



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO TECNOLÓGICO

**MESTRADO PROFISSIONAL EM ENGENHARIA E DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL**

GISELE GAVAZZA LAMBERTI

**SOLUBILIZAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES DO
LODO ALGÁCEO DE UMA LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO
ATRAVÉS DE PROCESSOS HIDROLÍTICOS ALCALINO E
TÉRMICO**

VITÓRIA- ES

2017

GISELE GAVAZZA LAMBERTI

**SOLUBILIZAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES DO
LODO ALGÁCEO DE UMA LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO
ATRAVÉS DE PROCESSOS HIDROLÍTICOS ALCALINO E
TÉRMICO**

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

Orientador: Prof. D. Ing. Ricardo Franci Gonçalves.

VITÓRIA-ES

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial Tecnológica,

Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Lamberti, Gisele Gavazza, 1989-

L223s Solubilização de matéria orgânica e nutrientes do lodo algáceo de uma lagoa de estabilização através de processos hidrolíticos alcalino e térmico / Gisele Gavazza Lamberti. – 2017.

122 f. : il.

Orientador: Ricardo Franci Gonçalves.

Dissertação (Mestrado em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico.

1. Microalga. 2. Hidrólise. 3. Matéria orgânica. 4. Nutrientes.
I. Gonçalves, Ricardo Franci. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Tecnológico. III. Título.

CDU: 628

GISELE GAVAZZA LAMBERTI

**SOLUBILIZAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES DO LODO
ALGÁCEO DE UMA LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO ATRAVÉS DE
PROCESSOS HIDROLÍTICOS ALCALINO E TÉRMICO**

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 Sustentabilidade, Ambiente e Sociedade e linha de pesquisa Saneamento Ambiental e Saúde Pública.

Aprovada em 23 de março de 2017.

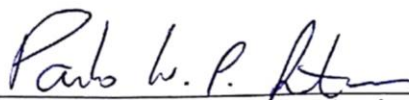
COMISSÃO EXAMINADORA



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



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



Prof. Dr. Paulo Wagner Pereira Antunes
Examinador Externo - Faculdade Pio XII / Cariacica

Aos meus pais, irmã e avós.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à energia criadora e mantenedora do universo, que me fortalece e ensina em todos os dias de minha vida.

À minha família: meus pais Eduardo e Angélica e minha irmã Gabi pelo apoio e por acreditarem na minha capacidade de ser o melhor de mim.

Ao meu orientador Ricardo Franci, pela paciência e por todas as conversas sobre a vida e sobre a pesquisa, que me amadureceram como pessoa e profissional.

Ao professor Sérgio Túlio, pela disponibilidade e paciência para discutirmos os mais variados temas da pesquisa.

Ao professor Francisco Barreto, por me ajudar com a análise estatística e se mostrar tão prestativo para com a minha pesquisa.

Ao professor Paulo Wagner por aceitar fazer parte da banca examinadora e por todo auxílio durante as etapas da pesquisa.

À família Núcleo Água, dos que já foram e os que ainda estão: pelas trocas, alegrias e perrengues divididos. Gustavo, Ludi, Letícia, Lari, Grazi, Nati, Tati, Fê e Natan por deixar o nosso núcleo de pesquisa mais dinâmico e animado.

Agradeço em especial ao amigo Gustavo, pela companhia e parceria nas eternas horas de coleta com conversas e trocas sempre produtivas.

Aos queridos e queridas do Labsan: Yohanna, Marcos, Sarah, Aline, Cris, Paulo Rosa, Lucas, Oss, Paulão e Barcellos, pela ajuda durante as análises de laboratório e pelos momentos de descontração trocados durante os vários meses de análise. Sem vocês a pesquisa seria muito chata.

Ao Mestre Arnaldo, Alessandra e Henrique, por fortalecerem e incentivarem meu Sadhana, sou eternamente grata.

Agradeço assim, a todos e todas que estiveram presentes nesta fase tão importante da minha vida, pois com certeza contribuíram para o meu amadurecimento como pessoa e profissional.

“...que a importância de uma coisa não se mede com fita métrica nem com balanças nem barômetros etc. Que a importância de uma coisa há que ser medida pelo encantamento que a coisa produza em nós.”

(Manoel de Barros)

RESUMO

A fim de otimizar a biodegradabilidade do lodo algáceo durante a digestão anaeróbia, diversos processos de hidrólise têm sido estudados para promover o aumento da produção de energia pela hidrólise celular algácea e geração de diferentes subprodutos. A presente pesquisa tem como foco dois tipos de processos hidrolíticos, térmicos e alcalinos do lodo algáceo, a fim de aumentar a biodegradabilidade no processo de digestão anaeróbia através da solubilização de carbono orgânico, nitrogênio e fósforo. O projeto de pesquisa faz parte da análise de eficiência energética de uma estação de tratamento de esgoto localizada na cidade de Vila Velha-ES, visando reduzir o consumo e demanda de energia durante os processos de tratamento. O lodo algáceo mixotrófico coletado através de coagulação – floculação – decantação, e desaguamento apresentou uma concentração média de sólidos totais de 35.1 g/L, e em seguida foram realizadas análises de solubilização de matéria orgânica (DQOs), nutrientes e exopolímeros. Para esta pesquisa, na hidrólise térmica à temperatura de 90°C, foi possível uma solubilização de 19% da DQOs, enquanto no processo alcalino à pH 12, houve incremento de 21%. Foi possível identificar a crescente solubilização de carboidratos com o aumento de temperatura, porém o mesmo padrão não foi observado durante o processo alcalino. A mudança de cor da biomassa durante o tempo de reação de hidrólise para uma coloração mais marrom induz a aferir que houve reações de Maillard durante os processos hidrolíticos, com reações entre carboidratos solúveis e proteínas solúveis. Foi identificada redução da concentração de íons fosfato solúvel na amostra ao longo dos processos hidrolíticos, o que pode ser resultado da precipitação destes com demais cátions como Ca^{2+} e Mg^{2+} , levando a precipitação de compostos de hidroxiapatita e estruvita. Desta forma, ambos processos hidrolíticos mostraram resultados satisfatórios quanto a solubilização de material orgânico, nutrientes, carboidratos e proteínas. Embora os processos alcalinos tenham mostrado melhores resultados na solubilização de material orgânico, para o objetivo geral desta pesquisa, os processos térmicos foram mais eficientes ao promover uma melhor solubilização de demais compostos como nutrientes, carboidratos e proteínas.

Palavras-chave: Microalgas. Processos Hidrolíticos. Biodegradabilidade.

ABSTRACT

Aiming to optimize the algal biomass biodegradability during anaerobic digestion, several hydrolysis processes have been studied, promoting increase of energy production by the hydrolysis of algae cells and subproducts generation. This research has the propose to perform thermal and alkaline pretreatment of the algae biomass in order to increase the algae biodegradability in the anaerobic digestion process through the organic carbon, nitrogen and phosphorus solubilization. This project is part of the energy efficiency analysis of a wastewater treatment plant located in Vila Velha-ES, aiming to reduce the demand of energy during the treatment processes. The mixotrophic algal sludge collected for this research presented a total solids concentration of 35.1 g / L, which were analyzed for organic matter solubilization (COD_s), nutrients and exopolymers. For this research, thermal hydrolysis at 90 ° C solubilized 19% of COD_s, while in the alkaline process at pH 12, it increases to 21%. There was increasing solubilization of carbohydrates with the increase of temperature in thermal pretreatment, but the same pattern was not observed during the alkaline pretreatment. The color of the biomass changed from green to brown during the treatments, which suggests that Maillard reactions occurred during the reaction time, with interactions between carbohydrates and soluble proteins. A reduction of soluble phosphate concentration in the sample along the pretreatment was identified, suggesting the precipitation of these with other cations such as Ca²⁺ and Mg²⁺, leading to the precipitation of hydroxyapatite and struvite compounds. In this way, both pretreatments showed satisfactory results regarding the solubilization of organic material, nutrients, carbohydrates and proteins. Although the alkaline pretreatment indicated better results in the solubilization of organic mattter, for the general purpose of this research, thermal processes were more efficient in promoting a better solubilization of other compounds such as nutrients, carbohydrates and proteins.

Keywords: Microalgae. Pretreatment. Biodegradability.

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

AME	Atividade Metanogênica Específica
C	Carbono
Ca ²⁺	Íon Cálcio
CH ₄	Metano
CO ₂	Gás carbônico
CESAN	Companhia Espírito Santense de Saneamento
Brutof	Lodo bruto filtrado
DQO	Demanda química de oxigênio
DQOs	Demanda química de oxigênio solúvel
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
EPS	Substâncias Exopoliméricas
FBR	Fotobiorreator
H ₃ PO ₄ ,	Ácido Fósfórico
H ₂ PO ₄ ⁻ ,	Dihidrogenofosfato
HPO ₄ ²⁻	Hidrogenofosfato
LCAG	Ácidos Graxos de Cadeia Longa
Mg ²⁺	Íon Magnésio
N	Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio gasoso
NH ₃	Íon Amônia
NH ₄ ⁺	Íon Amônio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
N-NH ₄	Nitrogênio Amoniacal
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
O ₂	Oxigênio molecular
OD	Oxigênio Dissolvido
pH	Potencial Hidrogeniônico
PO ₄ ³⁻ ,	Íon Fosfato
P-PO ₄	Íon fósforo relativo ao fosfato
ST	Sólidos Totais

SV	Sólidos Voláteis
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
SV/ST	Relação Sólidos Voláteis com Sólidos Totais
TDH	Tempo de Detenção Hidráulico
UASB	Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e fluxo Ascendente – Upflow Anaerobic Sludge Blanket
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Porcentagem de proteínas, lipídeos e carboidratos em matéria seca de diferentes espécies de microalgas.	5
Tabela 2: Comparação entre os sistemas de tratamento aeróbio e anaeróbio.	14
Tabela 3: Vantagens do sistema anaeróbio de tratamento de esgoto.	15
Tabela 4: Revisão de processos hidrolíticos alcalinos.	27
Tabela 5: Revisão de processos hidrolíticos térmicos.	29
Tabela 6: Dados de projeto ete vale encantado.	34
Tabela 7: Dados Polilag	35
Tabela 15: Tabela de redução de SSV e SST para hidrólise térmica após 4h de reação	56
Tabela 16: Estatística descritiva dos processos de hidrólise térmica em relação SST, SSV e SDT.	58
Tabela 17: Redução de SST e SSV para hidrólise alcalina após 4h de reação.	58
Tabela 19: Comparação entre destruição de sólidos para os diferentes processos hidrolíticos alcalinos.	61
Tabela 20: Valores médios de concentração de DQO após os processos hidrolíticos térmicos.	63
Tabela 21: Valores médios de concentração de DQO após processos hidrolíticos alcalinos.	65
Tabela 22: Eficiência de solubilização de matéria orgânica para os diferentes ensaios hidrolíticos.	66
Tabela 25: Valores médios de concentração de carboidratos após processos hidrolíticos alcalinos.	70
Tabela 26: Concentração média de carboidratos após processos hidrolíticos alcalinos.	71
Tabela 27: Comparação dos resultados de solubilização de carboidratos a partir de hidrólise térmica.	73
Tabela 28: Comparação dos resultados de solubilização de carboidratos a partir de hidrólise alcalina.	74
Tabela 29: Concentração dos compostos nitrogenados na biomassa antes e após os processos térmicos.	77

Tabela 32: Concentração de fósforo na biomassa antes e após os processos hidrolíticos alcalinos.....	83
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sistemas de fotobiorreatores fechados tubulares.	7
Figura 2: Detalhes de uma lagoa de alta taxa com seu dispositivo de aeração.	8
Figura 3: Sistemas de lagoas de alta taxa para cultivo de microalgas (cyanotech, hawai).	9
Figura 4: Funcionamento e compartimentos do reator uasb.	16
Figura 5: Rotas metabólicas da digestão anaeróbia.	17
Figura 6: Influência da concentração de sólidos da biomassa algácea na produção de metano (medida em ml CH ₄ / g SV algáceo).	31
Figura 7: Esboço de um sistema de tratamento integrado ao sistema de microalgas em fotobiorreatores.	34
Figura 8- (a)Vista in loco do ponto de coleta. (b) Vista superior da ETE Vale Encantado produzido pelo Google Earth®.(1) caixa de areia; (2) reator uasb; (3) saída efluente UASB; (4) ponto de coleta Polilag; (5) lagoa de estabilização; (6) desaguador de lodo.	36
Figura 9: (a) Sistema Polilag; (b) sistemas de mangotes para coleta de efluente e descarte do efluente extravasado.	37
Figura 10: Sistema de tratamento de esgoto UASB + lagoa de estabilização localizado na ETE Vale Encantado, com a saída do efluente do reator indicado pela seta.	37
Figura 11: lodo algáceo à 0,1% de ST (a). lodo algáceo à 4% de ST(b).....	38
Figura 12: Sistema de telas filtrantes utilizado para concentração da biomassa.	38
Figura 13: Fluxograma dos processos de cultivo, coleta e hidrólise (lise) da biomassa algácea.	40
Figura 14: Ensaio em banho-maria para hidrólise térmica.	41
Figura 15: Identificação de gêneros predominantes no logo algáceo identificada por seta. (a) <i>phacus sp.</i> e <i>planktothrix sp.</i> ; (b) <i>merismopedia glauca</i> e <i>plankthotrix sp.</i>	51
Figura 16: Cinética de reação para hidrólise térmica (mgo ₂ /l/min).	52
Figura 17: Cinética de reação para as diferentes dosagens de álcali para hidrólise alcalina.....	53

Figura 18: Velocidades de reação para os processos hidrolíticos (mgO ₂ /L/min)	54
Figura 19: Solubilização de material orgânico por hidrolíticos térmicos.	62
Figura 20: Análise estatística dos processos hidrolíticos na solubilização de matéria orgânica.	63
Figura 21: Solubilização de material orgânico para processos hidrolíticos alcalinos.	64
Figura 22: Análise estatística dos processos hidrolíticos na solubilização de matéria orgânica.	65
Figura 23: Análise estatística dos processos térmicos na solubilização de carboidratos.	69
Figura 24: Análise estatística dos processos alcalinos na solubilização de carboidratos.	70
Figura 25: Coloração do lodo algáceo antes e após hidrólise térmica.	73
Figura 26: Concentração de compostos nitrogenados na biomassa antes e após hidrólise térmica (mg/l).	75
Figura 27: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de nitrogênio (a) e amônia (b) nos processos térmicos.	76
Figura 28: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de proteínas nos processos térmicos.	77
Figura 29: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de nitrogênio (a) e amônia (b) nos processos alcalinos.	78
Figura 30: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de proteínas nos processos alcalinos.	79
Figura 31: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de íons fosfato nos processos hidrolíticos térmicos.	82
Figura 32: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de íons fosfato nos processos hidrolíticos alcalinos.	83
Figura 33: Efeito da hidrólise alcalina na biomassa algácea após 4 horas de reação. (a) amostra bruta; (b) após dosagem de 45meq/l; (c) após dosagem de 65meq/l (d) após dosagem de 100meq/l.	85
Figura 34: Efeito da hidrólise térmica na biomassa algácea após 4 horas de reação. (a) amostra bruta; (b) após temperatura de 70°C; (c) após temperatura de 80°C (d) após temperatura de 90°C.	86

Figura 35: Efeito da hidrólise sobre cianobactérias filamentosas (a) térmica à 70°C; (b) alcalina à 100meq/l. as setas vermelhas indicam fragmentos de <i>Spirulina sp.</i> e as pretas de <i>Planktothrix sp.</i>	86
Figura 36: Gráfico de distribuição granulométrica antes e após os processos hidrolíticos térmicos.....	87
Figura 37: Gráfico de distribuição granulométrica antes e após os processos hidrolíticos alcalinos.	88
Figura 38: Concentração dos ácidos orgânicos identificados nas amostras antes e após os processos hidrolíticos.....	90
Figura 39: Presença de ácido acético na amostra bruta.	91
Figura 40: Picos de AOV para os diferentes processos hidrolíticos.....	91

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO GERAL	4
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO À BASE DE MICROALGAS	5
3.2. CULTIVO MIXOTRÓFICO DE ALGAS	9
3.2.1. Nutrientes	10
3.3. SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO INTEGRADOS AO SISTEMA À BASE DE MICROALGAS.....	13
3.3.1. Tratamento anaeróbio.....	14
3.4. O PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	17
3.4.1. Inibição e toxicidade por amônia.....	20
3.5. CARACTERÍSTICAS DO LODO ALGÁCEO NOS PROCESSOS HIDROLÍTICOS.....	21
3.5.1. Produção de substâncias extracelulares poliméricas (EPS).....	23
3.6. PROCESSOS HIDROLÍTICOS APLICADOS A SISTEMAS DE MICROALGAS	23
3.6.1. Processo hidrolítico alcalino	24
3.6.2. Processos hidrolítico térmico	27
3.7. INFLUÊNCIA DO TEOR DE SÓLIDOS NO LODO ALGÁCEO.....	30
4. METODOLOGIA.....	33
4.1. DESCRIÇÃO DOS SISTEMAS DE TRATAMENTO	33
4.2. CARACTERIZAÇÃO DO LODO ALGÁCEO	38
4.3. HIDRÓLISE DO LODO ALGÁCEO	39
4.3.1. Hidrólise alcalina.....	40
4.3.2. Hidrólise térmica	41
4.4. CINÉTICA DE SOLUBILIZAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA	42
4.5. REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS	44

4.6. SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES.....	44
4.7. DETERMINAÇÃO DE EXOPOLÍMEROS SOLÚVEIS.....	45
4.7.1. Solubilização de carboidratos totais livres	45
4.7.2. Solubilização de proteínas totais	45
4.7.3. Determinação de ácidos orgânicos voláteis.....	46
4.8. DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA DA BIOMASSA ALGÁCEA.	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1. CARACTERIZAÇÃO DO LODO ALGÁCEO	48
5.1.1. Identificação das espécies algáceas.....	50
5.2. CINÉTICA DOS PROCESSOS HIDROLÍTICOS.....	51
5.3. REDUÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS	54
5.3.1. Hidrólise Térmica	54
5.3.2. Hidrólise Alcalina	56
5.3.3. Discussão	59
5.4. SOLUBILIZAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA.....	62
5.4.1. Demanda Química de Oxigênio (DQOs).....	62
5.4.2. Carboidratos	69
5.5. SOLUBILIZAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS	74
5.5.1. Hidrólise Térmica	75
5.5.2. Hidrólise Alcalina	77
5.5.3. Discussão	79
5.6. SOLUBILIZAÇÃO DE ÍONS FOSTATO	81
5.6.1. Hidrólise Térmica	81
5.6.2. Hidrólise Alcalina	82
5.6.3. Discussão	83
5.7. EFEITO DA HIDRÓLISE NA MORFOLOGIA ALGÁCEA.....	84
5.8. EFEITO DOS PROCESSOS HIDROLÍTICOS NA GRANULOMETRIA DAS PARTÍCULAS	87
5.9. PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS	89
7. CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES	92
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	93

1. INTRODUÇÃO

Microalgas são um grupo formado por organismos fotossintéticos, incluindo eucariontes e cianobactérias, presentes em água doce ou salgada e com células individuais ou uma cadeia de células não diferenciadas. Devido à simplicidade de sua estrutura celular e ao fato de crescerem em suspensão nos meios aquáticos, esses organismos possuem efetivo acesso à água, CO₂ e nutrientes, com maior eficiência na conversão de energia solar, podendo assim crescer exponencialmente sobre condições ótimas (BAHADAR *et al.*, 2013).

O despejo de efluentes domésticos e industriais no meio aquático com grandes quantidades de nutrientes provoca aceleração da produtividade deste grupo, alterando a ecologia do sistema aquático. A maior presença destas no meio apresenta grande risco à saúde, podendo causar transferência de patógenos e toxinas (CHO *et al.*, 2013). Desta forma, diversos autores têm estudado formas de reduzir a presença de microalgas em corpos d'água através de diferentes tipos de processos de tratamento de esgoto.

As espécies de microalgas utilizadas para o tratamento de esgoto podem variar significativamente em seu valor nutricional, dependendo de suas condições de cultivo. Estudos mostram que sistemas abertos de tratamento de esgoto, como as lagoas de alta taxa, favorecem o crescimento da biomassa algácea e consequente produção de lipídeos (CHEIRSILP *et al.*, 2012).

O processo de produção de biodiesel a partir da extração de lipídeos de microalgas se tornou foco de estudos por muitos anos como uma das possíveis tecnologias de produção de energia a partir da separação sólido-líquido da biomassa algácea, e uso potencial do lodo gerado. Porém, estudos apresentados por SIALVE *et al.* (2009) destacaram a inviabilidade energética deste processo, tendo em vista o ciclo de vida das microalgas e a porcentagem média de lipídeo acumulado. Em grande escala, a sua produção também apresenta grandes limitações devido a necessidade de um cultivo com altas concentrações de biomassa, além de alto consumo energético para coleta e o processamento necessário a extração de lipídeos (PASSOS *et al.*, 2014).

Desta forma, a digestão anaeróbia do lodo algáceo se destaca como o processo mais efetivo e simples de produção de energia, com produção de biogás durante sua digestão. Segundo CHO *et al.* (2013), dentre as principais vantagens da digestão anaeróbica para produção de biocombustíveis, tem-se o fato das microalgas coletadas do sistema de cultura poderem ser utilizadas diretamente como substrato sem necessidade de secagem, além de poder se aplicar a microalgas coletadas de diversos ambientes naturais. Entretanto, vários estudos indicam que microalgas podem ter biodegradabilidade limitada, principalmente devido à presença de moléculas orgânicas lentamente biodegradáveis ou até mesmo refratárias em sua composição, como é o caso de sua parede celular polissacarídica.

Assim, com o intuito de otimizar a biodegradabilidade do lodo algáceo durante a digestão anaeróbia, diversos processos de hidrólise celular algácea têm sido estudados visando a geração de diferentes biocombustíveis como bio-metano, bio-etanol e bio-hidrogênio (XUAN *et al.*, 2009). A escolha do processo hidrolítico depende da espécie predominante no meio de cultivo e as características particulares do grupo dominante.

Os processos hidrolíticos podem ser divididos em quatro categorias: térmicos, alcalinos, mecânicos e biológicos. De acordo com Passos *et al.* (2014), os processos hidrolíticos térmicos têm tido bastante destaque nas pesquisas ao longo dos anos e consistem em solubilizar o lodo algáceo a partir de adição de calor. A temperatura ótima para a solubilização da matéria orgânica depende das características do lodo utilizado. Estudos registram ensaios com temperaturas variando de 50 a 270°C (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009; CARRÈRE *et al.*, 2010).

Processos alcalinos consistem na adição de uma solução básica forte ao lodo algáceo a fim de elevar o pH deste. São comumente utilizados para a solubilização de exopolímeros, favorecendo o ataque de bactérias aos compostos orgânicos (ANDRADE, 2004; ABREU, 2004; BOHUTSKYI e BOUWER, 2013).

Ambos os processos hidrolíticos possuem características singulares, cabendo compará-los em relação a maior solubilização de compostos para geração de energia. Desta forma, a pesquisa tem como objetivo avaliar o efeito dos processos hidrolíticos térmico e alcalino sobre o lodo algáceo, a fim de aumentar sua biodegradabilidade no processo de digestão anaeróbia através da solubilização de material orgânico e nutrientes. O projeto faz parte da análise de eficiência energética de uma tecnologia que transformará as estações de tratamento de esgoto em sistemas superavitários em energia, em desenvolvimento no Núcleo Água da Universidade Federal do Espírito Santo.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar a solubilização de material orgânico, nitrogênio e fósforo do lodo algáceo através de processos hidrolíticos alcalino e térmico.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- * Caracterizar físico-química e microbiologicamente o lodo coletado a partir de um sistema de separação sólido-líquido aplicado ao pós tratamento do efluente de uma lagoa de estabilização que trata esgoto sanitário;
- * Avaliar a influência de temperatura e tempo de reação sobre a solubilização de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo do lodo algáceo em reatores hidrolíticos sob condições térmicas, em batelada;
- * Avaliar a influência de pH e tempo de reação sobre a solubilização de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo do lodo algáceo em reatores hidrolíticos sob condições alcalinas, em batelada;
- * Avaliar a solubilização de exopolímeros e granulometria de partículas após o tratamento da biomassa algácea nos processos hidrolíticos alcalino e térmico.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO À BASE DE MICROALGAS

Segundo Alabi *et al.*, (2009), o cultivo de microalgas tem se mostrado uma fonte promissora na produção de bioenergia devido a seu rápido crescimento, à não concorrência com áreas agrícolas de alimentação humana ou animal, e à grande produção de biocombustível por área, quando comparada à demais culturas agrícolas. Além de gerar combustíveis líquidos como bioetanol e biodiesel, o lodo gerado da biomassa de microalgas pode ser digerido anaerobicamente em reatores para o aumento da produção de biogás. Richards e Mullins (2012) também investigaram a capacidade de remoção de metais pesados presentes em águas residuárias por algumas espécies de microalgas, chegando em cerca de 95% de remoção.

Sob condições normais de crescimento, microalgas podem atingir valor calórico de 18 a 21 KJ/g (BAHADAR *et al.*, 2013). Illman *et al.* (2000) realizaram um estudo calorífico de diferentes espécies de *Chlorella* sp., mostrando que estas podem atingir até 0.76 KJ/l/d, em condição de baixa concentração de nitrogênio, comprovando sua promissora capacidade energética.

Diferentes autores apresentam porcentagens de lipídeos, proteínas e carboidratos presentes nas microalgas (SPOLAORE *et al.* 2006; BECKER, 2007) (Tabela 1). Estudos mais recentes de Illman *et al.* (2013) identificaram valores médios de 29% de proteína, 51% de carboidratos e 18% de lipídeos para a espécie *Chlorella vulgaris*.

Tabela 1: Porcentagem de proteínas, lipídeos e carboidratos em matéria seca de diferentes espécies de microalgas.

Algas	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Euglena Gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6

<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11

FONTE: Adaptado Spolaore *et al.*,(2006) e Becker (2007).

Quando o suprimento de nutrientes é realizado por injeção de fontes externas, há um acréscimo significativo no custo operacional dos sistemas de cultivo algáceo, reduzindo a eficiência do ciclo de vida ambiental no que se refere ao aproveitamento de energia, ao consumo de matéria prima, e à emissão de gases de efeito estufa (LARDON *et al.*, 2009). A fim de reduzir a demanda de energia e, conseqüentemente, o custo energético deste sistema integrado, o biogás gerado no reator UASB pode ser queimado e incorporado ao sistema de microalgas como suplementação de CO₂, aprimorando o processo de fotossíntese (KADAM *et al.*, 1997), além de gerar maior produção de biomassa para produção de bioenergia.

Para o uso dos sistemas integrados, diferentes sistemas de cultivo de microalgas são utilizados no pós tratamento de efluente anaeróbico, a se destacar os fotobiorreatores fechados e os sistemas abertos do tipo lagoa de alta taxa.

Os sistemas de fotobiorreatores fechados são considerados mais complexos quando comparados aos cultivos abertos, porém permitem maior controle das condições de operação, maximizando a taxa de produção de biomassa com tempos de coleta menores, além de reduzir as chances de contaminação durante o cultivo, (BAHADAR *et al.*, 2013). São uma opção mais viável para cultivo de espécies selecionadas, podendo ser ao ar livre para aproveitamento da luz solar, ou em interiores.

A tecnologia mais difundida no sistema fechado para cultivo são os fotobiorreatores (FBR) tubulares, por propiciar o maior controle de temperatura, nutrientes e luminosidade dentro do sistema. A luminosidade deve ser fornecida em intensidade, duração e comprimento de onda ideal (GOUVEIA, 2009).

Os modelos desenvolvidos utilizam recipientes translúcidos como tubos, sacos, placas, cúpulas, etc. Os fotobiorreatores tubulares são a tecnologia dominante em operações comerciais, em pequenos (5 cm) e grandes diâmetros (>10cm) (LUNDQUIST, 2010). Devido à complexidade de sua construção e operação, necessitam maiores custos financeiros e possuem maior consumo de energia, além de necessitar mão de obra especializada para sua operação. A utilização de tubulação transparente para cultivo reduz o efeito de sombreamento interno entre as algas e a penetração de luz se torna mais eficiente, se comparado a sistemas abertos (Figura 1) (BOROWITSKA, 1998). Desta forma, para a construção, é importante que se estabeleça um diâmetro ideal de tubo a fim de evitar áreas sombreadas, facilitando o crescimento ótimo da cultura.

Figura 1: Sistemas de fotobiorreatores fechados tubulares.



FONTE: http://www.bae.uky.edu/biofuels/algae/photo_gallery

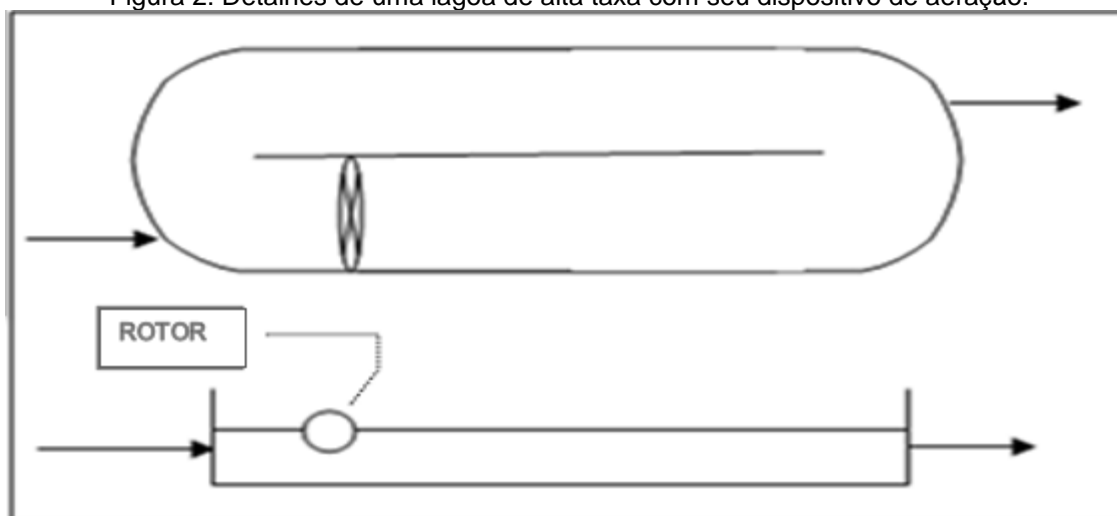
Cultivos em sistemas abertos normalmente se localizam ao ar livre e recebem luz solar diretamente. Três tipos de sistemas abertos têm se destacado para cultivo em larga escala de microalgas: lagoas de alta taxa, sistemas inclinados e lagoas circulares. Segundo Yaakob *et al.* (2011), o cultivo de microalgas em lagoas de alta taxa é preferível no tratamento de efluente secundário, devido à facilidade de manuseio e custo de operação, todavia estes sistemas ficam expostos aos fatores ambientais, como a variação de temperatura, intensidade luminosa além de contaminações que prejudicam o crescimento, como a predação e competição entre outras espécies.

