de metano (1,014L/gSV), seguidos pelas proteínas (0,496L/gSV) e por fim, carboidratos (0,415L/gSV) (SIALVE *et al.*, 2009).

Avaliando a concentração de carboidratos e comparando à concentração de sólidos suspensos voláteis da amostra coletada para essa pesquisa, observou-se que cerca de 45% da massa de sólidos suspensos voláteis correspondia à carboidratos. Utilizando apenas os dados da concentração de DQO da amostra e a produção de biogás, percebeu-se que a amostra produziu 0,166LCH<sub>4</sub>/gDQO. Segundo Markou *et al.* (2013), a concentração de carboidratos está diretamente

relacionada à produção de metano. Em seu estudo, foram realizados experimentos utilizando uma cultura de cianobactérias enriquecidas com carboidratos. Observou-se que quando a proporção de carboidratos estava acima de 60% de massa, a digestão anaeróbia apresentou uma produção de 0,203L CH<sub>4</sub>/g DQO. Em contrapartida, quando a amostra apresentava apenas 20% de carboidratos, a produção de metano era equivalente a 0,123 L CH<sub>4</sub>/g DQO.

Analisando os dados apresentados na Tabela 13 e conforme discutido no capítulo 5.1., apesar de apresentar maior grau de solubilização de DQO, o tratamento hidrolítico pela via alcalina ocasionou em menor produção de metano durante os ensaios de BMP. Esses resultados confirmam a lacuna na correlação entre o grau solubilização de matéria orgânica e a produção de biogás durante a digestão anaeróbia (ALZATE *et al.*, 2012). Tal resultado pode ser atribuído ao diferente teor de solubilização de carboidratos, lipídeos e compostos nitrogenados durante os pré-tratamentos hidrolíticos. Acredita-se então que a hidrólise térmica tenha apresentado maior solubilização de lipídeos e proteínas, quando compara à hidrólise alcalina. A Tabela 16 apresenta a produção teórica de metano para cada componente.

Tabela 16: Produção teórica de alguns componentes celulares.

<b>Componente</b>	<b>Composição</b>	<b>gDQO/gSV</b>	<b>LCH<sub>4</sub>/gSV</b>
Carboidratos	(C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>n</sub>	1,19	0,415
Proteínas	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	1,42	0,496
Lipídeos	C <sub>57</sub> H <sub>104</sub> O <sub>6</sub>	2,90	1,014
Acetato	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	1,07	0,373

Adaptado de: Angelidaki e Sanders (2004).

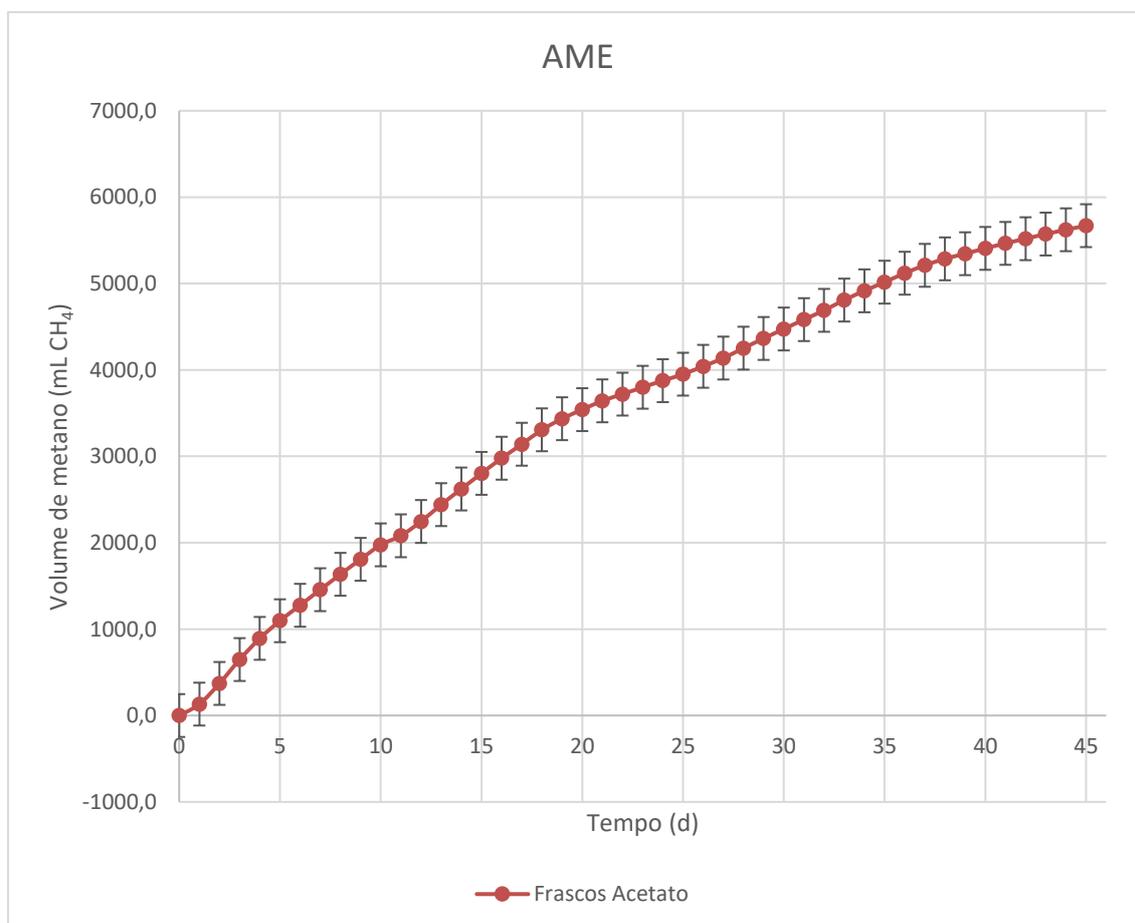
Para Akiya e Savage (2002), tal comportamento pode ser atribuído ao mecanismo de aquecimento-pressurização-descompressão celular ocasionado pelo tratamento térmico. Em elevadas temperaturas, os íons hidrogênio e hidroxila presentes na água facilitam as reações catalisadas por ácidos e bases, promovendo assim, uma maior degradação de diversos compostos orgânicos. Apesar de apresentar maior solubilização de matéria orgânica, a hidrólise química forma produtos potencialmente prejudiciais para o processo de digestão

anaeróbia. As pequenas quantidades de álcali remanescente na biomassa após o tratamento hidrolítico pela via química podem auxiliar na prevenção de uma eventual redução do pH durante a etapa de acidogênese, porém alguns compostos solubilizados podem induzir a formação de subprodutos tóxicos durante a metanogênese (PASSOS *et al.*, 2014).

