

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

**CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA DE MICROALGAS E
ESGOTO SANITÁRIO EM REATOR UASB**

Vitória

2019

CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE BIOMASSA DE MICROALGAS E ESGOTO SANITÁRIO EM REATOR UASB.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientação: Prof. D. Ing Ricardo Franci Gonçalves

Co-orientação: Profa.D. Sc. Raquel Machado Borges

Vitória

2019

"Se você vê beleza aqui
não significa
que há beleza em mim
significa que há beleza enraizada
tão fundo em você
que é impossível não ver
beleza em tudo"

- Rupi Kaur

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Aos meus pais e minha irmã por todo amor e incentivo.

Ao André por tornar minha jornada mais leve.

Ao Ricardo Franci pelos ensinamentos, por me acolher e acreditar no meu trabalho.

A Raquel Borges por todo apoio e instrução.

Ao Rodrigo Oss por todo apoio e paciência.

A primeira equipe Araçás (Nattalia, Larissa, Maria, Karina) por tornar a pesquisa tão divertida. A segunda equipe, Ludimila e Carolina por todo companheirismo. Sinto-me privilegiada por ter passado esse momento da minha vida com vocês.

A Tatiana por toda ajuda e parceria.

Aos meus amigos do núcleo água, Sol, Jana, Larissa, Thais, Regiane, Natan, Constança, Marina.

A todos do LABSAN, principalmente ao Paulo

Aos operadores da Vila Velha ambiental.

Aos colegas da CESAN, Elias, Jhonatan, Wagner, Mariana, Tainan, Marcell, Josemir, Luciana, CESAN, pela imensa ajuda durante toda pesquisa.

Ao Flavio por ser um excelente profissional.

Aos professores Francisco Candido Cardoso Barreto e Nátaly Jiménez Monroy pela ajuda na parte estatística.

Por fim, sou grata a CAPES e à FINEP pelo financiamento ao longo deste projeto.

RESUMO

Esse trabalho teve por finalidade estudar os efeitos da codigestão anaeróbia de esgoto sanitário e biomassa de microalgas em um UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), analisando o desempenho do reator durante 416 dias de codigestão. O UASB utilizado possui 3,78 m³ de volume útil de 4,8 metros de altura. A média de seu tempo de detenção hidráulico foi de 9,0 h e COV de 1,06 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, operando a temperatura afluente média de 25°C. O efluente do reator UASB durante a codigestão apresentou concentração média de DQO de 338 mg.L⁻¹, relação DBO₅/DQO de 0,63, SST 350 mg.L⁻¹ e SSV de 300 mg.L⁻¹. A biomassa de microalgas introduzida no UASB apresentou relação média SV/ST de 0,60. Através do perfil de lodo ao longo da altura do UASB, observou-se que o processo respondeu ao aporte de biomassa de microalgas com um acúmulo destas no compartimento de digestão. O balanço de massa baseado na contagem de células indicou que o UASB praticamente não expelle as microalgas, sendo que 30,5% destas ficaram concentradas entre as alturas 0,16m e 1,29m do UASB e 20,3% entre as alturas 1,29m e 2,29m. O balanço de massa de DQO também mostrou que 36,7% da DQO afluente (esgoto e biomassa algácea) foi convertida a lodo. Através de microscopia eletrônica de varredura foi observada a presença de células de microalgas não lisadas em todas as amostras coletadas ao longo do UASB e em seu efluente. Tal fato destaca a necessidade de processos hidrolíticos como meio para se aumentar a biodegradabilidade da biomassa usada como substrato na codigestão. Atribui-se a isto a média de produção de biogás de 0,49m³.d⁻¹ (0,1Nm³CH₄.KgDQOremovida⁻¹) valor menor do que obtido na operação do mesmo reator alimentado exclusivamente com esgoto sanitário. Foi realizada a avaliação do potencial metanogênico da biomassa de microalgas coletada após coagulação com Tanfloc e sedimentação, antes e após a hidrólise alcalina para solubilização de DQO. Observou-se o efeito negativo deste coagulante sobre a produção de metano pelo lodo do UASB mesmo após submissão da biomassa algácea à hidrólise alcalina .

Palavras-chave: UASB, microalgas, codigestão anaeróbia, biogás, hidrólise, tanfloc.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the effect of combined municipal wastewater with microalgae biomass anaerobic co-digestion on an Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor through the performance analysis during 416 days. The present contribution aims to study municipal wastewater combined with microalgae biomass anaerobic co-digestion effect on an Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor through the performance analysis during 416 days. The UASB used has 3.78 m³ of usable volume and is 4.8 m high. Furthermore, the reactor operated on 25°C temperature and presented average hydraulic detention time and VOC content equal to 9.0 hours and 1.06 kgCOD.m⁻³.d⁻¹. The effluent presented average COD of 338mgL⁻¹, BOD₅/COD of 0.63, TSS 350mg.L⁻¹ and VSS of 300mgL⁻¹. Moreover, microalgae biomass introduced in the UASB reactor presented VS/TS relation equal to 0.60. The sludge profile from UASB revealed that the process responded to microalgae insertion and their accumulation in the digestion compartment. In addition, the mass balance, based on cells counting, showed that UASB does not expel microalgae. Further, the microalgae distribution is majorly concentrated between 0.16 and 1.29m (30.5% of the cells) and 1.29 and 2.29m (20.3% of the cells). On the other hand, 36.7% of microalgae and municipal wastewater COD was converted to sludge. Scanning electron microscopy showed the presence of not lysed microalgae cells in all UASB effluent samples, which highlights the need for hydrolysis to increase biomass biodegradability in co-digestion process. This phenomenon is due to a 0.49m³.d⁻¹(0,1Nm³CH₄.KgCODremoved⁻¹) average biogas production, which is smaller than the obtained in the operation of the same methanogenic reactor of microalgae collected after coagulation with TANFLOC and sedimentation, before and after the alkaline hydrolysis to solubilize the COD. At last, a negative effect of TANFLOC coagulant over methane production with UASB sludge even after submission to alkaline hydrolysis.

keywords: UASB, microalgae, anaerobic co-digestion, biogas, hydrolysis, Tanfloc.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	16
2.1. OBJETIVO GERAL	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 MICROALGAS COMO FONTE DE ENERGIA RENOVÁVEL	17
3.2 O PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA	20
3.2.1 Fatores que interferem na digestão anaeróbia.	22
3.3 REATOR UASB NO TRATAMENTO DE ESGOTO	24
3.4 CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE ESGOTO SANITÁRIO E BIOMASSA DE MICROALGAS EM REATORES UASB	25
3.5 LIMITAÇÕES NA UTILIZAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS	27
3.5.1 Processos de recuperação de biomassa.	28
3.5.2 Processos hidrolíticos	40
3.6 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DE PRODUÇÃO DE METANO (BMP)	44
3.7 BALANÇO DE MASSA DE DQO	47
4. METODOLOGIA DE PESQUISA	50
4.1 Parque Experimental	50
4.1.2 REATOR UASB	54
4.2 DESCRIÇÃO DA ETAPA DE CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE ESGOTO SANITÁRIO E BIOMASSA DE MICROALGAS EM REATORES UASB	55
4.3 OPERAÇÃO E CONTROLE DO REATOR UASB	57
4.3.1 Descarte de lodo	59
4.3.2 Perfil de lodo	59
4.4 MONITORAMENTO DO DESEMPENHO DO UASB	61
4.5 EFEITOS DA CODIGESTÃO SOBRE O DESEMPENHO DO REATOR UASB	65
4.6 ANÁLISE DO EFEITO DA CODIGESTÃO ANAERÓBIA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DO LODO do UASB	65
4.6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	66
4.6.2 Balanço populacional de contagem de células/mL	67
4.7 BALANÇO DE MASSA DE DQO DURANTE A CODIGESTÃO	69
4.8 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ENERGÉTICO DO PROCESSO DE CODIGESTÃO ANAERÓBIA	72
4.8.1 Cálculo do Potencial Energético do Biogás	72
4.9 ESTUDO DO EFEITO DA biomassa COAGULADA COM TANFLOC HIDROLISADA PELA VIA ALCALINA NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS	72