Lee (2001) mostrou que, dentre as espécies de microalgas presentes, a *Spirulina* sp., *Chlorella* sp. e *Dunaliella* sp., são as espécies mais resistentes a condições severas de cultivo em sistemas abertos.

Lagoas de alta taxa são confeccionadas com o objetivo de maximizar a produção de algas em um ambiente aeróbio. Para isso, possuem profundidades inferiores a 0,80m de forma a garantir eficiência na incidência luminosa e atividade fotossintética (VON SPERLING, 2005). Estas condições aumentam a concentração de oxigênio dissolvido (OD) e pH devido ao consumo de CO₂ pelas algas, realizando polimento do efluente com redução de patógenos.

Lagoas de alta taxa são assim chamadas por receberem elevada carga de matéria orgânica por unidade de área superficial e possuem culturas de microalgas tipicamente mixotróficas. Nelas, há adição de moderada agitação por meio de rotores de eixo horizontal, ou algum equipamento similar, a fim de homogeneizar a massa líquida do efluente. Com a agitação, há maior contato entre bactérias e microalgas, reduzindo as zonas mortas e facilitando as trocas gasosas do sistema, além de permitir maior contato de algas e bactérias com a incidência luminosa (Von SPERLING, 2005). Normalmente possuem formato elíptico, de forma a reduzir ao máximo o número de zonas mortas (Figura 2). A Figura 3 ilustra um sistema de lagoas de alta taxa utilizada para cultivo e produção de biomassa algácea.

Figura 2: Detalhes de uma lagoa de alta taxa com seu dispositivo de aeração.



FONTE: Adaptado de Von SPERLING, (2005).

Figura 3: Sistemas de lagoas de alta taxa para cultivo de microalgas (Cyanotech, Hawaii).



FONTE: LUNDQUIST *et al.* (2010).

3.2. CULTIVO MIXOTRÓFICO DE ALGAS

Variadas espécies de microalgas podem crescer sob diferentes condições de cultivo. Quando há presença de luz como fonte de energia para seu crescimento, estas se encontram em um regime de cultivo chamado fotoautotrófico ou autotrófico (DAS *et al.*, 2011). Utilizando CO₂ como fonte de carbono orgânico, este regime contribui para a redução dos gases de efeito estufa (CHEIRSILP *et al.*, 2012). Na ausência de iluminação e adição de fontes de carbono orgânico para síntese energética, tem-se uma cultura heterotrófica e, em outros casos, na presença de luz com adição de fontes de carbono, identificam-se as culturas mixotróficas (DAS *et al.*, 2011). Desta forma, observa-se que um regime mixotrófico, nada mais é que uma variante do regime de cultivo heterotrófico.

Por dependerem de energia luminosa, as culturas fotoautotróficas apresentam crescimento limitado de biomassa, em que as sombras provocadas pelo próprio crescimento da biomassa limitam a disponibilidade luminosa para seu crescimento. Segundo Cheirsilp *et al.* (2012), a baixa produtividade da biomassa aumenta o custo de coleta desta. Uma alternativa viável à maior produção de biomassa é a adição de uma fonte externa de carbono para acelerar o crescimento da biomassa através do cultivo mixotrófico, que pode

ser realizado tanto na presença ou ausência de energia luminosa. No cultivo mixotrófico, CO₂ e outras fontes de carbono orgânico (como glucose, acetato, glicerol, frutose, sacarose, lactose, galactose e manose) são simultaneamente assimiladas. Neste caso, tanto o metabolismo de respiração celular quanto a fotossíntese operam simultaneamente (LEE, 2004). Este tipo de cultivo evita problemas associados a limites de luminosidade que dificultam a maior densidade celular, como o que ocorre em fotobiorreatores durante o cultivo fotoautotrófico (HUANG *et al.*, 2010).

Cheirsilp *et al.* (2012) estudaram a produção de lipídios e biomassa de microalgas nos diferentes tipos tróficos de cultivo, comparando diferentes espécies de microalgas. Segundo estes autores, foi possível aferir que no cultivo mixotrófico há a maior geração de lipídeos, além de maior produção de biomassa algácea do meio, sendo determinada pela quantidade de clorofila-a presente neste. Além disso, foi identificada a predominância da espécie *Chlorella* sp. sob estas condições mixotróficas de cultivo.

Sistemas mixotróficos se mostram um eficiente sistema de cultivo podendo ser limitado apenas pelo alto custo do substrato (fonte de carbono ou nutrientes) ou problemas associados à contaminação do cultivo por bactérias presentes no meio com o consumo do substrato adicionado (LUNDQUIST *et al.*, 2010). Neste último caso, vale optar por fontes de carbono inorgânico, como gás carbônico, a fim de favorecer a fotossíntese e crescimento de biomassa algácea em relação a comunidade heterotrófica.

3.2.1. Nutrientes

Uma das principais exigências no tratamento de águas residuais é a remoção de nutrientes e metais tóxicos para limites aceitáveis antes de sua descarga em corpos d'água e/ou reutilização. No entanto a maioria das tecnologias convencionais de tratamento de esgotos se baseia em métodos químicos e físicos que não são econômicos para o tratamento de águas residuais agrícolas (CAI, PARK e YEBOLI, 2013).

As microalgas provaram ser eficientes na remoção de nitrogênio, fósforo e metais tóxicos de uma grande variedade de águas residuárias (ZHOU *et al.*,

2012). Existem extensos estudos sobre o crescimento de algas em efluentes domésticos, com quantidades substanciais de remoção de nutrientes e produção de biomassa (LI *et al.*, 2011; CHI *et al.*, 2011). Assim, o cultivo controlado de microalgas é um potencial processo de tratamento biológico para as águas residuárias, ciclagem de nutrientes e economia energética.

a. Remoção de nitrogênio

Segundo Von Sperling, (2005), em sistemas de lagoas, os principais mecanismos de remoção de nitrogênio são:

- i) Volatilização da amônia
- ii) Assimilação de amônia pelas algas
- iii) Nitrificação-desnitrificação
- iv) Sedimentação do nitrogênio orgânico particulado

Em meio líquido, a amônia apresenta-se segundo a seguinte reação de equilíbrio:



De acordo com a lei de dissociação em soluções aquosas, nota-se que em pH ácido o íon amônio encontra-se predominante, ($\log [\text{NH}_3]/ \log[\text{NH}_4]= -9,2$). Assim, em pH próximo a neutralidade, praticamente toda a amônia se encontra em forma de NH_4^+ , dissolvida em meio líquido, não sendo assim possível de ser removida por volatilização. Em pH próximo à 9,5, cerca de 50% da amônia se encontra na forma de NH_3 e 50% na forma de NH_4^+ . Para valores de pH maiores que 11, há a predominância de amônia livre (NH_3), que é passível de remoção por volatilização (Von SPERLING, 2005).

A partir da fotossíntese em lagoas de estabilização (principalmente as de maturação e alta taxa), o consumo de CO_2 pelas algas promove o aumento do pH devido deslocamento do equilíbrio do íon carbonato. Desse modo, em condições de elevada atividade fotossintética, o aumento de pH para valores acima de 9,0 poderá proporcionar condições para a volatilização da amônia. Porém, segundo Arceivala (1981), em condições de elevada produção algácea, a alta taxa de produção fotossintética pode levar também ao consumo direto de NH_3 pelas algas.

Em casos de lagos de estabilização com reduzida profundidade, como as lagoas de alta taxa, o mecanismo de volatilização de amônia tende a ser mais importante devido a maior atividade fotossintética ao longo de toda a coluna d'água e conseqüentemente atingindo valores de pH mais elevados. O desprendimento de bolhas durante a fase supersaturada da lagoa pode acelerar este processo de desprendimento deste gás (Van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

b. Remoção de fósforo

Ainda segundo Von Sperling (2005), o fósforo presente no esgoto se encontra na forma de fósforo orgânico e fosfatos (polifosfatos ou ortofosfatos), sendo estes últimos representantes da maioria devido ao uso de detergente ou produtos químicos domésticos no geral. Os ortofosfatos são moléculas mais simples, estando diretamente disponíveis para o metabolismo biológico sem a necessidade de conversões. As formas em que os ortofosfatos se apresentam no efluente dependem do valor de pH, a incluir H_2PO_4^- , PO_4^{3-} , H_3PO_4 , HPO_4^{2-} . Já os polifosfatos são moléculas mais complexas com maior número de átomos de fósforo e podem se transformar em ortofosfatos pelo mecanismo de hidrólise.

A principal forma de remoção de fósforo pelas lagoas de estabilização, em especial as de alta taxa, polimento e maturação, é pela precipitação de fosfatos em condições de elevado pH (ARCEIVALA, 1981; Van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Os grupos fosfatos juntamente com cátions de Ca^+ , Mg^{2+} , podem ser precipitados em forma de hidroxiapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) ou estruvita ($\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), respectivamente (WINKER e HARTMANN, 2010). Em lagoas rasas, assim como para volatilização de amônia, a eficiência de remoção de fósforo pode ser mais elevada devido a possibilidade destas lagoas atingirem valores mais elevados de pH.

3.3. SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO INTEGRADOS AO SISTEMA À BASE DE MICROALGAS

Durante o último século, os sistemas de saneamento foram capazes de reduzir significativamente o número de doenças de veiculação hídrica, protegendo grande parte da população do contato com vetores e evitando o surgimento de epidemias (COROMINAS *et al.*, 2013). Porém, os custos associados ao esgotamento sanitário são aspectos intrínsecos a este sistema, que ainda necessita mais pesquisas e discussão.

Após a definição do termo desenvolvimento sustentável pela “*World Commission on Environment and Development (WCED, 1987)*”, alguns profissionais e pesquisadores de estações de tratamento de esgoto incorporaram técnicas de análise de ciclo de vida a fim de avaliar as implicações ambientais de estações de tratamento de esgoto.

Os primeiros estudos publicados sobre análise de ciclo de vida em estações de tratamento de esgoto consideram o uso da eletricidade como maior consumidor de combustíveis fósseis e gerador de gases de efeito estufa, destacando assim a importância de incluir as emissões de CO₂ associadas a produção de energia destes sistemas (COROMINAS *et al.*, 2013; RISCH *et al.*, 2015). O uso de elevatórias, grades mecanizadas e sistemas de tratamentos aerados nos sistemas convencionais, como o caso de lodos ativados, aumentam a demanda de energia utilizada nas estações, e conseqüentemente a demanda do uso de água para o funcionamento do sistema como um todo (GONÇALVES, 2009).

Segundo Von Sperling (2005), o conteúdo orgânico do esgoto doméstico, se digerido em condições anaeróbicas, libera biogás composto de cerca de 70% de metano. Chernicharo (2007) mostra que é possível se avaliar a produção de metano em um reator anaeróbio a partir da determinação de DQO (Demanda Química de Oxigênio) deste reator. Segundo o autor, uma produção diária de 120 L de esgoto por pessoa corresponderia a uma geração de 12g de CH₄. A energia liberada na combustão completa do metano produzido é de 889,5 KJ por mol, ou seja, 55,6 kJ.g⁻¹. Dessa forma o metano produzido na digestão anaeróbia do esgoto doméstico, permitiria gerar 667,2 KJ de energia por

peessoa.dia⁻¹(considerando 100% de aproveitamento energético na combustão do mesmo) dentro do próprio sistema de tratamento.

3.3.1. Tratamento anaeróbio

A utilização de sistemas anaeróbios de tratamento de esgoto tem sido uma opção tecnológica ao saneamento por serem sistemas capazes de diminuir o potencial poluente de cargas orgânicas, ao mesmo tempo em que produz biogás e gera fonte de fertilizantes a partir do lodo anaeróbio.

Estes possuem vantagens em relação ao tratamento convencional aeróbio, principalmente devido ao menor volume de lodo gerado (1/10 do sistema aeróbico) e maior produção de fonte de energia (biogás) (Tabela 2) (CHERNICHARO, 2007). Reatores anaeróbios se adaptam com facilidade a climas tropicais como o do Brasil, já que as condições climáticas favorecem economia de energia, evitando o uso de aquecedores artificiais, reduzindo assim o custo de operação deste sistema de tratamento. Além disso, este sistema pode ser aplicado de forma descentralizada, reduzindo significativamente o custo de investimentos nos sistemas de tratamento de esgoto (Tabela 3). (AIYUK *et al.*, 2006; KALOGO e VERSTRAETE, 2001; VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994;).

Tabela 2: Comparação entre os sistemas de tratamento aeróbio e anaeróbio.

	Aeróbio	Anaeróbio
Produção de lodo e energia	1 unidade de substrato de carbono → 0.5 unidade de carbono celular + 0.5 unidade de CO ₂	1 unidade de substrato de carbono → 0.05 unidades de carbono celular + 0.95 unidade de biogás (CO ₂ + CH ₄).
Diversidade microbiana	Com 1 mol de glicose, 1 microorganismo adquire 2400 KJ de energia	Com 1 mol glicose um consórcio de pelo menos 3 microorganismos adquirem 240 kJ de energia.

FONTE: Adaptado de AIYUK *et al.* (2006).

Dentre os sistemas anaeróbios mais utilizados encontram-se os biofiltros, ou filtros anaeróbios, e os sistemas de fluxo ascendente de manta de lodo, também chamados reatores UASB (Upflow Anerobic Sludge Blanket).

Reatores UASB são sistemas de tratamento biológico em que o lodo se encontra suspenso, agregado na forma de floco ou grânulo, com microrganismos formando flocos ou grânulos de modo a criar uma manta de lodo no fundo do reator (Figura 4). Apresenta velocidade ascensional média de 1,5m/h, e um sistema separador trifásico (sólido-líquido-gás). A mistura no reator é provocada pela produção de gases formada à medida que a carga orgânica vai sendo distribuída na manta de fundo, não necessitando assim de qualquer mecanismo para tal. Possuem tempo de detenção hidráulico (TDH) na faixa de horas (3-8h) e são eficientes no tratamento de alta carga orgânica (VON SPERLING, 2005; AIYUK *et al.*, 2006). Devido a estas e demais características, o uso do reator UASB está cada vez mais difundido em regiões de climas tropicais e em país em desenvolvimento.

Tabela 3: Vantagens do sistema anaeróbio de tratamento de esgoto.

VANTAGENS		
Energéticas	Ambientais	Econômicas
<ul style="list-style-type: none"> • Rede produtora de energia; 	<ul style="list-style-type: none"> • Baixa produção de lodo; 	<ul style="list-style-type: none"> • Baixo custo de implantação;
<ul style="list-style-type: none"> • Não utiliza eletricidade ou combustível mineral; 	<ul style="list-style-type: none"> • Lodo gerado já estabilizado e rico em nutrientes; 	<ul style="list-style-type: none"> • Favorece a recuperação de nutrientes quando aplicado à sistema integrado;
<ul style="list-style-type: none"> • Gera combustível renovável de alta qualidade em forma de biogás. 	<ul style="list-style-type: none"> • Reduz substancialmente a incidência de patógenos; 	<ul style="list-style-type: none"> • Pode ser aplicado em qualquer local e em qualquer escala.

FONTE: Adaptado de AIYUK *et al.* (2006).

O efluente dos reatores UASB apresenta quantidades consideráveis de nutrientes, nitrogênio e fósforo, que poderão ser utilizados por organismos fotossintetizantes em seus metabolismos (KRUG *et al.*, 2012). Sistemas integrados de tratamento de esgoto sanitário que utilizam reatores UASB seguidos de processos com microalgas podem contribuir significativamente para economia de energia e ciclagem de nutrientes uma vez que fontes de nitrogênio e fósforo poderão ser utilizadas no metabolismo e crescimento da biomassa algácea.

Além da fonte de nutrientes do efluente, a combustão do biogás gerado nos reatores UASB pode servir de fonte adicional de carbono inorgânico ao sistema de microalgas, favorecendo a fotossíntese em sistemas de cultivo mixotrófico.

Figura 4: Funcionamento e compartimentos do reator UASB.



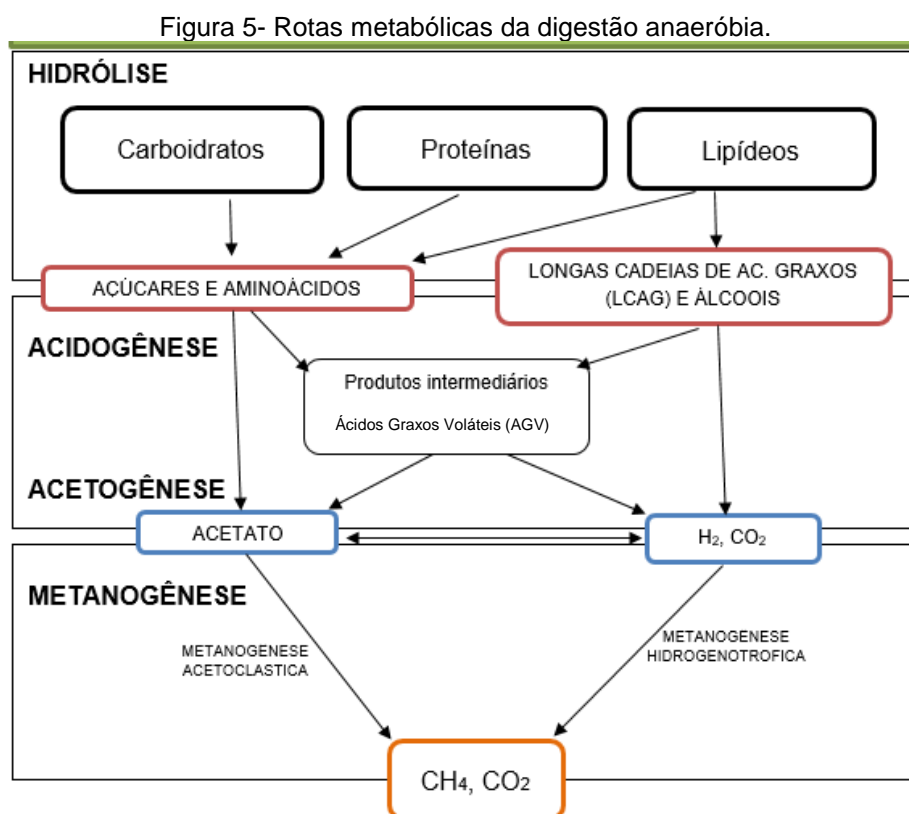
FONTE: Adaptado de Chernicharo, 2007.

A coleta da biomassa algácea para geração de lodo é um importante aspecto a ser considerado no processo de tratamento integrado devido a seu significativo custo de operação, sendo essencial que haja uma coleta eficiente para uma produção em larga escala de lodo algáceo. As principais técnicas apresentadas atualmente para coleta de microalgas incluem centrifugação, floculação, filtração, sedimentação por gravidade, flotação e técnicas de eletroforese (UDUMAN *et al.*, 2010). A seleção do processo de coleta depende das propriedades da biomassa, como sua densidade, tamanho, e valor do produto desejado (BRENNAN & OWENDE, 2010).

A proposta de adicionar lodo algáceo à digestão anaeróbia em reatores tem sido estudada por diversos autores a fim de aumentar o potencial de produção de metano e consequentemente determinar uma maior produção energética, identificando assim uma potencial fonte de biocombustíveis. TARTAKOVSKY, LEBRUN, e GUIOT, (2015), pesquisaram o potencial aumento da produção de metano a partir da digestão de lodo algáceo, identificando a necessidade de um maior tempo de detenção hidráulica devido a maior dificuldade de hidrólise da parede celular algácea e a possível toxicidade por amônia.

3.4. O PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA

O processo de digestão anaeróbia é amplamente aceito como um processo que promove a redução de volume do lodo anaeróbio, além de realizar sua estabilização com redução de patógenos que provocam odores indesejados. O foco principal da digestão anaeróbia para este projeto é a produção do gás metano gerado no biogás durante este processo. CASSINI (2003) classifica a digestão anaeróbica como um processo complexo de estabilização biológica, no qual é realizada a transformação de compostos orgânicos mais complexos em produtos mais simples, como metano e gás carbônico. Esta transformação é realizada por um consórcio de microrganismos sob condições anóxicas, a qual ocorre em quatro principais processos biológicos para a conversão total da matéria orgânica: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Figura 5).



FONTE: Adaptado de Gonzalez-Fernandez *et al.* (2015).

(*) ação de exoenzimas que degradam carboidratos: celulase, hemicelulase, xilanase, amilase; exoenzimas que degradam proteínas: proteases e exoenzimas que degradam lipídeos: lipase, fosfolipase.

O processo de digestão anaeróbia envolve a ação de três grupos de microrganismos: as bactérias acidogênicas, bactérias acetogênicas e archeas metanogênicas.

As bactérias fermentativas hidrolíticas agem na primeira etapa do processo de digestão anaeróbia realizando a hidrólise de material orgânico complexo, polímeros, em monômeros. O processo de hidrólise destes polímeros (carboidratos, proteínas e lipídeos) é realizado por enzimas extracelulares, excretadas pelas bactérias fermentativas. As moléculas hidrolisadas originam aminoácidos, açúcares, ácidos graxos de cadeia longa e álcoois. Normalmente, o processo de hidrólise ocorre de forma lenta, sendo, podendo agir como etapa limitante da produção de biogás (LETTINGA *et al.*, 1997).

No processo de acidogênese, os monômeros produzidos durante a hidrólise são convertidos em ácidos graxos voláteis (AGV), ácido láctico e compostos minerais por bactérias fermentativas acidogênicas. Os AGVs são o principal produto da fermentação destes microrganismos, sendo constituídos principalmente de butirato, proprionato e ácido acético (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Na acetogênese, aproximadamente 70% da DQO de uma biomassa é convertida em ácido acético e o remanescente em moléculas de hidrogênio (CASSINI, 2003). Dependendo do estado original de oxidação da matéria orgânica, a formação de ácido acético pode vir acompanhada da formação de dióxido de carbono ou hidrogênio. Durante o processo de acetogênese, os produtos originados da acidogênese, como acetato, hidrogênio e dióxido de carbono serão substrato à produção de metano (CASSINI, 2003; LOUZADA, 2006). Desta forma, as bactérias acetogênicas fazem parte de uma etapa intermediária do metabolismo de digestão anaeróbia, gerando substratos às archeas metanogênicas. A quebra de longas cadeias de ácidos graxos (LCAG) em acetato e hidrogênio é realizada por bactérias acetogênicas exclusivamente produtoras de hidrogênio (GONZALEZ-FERNANDEZ, 2015).

O processo de metanogênese é realizado por duas rotas de diferentes grupos de archeas metanogênicas. A rota realizada por archeas metanogênicas

hidrogenotróficas que produzem metano através da redução do dióxido de carbono e a rota realizada por archeas metanogênicas acetoclásticas, que utilizam o acetato como substrato para a formação dos produtos dióxido de carbono e metano (LOUZADA, 2006; GONZALEZ-FERNANDEZ, 2015). Estas espécies de microrganismos crescem de forma lenta e são menos resilientes às condições de estresse, quando comparadas as bactérias. Desta forma, a etapa de digestão realizada pelos organismos metanogênicos é considerada a mais crítica de forma que, para o bom desempenho de todo o processo, o desenvolvimento de organismos metanogênicos deve ser favorecido (GONZALEZ-FERNANDEZ, 2015).

A rota catabólica preferencial para a metanogênese é a metanogênese acetoclástica. Nesta, o hidrogênio deve ser removido continuamente do meio de forma a assegurar a continuidade de produção de ácido acético, já que essa condição se torna essencial à produção de metano (VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994; CASSINI, 2003).

Cada uma das etapas deve ser mantida em equilíbrio dinâmico, a fim de que a metanogênese ocorra em taxa máxima. Este equilíbrio está relacionado principalmente às características do lodo e à intensidade e disponibilidade de hidrogênio (transportadores de elétrons). Porém, a proporção dos processos pode variar em condições de estresse, como aumento da carga orgânica, acúmulo de inibidores (amônia ou LCAG) ou variação de temperatura. A baixa taxa de crescimento das archeas frequentemente resulta em acúmulo de AGV e conseqüentemente a inibição da atividade de microrganismos metanogênicos (CASSINI, 2003; GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2015).

Levando em consideração a fermentação de compostos orgânicos de fácil degradação, a fase metanogênica como visto anteriormente, se torna a etapa mais crítica da digestão, devido a sensibilidade dos microrganismos envolvidos. Porém, para o caso da digestão de compostos orgânicos mais complexos organizados em polímeros, material orgânico particulado ou compostos estruturais como a parede celular das algas, estes podem apresentar menos biodegradabilidade devido ao acesso limitado das exoenzimas de bactérias hidrolíticas ao substrato. Devido a isto, diversos autores apontam a hidrólise de

material orgânico particulado como a etapa limitante ao processo de digestão anaeróbia (Eastman e Ferguson, 1981; PASSOS *et al.*, 2013).

A produção de biogás a partir da digestão anaeróbica de algas tem sido estudada ao longo de décadas, porém alguns obstáculos para sua produção ainda permanecem, principalmente quando associados a biodegradabilidade anaeróbica do lodo algáceo. Estes obstáculos, segundo BOHUTSKYI *et al.* (2014) devem ser estudados de forma a aumentar a viabilidade econômica desta tecnologia, permitindo-a avançar em larga escala.

Alguns resultados obtidos por Passos *et al.* (2013) mostraram uma correlação entre a taxa de metano e o grau de solubilização de material orgânico (DQOs), mostrando que quanto maior o grau de solubilização, maior a produção de metano. Porém, este estudo identificou que mesmo o uso de hidrólise no lodo aumentando a produção de metano, a biodegradabilidade anaeróbia permaneceu baixa (cerca de 47%), indicando que a maioria do material orgânico permaneceu indisponível para digestão.

3.4.1. Inibição e toxicidade por amônia

Em processos de digestão anaeróbia, as quebras de moléculas de proteínas e demais compostos nitrogenados resultam no incremento do íon nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+) na biomassa digerida, sendo este solúvel em meio aquoso e podendo se tornar tóxico em elevadas concentrações (DUAN *et al.*, 2012). Dependendo das características do lodo algáceo, com altas concentrações de nitrogênio e proteínas, é possível altas concentrações de nitrogênio amoniacal durante a digestão anaeróbia.

Como dito anteriormente, o equilíbrio estabelecido entre as moléculas de amônia (N-NH_3) e o íon amônio (N-NH_4^+) pode ser afetado com a variação de pH ou temperatura, dentro do digestor anaeróbio. O aumento na temperatura ou pH ser prejudicial para a comunidade bacteriana já que, assim, o equilíbrio da reação se altera favorecendo a maior concentração da forma não-ionizada de nitrogênio amoniacal, N-NH_3 , sendo mais tóxica para o metabolismo dos microrganismos presentes no processo de digestão (PARKIN e OWEN, 1986; SIALVE *et al.*, 2009).

Segundo Kayhanian, (1999) e Sialve *et al.* (2009), a presença do gás amônia no digestor se torna inibitória de duas formas (1) por afetar o metabolismo das archeas metanogênicas a partir da inibição direta da síntese enzimática de metano e (2) por difusão passiva da molécula hidrofóbica de nitrogênio amoniacal para o interior das células, ocasionando um desequilíbrio de prótons e/ ou deficiência de potássio. Ainda, segundo Wang *et al.* (2016), altas concentrações de amônia podem induzir a maior produção de material extracelular, exopolímeros, sendo estes de difícil digestão anaeróbia.

Algumas pesquisas mais recentes baseadas na produção de metano e taxa de crescimento microbiano indicam que os efeitos da inibição de amônia podem ser mais significativos em microorganismos acidogênicos se comparados aos metanogênicos (ANGELIDAKI e AHRING, 1993; CHEN *et al.*, 2008; WARD *et al.*, 2014).

Não há um consenso entre autores quanto a concentração limite ideal para evitar a inibição e toxicidade por amônia, o que possivelmente está relacionado ao consórcio de microorganismos envolvidos na digestão. McCarty, (1964) e Parkin e Owen, (1986) e indicam que os níveis de amônia no efluente em concentrações entre 50-200 mg/L são benéficas ao tratamento anaeróbio, entre 200 e 1000mg/L, não há efeito adverso no tratamento, entre 1500 e 3000 mg/L, sua presença se torna inibitória em elevado pH e em concentrações acima de 3000 mg/L, seu efeito se torna tóxico à comunidade microbiana, podendo levar a queda de produção de metano.

3.5. CARACTERÍSTICAS DO LODO ALGÁCEO NOS PROCESSOS HIDROLÍTICOS

As principais características presentes no lodo de microalgas que influenciam sua biodegradabilidade anaeróbica estão relacionadas a sua composição macromolecular devido a presença de lipídeos, proteínas e carboidratos, além da estrutura de sua parede celular (CARRERE *et al.*, 2016). Segundo WANG *et al.* (1995), a parede celular de microalgas é composta por 25- 30% de celulose, 15 - 25% de hemicelulose, 35% de pectina e de 5-10% de glicoproteínas. Gonzalez-Fernandez *et al.* (2011) acrescentam que as características

macromoleculares das microalgas também estão relacionadas às condições ambientais, assim como a composição intracelular destas espécies também podem ser influenciadas por perturbações ambientais.

Algumas espécies de microalgas podem ser muito resistentes à hidrólise, o que reduz drasticamente a sua biodegradabilidade anaeróbica (TRAVIESO, 1999). Compostos orgânicos mais simples, como os açúcares e ácidos que fazem parte da composição celular das algas são facilmente biodegradáveis, porém, compostos orgânicos maiores, como polissacarídeos (celulose, hemicelulose e pectina) e partes estruturais mais complexas da parede celular (glicoproteínas) são menos biodegradáveis devido à dificuldade de acesso das enzimas a estes substratos. González-Fernández *et al.* (2011) aferem que a espécie *Scenedesmus* sp. é a que apresenta parede celular com maior resistência a digestão devido a sua composição de multicamadas de celulose e hemicelulose no interior da célula e na parte externa, esporopolenina e politerpenos, que dão maior resistência à célula à ataques biológicos. Espécies como *Dunaliella* sp. e *Pavlova_cf* sp. que não possuem parede celular, ou *Chlamydomonas* sp., *Euglena* sp. e *Tetraselmis* sp. que contem paredes celulares compostas de glicoproteínas, apresentaram maiores taxas de produção de metano por não conterem compostos recalcitrantes.