### 5.3. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE METANO DO LODO ANAERÓBIO

Apesar de não ter atingido a assíntota horizontal, utilizando o acetato como substrato, observou-se uma produção cumulativa de 5,6L em 45 dias de ensaio (Figura 28). Utilizando-se a inclinação da equação da reta produzida pelo gráfico para cálculo da AME segundo a Equação 3, encontrou-se o valor de produção diária de metano de 0,872gDQOCH<sub>4</sub>/gSVd ou 384,94mlCH<sub>4</sub>/gSV.d.

Figura 28: Potencial de Produção de Metano do inóculo.



Segundo a revisão realizada por Hussain e Dubey (2015), os valores médios de AME de lodo anaeróbico, utilizando acetato como substrato variam na faixa de 0,1-1gDQO/gSV.d. Tamaña variação está relacionada ao tipo de lodo utilizado como inóculo, qualidade da solução de acetato utilizada como substrato e parâmetros operacionais do ensaio, como temperatura, agitação e métodos de medição (SOTO *et al.*, 1993; JAWED e TARE, 1999). Alguns dos resultados compilados em seu artigo de revisão estão dispostos na Tabela 17.

Tabela 17: Potencial de Produção de Metano (PPM) de lodo anaeróbio.

<b>AME</b>	<b>Referência</b>
0,872gDQOCH <sub>4</sub> /gSV.d	Esta pesquisa
0,975 gDQO/gSV.d	SOTO <i>et al.</i> , 1993
0,635-0,887gDQO/gSV.d	JAWED e TARE, 1999
0,246gDQO/g SV.d	PUNAL <i>et al.</i> , 2000
0,01-0,04gDQOCH <sub>4</sub> /gSV.d	HAANDEL <i>et al.</i> , 1994

Fonte: Adaptado de Hussain e Dubey (2015).

De acordo com Angelidaki *et al.* (2007) e Auino *et al.* (2007), as soluções de sais de acetato podem ser consideradas como melhor substrato para avaliação do potencial máximo de produção de metano das *Archeas* metanogênicas. Os ácidos orgânicos pequenos, como o ácido acético ou o ácido propiônico, são prontamente absorvidos e digeridos pelos microrganismos finais da cadeia de digestão anaeróbia. Por apresentarem pequeno tamanho molecular, esses ácidos são facilmente transportados através das membranas celulares e quebrados no processo de metanogênese.

Conforme demonstrado no tópico 3.3., o consórcio microbiano responsável pela digestão anaeróbia é composto por bactérias e *Archea* que ocupam diversos níveis tróficos no processo. Os microrganismos conhecidos como acetoclásticos são responsáveis pela etapa de acetogênese, que consiste no consumo de acetato visando a produção de metano (metanogênese). Esses organismos também são chamados de metanogênicos não oxidantes de hidrogênio (JAWED e TARE, 1999). Ressalta-se, porém, que, para um completo monitoramento da composição do inóculo do lodo, o potencial de produção de metano é avaliado através de ensaios sobre condições ótimas operacionais e substrato ilimitado.

Os resultados dos ensaios realizados nesta pesquisa se assemelham aos dados encontrados por van Haandel e Lettinga (1994), sendo o único dos estudos consultados a utilizar a concentração de DQO específica em gás metano.

Em seu estudo, Ince *et. al* (2001), testaram a produção de metano a partir de quatro diferentes concentrações de acetato, obtendo produção de 167mlCH<sub>4</sub>/gSSV.d, 177mlCH<sub>4</sub>/gSSV.d, 180mlCH<sub>4</sub>/gSSV.d e 152,mlCH<sub>4</sub>/gSSV.d nas concentrações de 500mg/L, 1000mg/L, 1500mg/L e 2000mg/L, respectivamente. Vale ressaltar que os ensaios da pesquisa em questão duraram no máximo 90 horas, apresentando uma queda na produção de metano após 60 horas de duração (2000mg/L). O autor indica que um acúmulo de ácidos graxos voláteis pode ter ocasionado uma queda no pH, nos ensaios acima de 1500mg/L.

É importante observar a relação entre a produção de metano e a o potencial de produção acetoclástica. Se a relação entre a produção de metano e o potencial de produção acetoclástica se aproxima de 1, isso pode indicar uma ineficiente remoção de DQO e, conseqüentemente, uma instabilidade do sistema, estando esta completamente dependendo dos níveis de alcalinidade dentro do reator (MONTEGGIA, 1991). A partir dos resultados encontrados nos ensaios de Potencial Biológico de Produção de Metano (BMP) no tópico 5.2. e os resultados dos ensaios de Potencial de Produção de Metano (PPM) dos microrganismos acetoclásticos neste tópico, encontrou-se a seguinte relação AME/PPM para os diferentes substratos utilizados Tabela 18: *Relação BMP/PPM para os três substratos utilizados nessa pesquisa.*

Tabela 18: Relação BMP/PPM para os três substratos utilizados nessa pesquisa.

<b>Substrato</b>	<b>gDQOCH<sub>4</sub>/gSV.d</b>	<b>BMP/PPM</b>
Acetato	0,872	-
Biomassa	0,679	0,77
Biomassa hidrolisada termicamente	1,095	1,25
Biomassa hidrolisada pela via alcalina	0,879	1,00

A partir dos resultados apresentados na Tabela 18 e da afirmação realizada por Monteggia (1991), acredita-se que para uma eficiente produção de metano a partir da digestão anaeróbia de microalgas hidrolisadas pela via térmica, é necessária uma seleção de um inóculo rico em microrganismos acetoclásticos, evitando assim uma instabilidade do sistema e assegurando uma eficiente

remoção de DQO. A seleção de um inóculo apropriado é de suma importância na partida de um reator anaeróbio, podendo ser esse o principal responsável por instabilidades nos períodos iniciais de operação (ANGELIDAKI *et al.*, 2007). A fim de evitar a ineficiente remoção de matéria orgânica e assegurar a estabilidade dos reatores durante sua operação, recomenda-se a realização de diversos ensaios de potencial de produção de metano pelos microrganismos acetoclásticos, visando caracterizar e selecionar o lodo a ser inoculado durante o processo de início de operação de reatores anaeróbios.

#### 5.4. BALANÇO DE MASSA E ENERGIA

Para realização do balanço de massa e energia dessa pesquisa, utilizou-se os dados de parâmetros de entrada do UASB monitorado na Estação Piloto instalada na Estação de Tratamento de Esgoto operada pela CESAN, localizada em Araçás. Os dados fixos de projeto do reator estão dispostos na Tabela 19 e as médias dos parâmetros monitorados são apresentadas na

Tabela 20.

Tabela 19: Dados fixos de projeto do reator UASB da Estação Piloto.