4.9.1	Avaliação do Potencial Metanogênico da Biomassa (BMP)	73
4.9.2	Avaliação da hidrólise dos substratos nos experimentos III e IV	75
4.9.1	Configuração experimental.....	76
4.10	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	78
5.	RESULTADOS	79
5.1	CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DO ESGOTO SANITÁRIO	79
5.2	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS 81	
5.3	DESEMPENHO DO TRATAMENTO ANAERÓBIO	82
5.4	CARACTERÍSTICAS DO LODO ANAERÓBIO DE CODIGESTÃO	87
5.4.1	Idade do lodo e produção de sólidos	87
5.4.2	Perfil de sólidos no lodo do reator	88
5.4.3	Relação C/N	89
5.4.4	Balço populacional de células/mL	90
5.5	Balço de massa de DQO.....	92
5.4.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	94
5.6	Produção de biogás no UASB durante a codigestão anaeróbia	99
5.7	Avaliação do potencial metanogênico da biomassa.....	102
5.7.1	Caracterização dos substratos utilizados nos experimentos.	102
5.7.2	Eficiência dos processos hidrolíticos nos experimentos III e IV.....	103
5.7.3	Avaliação do potencial metanogênico da biomassa (BMP).....	105
6.	CONCLUSÕES	110
7.	RECOMENDAÇÕES	111
8.	REFERÊNCIAS	112

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espécies de microalgas isoladas do efluente de UASB (aumento de 400 x). Chlorococcum sp. L04; Chlorella sp. L06; Scenedesmus sp. L08; Tetradesmus sp. L09; Oocystis sp. L10; Chlorella sp. L11; e Chlorella sp. L12	18
Figura 2: Etapas da digestão anaeróbia.....	21
Figura 3: Desenho esquemático de um reator UASB.....	25
Figura 4: Estrutura da dupla camada elétrica de íons carregados em solução ao redor de uma célula de microalga carregada negativamente e a diferença de potencial entre a partícula e o fluido em função da distância da superfície da partícula.	32
Figura 5: Representação básica da estrutura do tanino em solução aquosa e possíveis interações moleculares.	37
Figura 6: Estrutura química provável do Tanfloc	39
Figura 7: Unidades de incubação, adsorção de CO ₂ e dispositivo de medição, respectivamente.	46
Figura 8: Ilustração das parcelas calculadas no balanço de massa de DQO.	48
Figura 9: Balanço de massa da DQO convertida no tratamento anaeróbio na etapa sem codigestão (a) e com codigestão de esgoto sanitário e lodo algáceo (b).	49
Figura 10: Foto aérea da ETE Araçás com localização do parque experimental, da área administrativa e laboratórios.	50
Figura 11: Configuração do parque experimental.	52
Figura 12: Foto do parque experimental com indicação dos processos.....	53
Figura 13: Esquema do fluxo da biomassa de microalgas.	53
Figura 14: (a) Vista do Reator UASB 1. (b) Desenho esquemático do reator.	54
Figura 15: Fluxo da biomassa de microalgas coagulada com Tanfloc durante a codigestão.....	55
Figura 16: Figura 16: Desenho esquemático da etapa da codigestão.	56
Figura 17: Caixa de distribuição 2.	57
Figura 18: Localização das tomadas de amostras do reator UASB.	60
Figura 19: Pontos de monitoramento do reator UASB.	61
Figura 20: Medidor de biogás Ritter TG5.	64
Figura 21: MEV JEOL modelo JSM6610LV.	66
Figura 22: Stubs com deposição das amostras.....	67
Figura 23: Parcelas do balanço populacional de contagem de células/mL.	67
Figura 24: a) Imagem obtida pela Opticam OPTHD, b) microscópio óptico.	68
Figura 25: Parcela do balanço de massa de DQO.	69
Figura 26: Equipamento Jar Test utilizado para hidrólise dos substratos.	75
Figura 27: Equipamento AMPTS II em funcionamento.	77
Figura 28: Precipitação (mm) mensal em Vitória de de junho de 2017 a junho de 2018.	79
Figura 29: Relação DBO ₅ /DQO durante a codigestão.....	80
Figura 30: Variação da temperatura ao longo da codigestão.	82
Figura 31: Variação do pH durante a etapa de codigestão.	83
Figura 32: Eficiência de remoção da DQO durante etapa de codigestão.....	85

Figura 33: Blox-pot de sólidos totais e sólidos voláteis	86
Figura 34: Blox-pot de sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis.	86
Figura 35: Relação SV/ST as tomadas de amostra do reator UASB.	89
Figura 36: Balanço populacional de contagem de células/mL.....	90
Figura 37: Média de todos os pontos do balanço populacional de contagem de células.	91
Figura 38: Balanço de massa de DQO.....	92
Figura 39: Parcelas do balanço de massa de DQO do reator UASB durante a codigestão.	93
Figura 40: Balanço de massa de DQO do UASB durante a codigestão.....	93
Figura 41: : Imagens obtidas através de MEV do esgoto bruto, biomassa de microalgas, tomadas de amostra e efluente do UASB.....	95
Figura 42: Produção de biogás etapa de digestão (Assis, 2017) e codigestão dessa pesquisa.....	100
Figura 43: solubilização de DQO filtrada dos substratos nos experimentos III e IV.	104
Figura 44: Solubilização de carboidratos e proteínas filtradas no processo de hidrólise alcalina.	104
Figura 45: Produção média acumulada dos substratos utilizados nos experimentos I ao IV.....	106
Figura 46: Produção acumulada de metano, utilizando o leite como inóculo	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação de tecnologias de separação comercialmente disponíveis para microalgas.....	28
Tabela 2: Composição elementar do Tanfloc.....	39
Tabela 3: Dados de operação do sistema de coleta da biomassa de algas.....	56
Tabela 4: Parâmetros operacionais do UASB.....	58
Tabela 5: Parâmetros operacionais do UASB.....	59
Tabela 6: Programa de monitoramento do reator UASB.....	62
Tabela 7: Programa de monitoramento do reator UASB.....	63
Tabela 8: Diluições dos pontos monitorados.....	68
Tabela 9: Equações do balanço de massa de DQO.....	71
Tabela 10: Experimentos realizado no AMPTS II.....	73
Tabela 11: Volumes inseridos nos frascos de 400mL do AMPTS II.....	74
Tabela 12: Parâmetros analisados na eficiência dos processos hidrolíticos dos substratos.....	75
Tabela 13: Características físico-químicas do esgoto sanitário afluyente ao reator UASB.....	79
Tabela 14: Características físico-químicas da biomassa.....	81
Tabela 15: Variáveis operacionais do reator UASB.....	83
Tabela 16: Desempenho característico do UASB durante a codigestão.....	84
Tabela 17: Referencial teórico sobre a remoção de DQO.....	84
Tabela 18: Produção de lodo durante a etapa de codigestão.....	88
Tabela 19: Valores ótimos para relação C/N.....	89
Tabela 20: Estatística descritiva da produção de biogás em m ³ .d-1.....	100
Tabela 21: Caracterização dos substratos.....	102
Tabela 22: Eficiência de hidrólise dos substratos no experimento III e IV.....	103

1. INTRODUÇÃO

Estações de tratamento de esgoto (ETE) têm sido projetadas para satisfazer os requisitos de qualidade sem considerar os gastos energéticos e possíveis impactos ambientais (BATSTONE et al., 2015). O consumo típico de energia para remoção de matéria orgânica em sistemas convencionais de tratamento, baseados na tecnologia dos lodos ativados com digestão anaeróbia, é de 0,3 a 0,6 kWh/m³ de efluente tratado, e metade deste consumo é atribuído aos tanques de aeração (MCCARTY; BAE; KIM, 2011; GU et al. 2017). Segundo Panepinto et al. (2016), 25 a 40% dos custos operacionais de sistemas de lodos ativados são atribuídos ao consumo de energia. Com isso, a qualidade da água é melhorada à custa de uma entrada significativa de energia.

Nesse contexto, tem-se ampliado o uso do conceito NEXUS e da economia circular na área de saneamento, levando a novas concepções de tratamento com foco em água de reuso, recuperação de nutrientes e energia, seus principais produtos recuperáveis (BATSTONE et al., 2015, PUYOL et al., 2017). Sem dúvidas, para que se consiga alcançar a autossuficiência energética é necessário haver melhoria na eficiência de seus processos unitários e recuperação energética.

Os sistemas de tratamentos anaeróbios ganham destaque neste âmbito devido à geração de energia através do metano que pode compensar o consumo de energia do processo aeróbio e reduzir a produção de CO₂ em quase 60% (PROBIO, 2015). O Brasil, por possuir temperaturas elevadas o ano inteiro, apresenta condições ambientais favoráveis a implantação desses sistemas (JORDÃO; PESSOA, 2011).

Nesse contexto, os reatores UASB, doravante denominados apenas como UASB, ganham destaque. Dentre as vantagens desse processo tem-se a elevada remoção de DQO e DBO (65 a 75%), sem a necessidade de material suporte, baixa produção de lodo, elevada concentração e boa desidratabilidade do lodo excedente (PROBIO, 2015). A turbulência natural do movimento ascensional das bolhas de biogás no seu interior permite um contato eficiente entre o esgoto sanitário com o lodo, não requerendo mistura mecânica (CHONG et al., 2012).