Espécies como *Chlorella* sp. e do grupo das cianobactérias também são de difícil digestão devido a parede celular composta de polissacarídeos, o que dificulta o processo de hidrólise (OKUDA, 2002; Mussgnug *et al.*, 2010; Bohutskyi *et al.*, 2014). Segundo Hendriks e Zeeman (2009), processos hidrolíticos térmicos sob temperaturas mais elevadas (150-180°C) são capazes de solubilizar estes compostos mais complexos de celulose e hemicelulose.

Processos de hidrólise são uma alternativa que procuram acelerar o processo natural de autólise celular, através de processos físicos, químicos e físico-químicos. Esses processos agem primeiramente sobre a biomassa promovendo a solubilização da matéria orgânica (DQOs), e são responsáveis pelo subsequente incremento da biodegradabilidade anaeróbica (CASSINI *et al.*, 2003).

3.5.1. Produção de substâncias extracelulares poliméricas (EPS)

Os EPS são polímeros secretados por células bacterianas ou algáceas, produzidos por seu metabolismo e tendem a se acumular fora da célula, formando uma espécie de matriz gelatinosa. Essa matriz forma uma camada protetora na célula, protegendo-a de estresse ambiental, além de servir como reserva de carbono e energia (MORGAN *et al.*, 1990; CASSINI *et al.*, 2006). Esta substância complexa tem forte influência sobre a formação de flocos, coagulação e geração de biofilme do lodo. Em sistemas de tratamento de esgoto, as EPS fazem parte de uma fração dos Sólidos Voláteis Totais (SV), geralmente utilizado para estimar a atividade do lodo analisado (CASSINI *et al.*, 2006).

Os principais componentes poliméricos encontrados são carboidratos, proteínas, ácidos úricos, substâncias húmicas e DNA (WUERTZ *et al.*, 2001; LIU e FANG, 2002). De acordo com ORCEMI e VESILIND, (2002) estes compostos possuem grupos hidroxila e carboxila que podem ligar por ligações específicas proteínas e polissacarídeos, ligações hidrofóbicas, de hidrogênio ou iônicas, de forma a manter o lodo algáceo agregado. A composição específica de EPS depende das características do lodo e da forma de coleta deste.

3.6. PROCESSOS HIDROLÍTICOS APLICADOS A SISTEMAS DE MICROALGAS

Diversos processos hidrolíticos têm sido estudados ao longo das últimas décadas, a fim de promover o aumento da biodegradabilidade do lodo. Os processos hidrolíticos têm sido aplicados a lodos com diferentes características, podendo ser anaeróbios, como o de reatores UASB; aeróbios como o caso de lodos ativados e biofiltros, ou até mesmo o lodo algáceo, foco desta pesquisa.

Dentre os processos hidrolíticos existentes, destacam-se os processos térmicos e térmicos sob pressão variada; químicos com adição de soluções ácidas ou alcalinas; processos mecânicos como a centrifugação, sonicação, homogeneização e maceração; processos enzimáticos; processos por irradiação com uso de micro-ondas e os processos elétricos (BOHUTSKYI *et*

al.,2014; ALZATE *et al.*, 2012). Além destes, há a possibilidade da combinação de alguns destes tratamentos, como os processos termo-químicos e termo-enzimáticos (PASSOS *et al.*, 2014; MENDEZ *et al.*, 2013; ALZATE *et al.*, 2012).

Os processos hidrolíticos químicos têm o propósito de ativar a destruição de compostos orgânicos através de ácidos fortes, álcalis ou oxidantes sendo estes viáveis devido ao seu baixo custo e alta eficiência (MAO *et al.* 2015). Processos ácidos com o uso de soluções concentradas de ácidos ou bases fortes, têm como objetivo a solubilização de carboidratos fermentáveis, como a glicose presente nos polímeros de celulose assim como a xilose, manose, galactose, glucose e arabinose presentes nos polímeros de hemicelulose (CARRERE *et al.*, 2016).

Cada processo hidrolítico pode ser otimizado através do tempo de reação, mudança de temperatura ou pressão estabelecida, além de alterações na razão massa/volume de forma a minimizar a produção de compostos recalcitrantes e maximizar o ataque bacteriano a parede celular algácea. O principal objetivo destes processos como um todo é promover a ruptura da parede celular, reduzindo o tamanho do material particulado e a cristalinidade do material estrutural de forma a hidrolisar os polímeros, aumentando assim a solubilização e biodegradabilidade da biomassa.

3.6.1. Processo hidrolítico alcalino

Diversos autores consideram que o processo de hidrólise alcalina apresenta duplo efeito sobre a biomassa com o aumento da área superficial específica devido ao inchaço pelas reações de saponificação, e a redução da cristalinidade da celulose por clivagem de ligação de carboidratos glicosídicos. Ambos os efeitos favorecem o ataque de microrganismos anaeróbios e, conseqüentemente, a digestão anaeróbia com maior produção de biogás (MADHY *et al.* 2014; ARIUNBAATAR *et al.*, 2014; MAO *et al.*, 2015). Estes processos promovem a ruptura das ligações éster, levando ao inchaço das células algáceas de forma a aumentar a sua superfície de contato para a ação de bactérias hidrolíticas e solubilização de compostos orgânicos (COSTA *et al.*, 2013). Todavia, alguns compostos solubilizados podem induzir a formação de subprodutos potencialmente tóxicos à metanogênese (CARRERE *et al.*, 2016).

Um aspecto relevante observado neste processo, é que a biomassa pode consumir parte da dosagem do álcali aplicado, necessitando assim de maiores dosagens deste reagente para a digestão anaeróbia desejada (ARIUNBAATAR *et al.*, 2014; MAO *et al.*, 2015).

O reagente hidróxido de sódio (NaOH) tem sido considerado um dos reagentes alcalinos mais eficientes na produção de biogás (MOSIER *et al.*, 2005). O aumento da dosagem deste álcali leva ao aumento da degradação das moléculas de celulose e hemicelulose, com aumento da produção de metano. Além disso, o incremento de pH também altera a pressão osmótica celular, resultando a solubilização de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e lise celular (ZHANG *et al.*, 2015).

Almeida (2003), Andrade (2004) e Cassini *et al.* (2006) realizaram pesquisas acerca do comportamento de lodos aeróbios de biofiltros e anaeróbios de reatores UASB submetidos a hidrólise ácida e alcalina. Na pesquisa em questão foi destacada a melhor eficiência do uso do reagente alcalino na solubilização de matéria orgânica (DQOs) e destruição de sólidos voláteis (SV), além do melhor ataque deste reagente a compostos poliméricos (EPS), representados principalmente por carboidratos, proteínas e lipídeos. Andrade (2004) identificou maior teor de EPS (mgEPS/gSSV) no lodo aeróbio, quando comparado ao lodo anaeróbio, devido a maior disponibilidade de oxigênio para o metabolismo de microrganismos.

ZHANG *et al.*, 2015, realizaram ensaios de processos hidrolíticos alcalinos para amostras de lodo aeróbio do sistema de lodos ativados, avaliando a influência do alto teor de sólidos no processo de solubilização de matéria orgânica, carboidratos e proteínas. Os valores médios de sólidos totais (ST) atingidos foram de 15%, em dosagens de 20, 40, 60 e 80 mg de NaOH/gST. Os autores notaram um aumento significativo na DQO solúvel (DQOs) a partir da dosagem de 40 mg de. A partir da dosagem de 40 mg de NaOH/gST, houve menor taxa de solubilização de DQO e menor incremento dos valores de pH (pH 9,92 em 40mg de NaOH/gST, pH 10,35 em 60 mg de NaOH/gST e pH 10,63 em 80 mg de NaOH/gST). Resultados similares foram encontrados por Li *et al.* (2012,2013).

Ainda de acordo com a pesquisa realizada por Zhang *et al.*, (2015), após 1h de hidrólise, houve aumento do grau de solubilização de DQO de 1,83%; 6,28%; 8,24% e 10,36% para os valores de dosagem de 20, 40, 60 e 80 mgNaOH/gST, respectivamente, além do aumento da concentração de carboidratos e proteínas solúveis. Após a dosagem de 80mg de NaOH (pH 10,63) as concentrações de carboidratos e proteínas solúveis aumentaram consideravelmente em relação ao controle, sugerindo uma maior decomposição de EPS e células.

BOHUTSKYI *et al.*, (2014) realizou ensaios de solubilidade de DQO (DQOs) a partir de processos hidrolíticos químicos para diferentes espécies de microalgas, observando diferentes resultados de acordo com a composição de suas paredes celulares. Enquanto a DQOs do lodo de *Chlorella* sp. e *Nannochloropsis* sp. aumentaram de 70% e 48% comparadas a amostra controle, a porcentagem de DQOs comparada a DQO total do lodo representou apenas 23% para *Chlorella* sp. e 33% para *Nannochloropsis* sp. Esta baixa solubilidade pode ser justificada pela composição de suas paredes celulares, com presença de hemicelulose, celulose e pectina (Takeda *et al.*, 1991). O resultado mais significativo de solubilização ocorreu com adição de NaOH ao lodo de *Tetraselmis* sp., demonstrando que a DQOs dobrou de valor, comparada a amostra controle, equivalendo a 72% da DQO total. Estes resultados estão de acordo com demais artigos que estudam processos hidrolíticos para ruptura de parede celular bacteriana, isto porque a parede celular da espécie *Tetraselmis* sp. é similar a parede celular bacteriana, a base de glicoproteínas (KIM *et al.*, 2003; BOHUTSKYI *et al.*, 2014; DOMOZYCH, 1984).

A Tabela 4 apresenta uma revisão de processos hidrolíticos alcalinos realizados por diversos autores.

Tabela 4: Revisão de processos hidrolíticos alcalinos.

Dosagem álcali	Tempo de reação	Biomassa	Parâmetros analisados	Referencias
16.5 g.g-1 de NaOH, 25°C	2h	Diferentes amostras de celulose	Digestibilidade enzimática; porcentagem de conversão da morfina de celulose I em II.	MITTAL <i>et al.</i> , 2011
20, 40, 80 e 100 meq NaOH.L-1, 25°C	8h	Lodo anaeróbico e lodo aeróbico.	SV, DQOsolúvel, carboidratos, lipídeos, e cinética de reação.	CASSINI <i>et al.</i> , 2006
20, 40, 60,80 mg NaOH.gST-1, 4°C	24h	Lodo aeróbio em alta concentração	DQOsolúvel, carboidratos e lipídeos, NTK, AOV.	ZHANG <i>et al.</i> , 2015
0- 21g NaOH.L-1	-	Diferentes amostras de biomassas algas ¹	DQOsolúvel, SV, produção de biometano	BOHUTSKYI <i>et al.</i> , 2014
0.05, 2.5 e 5.0% g NaOHgST-1, 50°C	24 e 48h	Biomassas de Chlorella sp. e Scenedesmus sp	DQOsolúvel, carboidratos e produção de metano	MAHDY <i>et al.</i> , 2014
8g NaOH.L-1, 27°C	24h	Lodo de microalga derivada de extração de óleo	DQOsolúvel, proteínas, carboidratos e AOV.	YANG <i>et al.</i> , 2010
Estabelecidas faixas de pH 8.0, 9.0, 10.0 e 11.0, com NaOH 2N, 21°C.	-	Lodo aeróbio de lodos ativados	SST, SSV , DQO solúvel, DQO total, carboiratos lipídeos e proteínas.	CHEN <i>et al.</i> , 2007
pH 9, 11, e 13 com 5N NaOH.	-	Consórcio Chlorella sp. e Scenedesmus sp	DQO solúvel, AOV, produção de metano e de energia	CHO <i>et al.</i> , 2013

FONTE: Produzida pelo próprio autor.

¹ Chlorella sp.; Nannochloropsis sp.; Thalassiosira weissflogii ;Tetraselmis sp.; e Pavlova_cf sp.

3.6.2. Processo hidrolítico térmico

Processos de hidrólise térmica têm sido estudados a fim de aumentar a taxa de produção de metano na digestão anaeróbica de microalgas e já puderam ser aplicados em escala industrial com sucesso (CARRERE *et al.*, 2010; PASSOS

et al., 2013; ARIUNBAATAR *et al.*, 2014). Segundo Carrere *et al.* (2016), estes processos realizam o aquecimento da biomassa a fim de promover a liberação de ácido acético, atuando como catalizador no processo de hidrólise de polímeros de hemicelulose, e de celulose. Nestes, temperaturas variando de 50°C a 170°C tem sido aplicadas, podendo as técnicas serem divididas em três categorias: baixas temperaturas (< 100°C); hidrotérmicos (> 100°C, sob pressão) e altas temperaturas sob altas pressões (140-170°C, 4-6 atm).

Como dito anteriormente, processos de hidrólise sem adição química e sob baixas temperaturas têm sido bastante explorados a fim de melhorar a biodegradabilidade da matéria orgânica e assim aumentar a taxa de produção de metano. Passos *et al.* (2013) afere que tratamentos a baixas temperaturas (< 90°C) tem mostrado sua efetividade na solubilidade de microalgas e situações de temperaturas mais amenas (<55°C) e oxigênio dissolvido (OD) limitado podem favorecer a liberação de enzimas hidrolíticas no meio, dispensando a necessidade de catalisadores para o processo térmico.

Dentre as vantagens da aplicação de baixas temperaturas para os processos hidrolíticos, está a baixa demanda energética para o aquecimento da biomassa.

Passos e Ferrer (2014), estudaram o efeito da hidrólise térmica em biomassa algácea à baixas temperaturas em reatores sobre diferentes tempos de detenção hidráulico (TDH) de 15 e 20 dias, e temperaturas de 75°C e 95°C. Segundo os autores, em ambos reatores houve incremento da taxa produção de metano após os processos hidrolíticos térmicos. No reator com TDH de 15 dias, a taxa de produção de metano atingiu incremento de 33%, porém, a produção final de metano não foi significativa (aumento de 20%), mostrando baixa produção de metano pela digestão biomassa algácea. Este resultado sugere que o tempo de detenção escolhido é menor que o requerido para a conversão de metano pela digestão das espécies de microalgas presentes.

Para o reator TDH de 20 dias, a taxa de produção de metano foi estatisticamente maior após ambos processos hidrolíticos térmicos, com aumento de 72 e 67% na taxa de produção metano para as temperaturas de 95 e 75°C, respectivamente. Isto sugere que o tempo de reação para os

processos hidrolíticos pode ser mais significativo que o processo hidrolíticos escolhido, quando levada em consideração a produção de metano.

Zhang *et al.* (2015) realizaram ensaios de processos hidrolíticos térmicos para amostras de lodo aeróbio do sistema de lodos ativados avaliando a influência do alto teor de sólidos no processo de solubilização de matéria orgânica, carboidratos e proteínas. Foram utilizados ensaios com valores de sólidos totais médios de 15%, em temperaturas de 80, 100 e 120°C. A hidrólise por via térmica resultou na quebra de pontes químicas de macromoléculas e desta forma, EPS e material orgânico intracelular do lodo aeróbio foi degradado e liberado, resultando maior solubilização de matéria orgânica (DQO). Foi observado que após 1h de hidrólise, houve aumento da taxa de solubilização de 2,38; 4,78 e 7,46% para os valores de temperatura de 80°C, 100°C e 120°C, respectivamente. A concentração de carboidratos e proteínas solúveis também aumentou com o acréscimo de temperatura, e carboidratos obtiveram maior solubilização, quando comparado às proteínas e submetidos a mesma temperatura.

Bougrier *et al.* (2008) identificaram que carboidratos estão presentes principalmente em substâncias exopoliméricas (EPS) excretadas por células, enquanto as proteínas se localizam principalmente no interior das células. Assim, temperaturas mais altas podem destruir tanto EPS quanto a parede celular de microrganismos. Alguns autores afirmam que células microbianas começam a se romper para liberação de carboidratos e proteínas solúveis a partir da temperatura de 90°C (APPELS *et al.*, 2010; YAN *et al.*, 2013).

A Tabela 5 apresenta uma revisão de processos hidrolíticos térmicos realizada por diversos autores.

Tabela 5: Revisão de processos hidrolíticos térmicos.

Temperaturas	Tempo de reação	Biomassa	Parâmetros analisados	Referencias
100°C	8h	Consórcio de algas (lagoas de alta taxa)	Produção de metano	CHEN e OSWALDO, 1998
70°C, 90°C	3h	Scenedesmus sp	DQO total, DQO solúvel, AOV, NH ₄ ⁺ , efeito da	GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ <i>et</i>

			hidrólise na parede celular algácea, produção de metano	<i>al.</i> (2012a)
70°C, 80°C	25 min.	Scenedesmus sp	ST, SV, DQO total, DQO solúvel, NTK, ortofosfato, tamanho de partículas, produção de biogás, AOV.	GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ <i>et al.</i> (2012b)
50°C, 80°C	30 min	Consórcio Chlorella sp. e Scenedesmus sp	DQO total, DQO solúvel, AOV, produção de metano e de energia	CHO <i>et al.</i> , 2013
55°C, 95°C	5–15 h	Consórcio de algas (lagoas de alta taxa)	ST, SV, DQO total, DQO solúvel, lipídeos, carboidratos e proteínas produção de metano	PASSOS <i>et al.</i> , 2013a
75°C, 95°C	10h	Consórcio de algas (lagoas de alta taxa)	DQO total, DQO solúvel, AOV, NTK, NH ₄ ⁺ , efeito da hidrólise na parede celular algácea, gasto energético, produção de metano	PASSOS e FERRER, 2014
100°C, 120°C	8h; 4h	Lodo de microalga derivada de extração de óleo	DQO solúvel, proteínas, carboidratos e AOV.	YANG <i>et al.</i> , 2010
80°C, 100°C, 120°C	1h	Lodo aeróbio em alta concentração	DQO solúvel, carboidratos e lipídeos, NTK, AOV.	ZHANG <i>et al.</i> , 2015
121°C, 10 bar	30 min.	Diferentes amostras de biomassas algas ¹	DQO solúvel, SV, produção de biometano	BOHUTSKYI <i>et al.</i> , 2014

FONTE: Produzida pelo próprio autor.

¹ Chlorella sp.; Nannochloropsis sp.; Thalassiosira weissflogii ;Tetraselmis sp.; e Pavlova_cf sp.

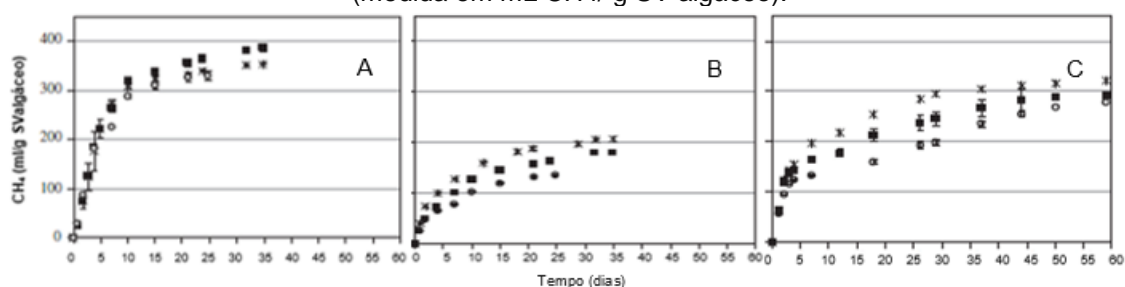
3.7. INFLUÊNCIA DO TEOR DE SÓLIDOS NO LODO ALGÁCEO

Diversos autores têm estudado a influência da concentração de sólidos na solubilização da matéria orgânica e produção de biogás. Park *et al.* (2010) estudaram o efeito da solubilização de matéria orgânica de lodos ativados

submetidos à radiação de micro-ondas, identificando, através de análise de superfície de resposta (RSA), se havia relação entre o grau de solubilização da matéria orgânica com as variáveis potência, temperatura e teor de sólidos totais (ST). Foram estudados três diferentes valores de potência, temperatura, e sólidos em teores de 1, 2 e 3%. Segundos estes autores, foi possível aferir que estas variáveis estão estreitamente correlacionadas, e a melhor resposta do grau de solubilização se deu para potência de 400 W, temperatura de 102°C e ST à 2,3%.

Experimentos realizados por ALZATE *et al.* (2012) mostraram relações estreitas entre produção de metano e concentração de sólidos totais. Mudanças no teor de sólidos em três diferentes espécies de lodo de microalgas (A, B e C), em uma razão substrato/inóculo constante, mostrou mudanças significativas de produção de metano com as diferentes concentrações de lodo algáceo. A redução do teor de sólidos de 1 para 0,3% de ST em A (SV/ST=0,79), B (SV/ST= 0,83) e C (SV/ST=0,90), causaram redução da produção de metano de 15%, 15% e 5%, respectivamente. Da mesma forma, um aumento na concentração de 1 para 2% de ST aumentou a produção de metano no lodo B e C em, 15 e 10% respectivamente. A Figura 6 mostra que a taxa de produção de metano nos primeiros 5 dias foi favorecida pelo aumento da concentração de ST.

Figura 6: Influência da concentração de sólidos do lodo algáceo na produção de metano (medida em mL CH₄/ g SV algáceo).



FONTE: Adaptado de ALZATE *et al.* (2012).

CHO *et al.* (2005) destacam que, para a produção específica de metano, levando em consideração a razão substrato/ inóculo, quando o substrato se encontra em baixas concentrações, a média de ácidos orgânicos voláteis em contato com microorganismos formadores de metano pode se encontrar abaixo do ponto de saturação, reduzindo assim o potencial de formação deste gás. Em contrapartida, altas concentrações de substrato evitam a formação de um

gradiente de substrato entre a parte líquida e o interior dos grânulos ou flocos do lodo anaeróbio, sendo assim favorável ao alcance do ponto de saturação e produção máxima de biogás.

Desta forma, tendo como base as pesquisas citadas acima, o lodo algáceo hidrolisado pode ser considerado o substrato utilizado como fonte de ácidos orgânicos voláteis para a produção de biogás por archeas metanogênicas do lodo anaeróbio. A partir destes estudos é possível identificar que a maior concentração de sólidos no lodo terá influência positiva na solubilização de matéria orgânica e produção de biogás.

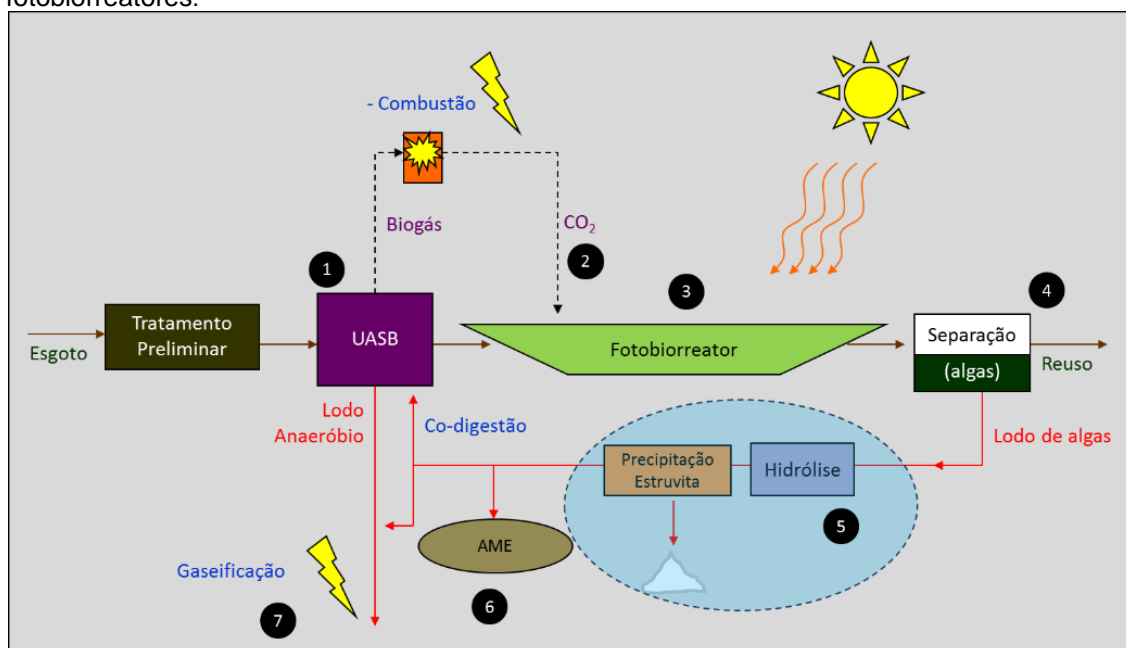
4. METODOLOGIA

4.1. DESCRIÇÃO DOS SISTEMAS DE TRATAMENTO

O projeto proposto consta de um sistema integrado com microalgas a ser desenvolvido em escala piloto em uma base experimental localizada na Estação de Tratamento de Esgotos Sanitários (ETE), da Companhia Espírito Santense de Saneamento (CESAN), no bairro Araçás em Vila Velha, ES.

Todos os processos de tratamento de esgoto integrados ao sistema a base de microalgas estão ilustrados na Figura 7. O esgoto bruto será captado e submetido a um tratamento preliminar com o objetivo de remover sólidos grosseiros, óleos e graxas e areia, por meio de mecanismos de ordem física. O efluente pré-tratado será direcionado para o processo de tratamento secundário anaeróbio, constituído por reatores anaeróbios do tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) em escala piloto, para tratamento biológico com redução da carga orgânica e nutrientes (1). O CO₂ resultante da incineração do biogás gerado nos reatores anaeróbios será injetado no sistema de microalgas (fotobiorreatores) a fim de favorecer a fotossíntese, controlar o pH, e com isso aumentar o crescimento da biomassa algácea (2). O pós tratamento do efluente secundário ocorrerá em fotobiorreatores tubulares fechados e lagoas de alta taxa (3). A fim de aproveitar o lodo algáceo, os efluentes dos fotobiorreatores passarão por um processo de separação sólido-líquido (4), em que o efluente filtrado poderá ser direcionado ao reuso e o lodo coletado para ensaios de hidrólise e precipitação de estruvita (5), além de ensaios de atividade metanogênica específica (AME) (6) e gaseificação do lodo anaeróbio para produção de energia (7).

Figura 7: Esboço de um sistema de tratamento integrado ao sistema de microalgas em fotobiorreatores.



FONTE: Gonçalves, 2005.

Para coleta de algas, foi criado um sistema piloto para ser aplicado em uma lagoa de estabilização da estação de tratamento de esgoto da CESAN (Companhia Espírito Santense de Saneamento), composta de um sistema anaeróbico (UASB) seguido de lagoa de estabilização localizada no bairro Vale Encantado em Vila Velha (Figura 8). Os dados de projeto da lagoa estão registrados na Tabela 6.

O sistema piloto é composto de um flocculador/decantador móvel, denominado Polilag (Figura 9a). O piloto possui um sistema de sucção de efluente (bomba submersa e mangote), tanque flocculador com uma bomba dosadora de coagulante/polímero, bomba dosadora de ácido para controle de pH, tanque decantador e mangote para descarte de efluente extravasado (9b). O equipamento foi desenvolvido para aplicação em estações de tratamento de esgoto composta por sistemas de lagoas, visando coletar microalgas presentes no efluente tratado para posterior caracterização e utilização.

Tabela 6: Dados de projeto ETE Vale Encantado.

Vazão de operação (Q), L/s	3,5 L/s
População atendida (hab.)	2906 hab.
Altura da lâmina d'água (m)	3,5 m

Área da lagoa (m ²)	11016 m ²
---------------------------------	----------------------

FONTE: CESAN.

Para coleta do lodo algáceo, amostras da lagoa foram bombeadas a uma profundidade de cerca de 50 cm da superfície e à uma distância de 25 metros a partir da saída do efluente do reator UASB (Figuras 10). O sistema Polilag funcionou sob uma vazão de entrada média de 0.8L/s, contando com dosagem de 2 mL/s do coagulante Tanfloc SL à uma concentração de 25% (p/v) por um período de 4 horas de operação (Tabela 7).

Tabela 7: Dados Polilag

Sistema Polilag	
Vazão média de entrada	800 mL.L ⁻¹
Dosagem Tanfloc SL	93,8 mg.L ⁻¹
Concentração Tanfloc SL	25% (p/v)
Tempo de detenção	4 h
Concentração biomassa	0,1% ST
Eficiência média de remoção de turbidez*	86%

*Considerando um período de reação total de 4h de ensaio.

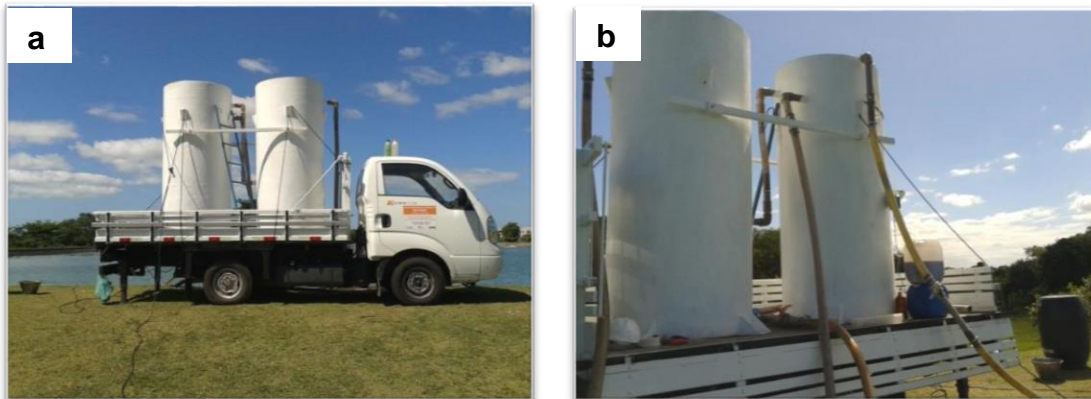
FONTE: Própria autora.