Área (m <sup>2</sup> )	Altura (m)	Volume (m <sup>3</sup> )	Vazão média (L/s)	TDH (h)
0,785	4,8	3,78	0,14	7,5

Tabela 20: Valores afluentes no reator UASB da Estação Piloto.

Vazão (L/H)	TDH (h)	DQO (mg/L)	COV (kg/m <sup>3</sup> .d)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	ST (mg/L)	SV (mg/L)	NTK (mg/L)	P (mg/L)
0,091	21	490,69	0,72	163,90	137,21	1048,93	596,21	54,56	5,97

A partir da metodologia descrita no capítulo 4.3., definiu-se então o Balanço de Massa em um reator UASB e em uma Lagoa de Alta Taxa, a fim de determinar a produção de biogás a partir da codigestão anaeróbia das microalgas cultivadas. A partir da vazão de biogás, determinou-se a Disponibilidade Energética e o EROI da associação UASB + LAT. Para os cálculos, utilizou-se os dados apresentados nas Tabela 19 e

Tabela 20 e, quando ausentes, estimou-se os valores a partir dos valores encontrados na literatura. Para os dados referentes à produção de biogás e metano, utilizou-se os resultados obtidos nos ensaios de potencial de produção de metano, tanto biológico, quanto máximo (acetato).

##### 5.4.1. Balanço de Massa em um reator UASB

A partir das equações descritas no capítulo 4.3.1., os valores encontrados no balanço de massa do reator UASB localizado na ETE Araçás estão dispostos na Tabela 21: *Balanço de massa do reator UASB piloto localizado na ETE Araçás.:*

Tabela 21: Balanço de massa do reator UASB piloto localizado na ETE Araçás.

Parâmetro	Valor
Carga Hidráulica Volumétrica (CHV)	3,2m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> .d
Tempo de Detenção Hidráulica (TDH)	0,31dias
Carga Orgânica Volumétrica (COV)	1,57KgDQO/m <sup>3</sup> .d
Eficiência de remoção de DQO (E <sub>DQO</sub> )	51,88%
Eficiência de remoção de DBO (E <sub>DBO</sub> )	78,46%
Concentração de DQO no efluente (S <sub>DQO</sub> ) – medido	201,395mg/L
Concentração de DBO no efluente (S <sub>DBO</sub> ) – medido	64,62mg/L
Concentração de Sólidos Suspensos no efluente (SS) – medido	42,69mg/L
Coeficiente de produção de lodo em DQO (Y <sub>lodo</sub> )	0,21
Produção de lodo no reator UASB (P <sub>lodo</sub> )	0,8KgSST/d
Produção volumétrica de lodo (V <sub>lodo</sub> )	0,03m <sup>3</sup> /d
Carga de Metano (DQO <sub>CH4</sub> )	2,49KgDQOCH <sub>4</sub> /d
Fator de correção da temperatura (K(t))	2,63KgDQOCH <sub>4</sub> /m <sup>3</sup>
Produção volumétrica de metano (Q <sub>CH4</sub> )	15,84L/hab.d
Perda de metano no reator UASB (P)	0,33m <sup>3</sup> /d
Produção corrigida de biogás (Q <sub>biogás</sub> )	14,71L/hab.d
Concentração de nitrogênio no efluente (N <sub>UASB</sub> )	54,56mg/L
Concentração de fósforo no efluente (P <sub>UASB</sub> )	5,97mg/L

Observa-se que a Eficiência de Remoção de DQO encontrada no reator UASB localizado na Estação Piloto da ETE Araçás, apesar de relativamente baixa (51,88%), está adequada àquela prevista para reatores UASB de acordo com a literatura (40 a 70% de eficiência de remoção) (GONÇALVES, 1998; VON SPERLING, 2005). Observa-se que a concentração de Nitrogênio e Fósforo no efluente final do reator UASB apresenta valores ainda elevados. É sabido que reatores anaeróbios apresentam baixa remoção de Nitrogênio e Fósforo,

demandando um polimento desse efluente antes do lançamento em corpos hídricos (CHERNICCHARO *et al.*, 2007; GONÇALVES, 2008; SAWAYAMA *et al.*, 1998; GEDDES, 1984; PRASED, 1982).

A produção estimada de biogás no reator UASB da ETE Araçás apresentou valores moderadamente inferiores aos encontrados na modelagem e revisão bibliográfica realizada por Azeredo (2016). Diversos autores encontraram valores semelhantes de produção de biogás em reatores UASB tratando esgoto sanitário (Tabela 22: *Produção de biogás e metano em reatores UASB*).

Tabela 22: Produção de biogás e metano em reatores UASB.

<b>Produção de biogás L/hab.d</b>	<b>Produção de metano L/hab.d</b>	<b>Referência</b>
35,9	25,13	VERONEZ e GONÇALVES, 2002
17,9	12,5	METCALF e EDDY, 2003
20,8	14,56	AZEREDO, 2016
14,71	10,29	Essa pesquisa

#### 5.4.2. Balanço de Massa em uma Lagoa de Alta Taxa

A fim de determinar a produção total diária de biomassa algácea na Lagoa de Alta Taxa, realizou-se um balanço de massa de acordo com metodologia proposta no capítulo 4.3.2. Considerando que toda a luz incidente sobre a lagoa é absorvida e convertida durante a fotossíntese das microalgas, encontrou-se um valor de produção de biomassa algácea de 21g/m<sup>2</sup>.d. Estimando a área da lagoa de acordo com a população atendida, encontrou-se o valor de 86,4m<sup>2</sup> de área total da Lagoa de Alta Taxa. Utilizando a Produção de biomassa Algácea e a área total da lagoa, calculou-se a produção total diária de biomassa como sendo 1,8Kg/d (Tabela 23).

Tabela 23: Balanço de Massa em uma Lagoa de Alta Taxa.

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>
Produção de biomassa Algácea (Pba)	21g/m <sup>2</sup> .d
Demanda de área per capita (Apc)	1,44m <sup>2</sup> /hab
Produção de biomassa per capita (Ppc)	30,2g/hab.d
Área total da lagoa de alta taxa (At)	86,40m <sup>2</sup>

Produção total diária de biomassa algácea (Pt)	1,8Kg/d
--	---------

Diversos autores encontraram produções ainda mais elevadas de microalgas em seus estudos, podendo atingir até 27g/m<sup>2</sup>.d, em reatores de biofilme (OZKAN *et al.*, 2012) e 35g/m<sup>2</sup>.d em lagoas de alta taxa (JONKER e FAAIJ, 2013). Considerando esses valores de produção e a mesma área total da lagoa, acredita-se ser possível atingir uma produção total diária de até 2,3kg/d e 2,6kg/d, respectivamente.