Apesar das vantagens de se utilizar tratamentos anaeróbios, a remoção de nutrientes nestes sistemas é baixa. Dessa forma, quando a legislação ambiental assim o exige, sistemas combinados de tratamento utilizam o sistema anaeróbio como primeira etapa, seguindo para um pós-tratamento, como os fotobiorreatores fechados, lagoas de alta taxa, etc.

As lagoas de alta taxa (LAT), além de serem usadas como pós tratamento, são consideradas uma tecnologia economicamente viável para produzir biomassa algácea. No tratamento de esgoto, as LATs propiciam a remoção de patógenos e concentram nutrientes na biomassa, o que permite seu eventual posterior aproveitamento. A recuperação da biomassa algácea também tem sido estudada com o foco na valorização energética através da produção de biogás e outros biocombustíveis (COUTO, 2016).

Comparando-as com ETEs convencionais, os sistemas de tratamento de águas residuárias integrados a processos que permitem o crescimento de microalgas, denominados fotobiorreatores, podem economizar mais de 50% da energia consumida e a biomassa de microalgas resultante do processo pode ser utilizada para produção de biocombustíveis (CRAGGS, LUNDQUIST e BENEMANN, 2013) ou em sua codigestão para o aumento na produção de biogás (ASSIS, 2017).

O biogás produzido no digestor anaeróbio é a principal fonte de energia encontrada em ETEs. Esse gás pode ser reutilizado para aquecimento do digestor nos países com clima frio ou geração de energia elétrica. Sendo assim a otimização dos processos de digestão anaeróbia é a chave para estações de tratamento autossuficientes (GU et al., 2017).

Dentre as abordagens utilizadas para elevar a produção de biogás em reatores anaeróbios destaca-se a codigestão, que é a associação de diferentes substratos em um mesmo reator (AJEEJ et al., 2015). A codigestão de microalgas com o lodo de esgoto é uma importante alternativa para tornar as estações de tratamento de esgoto sustentáveis, devido ao potencial de reciclagem de nutrientes e geração de energia (AJEEJ *et al.*, 2015).

Diversos estudos observaram uma maior produção de metano em processos que realizam a codigestão da biomassa algácea (SAMSON; LEDUY, 1983; YEN; BRUNE,

2007; COSTA et al., 2012; WANG et al., 2013; OLSSON et al., 2014). Apesar disso, Caporgno et al. (2015) demonstraram que não houve aumento na produção de biogás codigerindo o lodo anaeróbio com as espécies de microalgas *Isochrysis galbana* e *Selenastrum capricornutum*. O baixo rendimento foi relacionado às características da parede celular das espécies de microalgas. Assis (2017) também observou a necessidade de aumentar a biodisponibilidade da matéria orgânica intracelular das microalgas para facilitar sua conversão a metano.

A biodegradabilidade da parede celular das microalgas é um gargalo para utilização dessa biomassa na digestão anaeróbia (BOHUTSKYI; BETENBAUGH; BOUWER, 2014a). As algas detêm uma parede celular resistente à degradação e, com isso, pode ser necessário para sua digestão um tempo de detenção de 20 a 30 dias em um digestor anaeróbio convencional (AFI et al., 1996).

Outra dificuldade é a desidratação de biomassa que contém microalgas. Isso torna essencial o desenvolvimento de soluções tecnológicas que permitam o processamento de grandes volumes de microalgas com menor gasto energético e custo de operação mínimo ((VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013).

Para se alcançar a consistência desejada, os processos de separação são cruciais e sua escolha dependerá das espécies de microalgas que se deseja concentrar (GERARDO et al., 2015). O processo de coagulação - floculação - sedimentação é um dos métodos com melhor relação custo-benefício para a recuperação de biomassa de microalgas nos dias de hoje (FRANCISCO, 2016).

Vários tipos de sais metálicos foram testados como coagulantes para separação da biomassa de microalgas, dentre eles os sais multivalentes como o FeCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (BARROS et al., 2015). Entretanto, o uso dos coagulantes inorgânicos pode resultar em elevadas dosagens, biomassa com hidróxidos metálicos e impactos nos processos à jusante (ANTHONY et al., 2013). Outrossim, coagulantes naturais são uma ótima alternativa sob a ótica da codigestão pois, em sua maioria, contém polissacarídeos ou proteínas em suas composições (YIN, 2010). Dentre esses coagulantes destacam-se os polieletrólitos, polímeros naturais como amido de mandioca, de milho etc., constituídos de moléculas de cadeias longas.

Um polieletrólito a base de tanino é o Tanfloc, que apesar de muito utilizado para remoção de contaminantes químicos e turbidez em tratamentos de esgoto doméstico, seu potencial para floculação de microalgas ainda não foi totalmente estudado (ROSELET et al., 2015a). Esse composto é um polímero orgânico catiônico de baixo peso molecular, de origem essencialmente vegetal. Atua como coagulante, floculante e auxiliar de coagulação no tratamento de águas.

Nesse trabalho será avaliada a influência da biomassa de microalgas, coletada a partir do efluente de LATs através de coagulação com Tanfloc – floculação - sedimentação, no desempenho de um UASB realizando a codigestão desta mesma biomassa com esgoto sanitário.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da utilização como substrato de biomassa de microalgas, coletada a partir do efluente de LATs através de coagulação – floculação - sedimentação, sobre o desempenho de um UASB realizando a codigestão desta mesma biomassa com esgoto sanitário.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analisar o efeito da codigestão anaeróbia da biomassa de microalgas no desempenho do UASB na remoção de matéria orgânica e sólidos suspensos do esgoto sanitário.
2. Avaliar o impacto da biomassa de microalgas sobre as características físico-químicas do lodo do UASB.
3. Avaliar o potencial de produção de biogás do UASB realizando a codigestão da biomassa de microalgas e esgoto sanitário.
4. Avaliar o efeito da hidrólise alcalina da biomassa de microalgas sobre o potencial de produção de biogás do UASB realizando a codigestão da biomassa de microalgas e esgoto sanitário.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 MICROALGAS COMO FONTE DE ENERGIA RENOVÁVEL

As microalgas têm como característica elevada concentração de lipídeos (7-23%), proteínas (6-71%) e carboidratos (5-64%), também possibilita seu uso para ração animal, em criação de bovinos, peixes, porcos, até mesmo como suplemento alimentar para humanos (JANKOWSKA; SAHU; OLESKOWICZ-POPIEL, 2017). Em razão desta característica, a biomassa microalgácea é também considerada uma alternativa promissora para produção de biogás e sequestro de CO₂ (PRAJAPATI *et al.*, 2013).

A fotossíntese a partir das microalgas (3-8%) é mais eficiente quando comparada às plantas terrestres (0,5-2%) (VASUDEVAN; BRIGGS, 2008). Por esta razão a microalga torna-se uma excelente alternativa de sequestro de CO₂, sendo capazes de fixar 183 ton do gás para cada 100 ton de biomassa produzida (ONGUIN, 2012).

A porcentagem de óleo presente nas microalgas, que podem ser cultivadas em águas salinas e salobras, é maior quando comparada às oleaginosas terrestres, podendo ser cultivadas em águas salinas e salobras. Espécies de água doce podem ser cultivadas em esgoto doméstico e, como consequência, não existe competição por terras aráveis (OLGUÍN, 2012).

Dentre as diversas espécies de microalgas que crescem no esgoto, o gênero de maior taxa de acumulação de biomassa é a *Chlorella*, reportado como gênero de maior produtividade de lipídeos (QUIROZ ARITA; PEEBLES; BRADLEY, 2015). Palmer (1977) identificou quatro espécies principais de microalgas em lagoas de estabilização de tratamento de esgoto, sendo 50% de algas verdes, 25% de flagelados pigmentados, 15% de algas azul-esverdeadas e 10% de diatomáceas.