Figura 8- (a) Vista in loco do ponto de coleta. (b) Vista superior da ETE Vale Encantado produzido pelo Google Earth®. (1) Caixa de areia; (2) Reator UASB; (3) Saída efluente UASB; (4) Ponto de coleta Polilag; (5) Lagoa de estabilização; (6) Desaguador de lodo.



FONTE: Própria autora.

Figura 9: (a) Sistema Polilag; (b) Sistemas de mangotes para coleta de efluente e descarte do efluente extravasado.



FONTE: Própria autora.

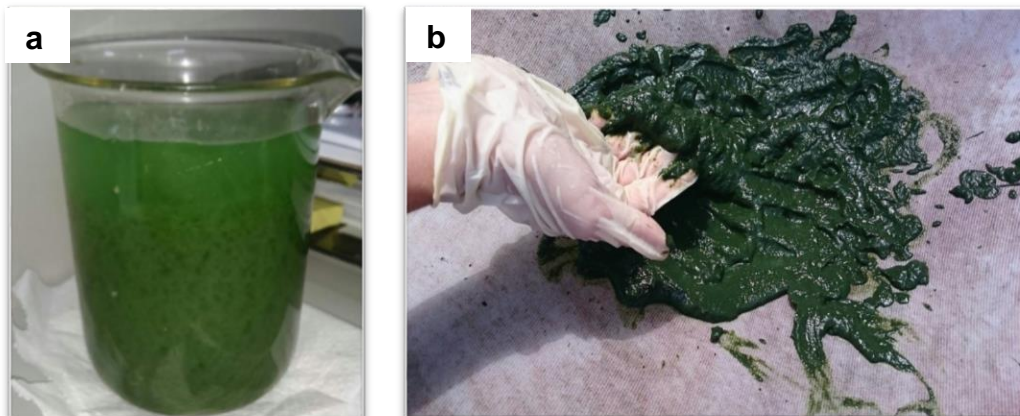
Figura 10: Sistema de tratamento de esgoto UASB + lagoa de estabilização localizado na ETE Vale Encantado, com a saída do efluente do reator indicado pela seta.



FONTE: Própria autora.

Para aumentar a concentração do lodo algáceo coletado, foi utilizada uma técnica de adensamento do lodo algáceo a fim de obter uma concentração final de 3-4% de ST (Figura 11b). O método utilizado para adensamento foi por meio de telas filtrantes para obter a concentração final de sólidos desejado (Figura 12).

Figura 11: Lodo algáceo à 0,1% de ST (a). Lodo algáceo à 4% de ST (b).



FONTE: Própria autora.

Figura 12: Sistema de telas filtrantes utilizado para concentração da biomassa.



FONTE: Própria autora.

4.2. CARACTERIZAÇÃO DO LODO ALGÁCEO

Após coletado o lodo algáceo, foram realizadas análises para sua caracterização. Análises de contagem de células e identificação das espécies algáceas foram realizadas a partir do uso de microscopia invertida (Carl Zeiss AxioSter plus HBO 50, Germany).

A caracterização do lodo algáceo foi realizada a fim de comparar os processos hidrolíticos a partir de amostra bruta (controle) e amostras após os processos hidrolíticos (Tabela 8).

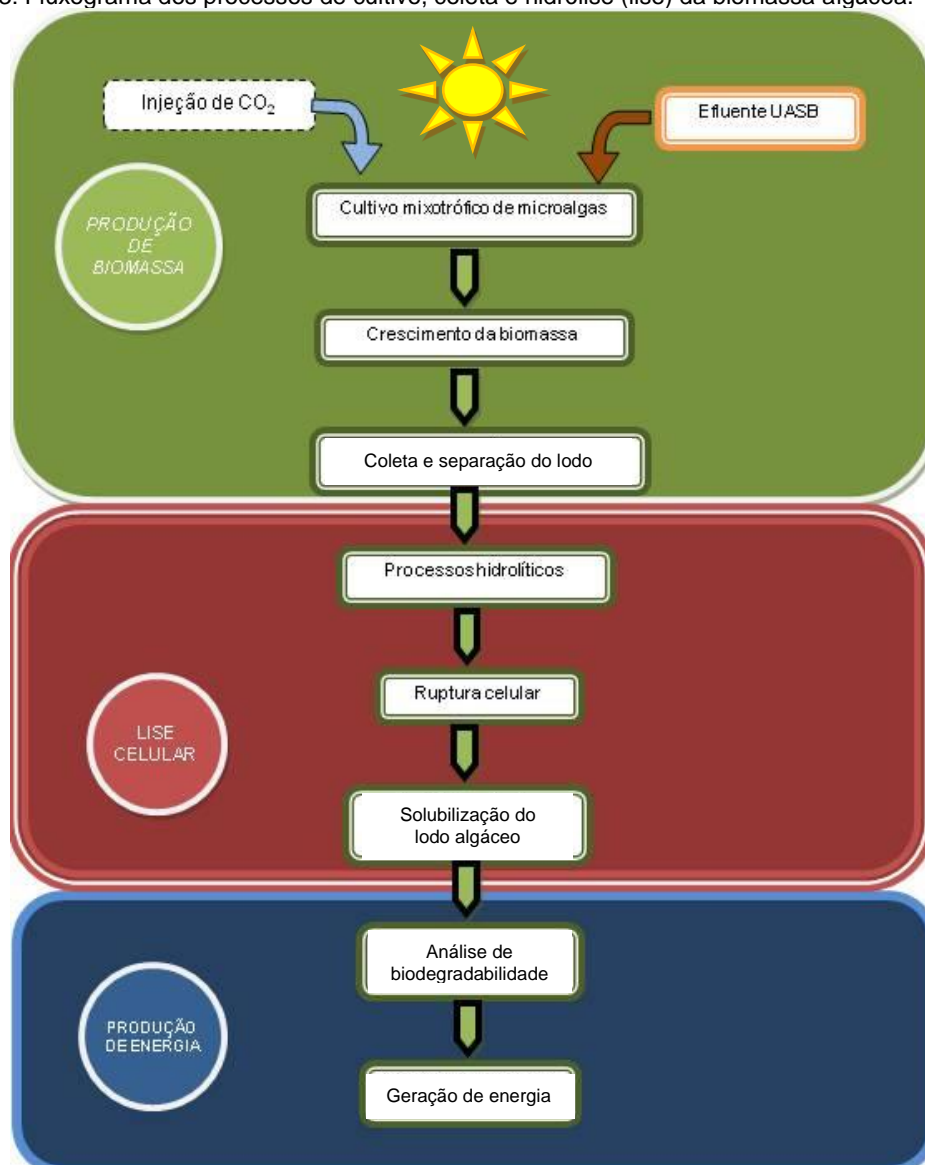
Tabela 8: Análises de caracterização e princípios dos métodos de análise.

Análise	Princípio do método	Referência
Determinação de pH	Eletrométrico	APHA, 2012
Sólidos Totais (ST)	Gravimetria	APHA, 2012
Sólidos Suspensos Totais (SST)	Gravimetria	APHA, 2012
Sólidos Voláteis Totais (SV)	Gravimetria	APHA, 2012
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	Gravimetria	APHA, 2012
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Colorimetria	APHA, 2012
Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK)	Titulometria	APHA, 2012
Fósforo Total (P _{tot})	Colorimetria	APHA, 2012
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄)	Titulometria	APHA, 2012
Ortofosfato (PO ₄ ⁻)	Colorimetria	APHA, 2012
Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV)	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	APHA, 2012
Carboidratos	Colorimetria	DUBOIS <i>et al.</i> , 1956
Proteínas	Fator de conversão a partir de NTK	LOURENÇO, 2006
Contagem de partículas	Infravermelho	NAEGELE <i>et al.</i> , 2014
Contagem de células	Microscopia eletrônica	LUCARINI <i>et al.</i> , 2002
Contagem de heterotróficos	Placa de Petri	APHA, 2012
Identificação de espécies algáceas	Microscopia eletrônica	BICUDO, 2006

4.3. HIDRÓLISE DO LODO ALGÁCEO

Os processos de produção, coleta e hidrólise do lodo algáceo estão detalhados no fluxograma da Figura 13. As metodologias dos processos hidrolíticos (PH) tiveram como base critérios adotados por YANG *et al.* (2010), com modificações. O controle da amostra para os ensaios de biodegradabilidade foi realizado à temperatura ambiente, durante intervalo de tempo de 240 minutos (4h), sem a adição de reagente químico ou acréscimo de temperatura (Tabela 9).

Figura 13: Fluxograma dos processos de cultivo, coleta e hidrólise (lise) da biomassa algácea.



FONTE: Adaptado de DEVI *et al.* (2012).

4.3.1. Hidrólise alcalina

Para o processo de hidrólise alcalina, foi adicionado o reagente químico NaOH (1M) ao lodo algáceo. As variáveis de temperatura (T, em °C) e pH foram mensuradas com pHmetro AKSO® AK103, com eletrodo Sensorex® para sólidos e eletrodo com controle de temperatura.

A solução alcalina de NaOH 1M, foi dosada para três diferentes valores de pH (10,11,12). Uma solução de 100 meq de NaOH/L foi utilizada para elevar o pH

da amostra até pH 12, 65 meq de NaOH/L para elevar o pH da amostra até pH 11

11 e solução de 45 meq de NaOH/L para elevar o pH da amostra até pH 10. Os ensaios ocorreram à temperatura ambiente (27°C), durante um intervalo de tempo de 240 min (4h). Foi coletada amostra semanal e o lodo do decantador, após concentrado, foi distribuído em béqueres de 500mL para as diferentes dosagens de pH e mantidos sob agitação com auxílio de um agitador magnético durante todo o teste (Tabela 9).

4.3.2. Hidrólise térmica

Para o processo de hidrólise térmica, foi utilizado banho-maria (Modelo SP-06/100EA) de forma a elevar as temperaturas até os valores de 70, 80, 90°C. A temperaturas das amostras foram controladas com uso de termômetro em escala de mercúrio externo (ICOTERM®) (Tabela 9).

A evaporação das amostras foi controlada com adição de água destilada e reposição de água no banho-maria a fim de não interferir na concentração final de sólidos do lodo algáceo. A homogeneização da amostra foi realizada manualmente com bastão de vidro a cada 30 min (Figura 14).

Figura 14- Ensaio em banho-maria para hidrólise térmica.



FONTE: Própria autora.

Este processo ocorreu em pH 7,0 (+- 0,3), durante um intervalo de tempo de 240 min (4h). Foi coletada amostra semanal e o lodo do decantador, depois de concentrado, foi distribuído em béqueres de 500mL e mantidos sob banho-maria em temperaturas diferentes, com agitação manual a cada 30 minutos, durante todo o teste.

Tabela 9: Condições de hidrólise.

Processos de hidrólise	Condições adotadas para o processo	Equipamentos
Controle (C)	27°C por 240 min.	-
Processo alcalino (A)	45, 65 e 100meq de NaOH/L por 240 min. à 27°C	Chapa com agitação; pHmetro.
Processo térmico (T)	70, 80 e 90°C por 240 min. pH 7,0 (+- 0,3)	Banho-maria; termômetro

FONTE: Própria autora.

4.4. CINÉTICA DE SOLUBILIZAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA

Para a análise em questão, foram coletadas alíquotas de 40mL de amostra nos primeiros 10, 20 e 30 minutos para ambos processos hidrolíticos e, depois da primeira meia hora, a cada 30 minutos até o término do tempo de reação dos processos (240 minutos).

As amostras de lodo coletadas foram centrifugadas à 3500 rpm, durante 20 minutos, e em seguida o sobrenadante filtrado em membranas de fibra de vidro (microfiltro fibra de vidro GF-1 47 mm, M.NAGEL®) de porosidade variada para posterior análise de matéria orgânica filtrada (DQOs).

O grau de solubilização da matéria orgânica (%DQOs) foi calculada com base na fórmula (1):

$$\% \text{ DQOs} = \frac{DQOs_f - DQOs_i}{DQO_t} * 100 \quad (1)$$

Em que:

DQOs_f = concentração final da Demanda Química de Oxigênio da amostra filtrada.

$DQO_{s,i}$ = concentração inicial da Demanda Química de Oxigênio da amostra filtrada.

DQO_t = concentração total da Demanda Química de Oxigênio (amostra controle)

Para cálculo da equação de gerada pela cinética de reação da matéria orgânica, foi utilizada a fórmula de velocidade de reação considerando produção de produto final com aumento da concentração de DQOs, de acordo com a fórmula (2):

$$K.C = \frac{dC}{dt} \quad (2)$$

Integrando a equação (2), tem-se:

$$\ln C_f = \ln C_i + k.t \quad (3)$$

Em que:

C_f = Concentração final de DQO solúvel para o tempo t (DQO)

C_i = Concentração inicial de DQO solúvel no tempo t=0 (DQO_0)

t = intervalo de tempo de reação

K = Constante da velocidade de reação, para temperaturas constantes.

A equação (3), foi associada a função de primeiro grau (4) e assim definida a equação da cinética de primeira ordem.

$$y = a.x + b \quad (4)$$

Em que:

y = Variável dependente associada à $\ln C_f$

a = Coeficiente angular da reta, associado à k

b= Coeficiente linear da reta, associado a $\ln C_i$

x= Variável independente, associada ao intervalo do tempo de reação (t)

4.5. REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS

Análises de SST e SV foram realizadas a fim de avaliar a ruptura de células algáceas (SST) e solubilização de compostos orgânicos (SV) nas amostras de lodo algáceo.

A porcentagem de redução de sólidos foi realizada a partir da equação (5):

$$\%S = \frac{(S_f - S_i)}{S_i} \quad (5)$$

Em que:

%S= Porcentagem de redução da concentração de sólidos

S_f= Concentração de Sólidos final

S_i= Concentração de Sólidos inicial

4.6. SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES

A fim de avaliar a disponibilidade de nutrientes no efluente a partir dos processos hidrolíticos, análises de Nitrogênio Total pelo método Kjeldhal (NTK), Nitrogênio Amoniacal (N-NH₄), Fósforo Total (P_{tot}), e Ortofosfato (PO₄⁻) foram realizadas.

As amostras de lodo foram centrifugadas à 3500 rpm, durante 20 minutos, e em seguida o sobrenadante filtrado em membranas de fibra de vidro (microfiltro fibra de vidro GF-1 47 mm, M.NAGEL®) de porosidade variada para posterior análise de amostras filtradas.

Foram realizadas análises de NTK do lodo bruto e filtrado antes do processo de hidrólise, e da amostra filtrada após os processos de hidrólise para as diferentes condições de pH e temperatura no tempo de reação.

Para análise de N-NH₄, foram utilizadas amostras de lodo algáceo filtrado antes e após os diferentes processos de hidrólise, para as diferentes condições de pH e temperatura no tempo de reação.

Análises de fósforo foram realizadas para caracterização do lodo bruto, antes dos processos e análises de ortofosfato foram realizadas para análise das amostras de lodo filtradas após os diferentes processos hidrolíticos.

4.7. DETERMINAÇÃO DE EXOPOLÍMEROS SOLÚVEIS

A solubilização de substâncias exopoliméricas (EPS) foi avaliada a partir de análises de carboidratos solúveis e proteínas solúveis, segundo o método DUBOIS *et al.*, 1956 e Lourenço 2006, respectivamente.

As alíquotas de amostra filtrada de lodo algáceo seguiram a metodologia descrita em 4.6.

4.7.1. Solubilização de carboidratos totais livres

Para a análise em questão, retirou-se uma alíquota de 1 mL de amostra filtrada, adicionando-se 1 mL de solução fenol à 5% e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. O reagente ácido foi adicionado rapidamente na superfície do líquido de forma a promover uma boa mistura. Os tubos de ensaio são deixados em repouso por 10 minutos e, após este período são agitados e depois colocados em banho-maria entre 25 e 30°C por 15 minutos. A absorbância é lida em 490nm para a leitura de moléculas de D-Glicose. É importante que seja preparada a amostra do branco e que a amostra esteja numa concentração dentro dos limites de detecção de leitura. Foi estabelecido para leitura das amostras, concentrações de Glicose de 100 a 500 mg/L.

4.7.2. Solubilização de proteínas totais

Para a análise de proteínas solúveis foi utilizado o fator de conversão descrito por Lourenço, (2006) em que o valor encontrado na análise de nitrogênio total pelo método Kjeldahl (NTK) da amostra filtrada é multiplicado pelo fator 4,71.

4.7.3. Determinação de ácidos orgânicos voláteis

A análise dos ácidos orgânicos presentes na amostra 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 (100 x 2,1 mm, 2,6 µm, 100 nm).

Para as análises foram injetadas 50 µL dos padrões e amostras filtradas de acordo com o descrito em 4.6. A análise da pureza do pico será realizada ao longo de um intervalo de comprimento de onda de 200 a 300 nm. A eluição foi realizada em gradiente isocrático, com solução de H₃PO₄ (10 mM) em água ultra pura. O fluxo utilizado nas análises será de 0,200 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida a 37°C, durante todos os experimentos. Todas as soluções preparadas para compor as fases móveis serão previamente filtradas e mantidas por 15 min em banho de ultrason (Limpsonic®, Brasil) antes de serem utilizadas. Para a identificação e quantificação dos AGVs foi aplicado o padrão dos ácidos de acordo com a Tabela 10.

Tabela 10: Soluções padrão de ácidos orgânicos.

Ácidos Orgânicos	Faixa de concentração
Oxálico	0,1 a 1 mg/L
Maleico	0 a 0,4 mg/L
Malônico	0,2 a 10 mg/L
Fórmico	0,2 a 10 mg/L
Acético	0 a 20 mg/L
Propiônico	0, 2 a 20 mg/L
Isobutírico	0,2 a 20 mg/L
Butírico	0,1 a 20 mg/L

4.8. DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA DA BIOMASSA ALGÁCEA.

O padrão de distribuição das partículas, bem como o volume que estas ocupam na amostra coletada, foi avaliado através da utilização do Contador de Partículas Líquidas da Série Beckman Coulter®, equipado com um sensor HIAC HRLD+ 400. O sensor possui um limite de detecção de 10.000 partículas/mL de amostra, com uma vazão de 60mL/min e é capaz de detectar e quantificar partículas na faixa entre 2,02 μm e 298 μm .

Para contagem de partículas das amostras filtradas do lodo antes e após os processos hidrolíticos foram utilizadas diluições na ordem de 1:20, a fim de impedir o entupimento do sensor e respeitar o limite de detecção. Após as diluições, posicionou-se então o frasco contendo a amostra no contador, definiu-se a velocidade de agitação em 280 rpm, e realizou-se a tomada de amostra pelo software PharmSpec 3.0. Definiu-se 10 mL como volume de amostra e foi descartada a primeira leitura. Foram realizadas duas leituras adicionais e, a partir dos valores encontrados, calculou-se a média destes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DO LODO ALGÁCEO

A concentração máxima da biomassa obtida no decantador do sistema piloto foi de 0,1% de Sólidos Totais (ST). Após análises do lodo algáceo à 0,1% ST, foi observado que os processos hidrolíticos não atingiram resultados esperados, mostrando baixa solubilidade da matéria orgânica (DQOs) em relação a biomassa bruta (DQOt). Desta forma, foi desenvolvida uma técnica de adensamento do lodo algáceo a fim de obter uma concentração final de 3 a 4% de ST por meio de telas filtrantes.

O lodo algáceo adensado apresentou uma concentração de sólidos totais de 35,1g/L, ou seja, um teor de sólidos de 3,5%. De acordo com as análises, este é composto principalmente de material orgânico, com sólidos voláteis representando 89% do conteúdo total de sólidos da amostra. Deste material orgânico, pode-se identificar predomínio de sólidos suspensos, visto que é um lodo mixotrófico característico de lagoas de especialização, com grande presença de algas, fungos, protozoários e rotíferos (Tabela 11).

Tabela 11: Caracterização da biomassa algácea.

Lodo algáceo misto	Amostra bruta					Amostra filtrada				
	n	média	DP	máx.	mín.	n	média	DP	máx.	mín.
ST (g/L)	6	35.1	3	38	33	6	0.54	3	37	32
SST (g/L)	6	33.8	3	36.9	32.0					
SV (g/L)	6	32.4	3	36	30					
SSV (g/L)	6	31.5	3	35.0	29.6					
SV/ST (%)	6	92.3								
SSV/SST (%)	6	93.2								
DQO (gO ₂ /L)	6	36.6	9941	50	25	6	1.1	304	1.4	0.6

Fósforo Total- Ptot (g/L)	6	0.5	74	0.6	0.4	5	0.1	20	0.14	0.09
Nitrogênio- NTK (g/L)	6	0.4	454	528	369	6	0.05	8	60	42
Nitrogênio Amoniacal –N- NH ₄ ⁺ (g/L)	3	0.3	217	490	336	6	0.04	20	39	27
Proteínas totais (g/L)	6	2.1	0.3	2.5	1.7	6	0.2	0.0	0.3	0.1
Proteínas totais/SV (%)		6.5					-			
Carboidratos totais (gGlic./L)	6	12.6	2	18	11.1	6	0.05	0.0	0.1	0.0
Carboidratos/S V (%)		38.9					-			
Heterotróficos (UFC/gST)	3	2.2E+ 10		1.2E+ 08	4.0E+ 05		-			
Número de células (cél/gST)	6	3.3E+ 08		2.0E+ 05	2.5E+ 04		-			
Clorofila-a (mg/gST)	3	7.5		187	16		-			
Biomassa algácea (g/gST)		0.5					-			

Segundo APHA (2012), a quantidade de clorofila – a identificada em uma amostra equivale a 2% do peso seco da biomassa algácea planctônica. Desta forma, é possível aferir que 50.4% do conteúdo presente no lodo em questão é

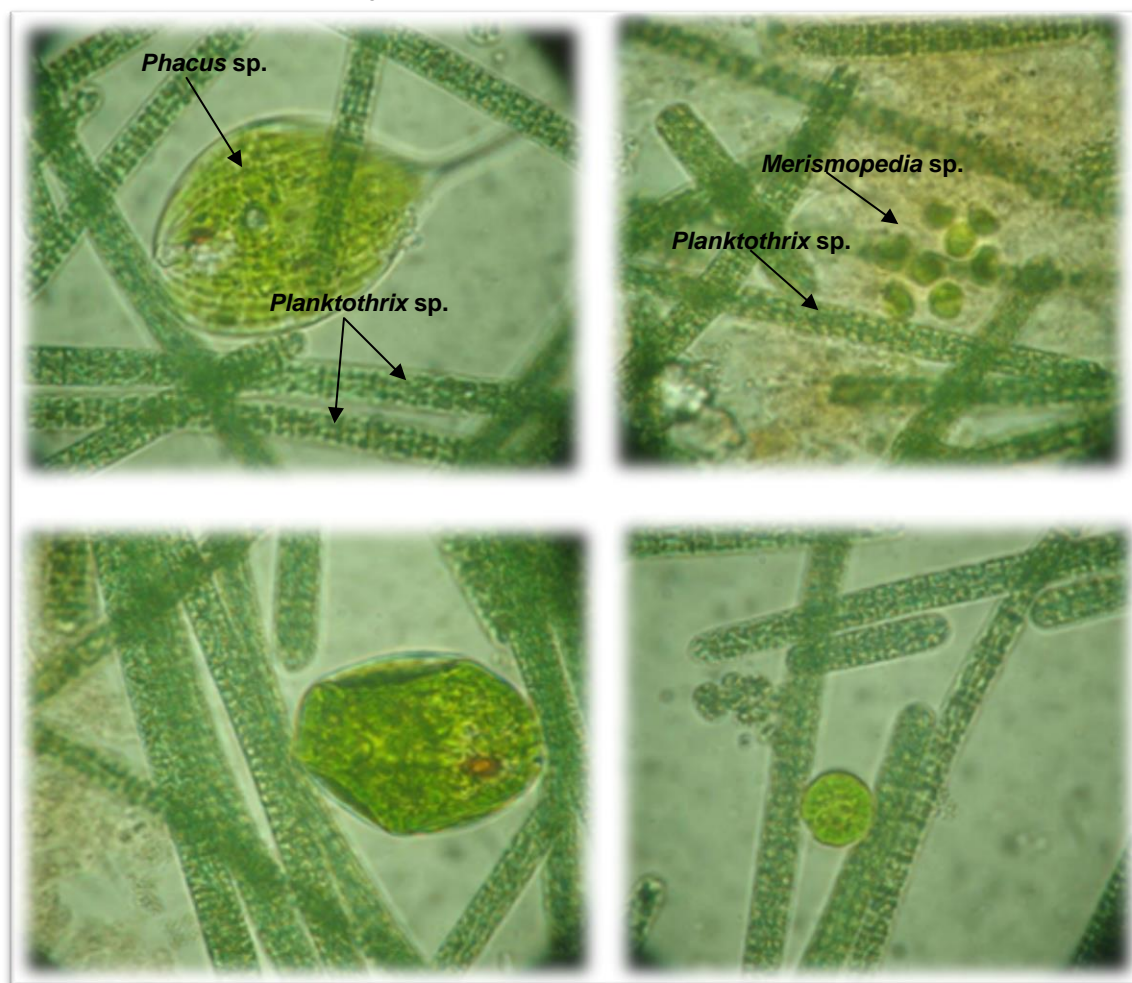
composto por algas planctônicas, o que enfatiza a característica algácea do lodo estudado. Também por esta característica, há predominância de carboidratos no lodo (39% do material orgânico) devido a maior presença de compostos como celulose, hemicelulose e pectina presentes na estrutura de células algáceas (PASSOS *et al.*, 2005; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012).

5.1.1. Identificação das espécies algáceas

A partir desta análise, observou-se predominância espécies filamentosas na amostra, com destaque a espécies de cianobactérias, em especial as do gênero *Planktothrix*; *Merismopedia* e *Geitlerinema*. A análise de microscopia eletrônica permitiu a identificação de alguns dos táxons de algas predominantes no lodo. Dentre os táxons, foram identificadas as espécies *Planktothrix* sp1, *Planktothrix* sp2, *Merismopedia glauca*, *Merismopedia* sp1, *Geitlerinema* sp1, *Geitlerinema* sp2, *Phacus* sp1, *Phacus* sp2, *Dolichospermum* sp1 e *Lepocinclis* sp1 (Figura 15).

Segundo alguns autores, o grupo das cianobactérias se constitui de células compostas com membrana de peptídeosglicanos e uma membrana externa composta de lipopolissacarídeos. São organismos gram negativos, e um grupo bastante diverso em tamanho e morfologia podendo habitar ambientes de água doce ou salgada e águas residuárias. Seu principal pigmento intracelular é a clorofila -a. (MARKOU e GEORGAKAKIS, 2011; SCIUTO e MORO, 2015).

Figura 15: Identificação de gêneros predominantes no logo algáceo identificada por seta. (a) *Phacus sp.* e *Planktothrix sp.*; (b) *Merismopedia glauca* e *Planktothrix sp.*



FONTE: Produzida pela autora.

A análise de contagem de células algáceas foi realizada apenas para células individuais, desconsiderando os organismos filamentosos, identificadas 3×10^8 células algáceas/ gST do lodo. A análise de contagem de bactérias heterotróficas identificou presença de 2×10^{10} UFC/gST. A partir destes valores é possível identificar o maior número de bactérias heterotróficas em relação as células algáceas individuais, o que enfatiza o predomínio de espécies filamentosas de algas no lodo mixotrófico desta pesquisa.

5.2. CINÉTICA DOS PROCESSOS HIDROLÍTICOS

Após análises de DQOs da amostra ao longo dos processos hidrolíticos térmicos, foram construídas curvas de velocidade de reação para cada processo de hidrólise térmica nas diferentes temperaturas (Figura 16). A

solubilização de matéria orgânica seguiu a expressão de cinética de acordo com a Tabela 12.

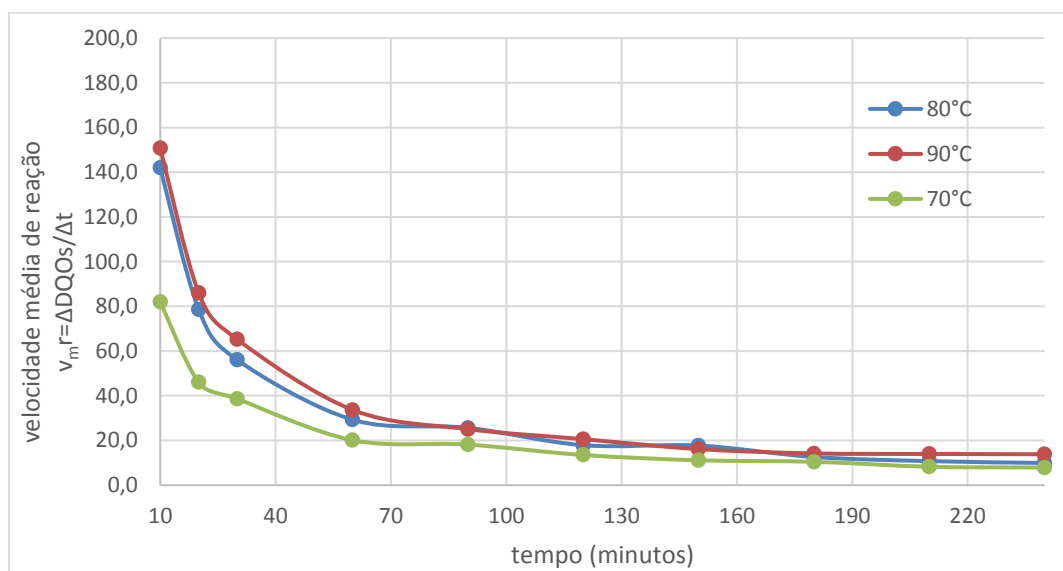
Tabela 12: Equações para os processos hidrolíticos térmicos.

Processos Hidrolíticos	Equações da reta	R
T70	$y = 0.004x + 7.0$	0.724
T80	$y = 0.0038x + 7.3$	0.608
T90	$y = 0.0044x + 7.3$	0.667

A partir da análise da curva de reação, é possível identificar que o período de tempo mais significativo para a maior degradação de matéria orgânica durante o tempo de reação se encontra no intervalo de tempo de 60 minutos, sendo que a velocidade máxima de reação ocorre nos primeiros minutos de hidrólise, quando a biomassa atinge a temperatura estabelecida para iniciar o processo.

Os processos hidrolíticos submetidos às temperaturas de 80°C e 90°C atingiram picos de velocidades bem próximos, assim como o comportamento da curva de reação.