#### 5.4.3. Balanço de Energia do Sistema

Segundo os resultados dessa pesquisa, apresentados no tópico 5.2., a digestão anaeróbia de microalgas é capaz de produzir de 0,271LCH<sub>4</sub>/gSV.d (biomassa sem tratamento) até 0,438LCH<sub>4</sub>/gSV.d (biomassa submetida à hidrólise térmica). A partir da produção de metano por grama de sólidos voláteis, calculou-se a produção de metano por habitante e a Disponibilidade Energética do Sistema (DIE) (Tabela 24:Disponibilidade Energética do Sistema de acordo com a biomassa utilizada.).

Tabela 24:Disponibilidade Energética do Sistema de acordo com a biomassa utilizada.

<b>Tipo de biomassa</b>	<b>Relação metano/SV (LCH<sub>4</sub>/gSV)</b>	<b>Produção de metano (L/hab.d)</b>	<b>DIE (Wh/hab)</b>
Biomassa sem tratamento	0,271	4,12	13,33
Hidrolisada pela via térmica	0,438	5,94	14,05
Hidrolisada pela via alcalina	0,351	5,02	13,69

A partir da disponibilidade energética do sistema e considerando uma eficiência de conversão de biogás em energia de 30%, calculou-se a produção de energia por habitante como sendo 3,99Wh/hab, 4,21Wh/hab e 4,11Wh/hab para a biomassa sem tratamento, hidrolisada pela via térmica e pela via alcalina, respectivamente.

Utilizando os dados descritos por Craggs (2005), considerou-se que o rotor da lagoa de alta taxa apresenta um consumo de  $0,57\text{kWh/KgDQO}_{\text{tratada}}$ , dessa forma, considerando as cargas de DQO na lagoa, estimou-se a Demanda Energética (DEE) do rotor da LAT como  $0,77\text{W/hab}$  ( $0,12\text{kWh/m}^3$ ).

O potencial energético da associação de microalgas ao sistema determinado a partir da DIE, considerando a eficiência de conversão ( $3,99\text{W/hab}$  em biogás) em relação a DEE, mostra que da energia disponível no sistema, apenas  $19,29\%$  são utilizados pelo rotor, o que representa um saldo positivo de  $3,22\text{W/hab}$  ( $80,70\%$  da energia produzida na forma de biogás) sem tratamento hidrolítico. Quando considerados os pré-tratamentos, esse saldo chega a  $3,4\text{W/hab}$  ( $81,71\%$  da energia produzida) para biomassa hidrolisada pela via térmica, e  $3,34\text{W/hab}$  ( $81,26\%$  da energia produzida) para a biomassa hidrolisada pela via alcalina.

Após a determinação da DIE e da DEE, utilizou-se ambos valores para cálculo da Energia de Retorno sobre o Investimento (EROI). Para a digestão anaeróbia de biomassa sem tratamento, encontrou-se um EROI de  $5,2$ , enquanto para a biomassa hidrolisada pela via térmica, atingiu-se um EROI de  $5,5$  e para a biomassa hidrolisada pela via alcalina,  $5,4$ . Um EROI acima de  $1,0$  indica uma capacidade do sistema de produzir mais energia do que consome, indicando que a produção de microalgas em Lagoas de Alta Taxa (LAT) e posterior digestão anaeróbia em reator UASB é superavitária do ponto de vista energético.

Esses valores indicam o sistema de digestão anaeróbia de microalgas produzidas em Lagoas de Alta Taxa como o mais econômico do ponto de vista energético, quando comparado às demais formas de cultivo. O cultivo de microalgas a partir de Lagoas de Alta Taxa comumente apresenta valores de balanço energético (*net energy ratio*) inferiores a  $1,0$ , indicando assim que a energia utilizada para cultivo, coleta e secagem de microalgas é menor do que a energia contida na biomassa seca, caracterizando essa associação como superavitária (SLADE e BAUEN, 2013). Os fotobiorreatores, por exemplo, podem apresentar valores de  $1,2$  (fotobiorreatores de placa plana) até  $6,0$  (fotobiorreatores tubulares) (JORQUERA *et al.*, 2010).

## 6. CONCLUSÃO

A biomassa de microalgas atingiu, após adensamento, uma concentração média de 3,5% em teor de sólidos e 36,6g/L em concentração de DQO. O tratamento hidrolítico pela via alcalina ocasionou em uma maior solubilização de DQO e carboidratos, enquanto o tratamento pela via térmica apresentou maior solubilização de Nitrogênio Total de Kjeldahl, Nitrogênio amoniacal e proteínas.

Conforme esperado, a biomassa de microalgas submetida ao tratamento hidrolítico pela via térmica apresentou uma maior produção de metano, quando compara à biomassa hidrolisada pela via alcalina e à biomassa sem tratamento. O tratamento térmico promoveu um aumento de 61% na produção de metano, enquanto o tratamento alcalino apresentou um aumento de 29%. A biomassa hidrolisada pela via térmica apresentou um Potencial Metanogênico da Biomassa (PMB) de 1,095gDQOCH<sub>4</sub>/gSSV.d e a biomassa hidrolisada pela via alcalina apresentou 0,879gDQOCH<sub>4</sub>/gSSV.d. A biomassa sem pré-tratamento apresentou uma AME de 0,679gDQOCH<sub>4</sub>/gSSV.d.

Tamanha diferença nos valores de PBM para os diferentes tratamentos pode ser explicada a partir da solubilização de compostos orgânicos. Apesar de apresentar maiores graus de solubilização de DQO, o tratamento pela via alcalina apresentou uma menor solubilização de proteínas, carboidratos e lipídeos quando compara à hidrólise alcalina. Durante a hidrólise térmica, esses três compostos diretamente relacionados à produção de biogás durante a digestão anaeróbia se encontraram em maior grau de solubilização, estando assim mais biodisponíveis para os microrganismos responsáveis pela produção de biogás.

A partir dos valores de produção volumétrica de metano, as três biomassas apresentaram um EROI superior a 1,0, indicando que a digestão anaeróbia de qualquer um dos três substratos é superavitário em energia. A biomassa sem hidrólise apresentou EROI de 5,2, enquanto a biomassa hidrolisada pela via térmica e pela via alcalina apresentaram EROI de 5,5 e 5,4, respectivamente.

## **7. RECOMENDAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS**

Recomenda-se mais ensaios de caracterização de níveis tróficos do lodo coletado de UASB, principalmente das bactérias acidogênicas e hidrolíticas. Ademais, recomenda-se testar também a biodegradabilidade endógena do lodo coletado de diferentes alturas, principalmente manta e leito.

Por fim, recomenda-se o detalhamento do balanço de massa e energia, principalmente no que tange o reator anaeróbio e todas as etapas anteriores à lagoa de alta taxa, considerando a injeção de CO<sub>2</sub>.