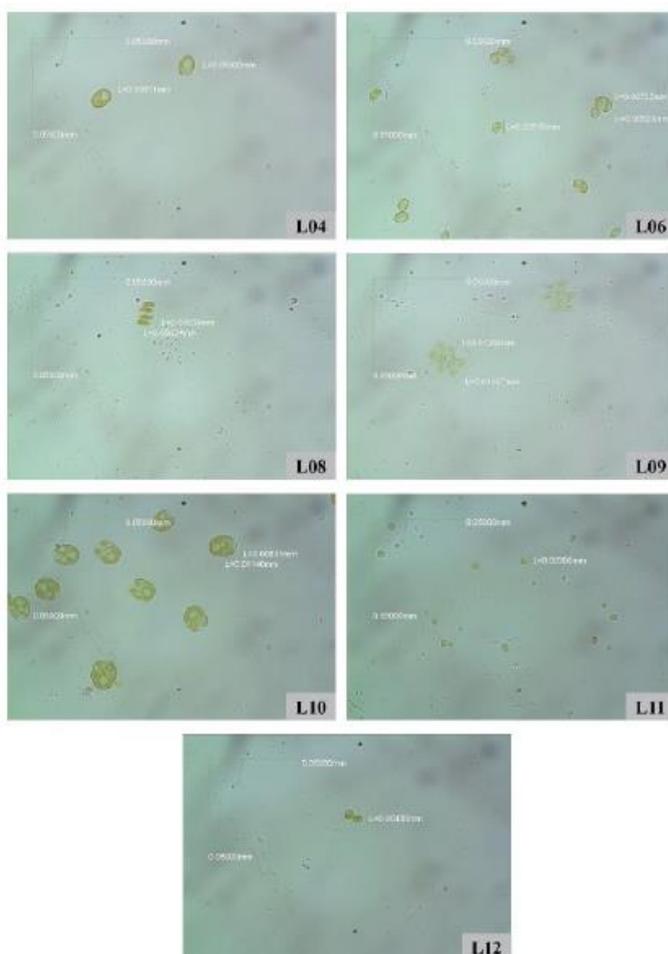
Pittman, Dean e Osundeko, (2011) citam que a *Chlorella* e *Scenedesmus* são tolerantes ao esgoto doméstico e capazes de remover mais de 80% de amônia, nitrato e fósforo total. Perez-Garcia *et al.*, (2011) enfatizam que a microalga consegue assimilar o nitrogênio na forma de amônia, nitrato e ureia. No entanto a quantidade

mínima de nitrogênio recomendada é de 0,010g por grama de biomassa (PITTMAN; DEAN; OSUNDEKO, 2011).

Lopes (2017) encontrou diversas espécies de microalgas em duas lagoas de alta taxa (LAT1 e LAT2) com TDH de 6 dias. A espécie *Chlorella vulgaris* foi encontrada com 498 cel/mL na LAT 1 e na LAT2 foi a espécie encontrada em maior quantidade, correspondendo a 53.730 cel/mL.

Outrossim, Pereira (2018) observou diferentes gêneros de microalgas no reator UASB, dentre eles estão representantes das divisões: Chlorophyta (*Chlorella*; *Desmodesmus*; *Tetradasmus*; *Scenedesmus*; *Chlamydomonas*; *Chlorococcum*; *Oocystis*; dentre outros); Bacillariophyta (*Gomphonema*); e, em menor quantidade, Euglenophyta (*Trachelomonas*) (Figura 1).

Figura 1: Espécies de microalgas isoladas do efluente de UASB (aumento de 400 x). *Chlorococcum* sp. L04; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08; *Tetradasmus* sp. L09; *Oocystis* sp. L10; *Chlorella* sp. L11; e *Chlorella* sp. L12



Fonte: PEREIRA, 2018.

Segundo Northcote, Goulding e Horne (1958) a parede celular da *Chlorella* representa 13,6% do peso seco de toda a célula, que é constituída por 31% de hemicelulose, 15,4% de α -celulose e 5,2% de cinzas. Os componentes estruturais da parede celular das microalgas incluem celulose cristalina ou amorfa, hemicelulose, laminarina, polissacarídeos sulfatados (agar, carragenina, alginato, fucoidano ou ulvan), glicoproteínas, CaCO_3 , (sílica) ou estar ausente em alguns casos (LEE, 2012).

Cabe ressaltar que como os componentes das microalgas são de baixa biodegradabilidade, existe dificuldade de acesso imediato ao conteúdo interno pelos microrganismos, o que pode influenciar a produção de metano no processo de digestão anaeróbia do substrato.

O potencial energético da biomassa dependerá da quantidade de lipídios, proteínas e carboidratos presente nas microalgas. Embora os lipídios sejam os mais atrativos devido ao seu elevado potencial para geração de gás, sua hidrólise é mais lenta quando comparada às proteínas e aos carboidratos (SIALVE; BERNET; BERNARD, 2009). Segundo Carlsson; Schnürer, (2011) o rendimento aproximado de metano é de $1,0 \text{ m}^3\text{KgSV}^{-1}$, $0,53 \text{ m}^3\text{KgSV}^{-1}$ e de $0,38 \text{ m}^3\text{KgSV}^{-1}$ para lipídios, proteínas e carboidratos, respectivamente.

A viabilidade de uso de cada cepa depende de fatores específicos, tais como a composição da parede celular ou a produção de componentes direta (bacteriostático ou bactericida) ou indiretamente (elevada quantidade de proteínas levando a formação tóxica de amônia livre) tóxicos para comunidade bacteriana (MUSSGNUM et al., 2010).

Mussgnug *et al.* (2010) estudaram a produção de biogás a partir de diferentes espécies de microalgas. A alga verde *C. reinhardtii* foi o substrato mais eficiente na produção de biogás. As espécies facilmente degradadas foram as que não tinham parede celular (*D. salina*) ou as que continham parede celular à base de proteínas, sem a presença de celulose ou hemicelulose (*C. reinhardtii*, *A. platensis* e *glacilis*). O contrário aconteceu com espécies com parede celular à base de carboidratos contendo hemicelulose (*C. kessleri* e *S. obliquus*). Células inteiras de *Scenedesmus* foram achadas no digestor após seis meses de digestão anaeróbia.

Devido às características da parede celular, em sua maioria composta por matéria orgânica de baixa biodegradabilidade e/ou biodisponibilidade, o acesso ao conteúdo intracelular é dificultado, prejudicando a produção de metano. Tornando-se essenciais pré-tratamentos hidrolíticos que irão solubilizar a biomassa e elevar a taxa de digestão anaeróbia (PASSOS et al., 2014).

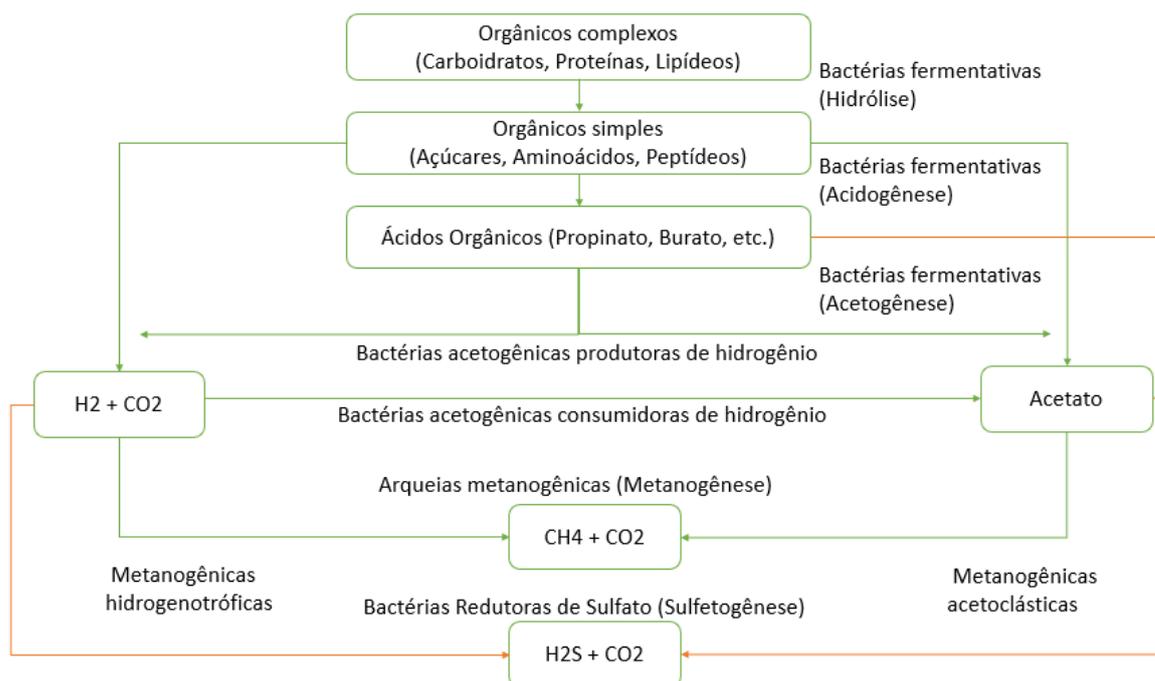
3.2 O PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é um processo biológico capaz de converter componentes biodegradáveis (carboidratos, proteínas e lipídeos) em matéria prima para produção de energia na forma de biogás. Nesse processo a matéria orgânica é decomposta por uma série de microrganismos na ausência de oxigênio podendo ocorrer naturalmente ou de forma controlada, como em reatores anaeróbios. Nesses reatores o biogás pode ser capturado e reaproveitado, evitando emissão de metano para atmosfera (RODRIGUEZ et al., 2015). A digestão anaeróbia é altamente utilizada para geração de energia em estações de tratamento de esgoto.