Figura 16- Cinética de reação para hidrólise térmica ($\text{mgO}_2/\text{L}/\text{min}$).

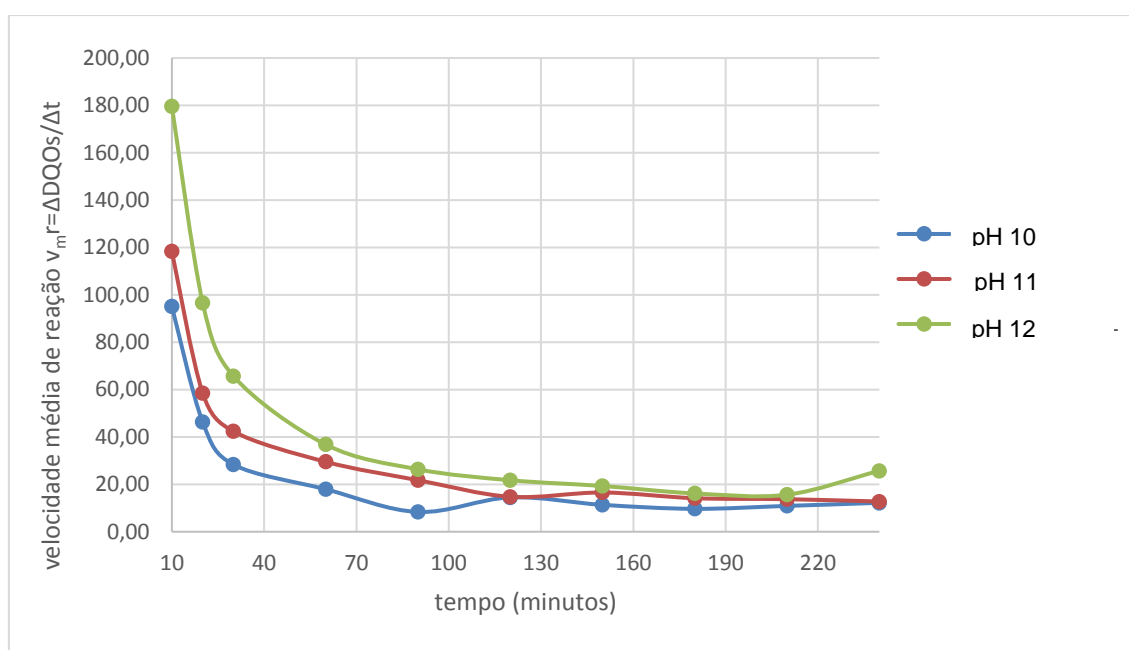


Foram construídas curvas de reação para cada processo de hidrólise para as diferentes dosagens de NaOH (Figura 17). A solubilização de matéria orgânica seguiu a expressão de cinética de acordo com a Tabela 13.

Tabela 13: Equações para os processos hidrolíticos alcalinos

Processos Hidrolíticos	Equações da reta	R
pH10 (45 meq NaOH/L)	$y = 0.0060x + 6.6707$	0.805
pH11 (65 meq NaOH/L)	$y = 0.0051x + 7.1124$	0.780
pH12 (100 meq NaOH/L)	$y = 0.0056x + 7.3147$	0.734

Figura 17- Cinética de reação para as diferentes dosagens de álcali para hidrólise alcalina.

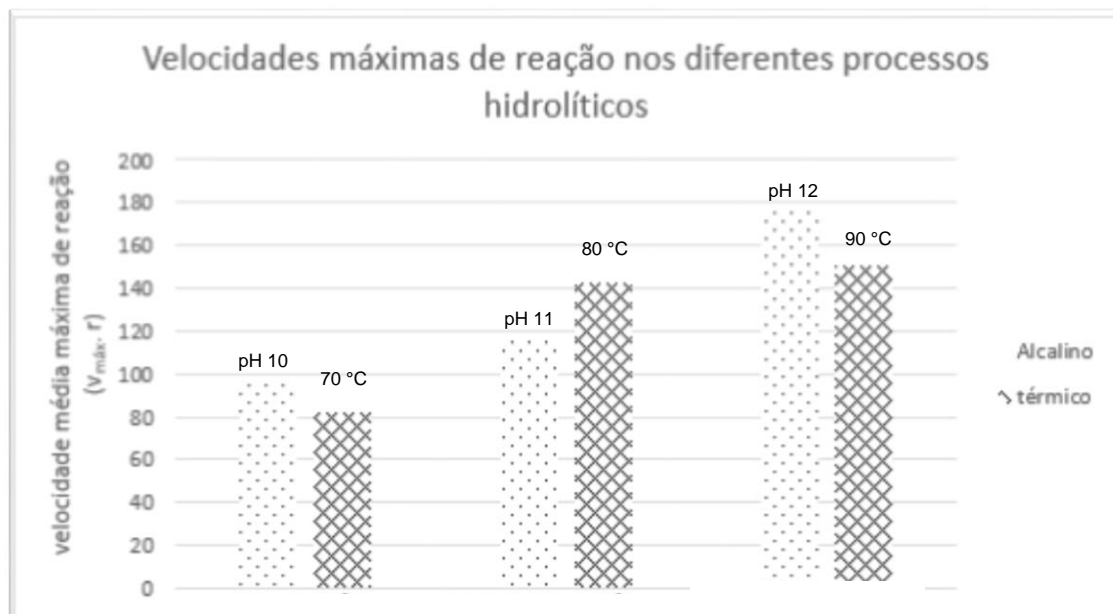


Após a construção das curvas de reação para os diferentes processos alcalinos e térmicos, foi possível observar o aumento do coeficiente angular das equações que representam estes processos.

As maiores velocidades de reação ocorreram nos primeiros tempos de reação, sendo a primeira hora dos processos hidrolíticos a mais relevante para a solubilização de DQOs. Este resultado entra em acordo com o descrito por Passos e Ferrer, (2014) em sua análise de hidrólise em lodos algáceos; com Almeida, (2004) para seu experimento com hidrólise química em lodos aeróbios e com a metodologia utilizada por Zhang *et al.*, 2015 para o processo de hidrólise térmica em lodos de lodos ativados

A partir da análise de cinética de reação, também se observa que o processo hidrolítico alcalino teve uma resposta de reação mais elevada quando comparada aos processos térmicos, exceto para a temperatura de 80°C (Figura 18).

Figura 18: Comparação de velocidades de reação para os processos hidrolíticos alcalinos e térmicos.



5.3. REDUÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS

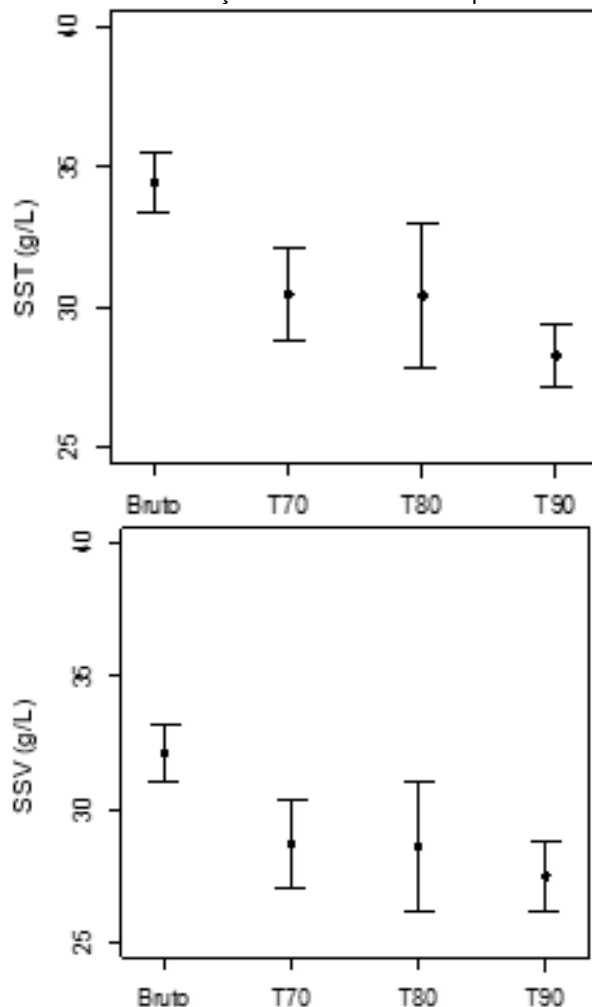
5.3.1. Hidrólise Térmica

A partir dos processos hidrolíticos térmicos foi possível observar a redução de sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis, e o aumento dos sólidos dissolvidos suspensos. A análise de estatística descritiva reforça esta informação (Tabela 14). A partir dos dados obtidos na estatística descritiva, foi construída uma tabela com os valores da taxa de redução de sólidos para cada um dos processos hidrolíticos térmicos (Tabela 15).

A análise estatística à um nível de significância de 5% identificou que não existe diferença significativa entre os valores absolutos obtidos de destruição de SSV sob as diferentes temperaturas estabelecidas. O valor absoluto de SSV reduziu significativamente quando comparados os processos hidrolíticos térmicos em relação à amostra controle (bruto), no entanto, a diferença relativa entre as diferentes temperaturas teve significância abaixo de 5%, indicando

que é possível obter resultados bem próximos de destruição de SST ao submeter a amostra controle a qualquer umas das temperaturas estabelecidas (Figura 19).

Figura 19: Análise estatística de destruição de SST e SSV nos processos hidrolíticos térmicos.



Com relação a destruição de SST, observou-se menor redução de sólidos, quando comparada a destruição de SSV, porém com diferença significativa entre os processos realizados. A partir da análise à nível de significância de 5%, foi possível identificar o maior efeito da redução de SST na hidrólise térmica submetida à temperatura de 90°C, não havendo diferença significativa no processo à temperatura de 80°C, quando comparado as temperaturas de 70°C e 90°C. Desta forma, os processos hidrolíticos térmicos que apresentaram resultados com significância acima de 5%, foram os de temperatura 70°C e 90°C, sendo que no último houve maior redução da concentração de SST (Figura 19).

Houve uma redução de sólidos suspensos totais de 14% para processos térmicos à 70°C; 15,4% para processos à 80°C e de 16,5% para a temperatura de 90°C, todos para o tempo de reação de 4h. Com relação aos sólidos suspensos voláteis, foi possível verificar uma redução de 12,9% para processos térmicos a 70°C; 14,5% para a temperatura de 80°C e 12,6% para processos submetidos à temperatura de 90°C. O aumento dos sólidos dissolvidos totais é consequência da redução da concentração de sólidos suspensos totais, com quebra e redução do tamanho do material particulado.

Tabela 14 Estatística descritiva dos processos de hidrólise térmica em relação SST, SSV e SDT.

VARIÁVEIS	MÉDIA (g/L)			DESV. PADRÃO			MÁX. (g/L)			MÍN. (g/L)		
	SST	SSV	SDT	SST	SSV	SDT	SST	SSV	SDT	SST	SSV	SDT
t=0	33.9	31.5	0.5	2.4	2.5	0.2	36.9	35.0	0.8	32.0	29.6	0.3
70°C, t=4h	29.1	27.4	2.9	2.9	2.8	1.1	34.0	32.2	4.3	26.8	25.2	1.8
80°C, t=4h	28.6	26.9	3.7	5.2	4.9	0.9	37.6	37.6	4.5	25.0	25.0	2.5
90°C, t=4h	28.3	27.5	3.9	2.6	2.7	0.6	32.0	31.3	4.4	26.9	23.5	3.1

Tabela 8: Tabela de redução de SSV e SST para hidrólise térmica após 4h de reação

	%redução média SST	% redução média SSV
70°C, $\Delta t=4h$	14.0	12,9
80°C, $\Delta t=4h$	15.4	14,5
90°C, $\Delta t=4h$	16.5	12,6

5.3.2. Hidrólise Alcalina

A partir dos processos hidrolíticos alcalinos foi possível observar a redução de sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis, e o aumento dos sólidos dissolvidos suspensos com a redução do tamanho de partículas, assim como no processo anterior. A análise de estatística descritiva reforça esta informação (Tabela 16). A partir dos dados obtidos na estatística descritiva, foi construída uma tabela com os valores da taxa de redução de sólidos para cada um dos processos hidrolíticos térmicos (Tabela 17).

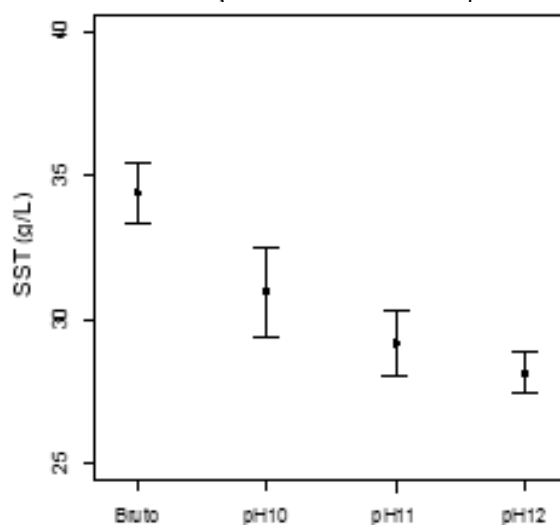
A análise estatística mostrou diferença significativa entre os valores médios obtidos de redução de SSV sob as diferentes dosagens de NaOH estabelecidas. O valor médio de SSV reduziu significativamente em relação a amostra controle (bruto), no entanto, a diferença relativa entre as dosagens de álcali a 100 meq/L (pH12) teve significância abaixo de 5%, quando comparada as demais dosagens, indicando que é possível obter resultados bem próximos de redução de SSV ao submeter a amostra controle a dosagens de 45 meq/L (pH10) e 65 meq/L (pH11) (Figura 20).

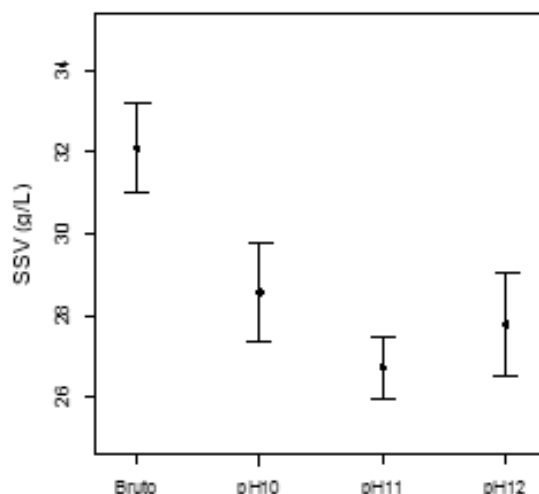
A dosagem de álcali de 65meq/L (pH11) foi a que apresentou maior redução de SSV após o processo de hidrólise, com significância maior de 5% em relação as demais dosagens.

Todos os processos hidrolíticos alcalinos apresentaram resultados com significância acima de 5% em relação a destruição de SST, sendo a dosagem de 100meq/L, a que apresentou maior redução da concentração de SST (Figura 20).

Nota-se que houve uma redução de sólidos suspensos totais de 8% para dosagem de 45meq NaOH/L, 12% para dosagem de 65 meqNaOH/L e de 17% para a dosagem de 100 meq/L, todos para o tempo de reação de 4h (Tabela 14).

Figura 20: Análise estatística de destruição de SST e SSV nos processos hidrolíticos alcalinos.





O aumento dos sólidos dissolvidos totais é consequência da redução da concentração dos sólidos suspensos totais, com quebra e redução do tamanho do material particulado. Além disso, com relação aos sólidos suspensos voláteis, foi possível verificar uma redução de 12,3% para dosagem de 45 meqNaOH/L; 19,4% para a dosagem de 65 meqNaOH/L e 16,7% para processos submetidos à dosagem de 100 meqNaOH/L.

Tabela 9: Estatística descritiva dos processos de hidrólise térmica em relação SST, SSV e SDT.

VARIÁVEIS	MÉDIA			DESV. PADRÃO			MÁXIMO			MÍNIMO		
	SST	SSV	SDT	SST	SSV	SDT	SST	SSV	SDT	SST	SSV	SDT
t=0	34.8	32.6	0.5	2.7	2.7	0.2	36.9	35.0	0.8	32.0	29.6	0.3
45 meq/L, t=4h	31.1	28.6	4.3	4.0	3.1	2.0	35.2	35.2	6.3	26.9	27.0	4.1
65 meq/L, t=4h	29.7	27.1	5.7	2.8	1.9	2.1	34.4	34.4	7.8	26.4	26.4	3.4
100 meq/L, t=4h	28.3	28.1	7.3	1.9	3.4	2.2	30.2	29.6	9.3	27.7	25.3	4.8

Tabela 10: Tabela de redução de SST e SSV para hidrólise alcalina após 4h de reação.

Dosagem álcali	%redução SST	% redução SSV
45 meq/L	8.0	9.1
65 meq/L	12.2	14.0
100 meq/L	16.5	10.7

5.3.3. Discussão

A partir dos resultados de redução de sólidos observados, é possível aferir que o tratamento térmico foi mais eficiente na redução de SST e SSV. Como dito anteriormente, as temperaturas de 70°C e 80°C não possuem diferenças estatisticamente significantes, possuindo o mesmo efeito na destruição de sólidos suspensos totais (SST). Para temperatura de 90°C, foi possível obter a mesma porcentagem de redução de SST que o tratamento alcalino à dosagem de álcali 100 meq/L.

As reduções de sólidos suspensos voláteis (SSV) apresentadas por ambos os processos podem se justificar pela volatilização de diferentes compostos orgânicos, como ácidos orgânicos voláteis, compostos nitrogenados, entre outros, o que reduz o volume final da massa de lodo, facilitando o desague. Neste sentido, considerando que os tratamentos térmicos não obtiveram diferenças estatisticamente significativas de redução de sólidos voláteis, o tratamento alcalino à dosagem de 65meq/L foi o que apresentou melhor resultado de redução de SSV.

Poucos autores descrevem o efeito da destruição de sólidos da biomassa a partir de processos hidrolíticos térmicos alcalinos. As Tabelas 18 e 19 listam alguns dos resultados encontrados por estes e as condições estabelecidas em processos térmicos e alcalinos, respectivamente.

A relação entre sólidos suspensos voláteis após o tempo de reação térmico e os sólidos suspensos totais da amostra bruta sem tratamento (SSV_f/SST_0) obtidas nesta pesquisa apresentaram valores bem próximos ao obtido por Bougrier *et al.*, 2008, com a tratamento hidrolítico térmico de 30 minutos, à temperatura de 95°C, em amostra lodos ativados. Além disso, estudos realizados por Passos *et al.*, 2015, identificaram o maior efeito da solubilização de sólidos voláteis com o aumento do tempo de reação do processo hidrolíticos à temperatura de 95°C. Resultados obtidos por Passos *et al.*, 2013 com a hidrólise térmica de lodo algáceo à 75°C e tempo de reação de 5h, se assemelha aos obtidos nesta pesquisa em relação à solubilização de sólidos voláteis à temperatura de 70°C.

Com relação aos processos hidrolíticos alcalinos, a redução da concentração de sólidos suspensos totais a partir da dosagem de 45 meq NaOH/L obteve resultado semelhante ao obtido por Andrade, (2004) com hidrólise alcalina de lodos anaeróbios com tempo de reação de 6h e dosagem de apenas 20 meq NaOH/L. Uma justificativa para essa menor dosagem e resultado semelhante ao obtido com lodo algáceo seria a maior presença de bactérias hidrolíticas em lodo anaeróbio, o que facilita o processo de digestão e destruição de SSV. Os resultados de remoção de SV obtidos por Cassini *et al.*, (2006) também apresentam maior destruição de sólidos se comparado aos resultados obtidos nesta pesquisa, o que ressalta a peculiaridade do lodo algáceo quando comparada ao lodo aeróbio em questão, devido a maior presença de compostos orgânicos (SV/ST) de 89.4% e 68.1%, respectivamente, além da maior resistência da biomassa algácea à hidrólise devido aos compostos derivados de celulose.

Tabela 18: Comparação entre destruição de sólidos para os diferentes processos hidrolíticos térmicos.

Fonte de biomassa	ST ₀ (g/L)	t (h)	T (°C)	SV _f	SV _f /ST ₀	SDV _f /SV ₀	SSV _f /SST ₀	Ref.
Lodos Ativados	33.0	0.5	95°C	20.2	0.61	-	0.81	Bougrier et al., 2008
Lodo algáceo misto	32.0	10	95°C	20.9	0.65	0.28	-	Passos et al., 2015
Lodo algáceo misto	20.4	5	75°C	11.7	0.57	0.13	-	Passos et al., 2013
			95°C	11.7	0.57	0.18	-	
Lodo algáceo misto	34.5	4	70°C	30.5	0.87	0.10	0.81	Esta pesquisa
			80°C	30.3	0.87	0.11	0.79	
			90°C	30.3	0.87	0.09	0.81	

Tabela 11: Comparação entre destruição de sólidos para os diferentes processos hidrolíticos alcalinos.

Fonte de biomassa	ST ₀ (g/L)	t (h)	Dosagem NaOH (meq/L)	% remoção SSV	% remoção SV	Ref.
Lodo aeróbio	10.0	6	20meq/L	-	19.8	Cassini et al., 2006
Lodo anaeróbio UASB (0,25m)	47.8	6	20 meq/L	12.4	-	Andrade, 2004
Lodo algáceo misto	34.5	4	45 meq/L	12.3	7.9	Esta pesquisa
			65 meq/L	17.0	10.5	
			100 meq/L	13.9	11.6	

* %= $(SV_f - SV_i) / (SV_i)$

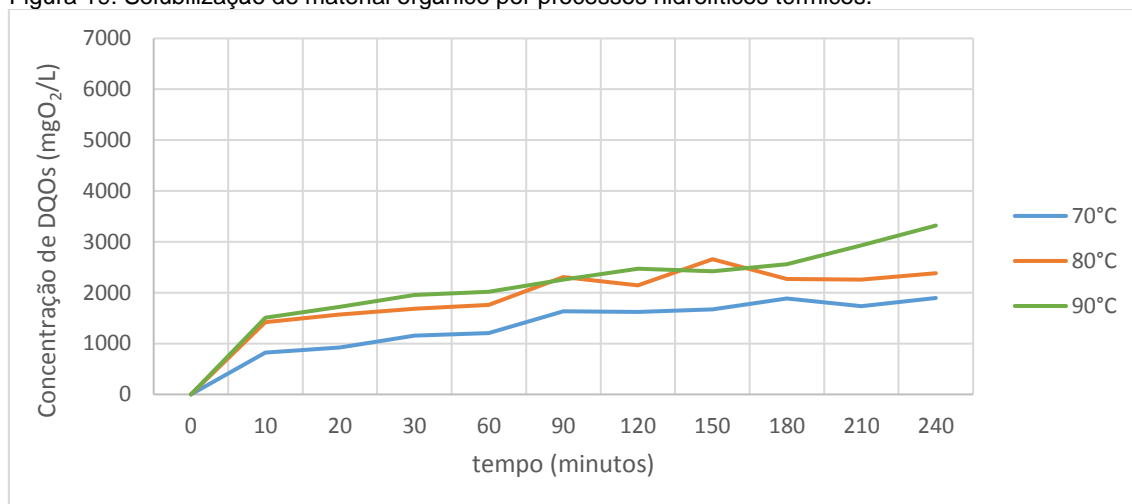
5.4. SOLUBILIZAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA

5.4.1. Demanda Química de Oxigênio (DQOs)

5.4.1.1. Hidrólise Térmica

Após ensaios de hidrólise térmica, foi observado maior variação de DQOs na temperatura mais elevada (90°C), com variação de DQOs ($\Delta DQOs$) de 3,3 g/l para o tempo de reação de 4h. Para os demais ensaios térmicos, a variação de DQOs foi de 2,2 e 1,9 gO₂/l, nas temperaturas de 80°C e 70°C, respectivamente (Figura 19).

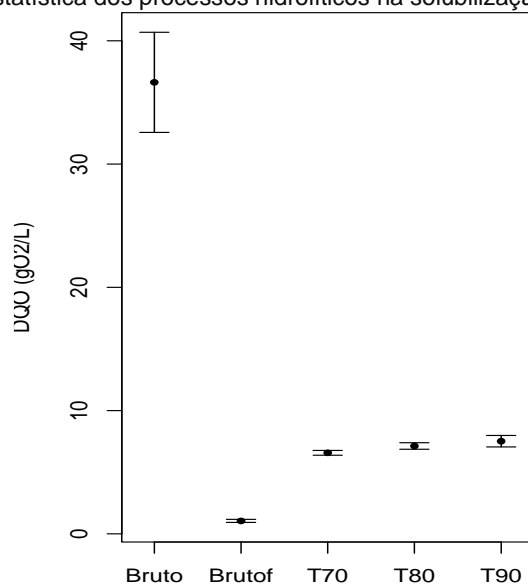
Figura 19: Solubilização de material orgânico por processos hidrolíticos térmicos.



Com relação ao grau de solubilidade (%DQOs) foi observado um aumento de 15% de solubilização de matéria orgânica para ensaios à temperatura de 90°C, 17% para T=80°C e 19% para T=70°C.

A análise estatística a nível de significância de 5% mostrou que os processos térmicos, às temperaturas de 70°C e 80°C, são estatisticamente equivalentes em relação ao efeito da solubilidade. A temperatura de 90°C se difere das demais, sendo esta a que demonstrou maior efeito na solubilização de material orgânico, porém bastante próximo aos valores obtidos a partir dos processos térmicos anteriores (Figura 20).

Figura 20: Análise estatística dos processos hidrolíticos na solubilização de matéria orgânica.



As concentrações de DQOs aumentaram cerca de 5 vezes para a hidrólise térmica a temperatura de 70°C, 4 vezes para a temperatura de 80°C e, cerca de 6 vezes para a temperatura de 90°C, todas com o tempo de reação de 4 horas (Tabela 20).

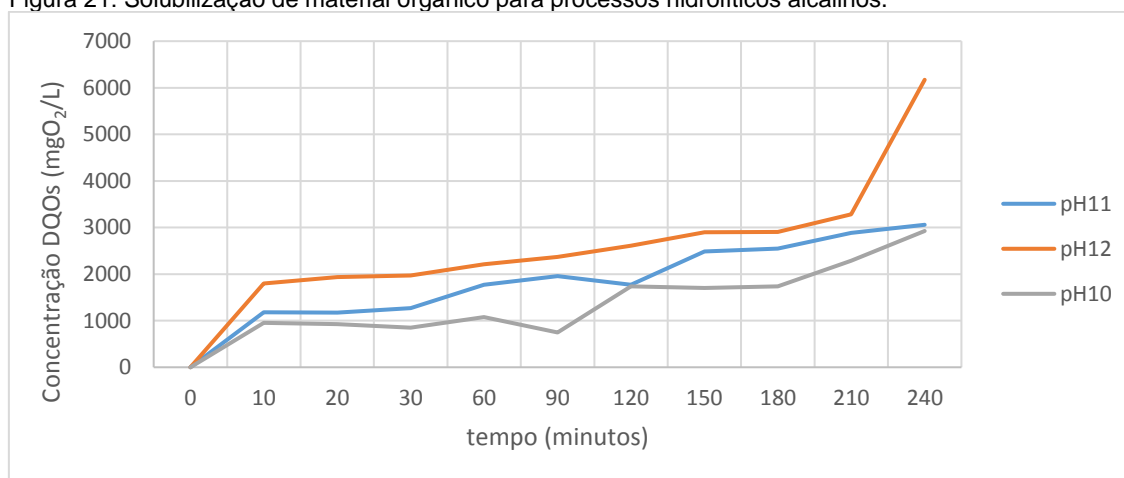
Tabela 12: Valores médios de concentração de DQO após os processos hidrolíticos térmicos.

	Média (g/L)	dt	DP	%DQOs
Lodo bruto (Bruto)	36.6	0	9940.7	
Lodo bruto filtrado (Brutof)	1.1	4h	304.0	
Amostras filtradas				
T70	6.7	4h	469.8	15.1
T80	7.1	4h	588.0	16.6
T90	7.8	4h	912.1	18.5

5.4.1.2. Hidrólise Alcalina

Após ensaios de hidrólise alcalina, foi observado um aumento significativo da variação de DQOs à dosagem de 100meq/L (pH12), com variação total de DQOs (Δ DQOs) de 6,5 g O₂/L de para o tempo de reação de 4 horas. Para os demais ensaios alcalinos, a variação de DQOs para 45 meq/L (pH10) e 65meq/L (pH11) atingiram valores de 2,9 e 3,1 gO₂/L, respectivamente (Figura 21).

Figura 21: Solubilização de material orgânico para processos hidrolíticos alcalinos.



Com relação ao grau de solubilidade (%DQOs), foi observado um aumento de 21% de solubilização de matéria orgânica para ensaios à dosagem de 100meq/L (pH12), 21% para dosagem de 65 meq/L (pH 11) e 17% para dosagem de 45meq/L (pH10) (Tabela 21).

A análise estatística em nível de significância de 5% mostrou que todos os três processos alcalinos diferem entre si, sendo a dosagem de 65meq/L a que menos solubilizou material orgânico (Figura 22).

As concentrações de DQOs aumentaram 7,4 vezes para a dosagem de 45 meq/L, 6,6 vezes para a dosagem de 65 meq/L, 7,6 vezes para a hidrólise à dosagem de 100 meq/L, todas com o tempo de reação de 4 horas.

Figura 22: Análise estatística dos processos hidrolíticos na solubilização de matéria orgânica.

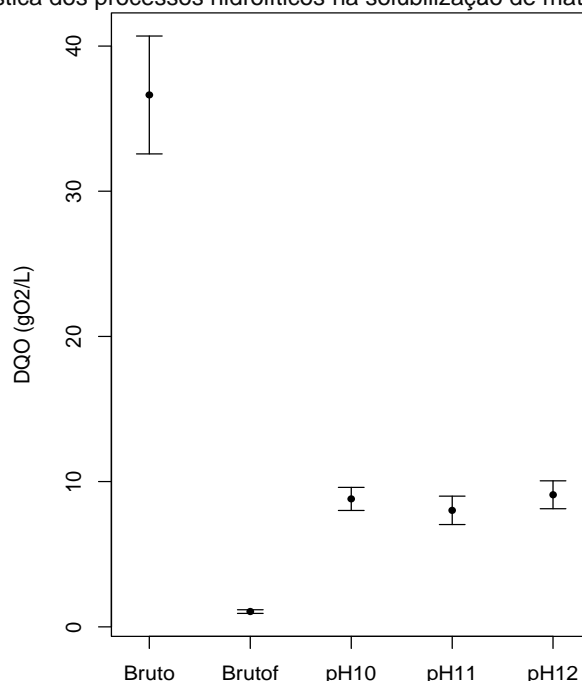


Tabela 13: Valores médios de concentração de DQO após processos hidrolíticos alcalinos.