## 8. REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A.A.; IBRAHEEM, I.B.M. Microalgae and Wastewater Treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.19, 257-275, 2012.
- AIYUK, S.; FORREZ, I.; LIEVEN, D.K.; van HAANDEL, A.; Verstraete, W. Anaerobic and complementary treatment of domestic sewage in regions with hot climates – A review. **Bioresource technology**, v.97(17), 2225-2241, 2006.
- AKIYA, N.; SAVAGE, P. Roles of water for chemical reactions in high temperature water. **Chem. Rev.**, v.102, 2725-2750, 2002.
- ALZATE, M.E.; MUÑOZ, R.; ROGALLA, F.; FDZ-POLANCA, F.; PÉREZ-ELVIRA, S.I. Biochemical methane of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass and pretreatment. **Bioresource technology**, v.123, 488-494, 2012.
- ANGELIDAKI, I., ALVES, M., BOLZONELLA, D., BORZACCONI, L., CAMPOS, L., GUWY, A., KALYUZHNUI, S.; VAN LIER, J. **Anaerobic biodegradation, activity and inhibition (abai) task group meeting 9th to 10th october 2006, in prague**. Institute of Environment & Resources, Technical University of Denmark, 2007.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, American Public Health Association, Washington, DC, 2012.
- AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A.L; FORESTI, E.; DOS SANTOS, M.L.F.; MONTEGGIA, L.O. Metodologias para determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em Lodos Anaeróbios. **Eng. Sanit. Ambient.**, v.12(2), 192-201, 2007.
- ARAVANTINO, A.F.; THEODORAKOPOULOS, M.A.; MANARIOTIS, I.D. Selection of microalgae for wastewater treatment and potential lipids production. **Bioresource Technology**, v.147, 130-134, 2013.
- ASLAN, S; KAPDAN, I.K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**, v.28, 64-70, 2006.
- AZEREDO, L. **Potencial Energético de uma estação de tratamento de esgoto**

**sanitário dotada de um reator anaeróbio do tipo UASB, uma lagoa de alta taxa e um processo de separação e reciclagem da biomassa algácea.** 2016. 88f., Dissertação de mestrado profissional em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável – Universidade Federal do Espírito Santo.

BACCONI, D.F. Exigência nutricional de vitamina a para alevinos de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. Dissertação de mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2003.

BECKER, E.W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, v.25, 207–210, 2007.

BENEMANN, J. Microalgae for Biofuels and Animal Feeds. **Energies**, v.6, 5869-5886, 2013.

BENEMANN, J.R.; OSWALD, W.J. **Systems and economic analysis of microalgae ponds for conversion of CO<sub>2</sub> to biomass.** Relatório Final, 1996.

BENEMANN, J.R.; WEISSMAN, J.C.; KOOPMAN, B.L.; OSWALD, W.J. Energy production by microbial photosynthesis. **Nature**, v.268, 19-23, 1977.

BOHUTSKYI, P.; BETENBAUGH, M.J. BOUWER, E.J. The effects of alternative pretreatment strategies on anaerobic digestion and methane production from different algal strains. **Biores. Technol.**, v.155, 366-372, 2014.

BOROWITZKA, M.A., 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **J. Biotechnol.** v.70, 313–321.

BRODIE, J.; ZUCCARELLO, G.C. Systematics of the Species-rich Algae: Red Algal Classification, Phylogeny and Speciation, **CRC Press–Taylor e Francis**, 2007.

BROWN, M.R., JEFFREY, S.W., VOLKMAN, J.K., DUNSTAN, G.A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, v.151, 315-331, 1997.

BUHRER, H. Light within algal cultures; Implications from light intensities with lens. **Aquatic Sciences**, v.62, 91-103, 2000.

BUXY, S.; DILTZ, R.; PULLAMMANAPPALLIL, P. Biogasification of marine algae *Nannochloropsis oculata*. **Ceram. Trans.**, v.239, 56-67, 2013.

CAMPOS, J.R. (Coord.) **Tratamento de esgotos sanitários por processo**

**anaeróbio e disposição controlada no solo.** Rio de Janeiro, ABES, 1999, 464p.

CHELLAPANDI, P.; PRABAHARAN, D.; UMA, L. Evaluation of Methanogenic Activity of Biogas Plant Slurry for Monitoring Codigestion of Ossein Factory Wastes and Cyanobacterial Biomass. **Appl. Biochem Biotechnol**, v.162 (2), 524-535, 2010.

CHEN, P.H.; OSWALD, W.J. Thermochemical treatment for algal fermentation. **Environ. Int.**, v.24, 889-897, 1998.

CHEN, C.Y.; ZHAO, X.Q.; YEN, H.W.; HO, S.H.; CHENG, C.L.; LEE, D.J.; BAI, F.W.; CHANG, J.S. Microalgae –based carbohydrates for biodiesel production. **Biochemical Engineering Journal**, v.78, 1-10, 2013.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores anaeróbios.** 2. Ed., Belo Horizonte, UFMG, 2007, 380p.

CHO, S.; LUON, T.T.; LEE, D.; OH, Y.K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**, v.102, 8639-8645, 2011.

CHU, C.P., LEE, D.J., CHANG, B.V., YOU, C.S., TAY, J.H. “Weak” ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids. **Water Res.** v.36, 2681–2688, 2002.

CRAGGS, R.J.; HEUBECK, S.; LUNDQUIST, T.J.; BENEMMAN, J.R. Algal biofuels from wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Science e Technology**, v.63, 660-665, 2011.

CRAGGS, R.J.; SUTHERLAND, D.; CAMPBELL, H. Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. **J. Appl. Phycol.**, v.24, 329-337, 2012.

CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R.P.S.; TORRES, B.R.; LODI, A.; ZILLI, M. Biogas production and valorization by means of a two-step biological process. **Bioresource Technology**, v.100(23), 5771-5776, 2009.

COOKE, M.B.; THACKSTON, E.L.; MALANEY, G.W. Reduction of coliform and Salmonella bacteria during anaerobic digestion. **Water Sew Works**, 50-54, 1978.

De-BASHAN, L.E.; BASHAN, Y. Recent advances in removing phosphorus from wastewater and its future use as fertilizer. **Water Res.**, v.38, 4222-4246, 2004.

De-SCHAMPHELAIRE, L.; VERSTRAETE, W. Revival of the biological sunlight-to-biogas energy conversion system. **Biotechnol. Bioeng.**, v.103(2), 296-304, 2009.

DEMIRBAS, A. Biofuels securing the planet's future energy needs. **Energy Convers. Manag.** v.50, 2239–2249, 2009.