Esse processo tem sido estudado desde os anos cinquenta, onde a recuperação energética a partir de microalgas foi investigada por Golueke, Oswald e Gotaas (1957). Em 1960, foi proposto por Oswald e Golueke a associação da produção de microalgas em lagoas de tratamento de esgoto. Entretanto, somente após a crise do petróleo, nos anos 70 que maior atenção foi dada à produção de metano a partir das fontes renováveis.

A digestão anaeróbia de microalgas foi extensivamente analisada e concluiu-se que é uma etapa essencial para o desenvolvimento de um processo integrado e de custo benefício para captura do CO₂ e produção de CH₄. Esse processo é altamente dependente da degradabilidade de cada espécie e das condições do ambiente e com isso a resistência a digestão da parede celular é um dos fatores limitantes da digestão da célula (TARTAKOVSKY; LEBRUN; GUIOT, 2015a).

Figura 2: Etapas da digestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado PROBIO, 2015.

O processo de digestão anaeróbia pode ser simplificado em quatro etapas consecutivas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, conforme ilustra a Figura 2 (ARIUNBAATAR *et al.*, 2014).

A hidrólise é essencialmente a solubilização de matéria particulada e a decomposição biológica de polímeros orgânicos em açúcares simples (ARIUNBAATAR *et al.*, 2014). Ela ocorre por meio da ação de exoenzimas, permitindo a penetração de moléculas menores na membrana celular de bactérias fermentativas (ARAÚJO, 2014). Essa etapa depende de múltiplos fatores como pH, tamanho da partícula do substrato e da permeabilidade enzimática da membrana do substrato (RODRIGUEZ *et al.*, 2015).

Os compostos dissolvidos gerados são absorvidos pelas células bacterianas fermentativas e excretadas como substâncias orgânicas simples como ácidos graxos voláteis de cadeia curta, sendo essa a etapa de acidogênese. A acetogênese é a etapa em que ocorrerá a transformação dos produtos da acidogênese em substratos para produção de metano (acetato, hidrogênio e dióxido de carbono) (CAMPOS, 1999).

A última etapa, na qual haverá a formação de metano e dióxido de carbono é chamada metanogênese. Nesta etapa, arqueias metanogênicas acetoclásticas convertem o

acetato a metano e as arqueias metanogênicas hidrogenotróficas produzem metano a partir do hidrogênio e dióxido de carbono. Portanto é uma relação sintrófica, onde as arqueias metanogênicas dependerão do substrato produzido pelos microrganismos formadores de ácidos (ARAÚJO, 2014).

Cabe salientar que em reatores tratando águas residuárias contendo sulfato ou sulfito, as bactérias redutoras de sulfato (BRS) utilizam esses compostos como aceptores de elétrons durante a oxidação da matéria orgânica (BITTON, 2005).

Na sulfetogênese, as BRS podem competir com as arqueias metanogênicas pelo acetato e pelo hidrogênio, podendo diminuir a geração de metano. A competição entre os dois grupos pode ser avaliada a partir da relação DQO/SO_4^{2-} do meio. Entre 1,7 e 2,7 as BRS e as arqueias metanogênicas são competitivas. Acima dessa faixa, as arqueias metanogênicas são favorecidas e abaixo dessa faixa as de BRS são favorecidas (BITTON, 2005).

3.2.1 Fatores que interferem na digestão anaeróbia.

Diversos são os fatores que interferem no processo de digestão anaeróbia, dentre eles, merecem destaque as características do meio em termos de alcalinidade, pH, temperatura, disponibilidade de nutrientes e ainda a presença de compostos que podem ocasionar efeitos tóxicos, como nitrogênio amoniacal e sulfeto. Somam-se aos fatores de importância para o processo a relação C/N e as condições do reator.

Devido à elevada concentração de CO_2 produzido durante a digestão anaeróbia (30 a 35%) ocorre o consumo de alcalinidade do meio. Estudos apontam que uma faixa ótima de alcalinidade entre 2500 – 5000mgCaCO₃. L⁻¹, para que o pH no reator fique próximo ao neutro. Além disso, o pH ótimo para digestão anaeróbia é próximo à neutralidade. Para as arqueias metanogênicas a faixa de pH varia de 6,8 a 7,2. Valores inferiores favorecem as bactérias acidogênicas (SOUZA, 1984).

A presença de amônia pode ter efeito inibitório moderado quando em concentrações 1500 e 3000 mg. L⁻¹. Para Herrmann et al. (2016), a inibição por amônia leva a acumulação de ácidos graxos voláteis, que quando se encontram em concentrações maiores que 4000mg/L podem reduzir a produção de metano ou até mesmo inibir o processo.

Elevando-se a temperatura e pH pode alterar o equilíbrio entre a amônia livre e o íon amônio, levando a geração de mais íons tóxicos na forma de amônia (WARD; LEWIS; GREEN, 2014). A temperatura também deve ser monitorada, uma vez que as arqueias metanogênicas são sensíveis a variações bruscas de temperatura, devendo esta ser mantida constante (SOUZA, 1984).

Em sistema anaeróbio, os requerimentos de nutrientes dependem do tipo de substrato e do tempo de detenção celular. As faixas ideais de fósforo variam de 2 a 2,6 mg por cada 100 mg de biomassa, enquanto as de enxofre variam de 1 a 2 mg para igual quantidade de biomassa. O enxofre é essencial também para a metanogênese, uma vez que os microrganismos assimilam enxofre na forma de sulfetos gerados na sulfetogênese (TCHOBANOGLOUS; BURTON; STENSEL, 2003).

Segundo Bitton (2005) o sulfeto é necessário em pequenas quantidades para o metabolismo celular. No entanto, as concentrações altas, acima de 200 mg.L^{-1} podem ser tóxicas às arqueias metanogênicas.

Outro fator importante é a relação carbono/nitrogênio (C/N). O substrato introduzido deve estar com a relação C/N entorno de 30/1 (SIALVE, BERNET E BERNARD, 2009). Quando essa relação se encontra menor que 20 há um desequilíbrio entre os requisitos de carbono e nitrogênio para a comunidade bacteriana anaeróbia, com concentrações elevadas de amônia, excedendo o necessário ao crescimento microbiano, pode inibir a digestão anaeróbia (WARD; LEWIS e GREEN; 2014).

As condições operacionais do reator também podem influenciar significativamente no processo de digestão anaeróbia. O tempo de detenção hidráulica (TDH) juntamente com o tempo de retenção de sólidos (TRS) devem ser elevados para permitir que a população ativa de microrganismos permaneça no reator (CAMPOS, 1999).

Face ao exposto, compreender como cada fator impacta no processo de digestão anaeróbia é fundamental para a tomada de decisões acerca da operação do reator e melhor estimativa acerca da produção de metano.

3.3 REATOR UASB NO TRATAMENTO DE ESGOTO

Nos últimos anos, o número de estações de tratamento de esgoto doméstico que utilizam a tecnologia anaeróbia tem aumentado no Brasil. Dentre as vantagens dessa tecnologia merecem destaque o baixo custo, simplicidade operacional e baixa produção de sólidos. As técnicas de digestão anaeróbia são impulsionadas pela demanda de redução de gases do efeito estufa e pelas políticas de utilização de fonte de energias renováveis, constituindo assim uma ferramenta essencial para proteção ambiental e recuperação de energia (PROBIO, 2015).

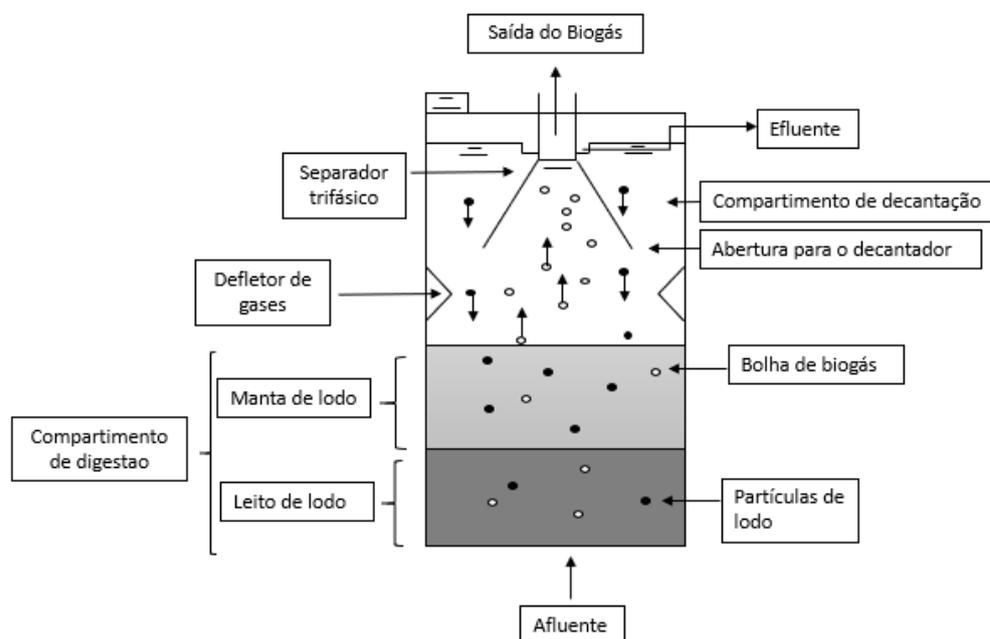
Nos sistemas anaeróbios, cerca de 70-90% da matéria orgânica é transformada em biogás, podendo-se aproveitar o potencial energético do metano, ao contrário dos sistemas aeróbios no qual 40-50% é transformada em dióxido de carbono (CHERNICHARO, 2007).