	Média (g/L)	dt	DP	%DQOs
Lodo bruto (Bruto)	36.6	0	9940.7	
Lodo bruto filtrado (Brutof)	1.1	4h	304.0	
Amostras filtradas				
pH10 (45 meq NaOH/L)	8.8	4h	1953.2	16.6
pH11 (65 meq NaOH/L)	8.2	4h	2394.5	21.0
pH12 (100 meq NaOH/L)	9.1	4h	2354.1	20.6

5.4.1.3. Discussão

YANG *et al.*, 2010, realizou ensaios hidrolíticos de 8 horas à temperatura de 100°C, atingindo valores de solubilidade de cerca de 20% durante o período das primeiras 4 horas.

Os ensaios realizados nesta pesquisa mostraram que, para a temperatura de 90°C, foi possível uma solubilização de 19% da DQOs, o que reforça a ideia de que o aumento da solubilidade da matéria orgânica seja proporcional ao aumento da temperatura. Os ensaios realizados procuraram explorar temperaturas mais amenas, a fim de evitar maiores perdas de calor e menor custo energético do sistema.

O grau de solubilização obtido nesta pesquisa para a dosagem do álcali em pH 12 (aprox. 4g de NaOH /L, ou 100meq/L de NaOH) também está próximo ao descrito por YANG *et al.*, 2010, em que obteve uma solubilização de cerca de 23% para uma dosagem de 8g/L de álcali e SV à 3.6% (Tabela 24) . Na pesquisa atual, realizada em laboratório, foi possível uma solubilização de 21% de DQOs, com uma menor dosagem de álcali para o experimento e valores próximos de SV (Tabela 22).

Tabela 14: Eficiência de solubilização de matéria orgânica para os diferentes ensaios hidrolíticos.

PROCESSOS	ENSAIOS HIDRÓLISE ALCALINA (NaOH 1M)			ENSAIOS HIDRÓLISE TÉRMICA		
	VARIANTES	100meq/L	65meq/L	45meq/L	T=90°C	T=80°C
SOLUBILIDADE	21%	21%	17%	19%	17%	15%

A Tabela 23 expõe diferentes resultados obtidos por autores em relação a solubilização de material orgânico. Os resultados obtidos por Appel *et al.* (2010), assemelham-se aos resultados desta pesquisa para as temperaturas de 80°C e 90°C. Neste caso, assim como para o processo de destruição de sólidos, a resistência da parede celular algácea pode ser o fator significativo, que justifica a necessidade de maior tempo de reação para atingir o mesmo grau de solubilização de material orgânico. De qualquer modo, como observado na análise de cinética de reação (item 5.2), os processos hidrolíticos térmicos foram mais efetivos para solubilização de material orgânico no período de 90 minutos (1,5 hora), sendo menos significativos após este período até o fim das 4 horas.

Já os resultados obtidos por Wang *et al.* (2016), possuem baixa concentração de material orgânico da biomassa (SV). Sabe-se que os valores de SV têm estreita relação à concentração de DQO total (DQOt) da amostra. Com valores menores de DQOt, a taxa de solubilização de material orgânico aumenta (%DQOs), embora a variação de DQO solúvel (Δ DQOs) não seja tão significativa quando comparado a valores mais elevados de concentração de SV. Além da maior concentração de sólidos e material orgânico nesta pesquisa, observa-se, pela cinética de reação, que maiores variações de DQO

solúvel ocorreram dentro da primeira hora do processo hidrolítico térmico, exceto para a temperatura de 70°C, em que o período para solubilização do material orgânico foi mais significativo no período de tempo de 90 minutos (1,5 hora). Desta forma, é possível identificar a semelhança de ambos processos hidrolíticos térmicos em relação ao período de reação e eficiência de solubilização.

Tabela 23: Comparação dos resultados de hidrólise térmica com demais autores.

Fonte de biomassa	SV ₀ (g/L)	t (h)	T (°C)	%DQOs*	Referência
Lodo de microalga derivada de extração de óleo	36.0	4	100°C	23%	Yang <i>et al.</i> , 2010
Lodo anaeróbio	45.5	1	70°C	1%	Appels <i>et al.</i> , 2010
			80°C	14%	
			90°C	18%	
Lodo algáceo misto	15.0	0.5	70°C	12 %	Wang <i>et al.</i> , 2016
			90°C	12 %	
Lodo algáceo misto	32.4	4	70°C	13%	Esta pesquisa
			80°C	13%	
			90°C	15%	

*%DQOs= (DQOs_r-DQOs_i)/ DQO_t

Os resultados obtidos por diferentes autores em relação a solubilização de material orgânico no processo hidrolíticos alcalino está explicitado na Tabela 24. Yang *et al.*, (2010), obteve uma eficiência de solubilização de 18,5% a partir de seu processo hidrolíticos alcalino, porém, com a análise de seu resultado, verifica-se que as primeiras 5 horas de experimento foram as mais significativas para a solubilização de material orgânico. Este resultado atingiu

valores semelhantes ao desta pesquisa para dosagem de 65meq/L, porém demandando maior tempo de reação e maior dosagem de álcali.

Tabela 24: Comparação dos resultados de hidrólise alcalina com demais autores.

Fonte de biomassa	SV ₀ (g/L)	t (h)	Dosagem NaOH	%DQOs	Referência
Lodo de microalga derivada de extração de óleo	36.0	24	200 meq/L	19%	Yang <i>et al.</i> , 2010
Chorella sp.	26.7	-	525 meq/L	23%	Bohutskyi <i>et al.</i> , 2014
Lodo algáceo misto	10.0	-	pH9 (NaOH 5N)	5%	Cho <i>et al.</i> , 2013
			pH11 (NaOH 5N)	5 %	
			pH13 (NaOH 5N)	19%	
Lodo algáceo misto	31.7	4	45 meq/L	21%	Esta pesquisa
			65 meq/L	19%	
			100 meq/L	22%	

$$*\%DQOs = (DQOs_f - DQOs_i) / DQO_t$$

Bohutskyi *et al.*, (2014), realizando o experimento com cultivo puro, reduziu o tempo de detenção, porém aplicando dosagem do álcali superior cerca de cinco vezes a aplicada nesta pesquisa para o mesmo valor final de eficiência de solubilização. Da mesma forma, experimentos realizados por Cho *et al.*, (2013), foram realizados em ausência de período de reação. Estes obtiveram eficiências de solubilização muito baixas se comparadas as utilizadas nesta pesquisa, mesmo os processos hidrolíticos utilizados sejam com valores de pH próximos aos aplicados nesta pesquisa. A ausência de tempo de reação reduziu a eficiência de solubilização do material orgânico algáceo.

5.4.2. Carboidratos

5.4.2.1. Hidrólise Térmica

Após ensaios hidrolíticos térmico, foi possível observar a crescente solubilização de carboidratos com o incremento de temperatura. A análise estatística a nível de significância de 5%, mostra que as três temperaturas utilizadas no processo diferem entre si à nível de significância acima de 5% (Figura 23). Os ensaios térmicos mostraram uma variação da concentração de carboidratos com incremento de 1,1g/L, para hidrólise térmica à temperatura de 70°C, 1,5g/L para temperatura de 80°C e 1,9 g/L para a temperatura de 90°C.

Desta forma, as concentrações de carboidratos solúveis aumentaram em relação a amostra bruta filtrada, cerca de 22 vezes para a temperatura de 70°C, 30 vezes para a temperatura de 80°C e cerca de 40 vezes para a hidrólise à temperatura de 90°C, todas com o tempo de reação de 4 horas (Tabela 25).

Figura 23: Análise estatística dos processos térmicos na solubilização de carboidratos.

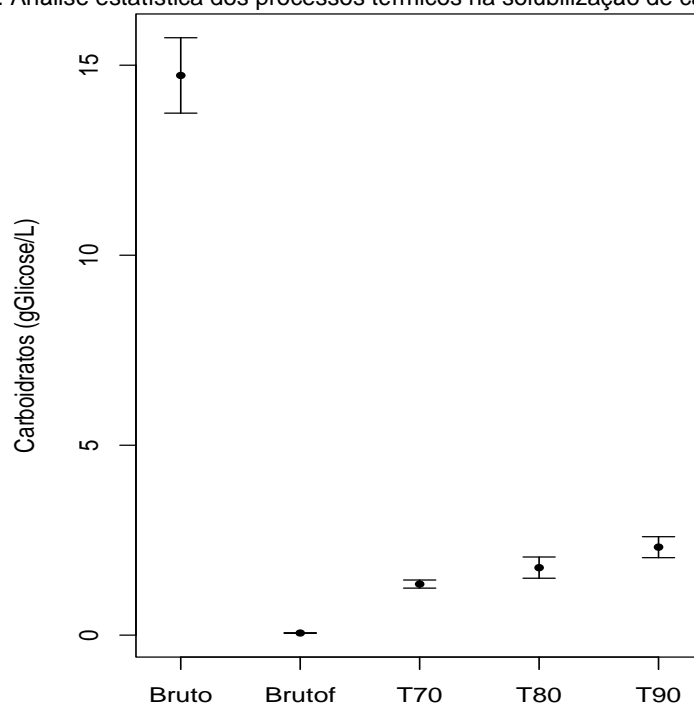


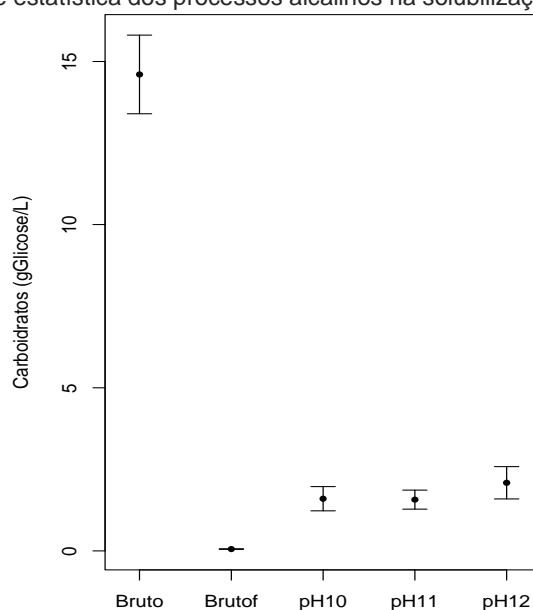
Tabela 15: Valores médios de concentração de carboidratos após processos hidrolíticos alcalinos.

	Média (g/L)	dt	DP	%Carb.
Lodo bruto (Bruto)	12.6	0	2.4	
Lodo bruto filtrado (Brutof)	0.5	4h	0.0	
Amostras filtradas				
T70	1.1	4h	0.3	8.7
T80	1.5	4h	0.7	11.7
T90	2.0	4h	0.7	15.3

5.4.2.2. Hidrólise Alcalina

Os ensaios hidrolíticos alcalinos para solubilização de carboidratos, não apresentaram se mostraram distintos entre si, como no processo térmico. A análise estatística a nível de significância de 5%, mostra que para as três dosagens utilizadas para o processo, as dosagens de 45 e 65 meq/L, não diferem entre si à nível de significância acima de 5%, para a solubilização de carboidratos (Figura 24). Sendo assim, os processos à dosagem de 45 meq/L e 65 meq/L diferenciam-se apenas em relação a maior dosagem de álcali, 100 meq/L. Os ensaios alcalinos mostraram uma variação da concentração de carboidratos com incremento de 1,2 g/L, para dosagem de 45 meq/L e 65 meq/L, e 1,6 g/L para dosagem de 100 meq/L.

Figura 24: Análise estatística dos processos alcalinos na solubilização de carboidratos.



Os processos hidrolíticos alcalinos aumentaram as concentrações de carboidratos solúveis em relação a amostra bruta filtrada, cerca de 25 vezes

para a dosagem de 45 meqNaOH/L, 25 vezes para a dosagem de 65 meqNaOH/L e cerca de 33 vezes para a hidrólise à dosagem de 100 meqNaOH/L, todas com o tempo de reação de 4 horas (Tabela 26).

Tabela 16: Concentração média de carboidratos após processos hidrolíticos alcalinos.

	Média (mg/L)	dt	DP	%Carb.
Lodo bruto (Bruto)	12.6	0	2.4	
Lodo bruto (Brutof)	0.05	4h	0.0	
Amostras filtradas				
45 meqNaOH/L	1276.6	4h	1.0	9.7
65 meqNaOH/L	1256.0	4h	0.9	9.6
100meqNaOH/L	1669.3	4h	1.3	12.8

5.4.2.3. Discussão

A partir dos resultados encontrados de solubilização de carboidratos, é possível identificar a crescente solubilização deste com o aumento de temperatura, porém o mesmo não se aplica ao processo alcalino. Sendo assim, é possível utilizar a menor dosagem de álcali (45meq/L) obtendo o mesmo resultado do encontrado à dosagem de 65 meq/L, com economia de reagente.

A Tabela 27 e 28 apresentam diferentes resultados encontrados por autores acerca da solubilização de carboidratos a partir de processos hidrolíticos térmicos e alcalinos. Os resultados obtidos por Yang *et al.*, (2010) assemelham-se aos desta pesquisa para temperatura de 90°C explorando, porém, temperaturas mais elevadas e maior tempo de reação para obterem tal eficiência de solubilização. Passos *et al.*, (2015) comprovou em sua pesquisa que é possível atingir grande eficiência de solubilização de carboidratos e proteínas explorando maiores tempos de reação dos processos hidrolíticos, os mantendo, porém, à baixas temperaturas (<100°C). Cabe então uma análise de custo para identificar qual variável é mais vantajosa intervir, seja o tempo de reação ou incremento da temperatura para atingir maior grau solubilização.

Madhy *et al.*, (2014), realizou ensaios de solubilização em cultivos puros de lodo algáceo, identificando diferentes características entre estes. Sob a mesma condição de hidrólise, baixas temperaturas (50°C) e tempo de detenção de 24 horas, a solubilização de lodo de *Scenedesmus sp.* superou a obtida por esta

pesquisa no ensaio térmico em temperatura mais elevada enquanto o cultivo puro de *Clorella sp.* obteve resultados semelhantes ao obtido nesta pesquisa, sendo em maior tempo de detenção e menor temperatura.

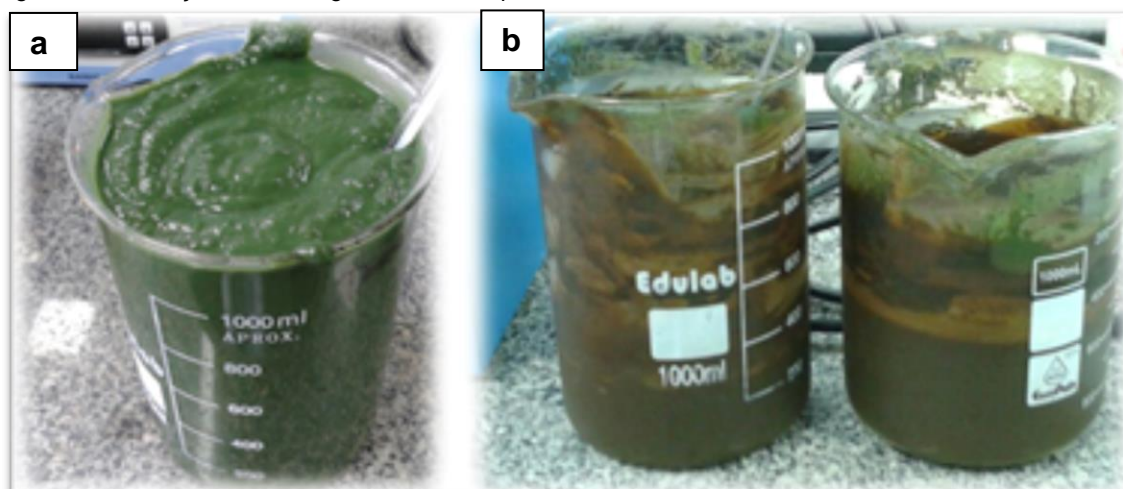
A partir dos resultados obtidos por demais autores, identifica-se que a solubilização de carboidratos do lodo tanto pela hidrólise alcalina ou térmica, está estreitamente relacionada às características do lodo. O lodo algáceo misto sob hidrólise alcalina, expressa menor solubilidade de carboidratos quando comparado ao lodo de cultivo puro de microalgas, com este submetido a processos hidrolíticos termoquímicos (a combinação de ambos processos). Para hidrólise termoquímica realizada por Madhy *et al.*, (2014) em lodo de *Chlorella*, obtiveram-se resultados próximos de solubilização em relação a esta pesquisa no processo alcalino à dosagem de 100 meq de NaOH/L, porém utilizando menor dosagem de álcali, maior tempo de detenção e incremento de temperatura. O custo energético envolvido no ensaio citado necessita maiores estudos para comparação entre este e a pesquisa em questão.

Bougrier *et al.*, (2008) aludem que carboidratos estão localizados principalmente na parte extracelular, sob a forma de polímeros, enquanto proteínas localizam-se principalmente no interior das células, porém a baixa eficiência de solubilização destes em nossa pesquisa pode ser justificada pelas reações de Maillard ocorridas durante os processos de hidrólise. Segundo Nunes e Batista, (2001) as reações de Maillard são interações amino-carbonilo de natureza não enzimática, que provocam modificações complexas na estrutura do lodo e na química das proteínas. Estas reações podem ser influenciadas por aumento de temperatura, pH alcalino, presença de alguns grupos amino e de açúcares redutores específicos, entre outros fatores. As primeiras etapas da reação conduzem à formação de bases de Schiff e de compostos de Amadori. As etapas seguintes levam à formação de moléculas insaturadas que se polimerizam e originam pigmentos castanhos (melanoidinas), possivelmente insolúveis.

Este resultado foi evidenciado durante a hidrólise térmica para esta pesquisa com lodo algáceo, em que todas as amostras submetidas aos processos

hidrolíticos térmicos, independente das temperaturas aplicadas, alteraram sua cor de verde-azulado para tom castanho (Figura 25).

Figura 25: Coloração do lodo algáceo antes e após hidrólise térmica.



FONTE: Própria autora.

Tabela 17: Comparação dos resultados de solubilização de carboidratos a partir de hidrólise térmica.

Fonte de biomassa	Carboidratos/ST (%)	t (h)	T(°C)	%carboidratos	Referência
Lodo de microalga derivada de extração de óleo	25%	8	100°C	18%	Yang <i>et al.</i> , 2010
Chlorella sp.	23%	24	50°C	15%	Madhy <i>et al.</i> , 2014
Scenedesmus sp.	20%	24	50°C	31%	
Lodo algáceo misto	22%	10	95°C	33%	Passos <i>et al.</i> , 2015
Lodo algáceo misto	36%	4	70°C	9%	Esta pesquisa
			80°C	12%	
			90°C	15%	

$$*\% \text{Carboidratos} = (\text{Carb}_{f,t} - \text{Carb}_{f,i}) / \text{Carb}_t$$

A comparação entre os valores de eficiência de solubilização nos processos hidrolíticos térmicos e alcalinos desta pesquisa, mostraram a maior solubilização de carboidratos a partir dos processos térmicos à temperatura mais elevada (90°C). Desta forma, a baixa solubilização pode ser justificada

pela possível presença de compostos de polissacarídeos de difícil degradação, como celulose e hemicelulose, como identificado também na pesquisa de Wang *et al.*, (2016). A temperatura requerida para a solubilização destes encontra-se na faixa de 150 a 230°C (Gonzales-Fernandes *et al.*, 2014).

Desta forma, é possível aferir que o tratamento hidrolítico térmico foi mais eficiente para a solubilização de carboidratos que o processo alcalino, exceto para a temperatura de 70°C. A solubilização à temperatura de 80°C, supera a hidrólise à dose de 45 e 65 meqNaOH/L, cabendo a análise de custo para identificar o processo mais economicamente viável.

Tabela 18: Comparação dos resultados de solubilização de carboidratos a partir de hidrólise alcalina.

Fonte de biomassa	Carboidratos/ ST (%)	t(h)	Dose NaOH	%carboidratos	Referência
Lodo de microalga derivada de extração de óleo	25%	24	200 meq/L	23%	Yang <i>et al.</i> , 2010
Clorella sp.	23%	24	50°C, 20 meq/L	15%	Madhy <i>et al.</i> , 2014
Scenedesmus sp.	20%	24	50°C, 1000 meq/L	17%	
Lodo algáceo misto	36%	4	45 meq/L	10%	Esta pesquisa
			65 meq/L	10%	
			100 meq/L	13%	

*%Carboidratos= $(\text{Carb}_{f,t} - \text{Carb}_{f,i}) / \text{Carb}_t$.

5.5. SOLUBILIZAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS

De acordo com APHA, (2012), os valores encontrados de concentração de nitrogênio pelo método Kjeldhal, equivalem a concentração de nitrogênio orgânico (derivado de proteínas), nitrito e nitrato (derivado de processos de degradação de material orgânico) e compostos amoniacais. Para a nossa pesquisa em questão, as concentrações de nitrito e nitrato foram desprezíveis, consideradas nulas para facilitar a análise. Segundo Yenigün e Demirel, (2013)

o aumento da concentração de amônia na biomassa pode ser provocado pela quebra de moléculas (hidrólise) de proteínas disponíveis no substrato.

5.5.1. Hidrólise Térmica

A partir do ensaio de hidrólise térmica, foi possível identificar que os compostos nitrogenados tiveram incremento de solubilização com o aumento da temperatura. Além disso, grande parte da fração solúvel de NTK é composta por nitrogênio amoniacal, $N-NH_4^+$ (Figura 26).

De acordo com a análise estatística a nível de significância de 5%, os três processos térmicos se diferenciaram entre si, sendo a hidrólise térmica eficaz na solubilização de proteínas, nitrogênio total e amoniacal para as diferentes temperaturas aplicadas (Figura 27 e 28).

Figura 26: Concentração de compostos nitrogenados na biomassa antes e após hidrólise térmica (mg/L).

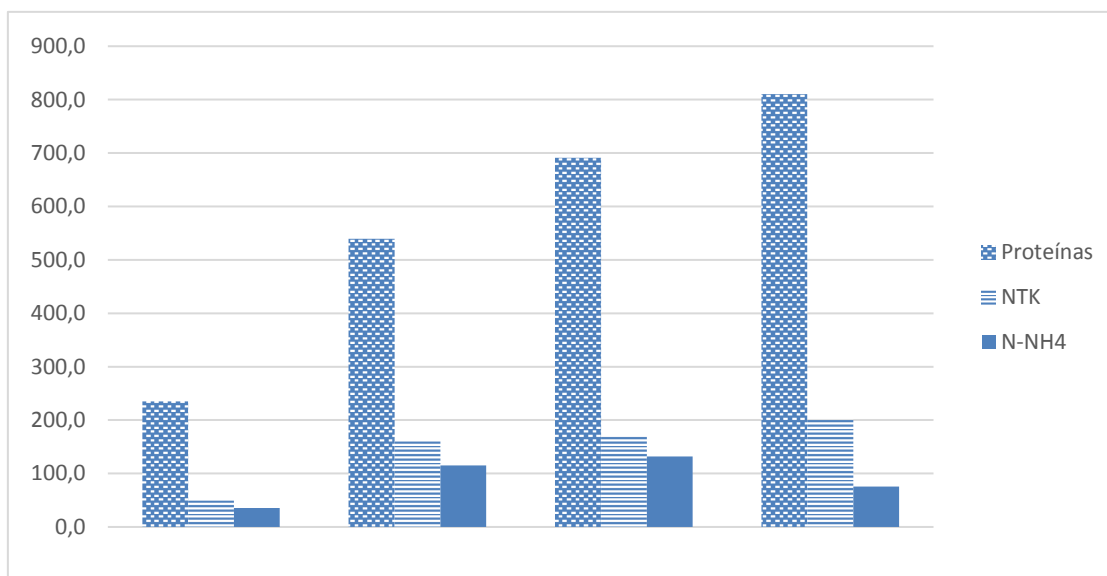
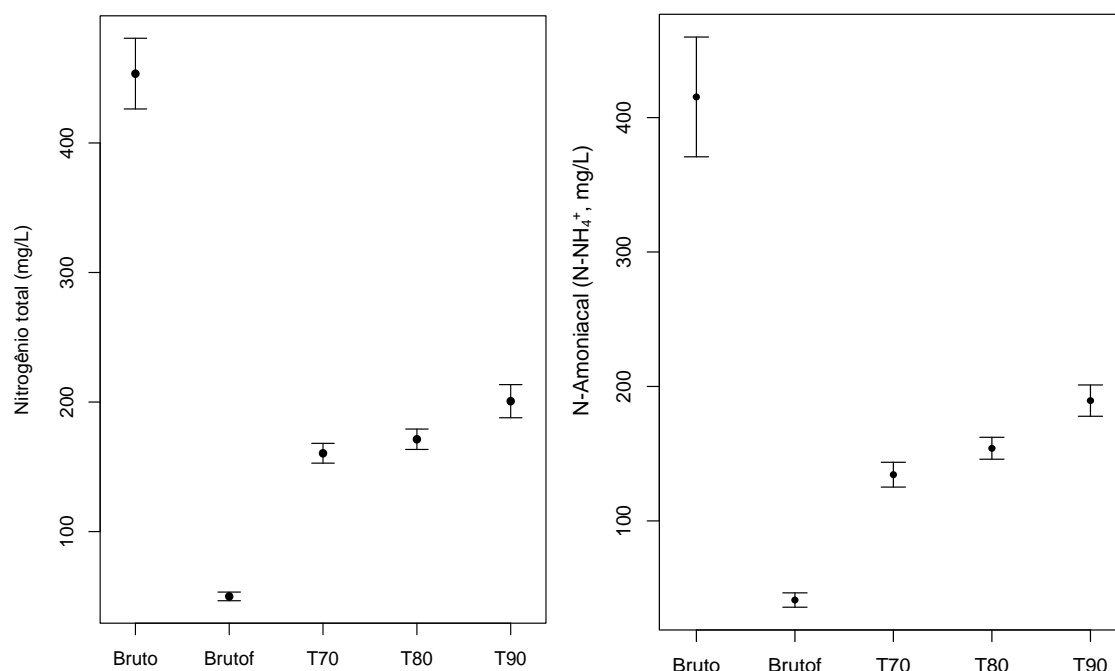


Figura 27: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de nitrogênio (a) e nitrogênio amoniacal (b) nos processos térmicos.



Os processos hidrolíticos térmicos resultaram em aumento de solubilização de 221.4% de Nitrogênio total no processo de hidrólise à temperatura de 70°C, 243.3% à temperatura de 80°C e 302.2% para a temperatura de 90°C. Com relação a solubilização do Nitrogênio amoniacal, os resultados foram de 226.3%, 173.9% e 114.2% para as temperaturas de 70, 80 e 90°C, respectivamente. Com relação às proteínas, obteve-se solubilização de 129.5%, 194.0% e 244.4% com os processos térmicos à temperatura de 70, 80 e 90°C, respectivamente (Tabela 29).

Figura 28: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de proteínas nos processos térmicos.

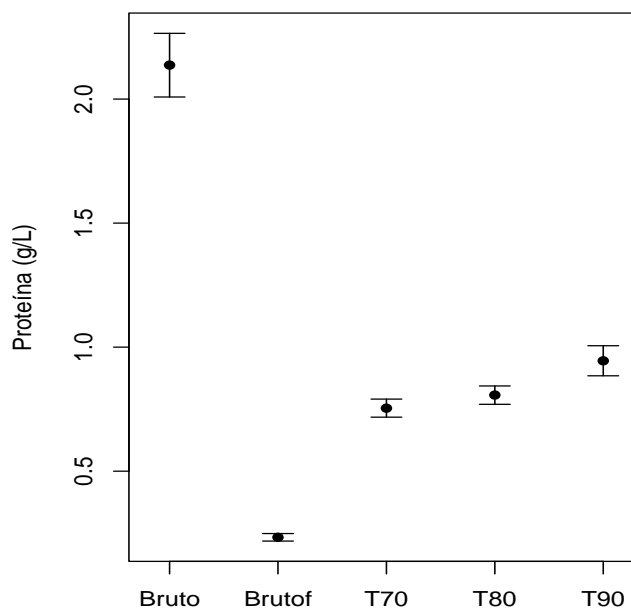


Tabela 19: Concentração dos compostos nitrogenados na biomassa antes e após os processos térmicos.

	Média	DP
Nitrogênio total (NTK), mg/L		
Lodo bruto (Bruto)	453.6	66.8
Lodo bruto filtrado (Brutof)	49.9	8.2
T70	160.4	17.1
T80	171.3	19.3
T90	200.7	31.3
N. Amoniacal (NNH₄), mg/L		
Lodo bruto (Bruto)	311.5	217.0
Lodo bruto filtrado (Brutof)	35.3	19.6
T70	115.2	54.8
T80	132.0	61.0
T90	75.6	76.2
Proteínas, g/L		
Lodo bruto (Bruto)	2.1	0.3
Lodo bruto filtrado (Brutof)	0.2	0.0
T70	0.5	0.1
T80	0.7	0.1
T90	0.8	0.1

5.5.2. Hidrólise Alcalina

A partir do ensaio de hidrólise alcalina, foi possível identificar que os compostos nitrogenados tiveram incremento de solubilização com o aumento da dosagem de álcali. Porém, de acordo com a análise estatística a nível de significância de 5% somente na solubilização de Nitrogênio Amoniacal os três processos se

diferenciaram entre si, o que será discutido mais adiante (Figura 29). Com relação à solubilização de proteínas e NTK, os processos alcalinos não se diferenciaram entre si, o que implica que é possível obter a mesma eficiência de solubilização destes compostos em dosagens mais baixas de álcali (Figura 30).

Os processos alcalinos resultaram em um aumento de solubilização de 86% de Nitrogênio total no processo de hidrólise à dosagem de 45 meq/L, 70% na dosagem de 65 meq/L e 65% de aumento de solubilização para dosagem de 100 meq de NaOH/L. Com relação a solubilização do Nitrogênio total amoniacal, os resultados foram de 113 %, 117% e 90% para as dosagens de 45, 65 e 100 meq/l de NaOH, respectivamente. Com relação às proteínas, obteve-se aumento de solubilização de 55%, 70% e 65% com os processos alcalinos à dosagem de 45, 65 e 100 meq de NaOH/L, respectivamente (Tabela 30).