DOLFING, J.; BLOEMEN, W.G.B.M. Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. **Journal of Microbiological Methods**, v.4, 1-12, 1985.

ESPOSITO, G.; FRUNZO, L.; LIOTTA, F.; PANICO, A.; PIROZZI, F. Bio-Methane Potential Tests To Measure The Biogas Production From The Digestion and Co-Digestion of Complex Organic Substrates. **The Open Environmental Engineering Journal**, v.5, 1-8, 2012.

FEDOROFF, N.V.; COHEN, J.E. Plants and population: Is there Time? **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, v.96(11), 5903-5907, 1999.

FERRANTE, M.; CONTI, G.O.; FIORE, M.; RAPISARDA, V.; LEDDA, C. Harmful algal blooms in the Mediterranean Sea: effects on human health. **Euromediterranean Biomedical Journal**, v.8(6), 25-34, 2013.

FRIGON, J.C.; MATTEAU-LEBRUN, F.; ABDOU, R.H.; MCGINN, P.J.; O'LEARY, S.J.B.; GUIOT, S.R. Screening microalgae strains for their productivity in methane following anaerobic digestion. **Applied Energy**, v.108, 100-107, 2013.

GEDDES, M.C. Limnology of lake Alexandrina River, Murray, South Australia and the effects of nutrients and light on the phytoplankton. **Aust. J. Mar. Fresh Water Res.**, v.35(4), 399-416, 1984.

GOLUEKE, C.G., OSWALD, W.J., GOTAAS, H.B. Anaerobic digestion of algae. **Appl. Microbiol.**, v.5(1), 47–55, 1957.

GONÇALVES, E.A.P. **Caracterização da Comunidade Fitoplanctônica e Fatores Ambientais Correlacionados em Lagoa de Estabilização.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Programa de

Pós-Graduação em Engenharia Civil, Pernambuco, 2008.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; SIALVE, B.; BERNET, N.; STEYER, J.P. Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part 2: Focus on biomethane production, **Biofuels, Bioprod. Biorefin.**, vol.6(2), 205-218, 2011.

GONZALEZ-FERNANDEZ, C.; SIALVE, B.; BERNET, N.; STEYER, J.P. Thermal pretreatment to improve methane production of *Scenedesmus* biomass. **Biomass and Bioenergy**, v.40, 105-111, 2012a.

GONZALEZ-FERNANDEZ, C.; SIALVE, B.; BERNET, N.; STEYERS, J.P. Comparison of ultrasound and thermal pretreatment of *Scenedesmus* biomass on methane production. **Bioresource Technology**, v.110, 610-616, 2012b.

GUIL-GUERRERO, J. L., NAVARRO-JUÁREZ, R., LÓPEZ-MARTÍNEZ, J. C., CAMPRA-MADRID, P., REBOLLOSO-FUENTES, M.M. Functional properties of the biomass of three microalgal species. **J. Food Eng.**, v.65, 511–517, 2004.

HALL, M.; BANSAL, P.; LEE, J.H.; REALFF, M.J.; BOMMARIUS, A.S. Cellulose crystallinity – a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. **FEBS J**, v. 277, 1571-1582, 2010.

HARUN, R.; SINGH, M.; FORDE, G.M.; DANQUAH, M.K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14(3), 1037-1047, 2010.

HEAVEN, S.; MILLEDGE, J.; ZHANG, Y. Comments on "Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable". **Biotechnol. Adv.**, 29, 164-167, 2011.

HEUBECK, S.; CRAGGS, R.J. Resource assessment of algae biomass for potential bio-energy production in New Zealand. **Report HAM2007-157 for the New Zealand Energyscape program for Scion Ltd**, 2007

HILL, J., NELSON, E., TILMAN, D., POLASKY, S., TIFFANY, D. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 103, 11206–11210, 2006.

HUSSAIN, A.; DUBEY, S.K. Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. **Appl. Water Sci**, 1-8, 2015.

ILLMAN, A.M.; SCRAGG, A.H.; SHALES, S.W. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. **Enzyme and Microbial Technology**, v.27, 631–635, 2000.

INCE, O.; INCE, B.K.; YENIGUN, O. Determination of potential methane production capacity of a granular sludge from a pilot-scale upflow anaerobic sludge blanket reactor using a specific methanogenic activity test. **J. Chem Technol Biotechnol**, v.76, 573-578, 2001.

INGLESBY, A.E.; FISHER, A.C. Enhanced methane yields from anaerobic digestion of *Arthrospira maxima* biomass in an advanced flow-through reactor with an intergrated recirculation loop microbial fuel cell. **Energy Environ. Sci.**, v.5, 7996-8006, 2012.

JAMES, A.; CHERNICHARO, C.A.L.; CAMPOS, C.M.M. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. **Wat. Res.**, v.24(7), 831-825, 1990.

JAWED, M.; TARE, V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. **Water SA**, v.25(3), 345-350, 1999.

JONES, C.S.; MAYFIELD, S.P. Algal biofuels: versatility for the future of bioenergy. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, 346-351, 2012.

JONKER, J.G.G.; FAAIJ, A.P.C. Techno-economic assessment of micro-algae as feedstock for renewable bio-energy production. **Applied Energy**, v.102, 461-475, 2013.

JORQUERA, O.; KIPERSTOK, A.; SALES, E.A.; EMBIRUÇU, M.; GHIRARDI, M.L. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. **Bioresour. Technol.**, v.101(4), 1406-14013, 2010.

KASPAR, H.F.; WUHRMANN, K. Kinect parameters and relative turnovers of some important catabolic reaction in digesting sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, v.36, 1-7, 1978.

KWIETNIEWSKA, E., TYS, J. Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on

microalgal biomass fermentation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.34, 491-500, 2014.

LAKANIEMI, A.M.; HULATT, C.J.; THOMAS, D.N.; TUOVINEN, O.H.; PUHAKKA, J.A. Biogenic hydrogen and methane production from *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta* biomass. **Biotechnology for Biofuels**, 4-34, 2011.

LARKUM, A. W., ROSS, I. L., KRUSE, O., HANKAMER, B. Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production. **Trends in biotechnology**, v.30, 198-205, 2012

LEE, Y.K. Algal nutrition. Heterotrophic carbon nutrition. In: Richmond, A. (Ed.), **Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology**. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2004, p. 116.

LEE, R.E. (ed.) **Phycology**. 2ª edição, Cambridge University Press, 645pp, 1989.

LEITÃO, R.C., van HAANDEL, A.C., ZEEMAN, G., LETTINGA, G. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. **Bioresource Technology**, 97, 1105-1118, 2006.

LEWIN, M.; ROLDAN, L.G. Effect of liquid anhydrous ammonia in structure and morphology of cotton cellulose. **J. Polym Sci Pol Sym**, v. 36, 213-229, 1971.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 2006, 588p.