Nesse âmbito, o reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente ou UASB (do inglês Upflow Anaerobic Sludge Blanket), originado em 1970 na Holanda pelo professor Gatzke Lettinga, é a principal tendência em estações de tratamento de esgoto em países de clima quente, como unidades únicas ou seguidos de pós-tratamento.

O reator UASB é caracterizado por uma elevada concentração de biomassa, resultando em menor volume de reator quando comparado a outros tratamentos. O líquido entra pela parte inferior onde passa pelo primeiro compartimento de digestão chamado de leito de lodo, seguindo para a manta por meio de escoamento no sentido ascensional (SPERLING; LEMOS CHERNICHARO, 2005).

Como resultado da atividade microbiológica anaeróbia são produzidos gases, principalmente metano e dióxido de carbono. As bolhas apresentam tendência a se elevar, chegando à parte superior onde se encontra o separador trifásico, que tem função de separar e acumular os gases e permitir o retorno da maioria dos sólidos ao reator (SPERLING; LEMOS CHERNICHARO, 2005). Na figura 3 tem-se o desenho esquemático do reator UASB.

Figura 3: Desenho esquemático de um reator UASB.



Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007).

A distribuição do lodo biológico ao longo da altura do reator, o leito de lodo na camada inferior apresenta-se varia de muito denso e com boas condições de sedimentação. Acima dessa camada, encontra-se a manta de lodo, onde a zona de crescimento bacteriano é mais dispersa, com piores condições de sedimentação (LOBATO, 2011).

A vantajosa configuração do UASB ganha destaque, que lhe permite o desenvolvimento de uma elevada quantidade de biomassa ativa, de grânulos ou flocos de alta resistência mecânica e densidade. A retenção dessa biomassa no reator, permite um alto tempo de retenção celular. Conseqüentemente o reator UASB consegue acomodar altas cargas orgânicas volumétricas, com curto tempo de detenção hidráulico (CAMPOS, 1999).

3.4 CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE ESGOTO SANITÁRIO E BIOMASSA DE MICROALGAS EM REATORES UASB

Embora o processo de digestão anaeróbia tenha sido consolidado para um substrato somente e com o propósito do tratamento, estudos recentes têm apontado que uma variedade de substratos aplicados em um mesmo digestor eleva a produção de biogás

a partir da digestão anaeróbia devido a sinergismos positivos no meio de digestão e pela suplementação de nutrientes pelos substratos (AJEEJ et al., 2015)

A codigestão é a associação entre vários substratos e pode elevar a digestibilidade anaeróbia da alga melhorando a composição do substrato, certificando que haja condição ótima de entrada do afluyente, elevando a produtividade do biogás e a utilização mais eficiente do reator (AJEEJ *et.al*, 2015).

Diversos substratos ricos em carbono podem ser introduzidos ao digestor anaeróbio. Já foram utilizados lodo primário e secundário, diversos resíduos de alimentos, resíduos de papel, óleos e graxas etc. Esses substratos elevam a relação C/N, que tem sua faixa ótima em torno de 25-30 (MONNET, 2003; DIOHA et al., 2013). Schwede et al., (2013) explica que além de otimizar essa relação, a codigestão também eleva à alcalinidade e a adição de elementos traço importantes para digestão.

Olsson *et al.* (2014) demonstraram o efeito sinérgico da codigestão de microalgas com lodo em condições mesofílicas (37°C). Utilizando a proporção de 63% de lodo de esgoto e 37% de biomassa algácea úmida, em termos de sólidos voláteis, o reator produziu 23% a mais de metano quando comparado à digestão do lodo de esgoto somente. Esse resultado pode ter acontecido devido à otimização da razão C/N, que com a mistura alcançou entre 20/1 e 25/1, enquanto os substratos separados não chegavam a 10/1.

Em 1983, Samson e Leduy introduziram no reator 50% de lodo e 50% de biomassa algácea e tiveram como resultado a produção de metano 2,1 vezes maior que o lodo somente. Costa et al., (2012) concluíram que a codigestão de macroalgas (15%) e lodo ativado (85% de lodo anaeróbio de codigestão) elevou a produção de metano em 26%, comparado ao lodo ativado somente.

Wang et al. (2013) realizaram a codigestão de *Chlorella* sp. com lodo ativado em condições mesofílicas, variando a concentração da biomassa algácea e o biogás elevou em 73-79% quando comparado a digestão somente com a *Chlorella*. Em 2007, Yen e Brune (2007) codigeriram a biomassa algácea (*Scenedesmus spp.* e *Chlorella spp.*) com resíduos de papel em um reator escala de bancada à temperatura controlada de 35°C e TDH de 10 dias. A biomassa codigerida com o resíduo de papel produziu duas vezes mais metano quando comparada à biomassa somente.

Apesar de muitos estudos demonstrarem o aumento da produção de biogás com a codigestão de microalgas, alguns estudos apontam que não houve sinergismos positivos, e que houve diminuição da produção de biogás. Caporgno et al. (2015) demonstraram que não houve aumento na produção de biogás codigerindo o lodo anaeróbio com as espécies de microalgas *Isochrysis galbana* e *Selenastrum capricornutum*, atingindo valores mínimos de 261 ± 11 mLBiogás/gSV e 185 ± 7 mLBiogás/gSV, respectivamente, enquanto somente o lodo anaeróbio foi capaz de produzir 451 ± 12 mLBiogás/gSV. O baixo rendimento identificado foi relacionado às características das espécies de microalgas e não foram encontradas evidências de inibição durante o processo.

Devido às características da parede celular de microalgas, elas podem permanecer intactas no reator. Golueke, Oswald e Gotaas (1957) relataram, microalgas intactas após 30 dias de tempo de detenção hidráulica. Hernández e Córdoba(1993) também observaram a presença de *Chlorella vulgaris* intactas após 45 dias dentro do digestor. A maior permanência de células intactas no reator, no entanto, foi reportada por Mussgnug et al. (2010), que identificaram células viáveis de *Scenedesmus* após 6 meses.

Pelos estudos mencionados, a codigestão demonstrou ser uma técnica robusta capaz de elevar a produção de metano. Para tanto, a etapa de hidrólise parece ser essencial para potencializar a biodegradabilidade da célula algácea, aumentar a taxa de produção e melhorar os rendimentos de CH₄, tornando-se um passo limitante para alcançar o equilíbrio econômico positivo e assim explorar todo potencial de microalgas para produção de biogás (CASSINI et al., 2006).

3.5 LIMITAÇÕES NA UTILIZAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Apesar de suas vantagens para produção de biogás a separação da biomassa algácea é um problema devido ao seu tamanho e por ser encontrada altamente diluída no meio, a cerca de 0.3–5 kg/m³. Como consequência necessita-se de um elevado gasto energético para separá-las. De fato, tem-se a separação como um dos fatores que impedem a utilização da biomassa algácea em escala industrial (GERARDO et al., 2015).

3.5.1 Processos de recuperação de biomassa.

A desidratação das culturas de microalgas é um gargalo no processamento em escala industrial. Para se alcançar a consistência desejada, os processos de separação são cruciais e sua escolha dependerá das características das espécies de microalgas que se deseja concentrar (GERARDO et al., 2015). A seleção da técnica de separação dependerá das propriedades da microalga como densidade, tamanho, e valor dos produtos desejados.

Por possuir densidade similar à da água, pequeno tamanho (entre 2 e 50 μ m) e carga superficial negativa (entre -7,5 e -40mV) tornando o meio disperso, os métodos de separação da biomassa de microalgas são complicados. Nos processos de tratamento de esgoto como fotobiorreatores a concentração da biomassa de microalgas varia de 0,5 e 5g/L, e para as lagoas é menor do que 1g/L(UMMALYMA et al., 2017).