Figura 29: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de nitrogênio (a) e amônia (b) nos processos alcalinos.

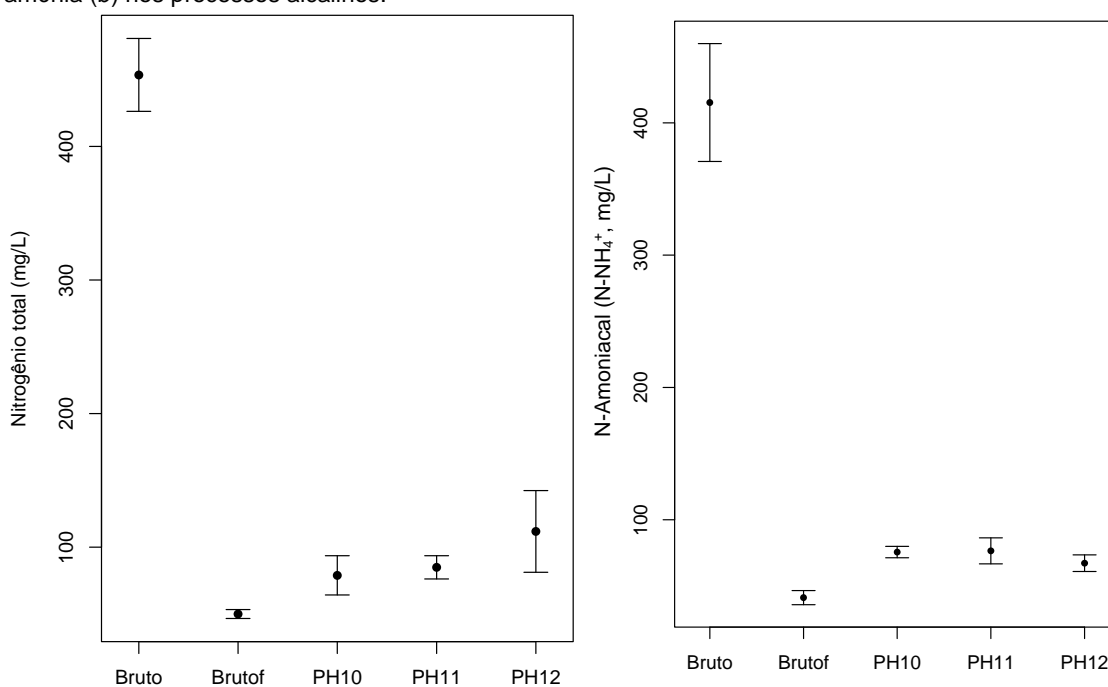


Figura 30: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de proteínas nos processos alcalinos.

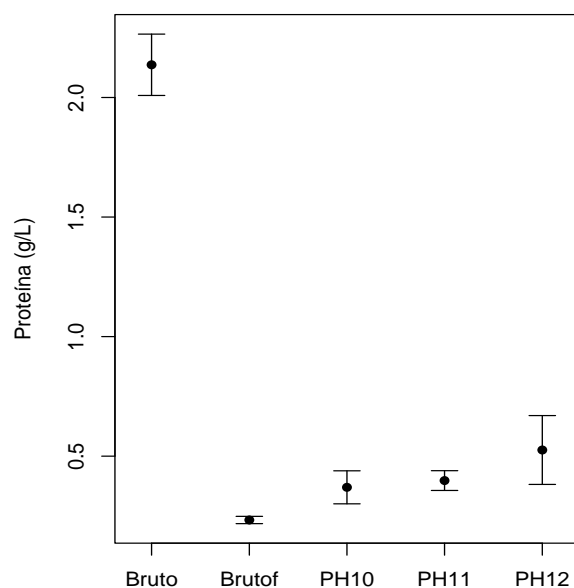


Tabela 30: Concentração dos compostos nitrogenados na biomassa antes e após os processos alcalinos.

	Média (mg/L)	DP
Nitrogênio total (NTK), mg/L		
Lodo bruto (Bruto)	453,6	66,8
Lodo bruto filtrado (Brutof)	49,9	8,2
45 meqNaOH/L	93,0	11,6
65 meqNaOH/L	84,8	19,5
100meqNaOH/L	82,3	21,2
N. Amoniacal (NNH₄), mg/L		
Lodo bruto (Bruto)	311,5	217,0
Lodo bruto filtrado (Brutof)	35,3	19,6
45 meqNaOH/L	75,6	10,5
65 meqNaOH/L	76,5	24,1
100meqNaOH/L	67,2	15,3
Proteínas, mg/L		
Lodo bruto (Bruto)	2136,3	0,3
Lodo bruto filtrado (Brutof)	235,2	0,0
45 meqNaOH/L	456,6	0,3
65 meqNaOH/L	399,6	0,0
100meqNaOH/L	387,4	0,1

5.5.3. Discussão

A redução da concentração de nitrogênio amoniacal para valores de maiores temperaturas (90°C) e maiores dosagens de álcali (100 meq/L) pode ser justificada pelo comportamento do íon amônio nessas condições, em que este

volatiliza em amônia livre (NH_3), não podendo ser identificado na amostra. Além disso, Appels *et al.*, (2010) e Yan *et al.*, (2013) consideraram que há maior rompimento de células microbianas a partir da temperatura de 90°C , o que implica maior liberação de proteínas e carboidratos solúveis. Segundo Zhang *et al.*, (2015) é possível identificar se houve desnaturação ou degradação de proteínas a partir da análise da concentração de nitrogênio amoniacal sob hidrólise térmica. Como há uma variação significativa desta concentração na hidrólise térmica para esta pesquisa, pode-se aferir que houve degradação de proteínas com o processo realizado, principalmente a partir de 90°C . Outro fator importante a ser analisado ao interpretar a solubilização de proteínas, é a composição da biomassa algácea. Como há uma baixa concentração de proteínas em relação ao total de material orgânico da amostra (6,5% de proteínas em SV), a eficiência de solubilização se torna maior.

Como visto anteriormente, a presença de nitrogênio amoniacal na biomassa pode se tornar extremamente desvantajosa se estiver em concentrações elevadas. Nesta pesquisa, o máximo de concentração encontrado foi de 132,0 mg/L, estando dentro do limite aceitável para o processo de digestão, segundo McCarty (1964).

Gonzales-Fernandez *et al.*, (2012) identificam a diferença entre as concentrações de amônia e ortofosfato entre lodos ativados e lodos algáceos. Segundo estas, lodos ativados possuem maior presença de glicoproteínas como compostos predominantes neste tipo de biomassa, aumentando os níveis de amônia neste. Já em lodos algáceos, predomina-se células com parede celular rica em carboidratos.

A menor solubilização de proteínas pode ser justificada pelo descrito por Bougrier *et al.*, (2008), ao aludir que grande parte das proteínas se localizam principalmente no interior das células. Desta forma, é possível que os processos hidrolíticos tenham danificado as células microalgáceas, porém não foram capazes de degradar sua parede celular para expor maior concentração de proteínas.

5.6. SOLUBILIZAÇÃO DE ÍONS FOSTATO

5.6.1. Hidrólise Térmica

A partir da análise de solubilização íons fosfato da amostra, é possível observar que os processos hidrolíticos aumentaram a concentração destes em relação a amostra bruta (controle), porém houve um decréscimo de concentração com o aumento da temperatura.

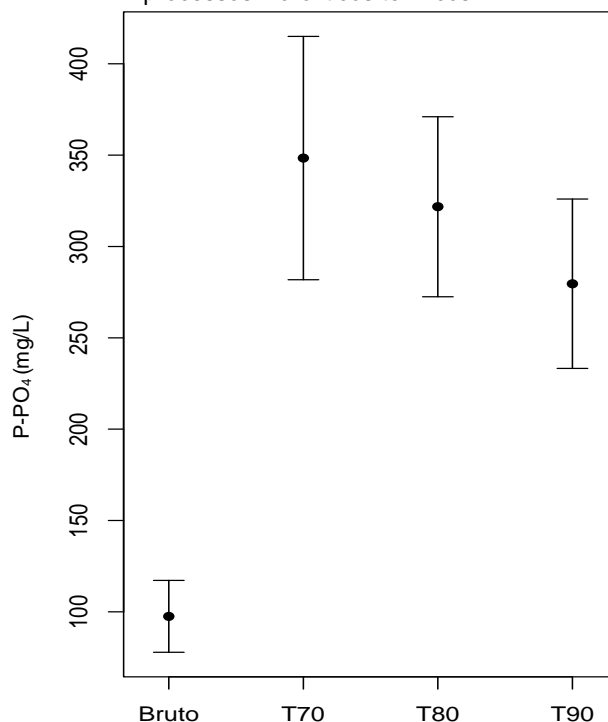
A análise estatística para os processos hidrolíticos térmicos não mostrou diferença significativa entre as diferentes temperaturas, considerando o nível de significância entre os tratamentos abaixo de 5% (Figura 31).

A partir da análise dos valores médios obtidos a partir dos processos, foi possível observar um aumento de solubilidade de 294%, 230%, 186% para as temperaturas de 70°C, 80°C e 90°C, respectivamente. O desvio padrão das análises foi relativamente alto, devido a sensibilidade do método analítico, não dando maior precisão entre as diferentes temperaturas (Tabela 31).

Tabela 31: Concentração de fósforo na biomassa antes e após os processos hidrolíticos térmicos.

	Média (mg/L)	dt	DP
Lodo bruto	543.5	0	74.2
Amostras filtradas (Ortofosfato)			
Lodo bruto	115.6	0	20
T70	348.4	4h	153.5
T80	321.8	4h	108.6
T90	279.6	4h	114.4

Figura 31: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de íons fosfato nos processos hidrolíticos térmicos.



5.6.2. Hidrólise Alcalina

Assim como nos processos hidrolíticos térmicos, é possível observar que os processos hidrolíticos aumentaram a concentração de íons fosfato na amostra em relação à amostra bruta (controle), porém com decréscimo desta com o aumento da dosagem de álcali.

A análise estatística da solubilidade do íon fosfato pelos processos hidrolíticos alcalinos não mostrou diferença significativa entre as diferentes dosagens de álcali (Figura 32).

A partir da análise dos valores médios obtidos a partir dos processos, foi possível observar um aumento de solubilidade de 181%, 166%, 145% para as dosagens de álcali de 45 meq/L, 65 meq/L e 100 meq/L de NaOH, respectivamente. O desvio padrão destas análises também foi relativamente alto devido a sensibilidade do método analítico (Tabela 32).

Figura 32: Análise estatística a nível de significância de 5% para a solubilização de íons fosfato nos processos hidrolíticos alcalinos.

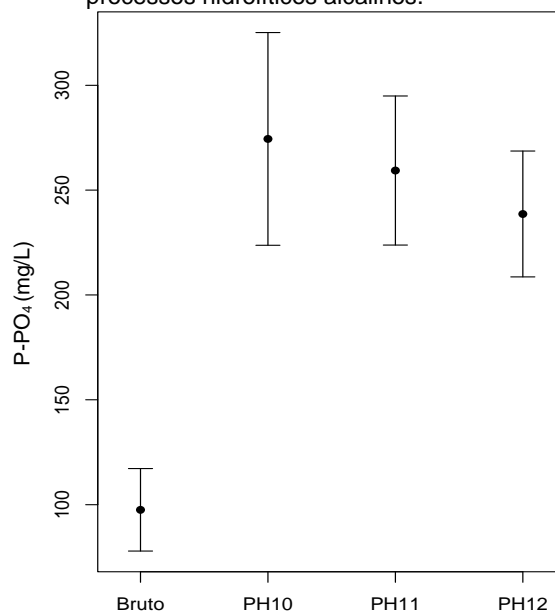


Tabela 20: Concentração de fósforo na biomassa antes e após os processos hidrolíticos alcalinos.

	Média (mg/L)	dt	DP
Lodo Bruto	543.5	0	74.2
Amostras filtradas			
Lodo bruto	115.6	0	20
45 meqNaOH/L	274.4	4h	124.4
65 meqNaOH/L	259.4	4h	87.1
100meqNaOH/L	238.6	4h	73.5

5.6.3. Discussão

A redução da concentração de íons fosfato solúvel na amostra ao longo dos processos hidrolíticos, pode ser resultado da precipitação destes com demais cátions como Ca^{2+} e Mg^{2+} , principalmente com o incremento da dosagem de álcali. Em pH alcalino, há maior predomínio de íons na forma de PO_3^{4+} , que complexados com diferentes ânions, formam sais menos solúveis e ou precipitados. Estes precipitados são sais de hidroxiapatita ou estruvita, compostos de notória aplicabilidade como fertilizantes devido a presença de macronutrientes em sua fórmula, incluindo a amônia (CHEN *et al.*, 2007). Íons fosfato também podem se precipitar em presença de Fe^{3+} e formar outros precipitados como FePO_4 (WANG *et al.*, 2016).

A partir dos ensaios hidrolíticos, observou-se que os processos hidrolíticos térmicos foram mais eficientes na solubilização de ortofosfatos quando comparados aos processos alcalinos.

5.7. EFEITO DA HIDRÓLISE NA MORFOLOGIA ALGÁCEA.

Ainda há lacunas a preencher a respeito dos efeitos provocados pelos processos hidrolíticos sobre a parede celular algácea. Ao longo do processo alcalino foi possível identificar a redução da pigmentação das algas, o que afere a quebra de sua estrutura e liberação de material intracelular (Figura 33). O mesmo ocorreu para o processo térmico, com registros indicando maior efeito da hidrólise sobre as espécies filamentosas de cianobactérias, como identificado na Figura 34.

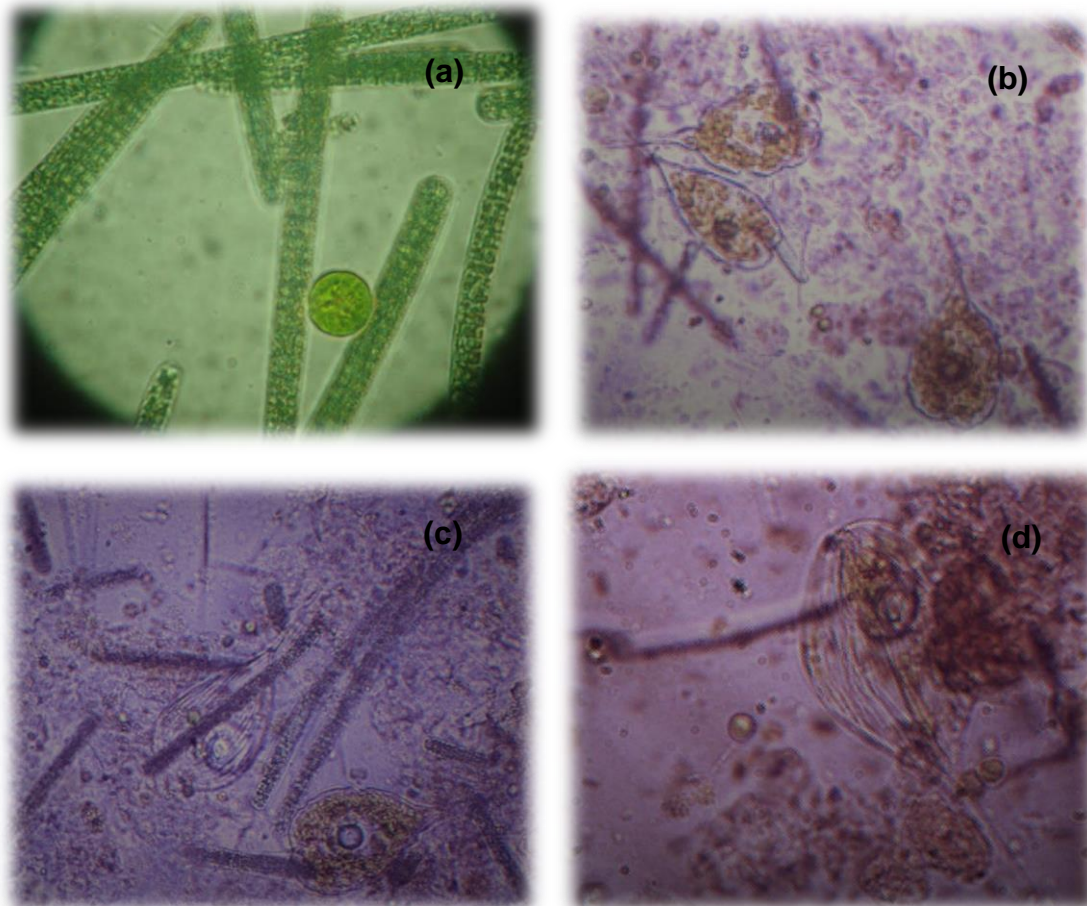
Algumas microalgas também apresentaram ausência de conteúdo intracelular, como a da euglena *Phacus* sp. identificada na figura 30d, indicando sinal de sua ruptura. Outras células, como nas espécies de cianobactérias *Spirulina* sp. e *Planktothrix* sp. foram identificadas a quebra de seus filamentos, com presença de seus fragmentos em solução (Figura 35).

Dessa forma, em ambos os processos houve redução da pigmentação das células, característica também identificada por Passos e Ferrer (2014). Segundo as autoras, estas características podem ser atribuídas a morte de células e a contração de cloroplastos não pigmentados (Figuras 33b e 34c). Apesar deste efeito, a maioria das paredes celulares de microalgas não foram rompidas, indicando que, mesmo estas células tendo sofrido danos com os processos hidrolíticos, elas não se fragmentaram totalmente. Diferentes autores também notaram o mesmo efeito sobre a biomassa algácea submetida à processos hidrolíticos térmicos, com a parede celular intacta e organelas internas desintegradas ou de difícil identificação.

Apesar de algumas células não apresentarem fragmentação, as células danificadas podem ser mais facilmente digeridas na digestão anaeróbia. Essa hipótese entra em acordo com o fato de microalgas terem suas características de parede celular específicas para cada tipo de cepa e, dessa forma, respondendo de maneira diferenciada aos ataques de microrganismos durante

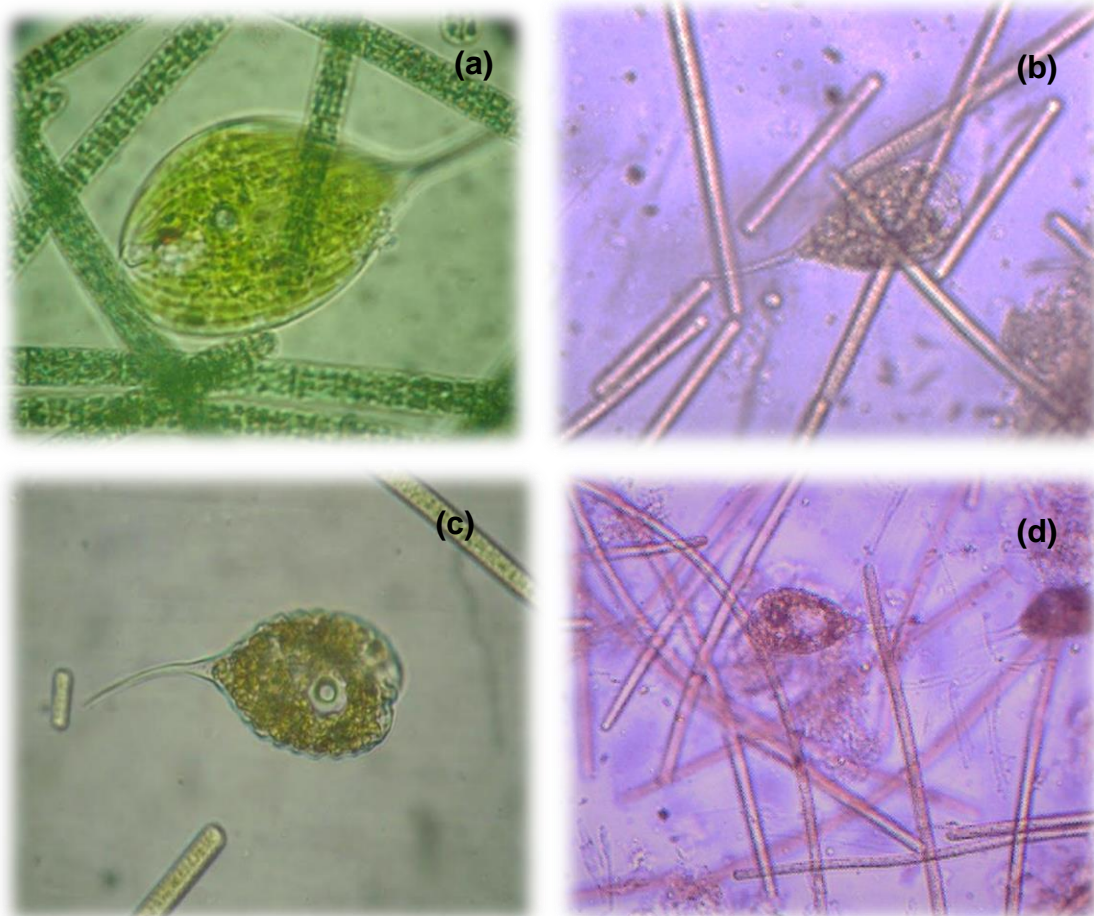
a digestão. Sendo assim, a facilidade de degradação da parede celular não induz diretamente a produção de metano (PASSOS E FERRER, 2014; SCHWEDE *et al.*, 2013; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012;).

Figura 33: Efeito da hidrólise alcalina na biomassa algácea após 4 horas de reação. (a) Amostra bruta; (b) após dosagem de 45meq/L; (c) após dosagem de 65meq/L (d) após dosagem de 100meq/L.



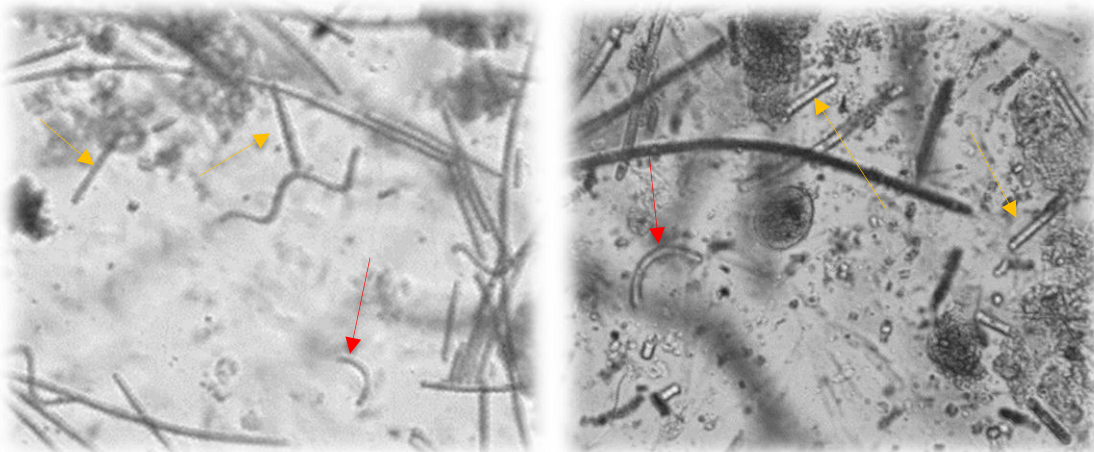
FONTE: Própria autora.

Figura 34: Efeito da hidrólise térmica na biomassa algácea após 4 horas de reação. (a) Amostra bruta; (b) após temperatura de 70°C; (c) após temperatura de 80°C (d) após temperatura de 90°C.



FONTE: Própria autora.

Figura 35: Efeito da hidrólise sobre cianobactérias filamentosas (a) térmica à 70°C; (b) alcalina à 100meq/L. As setas vermelhas indicam fragmentos de *Spirulina sp.* e as pretas de *Planktothrix sp.*



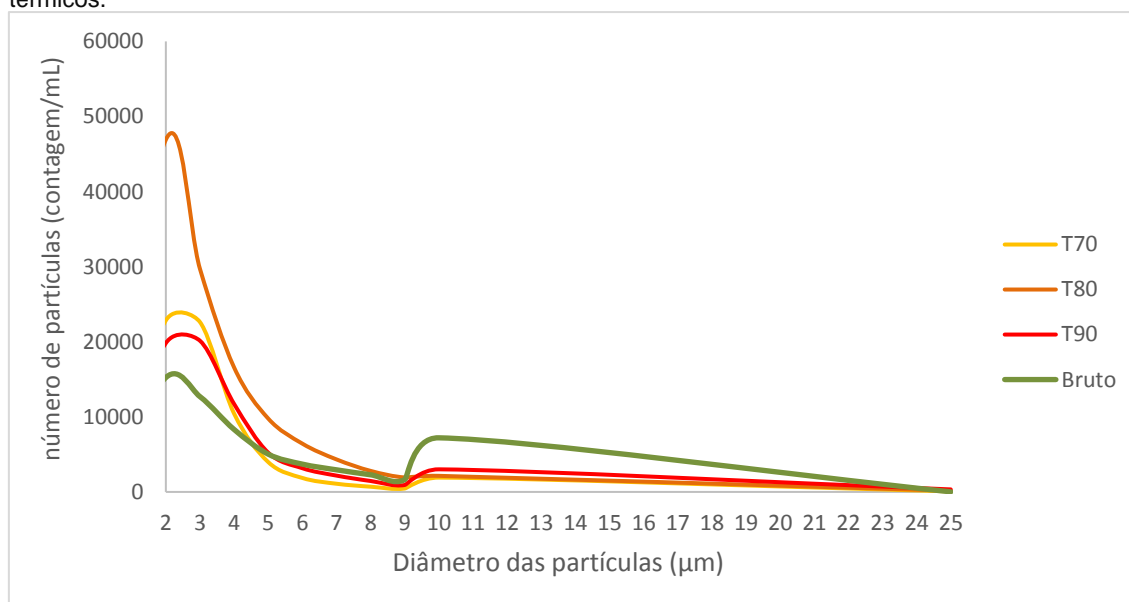
FONTE: Própria autora.

5.8. EFEITO DOS PROCESSOS HIDROLÍTICOS NA GRANULOMETRIA DAS PARTÍCULAS

Após os processos de hidrólise da biomassa, foi realizada a análise de distribuição do tamanho de partículas para identificar a quebra e redução do tamanho destas. Como identificado na análise de sólidos suspensos totais (SST), os processos de hidrólise foram capazes de reduzir a concentração destes, aumentando a concentração de sólidos dissolvidos totais (SDT). Desta forma, maior número de moléculas que antes estavam retidas por filtração, estão presentes em solução após os processos, podendo ser quantificadas na análise de contagem de partículas.

Os gráficos foram construídos a partir do valor médio encontrado na análise. Neste, identificou-se que o número de partículas menores (com diâmetro inferior à 2 μm) aumentou de concentração a partir dos três processos térmicos realizados. A distribuição não foi proporcional ao incremento de temperatura, sendo o processo à temperatura de 80°C que apresentou maior concentração de partículas menores (Figura 36).

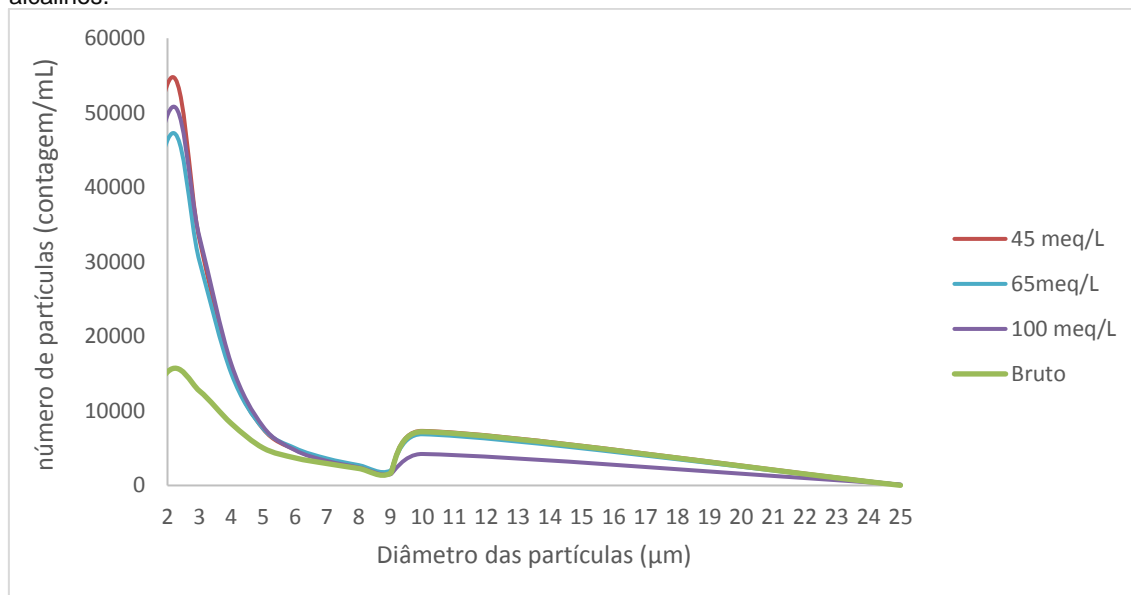
Figura 36: Gráfico de distribuição do tamanho de partículas antes e após os processos hidrolíticos térmicos.



O processo hidrolítico alcalino obteve maiores concentrações de partículas menores (diâmetro inferior à 2 μm) porém, neste processo, há incremento de solução alcalina (NaOH, 1M) e ácida (H₂SO₄, 5N) para a execução e

neutralização do processo, respectivamente. Sendo assim, houve incremento de partículas na amostra, o que pode ter gerado o resultado identificado (Figura 37).

Figura 37: Gráfico de distribuição do tamanho de partículas antes e após os processos hidrolíticos alcalinos.



Gonzalez-Fernandez *et al.*, (2012), realizaram análises de distribuição de partículas para hidrólise térmica à 70 e 80°C, porém com a amostra sem filtração, sendo difícil comparar os resultados. De qualquer modo, em sua análise foi identificado aumento do volume de partículas maiores com o tratamento à 80°C, o que foi atribuído a floculação de células.