MALINA, J.F.; YOUSEF, Y.A. The fate of Coliform organisms in waste stabilization pond. **J. Water Pollut. Control Fed.**, v.36, 1432-1442, 1964.

MARKOU, G.; NERANTZIS, E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. **Biotechnol. Adv.**, v.31(8), 1532-1542, 2013.

MASCARENHAS, L.C.A.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C.A.L. Avaliação do desempenho de lagoas de polimento rasas, em série, para o pós-tratamento de efluentes de reator UASB. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.9, 45-54, 2004.

- MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; KOLÍŽEK, M.; KOPECKY, J.; BERNARDINI, P.; SACCHI, A.; KOMENDA, J. Photoadaptation of two members of the Chlorophyta (*Scenedesmus* and *Chlorella*) in laboratory and outdoor cultures: changes in chlorophyll fluorescence quenching and the xanthophyll cycle. **Planta**, 209, 126-135, 1999.
- MCGRIFF, E. C.; MCKENNEY, R. E. Activated algae: A nutrient process. **Water e Sewage Works**, v.118, 377, 1971.
- MCHUGH, S.; CARTON, M.; COLLINS, G.; O'FLAHERTY, V. Reactor performance and microbial community dynamics during anaerobic biological treatment of wastewaters at 16-37°C. **Microbiol Ecol**, v.48, 369-378, 2004.
- METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment disposal reuse**. 4 ed. New York, McGraw-Hill, International Editions, 2003. 1848pp.
- METTING, F. B.: Biodiversity and application of microalgae. **J. Ind. Microbiol.**, v.17, 477–489, 1996.
- MITTAL, A.; KATAHIRA, R.; HIMMEL, M.E.; JOHNSON, D.K. Effects of alkaline or liquid-ammonia treatment on crystalline cellulose: changes in crystalline structure and effects on enzymatic digestibility. **Biotechnology for Biofuels**, v.4, 1-16, 2011.
- MONTEGGIA, L.O. **The use of specific methanogenic activity for controlling anaerobic reactors**. 1991. 307f., Tese (PhD) – University of Newcastle Upon Tyne, 1991.
- MUSSGNUG, J.H.; KLASSEN, V.; SCHLUTER, A.; KRUSE, O. Microalgae as substrate for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. **Journal of Biotechnology**, v.150(1), 51-56, 2010.
- NAUMANN, T., ÇEBİ, Z., PODOLA, B., MELKONIAN, M. Growing microalgae as aquaculture feeds on twin-layers: a novel solid-state photobioreactor. **J Appl Phycol**, v.25, 1413–1420, 2013.
- NEDBAL, L., TICHY, V., XIONG, F. & GROBBELAAR, J.U. Microscopic green algae and cyanobacteria in high-frequency intermittent light. **J. Appl. Phycol.**, v.8, 325–333, 1996.

OILGAE. **Guide to Algae-based Wastewater Treatment. A Sample Report.** Tamilnadu, India, 2009.

OSWALD, W.J. Micro-algae and waste-water treatment. In: BOROWITZKA, M.A. **Micro-algal biotechnology.** Cambridge University Press, p. 305-328, 1988.

OSWALD, W.J.; GOLUEKE, C.G. Biological transformation of solar energy. **Adv. Appl. Microbiol.**, v.2, 223-262, 1960.

OSWALD, W.J.; GOLUEKE, C.G. Biological Transformation of Solar Energy. **Adv. Appl. Microbiol.**, v.2, 223-262, 1960.

OZKAN, A.; KINNEY, K.; KATZ, L.; BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresource Technology**, v.114, 542-548, 2012.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R.J.; SHILTON, A.N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Biores. Technol.**, v.102, 35-42, 2011.

PARKIN, G. F.; OWEN, W. F. Fundamentals of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludge. **J. Environ. Eng.**, v.112(5), 867-920, 1986.

PASSOS, F.; GARCIA, J.; FERRER, I. Impact of low temperature on the anaerobic digestion of microalgal biomass. **Bioresour. Technol.**, v.137, 79-86, 2013.

PASSOS, F.; UGGETTI, E.; CARRÈRE, H.; FERRER, I. Pretreatment of microalgae to improve biogas production: A review. **Bioresource Technology**, v.172, 403-412, 2014.

PITTMAN JK, DEAN AP, OSUNDEKO O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresour Technol.** v.102, 17-25., 2011.

PRASED, D.Y. Effects of phosphorus on decomposition of organic matter in fresh water. **Indian J. Environ. Health**, v.24(3), 206-214, 1982.

QIN, J. Bio-hydrocarbons from algae. **Rural Industries Reserch and Development Corporation.** Australian Government. v.5(25), 2005, 18p.

RASCHKE, R.L. Diatom community response to phosphorus in the Everglades National Park, USA. **Phycologia**, v.32, 48-58, 1993.

SAMSON, R., LeDuy, A. Biogas production from anaerobic digestion of *Spirulina maxima* algal biomass. **Biotechnol. Bioeng.**, v.24, 1919–1924, 1982.

SAMSON, R.; LeDUY, A. Influence of mechanical and thermochemical pretreatments on anaerobic digestion of *Spirulina maxima* algal biomass. **Biotechnol. Lett.**, v.5(10), 671-676, 1983.

SANTIAGO, A.F.; CALIJURI, M.L.; ASSEMANY, P.P.; CALIJURI, M.C.; Dos REIS, A.J.D. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. **Environmental Technology**, v. 34, 1877-1885, 2013.

SAWAYAMA, S.; RAO, K.K.; HALL, D.O. Nitrate and phosphate ions removal from water by *Phormidium laminosum* immobilized on hollow fibers in a photobioreactor. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.49, 463-468, 1998.

SCHWEDE, S.; REHMAN, Z.U.; GERBER, M.; THEISS, C.; SPAN, R. Effects of thermal pretreatment on anaerobic digestion of *Nannochloropsis salina* biomass. **Bioresour. Technol.**, v.143, 505-511, 2013.

SHEEHAN, J.; DUNAHAY, T.; BENEMANN, J.; ROESSLER, P. A look back at the U.S. department of energy's aquatic species program – biodiesel from algae. 1998.

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

SIALVE, B., BERNET, N., BERNARD, O. Anaerobic Digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biofuel sustainable. **Biotechnology Advances**, v.27, 409-416, 2009.

SLADE, R.; B, A. Micro-algae cultivation for biofuels: Cost, energy, balance, environmental impacts and future prospects. **Biomass and energy**, v.53, 29-38, 2013.

SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J.M. Methanogenic and Non-Methanogenic Activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Wat. Res.**, v.27(8), 1361-1376, 1993.