Existem diversos métodos mecânicos, elétricos, biológicos e químicos de separação, que incluem centrifugação, filtração, coagulação, floculação sedimentação, flotação etc. A separação pode ser dividida em duas etapas gerais, a primeira é a separação em massa, na qual visa separar a biomassa da matéria suspensa, seguindo para o espessamento da mesma, na qual a biomassa será concentrada (BRENNAN; OWENDE, 2010).

As tecnologias de desidratação dessa biomassa têm suas vantagens e desvantagens (Tabela 1) e irão explorar suas propriedades físicas como tamanho, carga e densidade.

Tabela 1: Comparação de tecnologias de separação comercialmente disponíveis para microalgas.

Métodos de separação	Custos Operacionais	Custos de capital	Mecanismo de separação	Faixa de concentração (%sólidos)
Floculação	Baixo	Baixo	Carga e tamanho	1-5
Flotação	Baixo-médio	Baixo-médio	Tamanho e densidade	2-6
Centrifugação	Alto	Alto	Tamanho e densidade	10-25
Filtração	Médio	Médio-alto	Tamanho	5-15

Fonte: Adaptado de Gerardo et al., 2015.

3.5.1.1 Métodos físicos

3.5.1.1.1 *Sedimentação*

Apesar de ser um método rudimentar a sedimentação é um método simples, funciona para diversas espécies de microalgas e é um método de baixo custo. Como as taxas de sedimentação são de 0,1-2,6cm/h, resultando em um processo lento, poderá deteriorar a biomassa e sua concentração final é baixa, é comum utilizar os métodos de floculação/coagulação antes desse método (BARROS et al., 2015).

A diferença de densidade sólido-líquido também irá influenciar nesse método, entretanto o diâmetro das partículas é uma das características mais importantes que irá influenciar no arrasto das partículas pelo fluido. A presença de vesículas de gás e alto teor de lipídeos também pode afetar o processo.

3.5.1.1.2 *Centrifugação*

Centrifugação é um dos métodos mais eficientes de separação em nível industrial para produção de produtos de alto valor. Mas apesar de ser um método eficiente, é uma metodologia de alto custo, gasto energético elevado e pode requerer manutenção significativa (MARRONE et al., 2018). Devido ao alto custo esse processo é preferido para recuperação de produtos de alto valor, como os produtos farmacêuticos (BRENNAN e OWENDE; 2010).

A separação por centrifugação é baseada pelo tamanho da célula e pela diferença de densidade entre a biomassa e o meio. A taxa de sedimentação da biomassa é relacionada à alta taxa de rotação da centrífuga, que eleva o campo de gravidade. As centrífugas podem ser divididas em centrífugas de sedimentação ou de filtração. As de sedimentação são normalmente utilizadas para clarificar líquidos enquanto as de filtração são utilizadas para desidratar a biomassa. A escolha dependerá do tamanho das partículas sólidas (GERARDO et al., 2015).

Cabe salientar que a vantagem desse método é que a biomassa é livre de químicos, pode ser aplicada a qualquer cepa de microalga, e altas taxas de concentração são

facilmente atingidas. (GERARDO et al.; 2015). Dentre os métodos físicos de separação a centrifugação produz biomassa com menor porcentagem de água, mas tem maior custo e gasto energético. Além da possível lise celular devido à força centrífuga e de cisalhamento (CHEN et al., 2011)

Segundo Chen et al. (2011), a maioria das microalgas conseguem ser recuperada através desse método. Testes laboratoriais de centrifugação foram realizados utilizando um efluente de lagoa e mostraram 80-90% das microalgas foram recuperadas de 2-5min. A recuperação da biomassa separada dependerá das características de sedimentação das células, do tempo de residência da biomassa no equipamento e da profundidade de sedimentação (BRENNAN e OWENDE; 2010).

3.5.1.1.3 Filtração

O processo de separação por membranas (PSM) retém material particulado e coloidal, como em uma filtração convencional. Dependendo do tipo de membrana e da operação, constituintes dissolvidos também conseguem ser removidos. Esse processo promove a separação sem que ocorra mudança de fase e são operados à temperatura ambiente (PINTO; ARAÚJO; MEDEIROS, 2009).

As membranas de microfiltração são comumente aplicadas ao pós-tratamento de água e esgoto, utilizadas para remoção de sólidos em suspensão, incluindo algas, protozoários e bactérias. A ultrafiltração pode ser utilizada na remoção de macromoléculas orgânicas e vírus. Íons multivalentes e componentes orgânicos menores são removidos pela NF, e a OI consegue remover todos os componentes dissolvidos (PINTO; ARAÚJO; MEDEIROS, 2009).

A colmatação é um dos maiores problemas de utilização desse processo, e pode ser descrito como potencial de deposição de constituintes sobre as membranas (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006). Esse fenômeno interfere em diversos aspectos relativos ao desempenho do sistema, como: permeabilidade (taxa de aplicação), vida útil da membrana, necessidade de pré-tratamento, métodos de limpeza, dentre outros (BONAMIGO, 2014).

Apesar da eficiência e custos finais dependerem das espécies, espera-se que a separação de microalgas utilizando membranas seja aplicável a todas as espécies, independentemente de suas propriedades químicas (GERARDO et al., 2015).

3.5.1.2 Método químico

3.5.1.2.1 *Coagulação*

O processo de coagulação-floculação é um dos métodos mais convenientes para a recuperação de biomassa de microalgas (Francisco, 2016). A coagulação é uma alteração físico-química das partículas coloidais encontradas na água, que produz partículas que poderão ser removidas por processos físicos, como a sedimentação (RICHTER, 2009).

A coagulação pode ser separada em duas etapas, a primeira na qual coagulantes químicos são adicionados para reduzir as forças que as mantêm em suspensão separadas, neutralizando as cargas superficiais, passando para floculação que irá promover colisões entre as partículas desestabilizadas formando partículas de tamanho maior, os flocos (RICHTER, 2009).

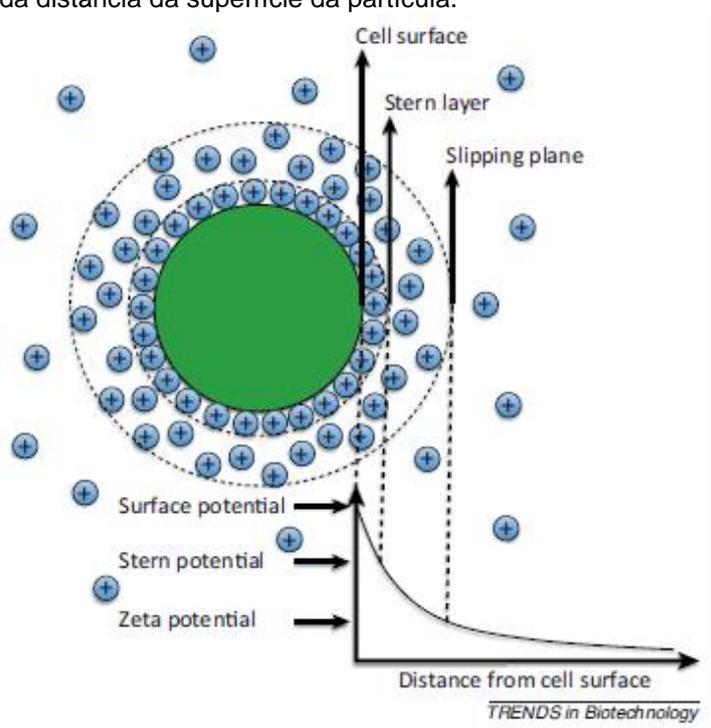
Com isso a coagulação/floculação química pode ser descrita como a coalescência das partículas em suspensão formando flocos maiores (BARROS et al., 2015). Os agentes químicos adicionados podem induzir a floculação através da neutralização da carga nas superfícies das células, formando um precipitado que liga e fortalece as células (mecanismo de varredura), ou conectando células individuais (mecanismo de ponte) (VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013). No mecanismo de ponte, os polímeros ou colóides se ligam a superfície das partículas, formando uma ponte entre elas (NUNES, 2008, BARROS et al., 2015). Quanto mais peso molecular do polímero, melhor a capacidade de ligação (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2003)

Segundo Vandamme, Foubert e Muylaert (2013) os sólidos suspensos na água apresentam carga positiva ou negativa. Para conseguir manter essa neutralidade elétrica, essas partículas irão atrair íons de carga oposta da solução, que são os contra íons. O sistema da carga superficial da partícula associada aos contra íons é chamada de camada elétrica dupla. Perto da superfície, os contra íons irão formar uma camada densa de íons, chamada de camada Stern. Um pouco mais distante da

camada superficial, esses contra íons formam uma camada mais difusa. Com isto, distanciando da superfície a diferença de potencial entre a superfície da partícula e a solução principal diminui exponencialmente com a distância da superfície da partícula.