Alguns autores ao realizarem análise de distribuição de partículas com diferentes tipos de lodo, como a de lodos ativados, atribuíram este fenômeno à liberação de compostos intracelulares com características floculantes, como proteínas e ácidos nucleicos. Devido à carga positiva destes compostos estes podem se combinar à sítios de bactérias e demais polissacarídeos para floculação (FORSTER *et al.*, 1985; VALLON *et al.*, 1984; GONZE *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos por Gonze *et al.*, (2003) para processo hidrolítico por sonificação de lodos ativados também comprovaram redução do tamanho de partículas após o ensaio hidrolítico. Neste caso, é preciso atentar ao tempo de reação para evitar o fenômeno de refloculação das células.

Para os processos hidrolíticos alcalinos desta pesquisa, observou-se uma redução do número de partículas de diâmetros entre 10-25 µm durante a dosagem de 45 meq/L. Para as dosagens de 65 e 100 meq/L, este valor médio aumentou, sendo este próximo a quantidade de partículas neste intervalo presente na amostra bruta. Este fenômeno pode ser justificado pelo exposto por Gonze *et al.* (2003) e Gonzalez-Fernandez *et al.*, (2012) porém, na amostra de biomassa algácea filtrada.

5.9. PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS

Na análise de ácidos orgânicos das amostras filtradas, foi identificada uma baixa concentração de AOV, na ordem de µg/L. Este é um fator a ser estudado e comprovado em futuras pesquisas, porém, uma das hipóteses para justificar o resultado foi a forma de armazenamento das amostras, que pode ter levado ao consumo de AOV para o metabolismo de microrganismos anaeróbios. Xiong *et al.*, 2012 observou em sua pesquisa que após o tempo de detenção de 144 horas no digestor, a produção de seis tipos de AOV do seu total de ácidos da amostra decresceram significativamente. Sua justificativa foi a predominância de bactérias metanogênicas nas condições de pH 6.75-7.10, desta forma, consumindo parte dos AOV para metanogênese.

De acordo com a análise dos AOV, foi observado que, antes dos processos hidrolíticos, o ácido acético era o único composto orgânico presente a amostra bruta, com concentração inicial foi de 191 µg/L (Figura 38). Após os processos hidrolíticos novos compostos foram identificados, com predominância dos ácidos iso-butírico, acético, oxálico e propriônico, nesta ordem (Figura 39). Xiong *et al.*, 2012 também identificou predominância de ácido acético e n-butírico em sua pesquisa de fermentação anaeróbia de diferentes tipos de lodos originados de uma estação de tratamento com processos ANANNOX (anaeróbio-anóxido-óxido), justificando a formação destes compostos de acordo com a fermentação de carboidratos e proteínas.

O processo de hidrólise alcalina à dosagem de 65meq/L (pH11) foi o que resultou maior concentração de AOV, com solubilização de 2.0 mg/L de ácido iso-butírico, seguido do processo térmico à 90°C, com a concentração de 1.9 mg/L deste mesmo ácido (Figura 38 e 40). Wang *et al.*, 2016 identificou em sua

pesquisa de hidrólise térmica maior concentração de ácidos orgânicos voláteis à temperatura de 121°C, o que foi justificado pela maior solubilização de matéria orgânica e proteínas neste valor de temperatura na amostra de biomassa algácea. Como visto anteriormente no item 5.4.1., temperaturas à partir de 90°C favorecem a quebra e solubilização de proteínas, o que enfatiza a maior concentração de AOV sob essas condições.

A amostra utilizada para esta pesquisa foi conservada em pH neutro por 3 meses sob refrigeração, porém durante este período houveram quedas de energia que pode ter danificado a natureza da composição original.

Figura 38: Concentração de AOV nas amostras antes e após processos hidrolíticos.

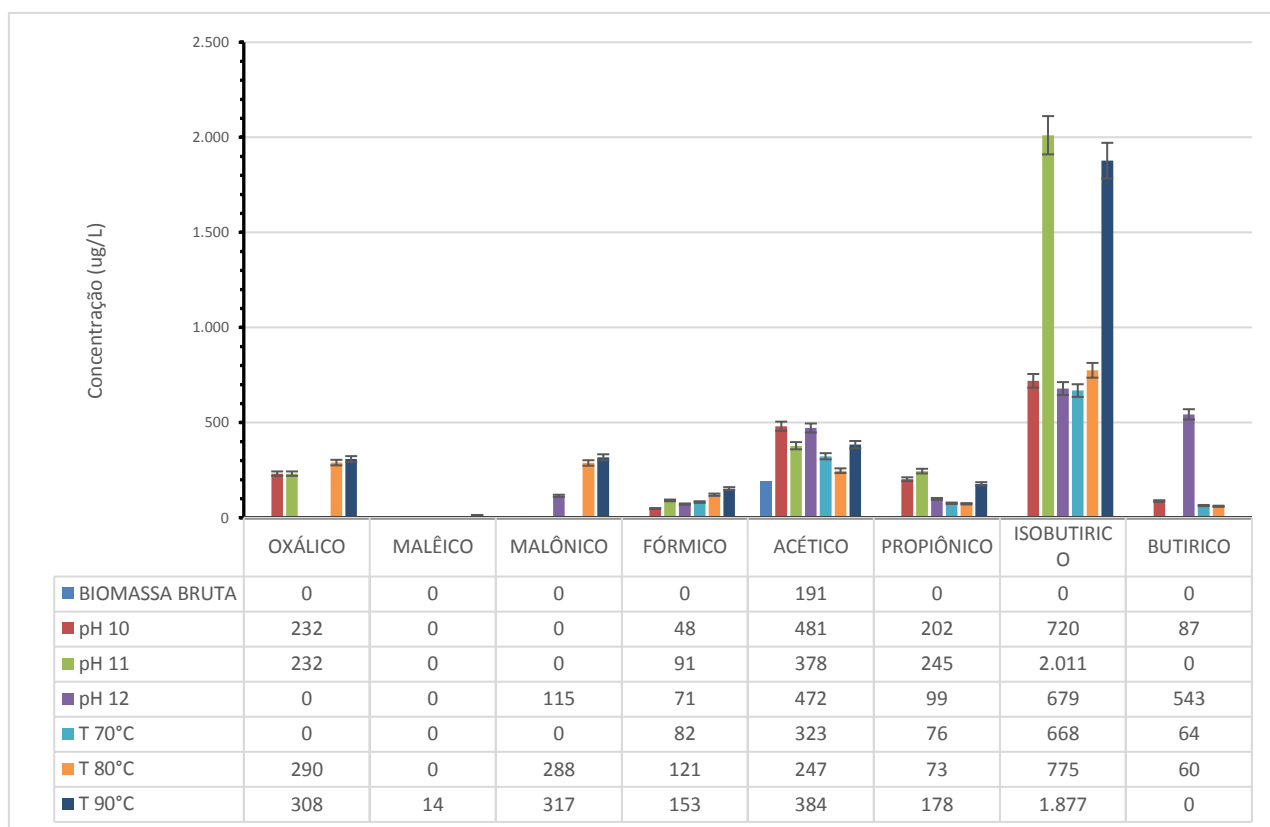


Figura 39: Presença de ácido acético na amostra bruta.

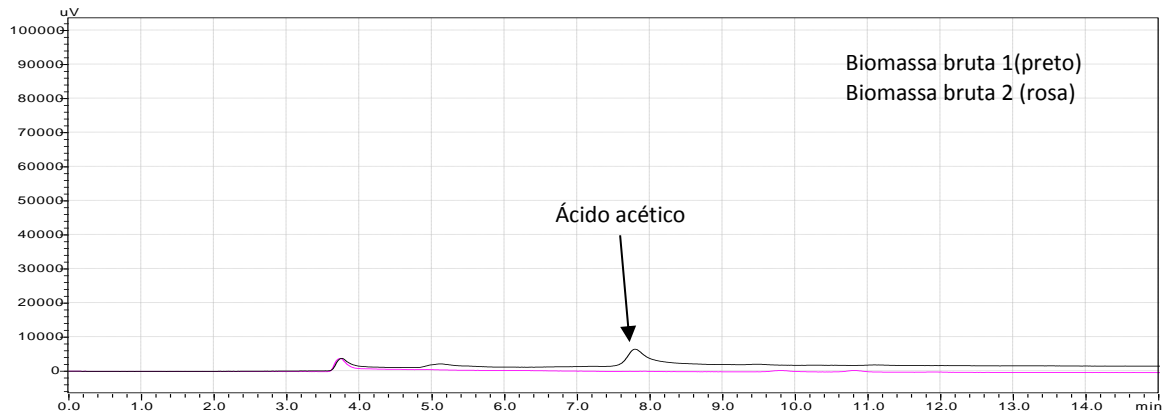
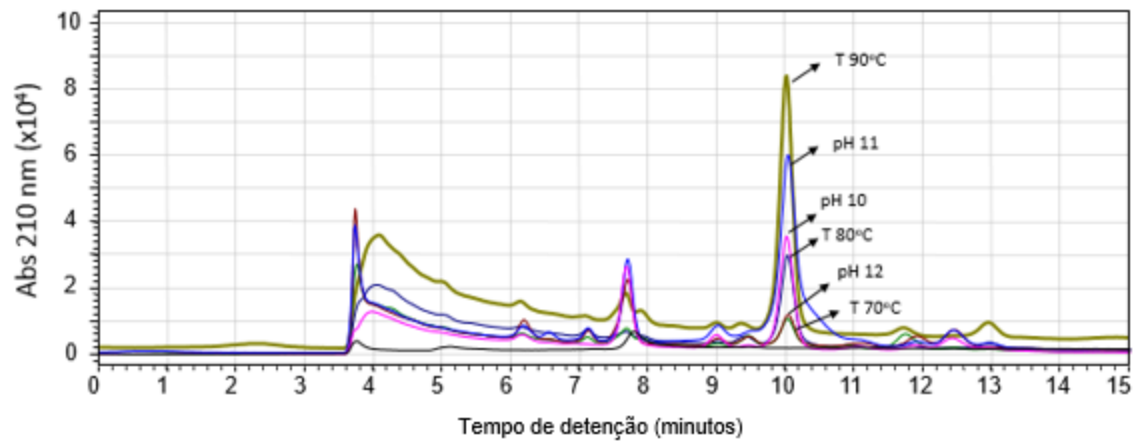


Figura 40: Picos de AOV para os diferentes processos hidrolíticos.



7. CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES

Ambos processos hidrolíticos mostraram resultados satisfatórios quanto a solubilização de material orgânico, nutrientes, carboidratos e proteínas. Embora os processos alcalinos tenham sido mais eficientes na solubilização de material orgânico, para o objetivo geral desta pesquisa, os processos térmicos foram mais eficientes ao promover uma melhor solubilização de demais compostos como nutrientes, carboidratos e proteínas, justificando assim também a maior produção de metano para este tratamento.

As comparações entre as eficiências de solubilização dos testes de hidrólise térmica mostraram maior solubilização de carboidratos a partir da temperatura de 90°C, porém, de acordo com análise estatística, resultados semelhantes podem ser obtidos sob temperatura de 70°C. Devido à baixa taxa de solubilização de carboidratos e maior solubilização destes a partir dos processos térmicos à temperatura mais elevada (90°C) é possível aferir a maior presença de compostos de polissacarídeos de difícil degradação no lodo algáceo, como celulose e hemicelulose, de acordo com o identificado também na pesquisa de Wang *et al.*, (2016).

Como recomendações, cabe repetir as análises de AOV a fim de validar os resultados obtidos inicialmente tendo em vista a baixa concentração de ácidos observada nesta pesquisa. Análises de custo de reagentes devem ser exploradas a fim de comparar os processos hidrolíticos economicamente, além de avaliar o potencial de diferentes processos, como a hidrólise biológica enzimática na solubilização de material orgânico e nutrientes do lodo algáceo.

Diferentes concentrações de sólidos totais do lodo (teor de 1% e 5%) podem ser utilizadas nos processos hidrolíticos explorados, com intento de avaliar a maior eficiência destes para os diferentes teores de sólidos.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABREU, T.A. **Hidrólise Química visando a solubilização da matéria orgânica e da higienização de lodos aeróbios e anaeróbios de Estações de Tratamento de Esgotos Sanitários.** Dissertação de mestrado-PPEA, UFES. Vitória, 2003.

ANDRADE, M.C.E. **Extração e Solubilização de polímeros extracelulares de lodos de uma ETE do tipo UASB+BFs através de hidrólise química.** Dissertação de mestrado-PPEA, UFES. Vitória, 2004.

ANGELIDAKI I.; AHRING B.K. Thermophilic digestion of livestock waste, the effect of ammonia. **Applied Microbiology Biotechnology.** v 38, 560–564, 1993.

AIYUK S.; FORREZ I, LIEVEN D.; VAN HAANDEL; VERSTRAETE W. Anaerobic and complementary treatment of domestic sewage in regions with hot climates—A review. **Bioresource Technology**, v.97, 2225–2241. 2006.

ARCEIVALA, S.J. **Wastewater treatment and disposal. Engineering and ecology in pollution control**, v. 6.UFMG -SANEPAR. 415p.1981.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** American Public Health Association, Washington, DC, 2011.

APPELS, L., DEGRÈVE, J., BRUGGEN, B.V., IMPE, J.V., DEWIL, R. Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation, heavy metal release and anaerobic digestion. **Bioresour. Technol.** 101, 5743–5748. 2010.

ALABI, A.O.; TAMPIER, M. BIBEAU, E. **Microalgae Technologies & Process for Biofuels/Bioenergy Production in British Columbia: Current Technology, Suitability and Barriers to Implementation.** Seed Science Ltd., Canada. 79 p. 2009.

ALZATE M.E.; MUÑOZ R.; F. ROGALLA F.; F. FDZ-POLANCO F.; PÉREZ-ELVIRA S.I. Biochemical methane potential of microalgae: Influence of

substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. **Bioresource Technology**, v.123, 488–494. 2012.

ARIUNBAATAR, J., PANICO A., ESPOSITO, G. PIROZZI F., LENS, P.N.L. Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of solid waste. **Applied Energy**, v. 123, 143-156. 2014.

BAHADAR, A.; KHAN, M.B. Progress in energy from microalgae: A review. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v.27, 128–148, 2013.

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

BICUDO C. E., MENEZES M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições)**. 2^oed São Carlos: RiMa,.502p.2006

BRENNAN, L., OWENDE, P. Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renew. Sust. Energ. Rev**, v.14, 557–577, 2010.

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

BOUGRIER, C., DELGENÈS, J.P., CARRÈRE, H. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chem. Eng. J**. v. 139, 236–244, 2008.

CAI T., PARK S, LI Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 19.360–369, 2013.

CARLSSON M., A. LAGERKVIST A., MORGAN-SAGASTUME F. The effects of substrate pretreatment on anaerobic digestion: a review. **Waste Manage**, v. 32,1634–1650, 2012.

COSTA A.G., PINHEIRO G.C., PINHEIRO F.G.C., SANTOS A.B., SANTAELLA S.T., LEITÃO R.C. Pretreatment strategies to improve anaerobic biodegradability and methane production potential of the palm oil mesocarp fibre. **Chemical Engineering Journal**. v. 230,158–165, 2013.

CARRERE H., DUMAS C., BATTIMELLI A., BATSONE D.J., DELGENES J.P., STEYER J.P. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic biodegradability: a review. **J Hazard Mater**. v. 183. 1-15.2010.

CARRERE H., ANTONOPOULOU G., AFFES R., PASSOS F., BATTIMELLI A., LYBERATOS G., FERRER I. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. **Bioresource Technology**. v.119, 386 -397, 2016.

CASSINI, S.T.(coord.) **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogas**. PROSAB, ABES. 210p. Rio de Janeiro, 2003.

CASSINI S.T., ANDRADE M.C.E., ABREU T.A., KELLER R., GONCALVES R.F. Alkaline and acid hydrolytic processes in aerobic and anaerobic sludges: effect on total EPS and fractions. **Water Science & Technology**. v.53(8). 51–58, 2006.

CHEIRSILP, B., TORPEE S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. **Bioresource Technology**. v.110, 510–516, 2012.

CHEN, Y.M., LIU, J.C., JU, Y.H. Flotation removal of algae from water. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 12, 49–55, 1998.

CHEN Y., CHENG J.J., CREAMER K.S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresour. Technol**. v.99, 4044–4064, 2008.

CHEN Y, STEVENS M.A, ZHU Y., HOLMES J., XU H. Understanding of alkaline pretreatment parameters for corn stover enzymatic saccharification. **Biotechnol Biofuels**.v.6, 8 -18, 2013.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios: Princípios do tratamento biológico de águas residuária.** v. 5. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Ambiental-UFMG, 2007.

CHI Z. ,ZHENG Y., JIANG A., CHEN S. Lipid production by culturing oleaginous yeast and algae with food waste and municipal wastewater in an integrated process. **Applied Biochemistry and Biotechnology.** v. 165. 442–53, 2011.

CHISTI Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances,** v.25, 294–306, 2007.

CHO Y. T.; YOUNG J.C.; Jordan J.A.; MOON H.M. Factors affecting measurement of specific methanogenic activity. **Water Science & Technology.** v. 52, 435–440, 2005.

CHO, S., PARK S., JAECHUL Y., LEE T. Evaluation of thermal, ultrasonic and alkali pretreatments on mixed-microalgal biomass to enhance anaerobic methane production. **Bioresource Technology,** v.143, 330-336, 2013.

COROMINAS L., J. FOLEY J., GUEST J.S, HOSPIDO A., H.F. LARSEN. MORERA S., SHAW A. Life cycle assessment applied to wastewater treatment: State of the art. **Water Research.** v.47, 5480-5492, 2013.

DAS, P. AZIZ, S.S. OBBARD, J.P. Two phase microalgae growth in the open system for enhanced lipid productivity. **Renewable Energy,** v.3, 2524-2528, 2011.

DEVI, M. P. SUBHASH, V.G. MOHAN, S. V. Heterotrophic cultivation of mixed microalgae for lipid accumulation and wastewater treatment during sequential growth and starvation phases: effect of nutrient supplementation. **Renewable Energy,** v.43, 276-283, 2012.

DOMOZYCH, D.S. The crystalline cell wall of *Tetraselmis Convolutae* (Chlorophyta): a freeze fracture analysis. **J. Phycol.,** v. 20 (3), 415–418,1984.

DUAN, N., DONG, B., WU, B., DAI, X. High-solid anaerobic digestion of sewage sludge under mesophilic conditions: feasibility study. **Bioresour. Technol.** v.04,

150–156. 2012.

DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERS P.A., SMITH F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Anal Chem.** v.28, 350 – 356,1956.

FORSTER C.F., KNIGHT N.J.B., WASE D.A.J. Flocculating agents of microbial origin. **Adv. Biotechnol. Proc.** 211-240, 1985.

GONZE E., PILLOT S., VALETTE E., GONTHIER Y., BERNIS A. Ultrasonic treatment of an aerobic activated sludge in a batch reactor. **Chemical Engineering and Processing** v. 42, 965-975, 2003.

GOUVEIA L., OLIVEIRA, A.C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol**, v.36, 269–274, 2009.

GONÇALVES, R.F. (coord.) **Uso racional de água e energia: Conservação de água e energia em sistemas prediais e públicos de abastecimento de água.** PROSAB, ABES. 352p. Rio de Janeiro, 2009.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C., SIALVE, B., BERNET, N., STEYER, J.P. Thermal pretreatment to improve methane production of *Scenedesmus* biomass. **Biomass Bioenergy** v.40, 105–111.2012a

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C., SIALVE, B., BERNET, N., STEYER, J.P. Comparison of ultrasound and thermal pretreatment of *Scenedesmus* biomass on methane production. **Bioresour. Technol.** v.110, 610–616.2012b

GONZALEZ-FERNANDEZ C. SIALVE B., MOLINUEVO-SALCES B. Anaerobic digestion of microalgal biomass: Challenges, opportunities and research needs. **Bioresource Technology**, v.198, 896–906, 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.

KADAM, K. L. Power plant flue gas as a source of CO₂ for microalgae cultivation: Economic impact of different process options. **Energy Conversion and Management**, v.38, 505-510, 1997.

KALOGO, Y., VERSTRAETE, W. Potentials of anaerobic treatment of domestic sewage under temperate climate conditions. In: Lens, P., Zeeman, G., Lettinga, G. (Eds.), *Decentralized Sanitation and Reuse: Concepts, Systems and Implementations*. **IWA Publishing**, 181–203, 2001.

KATO Y., MATSUDA T., KATO N., WATANABE K. E NAKAMURA R. Browning and insolubilization of ovalbumin by Maillard reaction with some aldohexoses. **J. Agric. Food Chem.** v.34, 351-355, 1986.

KATO H. E TSUCHIDA H. Estimation of melanoidin structure by pyrolysis and oxidation. **Prog. Food Nutr. Sci.** v. 5, 147-156, 1981.

KAYHANIAN, M. Ammonia inhibition in high-solids biogasification, an overview and practical solutions. *Environ. Technol.* v. 20, 355–365.1999.

KIM, J., PARK, C., KIM, T.-H., LEE, M., KIM, S., KIM, S.-W., LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **J.Biosci. Bioeng.**, v.95 (3), 271–275, 2003.

KRUG, E. M.; HOLLENBERG, J. N.; HILLENBRAND, T.; HIESSL, H. Integration of Microalgae Systems at Municipal Wastewater Treatment Plants: Implications for Energy and Emission Balances. **Environmental Science & Technology**, v.46, 11505–11514, 2012.

LARDON, L.; HELIAS, A.; SIALVE, B.; STEYER, J. P.; Bernard, O. Lifecycle assessment of biodiesel production from microalgae. **Environ. Sci. Technol.**, v.43, 6475–6481, 2009.

LEE Y.K. Microalgal mass culture system and methods; their limitation and potential. **Journal of Applied Phycology**, v.13, 307-315, 2001.

LEE, Y.K. **Algal nutrition: Heterotrophic carbon nutrition**. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing.UK, 2004. 116 p.

LETTINGA, G. **Anaerobic digestion and wastewater treatment systems**. Antonie van Leeuwenhoek. 67, 3–28. 1995.

LETTINGA, G. FIELD, J.; VAN LIER J. ZEEMAN G.HULSHOFF POL, L.W. Advanced anaerobic wastewater treatment in th near future. **Water Science and Technology**, v. 35, 5–12, 1997.

LI, H., ZOU, S., LI, C., JIN, Y. Alkaline post-treatment for improved sludge anaerobic digestion. **Bioresour. Technol.** 140, 187–191.2013

LI, H., LI, C., LIU, W., ZOU, S. Optimized alkaline pretreatment of sludge before anaerobic digestion. **Bioresour. Technol.** 123, 189–194.2012

LI Y, CHEN Y, CHEN P, MIN M, ZHOU W, MARTINEZ B. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted on highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **BioresourceTechnology**. v. 102.5138–44, 2011.

LU, J., GAVALA, H.N., SKIADAS, I.V., MLADENOVSKA, Z., AHRING, B.K. Improving anaerobic sewage sludge digestion by implementation of a hyperthermophilic prehydrolysis step. **J. Environ. Manage.** v. 88, 881–889, 2008.

LUCARINI C. A.; SILVA A. L.; BIANCHI A.C R. Um sistema para a contagem semi-automática de microorganismos. **Pesquisa & tecnologia**. v. 26, Universidade FEI, 2002.

MAHDY A.; MENDEZ L. BALLESTEROS M. GONZALES-FERNANDEZ C. Autohydrolysis and alkaline pretreatment effect on *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus* sp. methane production. **Energy**, v.78,1-5,2014.

MCCARTY P.L. Anaerobic waste treatment fundamentals: part 1. **Public Works** (9,10,11,12). v. 95, 91–94. 1964.

MENDEZ L., MAHDY A., RUDOLPHUS A. T., BALLESTEROS M., GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ C. Enhancing methane production of *Chlorella vulgaris* via thermochemical pretreatments. **Bioresource Technology**. v.149 136–141.2013.

MAO, C.; FENG, Y.; WANG, X; REN, G. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v.45. 540-555.2015.

MATA, T.M., MARTINS, A.A., CAETANO, N.S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renew. Sust. Energ. Rev.**, v.14, 217–232, 2010.

MITTAL A, KATAHIRA R., MICHAEL E HIMMEL E. M. 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*, 4-41, 2011.

MOSIER,N., WYMAN, C.,DALE,B., ELANDER R., LEE Y.Y., HOLTZAPPLE M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresour Technol**. v. 96. 673-686, 2005.

MORGAN, J.W., FORSTER, C.F., EVISON, L.M. A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludges. **Wat. Res**. v.24(6), 743–750,1990.

NAEGELE H.J., MÖNCH-TEGEDER M., HAAG N.L., OECHSNER H. Effect of substrate pretreatment on particle size distribution in a full-scale research biogas plant. **Bioresource Technology**. v. 172,396–402, 2014.

Oilgae Guide to Algae-based Wastewater Treatment- Oilgae. Home of Algal Energy. 2009. 44p.

NUNES, C E BAPTISTA. Implicações da reacção de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos. **AO RPCV**. v. 96. 53-59. 2001.

OKUDA K. Structure and phylogeny of cell coverings. **Journal of Plant Research**. v.115, 283–288, 2002.

OECD/IEA, ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT / INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. Energy technology perspectives, scenarios and strategies to 2050. 650 p. Paris: 2008.

PARK WOON-LI; A. JOHNG-HWA; HWANG S.B, LEE CHAN-KI. Effect of output power, target temperature, and solid concentration on the solubilization of waste activated sludge using microwave irradiation. **Bioresource Technology** v. 101, 13 –16, 2010.

PASSOS F, GARCÍA J, FERRER I. Impact of low temperature pretreatment on the anaerobic digestion of microalgal biomass. **Bioresour Technol.** v.138, 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.

PASSOS F.; FERRER I. Microalgae Conversion to Biogas: Thermal Pretreatment Contribution on Net Energy Production. **Environ. Sci. Technol.** v.48, 7171–7178, 2014.

PASSOS F.; CARRETERO J.; FERRER I. Comparing pretreatment methods for improving microalgae anaerobic digestion: Thermal, hydrothermal, microwave and ultrasound. **Chemical Engineering Journal**. v. 279, 667–672.2015.

PARKIN G.F., OWEN W.F. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. **J. Environ. Eng.** v. 112, 867–920, 1986.

RICHARDS, R.G.; MULLINS, B.J. Using microalgae for combined lipid production and heavy metal removal from leachate. **Ecological Modelling**.

RISCH E. A., GUTIERREZ O. B., ROUX F. A., BOUTIN C., COROMINAS L. Life cycle assessment of urban wastewater systems: Quantifying the relative contribution of sewer systems. *Water Research*. V. 77. 35-48, 2015.

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

SIALVE B, BERNET N, BERNARD O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. **Biotechnol Adv.** 2009;27(4):409 e 16. 2009.

SCHENK P.M., Thomas-Hall S.R., Stephens E, Marx U.C., Mussgnug J. H., Posten C. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **Bioenergy Research.**, v.1, 20–43. 2008.

SHEEHAN, J. DUNAHAY, T.G. BENEMANN, J.R. ROESSLER, P.G. WEISSMAN, J.C. **A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae.** Renewable Energy Laboratory. Colorado, 1998.328p.

SPEECE R.E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters.** Nashville, Tenn.: Archae Press.USA,1996.

TARTAKOVSKY B., LEBRUN F.M., GUIOT S.R. High-rate biomethane production from microalgal biomass in a UASB reactor. **Algal Research.** v.7.86–91.2015.

TRAVIESO L., CANIZARES R. O, BORJA R, BENITEZ F., DOMINGUEZ A.R, DUPERYRON R., VALIENTE Y. V, Heavy Metal removal by Microalgae. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology.** v.62, 144-151,1999.

UDUMAN, N., QI, Y., DANQUAH, M.K., FORDE, G.M., HOADLEY, A. Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. **Journal of Renewable and Sustainable Energy.** v.2, 012701, 2010.

VALLOM J.K., MCLOUGHLIN A.J. Lysis as a factor in sludge flocculation. **Water Res.** v.18, 1523-1528. 1984.

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.

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.

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.; LEE E.; DILBECK M.P.; MATTHEW LIEBELT, M.; ZHANG Q. SARINA E. J. Thermal pretreatment of microalgae for biomethane production: experimental studies, kinetics and energy analysis. **J Chem Technol Biotechnol.** 2016.

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

WINKER, M.; HARTMANN, M. Urine and brownwater separation at GTZ main office building, Eschborn, Germany. Case study of sustainable sanitation projects, Sustainable Sanitation Alliance – **SuSanA**, 2010.

WCED, 1987. **World Commission on Environment and Development, Our Common Future.** Oxford University Press, New York.

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

XUAN, J. LEUNG M.K.H., LEUNG, D.Y.C. NI, M. A review of biomass- derived fuel processors for fuel cell systems. **Renewable and Sustainable Energy Reviews.** v.13, 1301 -1313, 2009.

YAAKOB Z., KAMRUL F., ESHAN A., ABDULLAH R.S., TAKRIF F.M.S. An Overview of Microalgae as a Wastewater Treatment. **Jordam International Energy Conference**. Malaysia, 2011.

YAN, Y., CHEN, H., XU, W., HE, Q., ZHOU, Q. Enhancement of biochemical methane potential from excess sludge with low organic content by mild thermal pretreatment. *Biochem. Eng. J.* 70, 127–134, 2013.

YANG Z.; GUO R.; XU X.; FAN X.; LI, X. Enhanced hydrogen production from lipid-extracted microalgal biomass residues through pretreatment. **International Journal of Hydrogen Energy**.v.35, 9618-9623, 2010.

YANG, A. Modeling and Evaluation of CO₂ Supply and Utilization in Algal Ponds. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v.50, 11181–11192, 2011.

YENIGÜN O., DEMIREL B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. **Process Biochemistry**. v. 48, 901–911, 2013.

ZHANG. S.; GUO H.; DU L.; LIANG J.; LU X.; NAN LI N.; ZHANG K. Influence of NaOH and thermal pretreatment on dewatered activated sludge solubilisation and subsequent anaerobic digestion: Focused on high-solid state. **Bioresource Technology**. v. 185, 171–177, 2015.

ZHOU W, MIN M, LI Y, HU B, MA X, CHENG Y. A hetero-photoautotrophic two-stage cultivation process to improve wastewater nutrient removal and enhance algal lipid accumulation. **Bioresource Technology**. v.110, 448–55.2012.

ZUPANCIC, G.D. e ROŠ M. Heat and energy requirements in thermophilic anaerobic sludge digestion. **Renew Energy**. v.28, 2255–2267, 2003.