SOUTO, T.F., AQUINO, S.F., SILVA, S.Q., CHERNICHARO, C.A.L. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. **Biodegradation**, v. 21, 411-424, 2010.

SPOLAORE, P., JOANNIS-CASSAN, C., DURAN, E., ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of bioscience and bioengineering**, v.101, 87-96, 2006.

STEPHENSON, P.G.; MOORE, C.M.; TERRY, M.J.; ZUBKOV, M.V.; BIBBY, T.S. Improving photosynthesis for algal biofuels: toward a green revolution. **Trends in Biotechnology**, v.29, 615-623, 2011.

STEWART, J.M.; BHATTACHARYA, S.K.; MADURA, R.L.; MASON, S.H.; SCHONBERG, J.C. Anaerobic treatability of selected organic toxicants in petrochemical wastes. **Water Res.** 29 (12) 2730-2738, 1995.

STUCKEY, D.C.; OWEN, W.F.; MCCARTY, P.L. Anaerobic toxicity evaluation by batch and semicontinuous assays. **J Water Pollut Control Fed**, 52: 720–729, 1980.

TAKÁČOVÁ, A., MACKLULĀK, T., SMOLINSKÁ, M., HUTŇAN, M., OLEJNÍKOVÁ, P. Influence of selected biowaste materials pre-treatment on their anaerobic digestion. **Chem. Pap.** 66, 129–137, 2012.

TAM, N.F.Y.; WONG, Y.S. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. **Environmental Pollution**, v.58, 19 –34, 1989.

TANG, H.; ABUNASSER, N.; GARCIA, M.E.D.; CHEN, M.; SIMON, K.Y.; SALLEY, N.S.O. Potential of microalgae oil from *Dunaliella tertiolecta* as a feedstock for biodiesel. **Appl. Energ.**, v.88, 3324-3330, 2011.

TOMASELLI, L. The Microalgal Cell. In: **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**, Blackwell Science, Oxford, 577p., 2004.

TORRES, H.S.J.; CASSINI, S.T.A.; GONÇALVES, R.F. Isolamento, sobrevivência e caracterização da biomassa de microalgas cultivadas em

efluente de tratamento de esgoto sanitário visando a produção de biocombustíveis. In: **IX Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental**, Porto Alegre, 2014.

UENO, Y.; KURANO, N.; MIYACHI, S. Ethanol production by dark fermentation in the marine green alga *Chlorococcum littorale*. **J. Ferment. Bioeng.**, v.86, 38-43, 1998.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H.; Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresour. Technol.**,v.99, 4021-4028, 2008.

USEPA. **Evaluation of energy conservation measures for wastewater treatment facilities**. Washington, DC: US Environmental Protection Agency; 2010.

USEPA. **Opportunities for combined heat and power at wastewater treatment facilities: market analysis and lessons from the field**. Washington DC: United States Environmental Protection Agency; 2011

VAL DEL RÍO, A.; MORALES, N.; ISANTA, E.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.L.; STEYER, J.P.; CARRÈRE. Thermal pre-treatment of aerobic granular sludge: Impact on anaerobic biodegradability. **Water Research**, v.45, 6011-6020, 2011.

Van HAANDEL, A.C., LETTINGA, G. **Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate**. John Wiley & Sons, Chicester, England, 1994, 226p.

VAREL, V.H.; CHEN, T.H.; HASHIMOTO, A.G. Thermophilic and mesophilic methane production from anaerobic degradation of the cyanobacterium *Spirulina máxima*. **Resour. Conserv. Recycl.**, v.1, 19-26, 1988.

VERONEZ, F.A.; GONÇALVES, R.F. Produção de biogás em um reator UASB tratando esgoto sanitário e lodo de descarte de biofiltros aerados submersos. In: **Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 6, Vitória, 2002. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/sibesa6/sicuat.pdf>>. Acesso em 10 fev. 2017.

Von SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3ª edição, Belo Horizonte – MG, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005, 452p.

XIONG, H.; CHEN, J.; WANG, H.; SHI, H. Influences of volatile solids concentration, temperature and solid retention time for the hydrolysis of waste activated sludge to recover volatile fatty acids. **Bioresource Technol.**, v. 119, 285-292, 2012.

WAHLEN, B.D.; WILLIS, R.M.; SEEFELDT, L.C. Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultures. **Bioresource Technol.**, v.102, 2724-2730, 2011.

WANG, J.; EVANGELOU, V.P. Metal tolerance aspects of plant cell wall and vacuole. In: Pessaraki M. Handbook of plant and crop physiology. USA: Marcel Dekker Inc. 695-717, 1995.

WANG, M., SAHU, A.K., RUSTEN, B., PARK, C. Anaerobic co-digestion of microalgae *Chlorella* sp. and waste activated sludge. **Bioresource Technology** v.142, 585-590, 2013.

WARD, A.J.; LEWIS, D.M.; GREEN, F.B. Anaerobic digestion of algae biomass: A review. **Algal Research**, v.5, 204-214, 2014.

WERF. Energy efficiency in wastewater treatment in North America: a compendium of best practices and case studies of novel approaches. In: Crawford G, Sandino J, editors. Alexandria, VA: Water **Environment Research Foundation**; 2010.

WIGMOSTA, M.S., COLEMAN, A.M., SKAGGS, R.J., HUESEMANN, M.H., LANE, L.J. National microalgae biofuel production potential and resource demand. **Water Resour. Res.** 47, 1–13, 2011.

YAAKOB, Z.; FAKIR, K.; ALI, E.; ABDULLAH, S.R.S.; TAKRIIF, M.S. An Overview of Microalgae as a Wastewater Treatment. **Jordan International Energy Conference**, 2011.

YANG, Z.; GUO, R.; XU, X.; FAN, X.; LUO, S. Hydrogen and methane production from lipid-extracted microalgal biomass residues. **International Journal of**

**Hydrogen Energy**, v.36(5), 3465-3470, 2011.

YEN, H.W.; BRUNE, D.E. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. **Bioresource technology**, v.98(1), 130-134, 2007.

ZAMALLOA, C.; VRIEZE, J.D.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Anaerobic digestibility of marine microalgae *Phaeodactylum tricornutum* in a lab-scale anaerobic membrane bioreactor. **Bioenergy Biofuels**, v.93, 859-869, 2012.

ZHAO, B.; MA, J.; ZHAO, Q.; LAURENS, L.; JARVIS, E.; CHEN, S.; FREAR, C. Efficient anaerobic digestion of whole microalgae and lipid-extracted microalgae residues for methane energy production. **Bioresource technology**, v.161, 423-430, 2014.

ZENG, S.; YUAN, X.; SHI, X.; QIU, Y. Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of *Microcystis* spp. **Journal of Hazardous Materials**, v.178(1-3), 89-93, 2011.