O potencial zeta é, que é um indicador útil da carga superficial, pode ser estimado pela motilidade das partículas carregadas no campo elétrico, sendo um bom indicador do grau de repulsão entre as partículas em suspensão. Quando esse potencial é alto (> 25 mV, positivo ou negativo), essas partículas são consideradas estáveis. Quando próximo a zero, essas partículas serão atraídas pela força de Van Der Waals, sendo agregadas e a floculação ou coagulação irá ocorrer. As células de microalgas também são estabilizadas pela carga de outras células (Figura 5). Essa carga na superfície é originada, predominantemente pela origem de grupos carboxilas ($-\text{COOH}$) e grupos amina ($-\text{NH}_2$) na superfície da célula (VANDAMME; FOUBERT; MUYLEAERT, 2013).

Figura 4: Estrutura da dupla camada elétrica de íons carregados em solução ao redor de uma célula de microalga carregada negativamente e a diferença de potencial entre a partícula e o fluido em função da distância da superfície da partícula.



Fonte: Vandamme et al (2013).

Um dos parâmetros importantes na coagulação é o pH, sua faixa ótima dependerá do coagulante utilizado e a temperatura, que irá influenciar na constante de equilíbrio da água. Alterando a viscosidade e assim o gradiente de velocidade, requerendo possíveis correções nos processos para melhorar eficiência (RICHTER, 2009).

A floculação pode ser realizada de diversas formas, como a floculação tradicional (floculação química), processos mais inovadores baseadas na biologia da microalga como a biofloculação e o uso de nanopartículas magnéticas (VANDAMME; FOUBERT; MUYLEAERT, 2013).

Em geral, a floculação química pode ser induzida por três tipos de flocculantes, os inorgânicos, incluindo sais metálicos e amônia, polímeros inorgânicos e orgânicos (JIN; GONG; WANG, 2015). Na literatura já existem estudos de aplicações bem-sucedidas do uso de floculação de microalgas (PAPAZI; MAKRIDIS; DIVANACH, 2010; ZHENG et al., 2012; FRANCISCO 2016).

Uma vasta variedade de sais foi testada como coagulantes para separação da biomassa de microalgas, dentre eles os sais multivalentes como o FeCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. A adição desses sais no meio de cultura reduz a repulsão eletrostática entre as superfícies celulares carregadas negativamente, permitindo a formação de agregados maiores (BARROS et al., 2015).

Segundo Nunes (2008), os principais precipitantes químicos são: sulfato de alumínio, sulfato de alumínio mais cal, cloreto férrico, cloreto férrico+cal, sulfato ferroso+cal+oxigênio dissolvido (aeração), sulfato ferroso+oxigênio dissolvido (aeração), sulfato férrico, sulfato férrico+cal, polieletrólito catiônico e cal.

O sulfato de alumínio, devido ao seu baixo custo e disponibilidade, é o mais utilizado no tratamento de água de abastecimento como coagulante, porém para tratamento de efluentes, necessita-se de dosagens muito elevadas, sendo entre 5 e 8 o pH ótimo de coagulação. O cloreto férrico é o coagulante mais empregado no tratamento de efluentes industriais devido a sua larga faixa em que produz bons flocos. Em pH de 5 a 11, este sal decompõe-se com a luz ou umidade, formando ácido clorídrico e apresenta elevada agressividade. Hidróxido de cálcio é muito utilizado no tratamento de efluentes para a correção de pH de efluentes ácidos e precipitação química de metais pesados (NUNES, 2008).

O uso dos coagulantes inorgânicos está associado a elevadas dosagens, biomassa com hidróxidos metálicos e impactos dos processos a jusante (ANTHONY et al., 2013). Como alternativa existem os coagulantes naturais que, em sua maioria, são

polissacarídeos ou proteínas, em vários casos, mesmo sendo rotulados como não-iônicos, não necessariamente existe ausência de cargas (YIN, 2010).

Dentre esses coagulantes destacam-se os polieletrólitos, que são polímeros naturais como amido de mandioca, de milho etc., constituídos de moléculas de cadeias longas, unidos entre si por ligações covalentes, com associações de monômeros orgânicos sintéticos ou naturais, com cargas elétricas ou grupos ionizáveis. Ao longo da cadeia polimérica pode haver diversos lugares com cargas elétricas, sendo designado como polieletrólito (RICHTER, 2009).

3.5.1.3 Coagulação por polieletrólitos

Os polieletrólitos são classificados conforme o tipo de carga, sendo catiônicos ou aniônicos. Normalmente utilizados como auxiliares de floculação, ajudando na sedimentação dos flocos e na resistência as forças de cisalhamento, como condicionante de lodos ou como coagulantes primários. Os polieletrólitos catiônicos neutralizam as cargas negativas das partículas anulando o potencial zeta, os aniônicos e não-aniônicos não interferem nesse potencial, são adsorvidos pela superfície, formando pontes entre as partículas (NUNES, 2008, BARROS et al, 2015).

Segundo Yin et al. (2010) essa terminologia deve ser utilizada com cuidado, e ser aplicada após a determinação da atividade iônica no coagulante. O polieletrólito catiônico é ideal para ser utilizado como coagulante primário, sendo geralmente líquidos com elevada densidade entre 1,0 e 1,3. Os não aniônicos e aniônicos são geralmente sólidos com densidade entre 0,7 e 0,9 (RICHTER, 2009).

A coagulação com polieletrólitos apesar de ser eficiente para microalgas de água doce, a elevada salinidade para o ambiente marinho pode inibir sua ação, pois os polímeros se encolhem, falhando no mecanismo de formação de pontes (BARROS et al, 2015). Segundo Grima et al. (2003) uma boa floculação com polieletrólitos tem sido reportada com menos de 5kg/m³ de salinidade.

Entretanto, é demonstrado que a quitosana tem sido efetivamente usada na separação de microalgas frescas e de água do mar e não contamina a biomassa de microalgas; no entanto, é muito caro para aplicações de grande escala (BARROS et

al., 2015). Uma alternativa à quitosana é o amido catiônico, que é menos dependente do pH, mas requer uma dosagem mais alta (VANDAMME et al., 2010).

A eficiência de floculação dos polieletrólitos dependerá de diversos fatores, como: a massa molecular do polímero, a densidade de carga na molécula, a dose utilizada, a concentração da biomassa, a força iônica e o pH da solução e a mistura no fluido. Geralmente, os polieletrólitos de alto peso molecular são melhores agentes de ligação (GRIMA et al, 2003, p.495).

Para Roselet et al.(2015), a eficiência desses polímeros também depende do tamanho e de suas estruturas secundárias em solução. Grima et al (2003) comenta que uma elevada concentração das células na solução os encontros célula-célula são mais frequentes e a elevada densidade de cargas tende a desdobrar a molécula do polímero, elevando à performance do mecanismo de ponte a habilidade de neutralizar a carga superficial das células. Uma baixa mistura também é essencial pois ajudará a unir as células, entretanto forças de cisalhamento excessivas podem romper os flocos.

As microalgas variam seu tamanho de 5 a 50 μ m, apesar de apresentarem tamanho um pouco maior que os colóides (1 a 100 nm), suas propriedades de superfície são similares a eles. Como a estabilidade das suspensões de algas depende aparentemente das forças que interagem entre elas, bem como das forças de interação entre as partículas e a água, as algas podem ser consideradas como biocoloides hidrofílicos (TENNEY, M. et al., 1969).

Tenney et al. (1969) e Shelef, Sukenik e Green (1965) explicam que no mecanismo de pontes é formada uma matriz alga-polímero tridimensional, que em condições estáveis irá sedimentar. O grau de floculação será determinado pela extensão de cobertura dessa célula pelo polieletrólito.

Concentrações abaixo da ótima, resultam em um mecanismo de ponte insuficiente para suportar as forças de cisalhamento. De forma inversa, se muitos locais de superfície de algas suspensas estiverem cobertos com segmentos de polímero, a ponte será impedida. Quando acontece de todos os locais de adsorção estiverem ocupados, a interligação é totalmente evitada por causa de impedimento eletrostático e/ou estático. Nesse estudo a floculação ideal ocorreu em aproximadamente 50% de cobertura da superfície celular de algas (TENNEY et al., 1969)

Udom et al. (2013) comentam que variações no desempenho de diferentes polímeros catiônicos ocorre, provavelmente devido a variações na densidade de carga superficial e no peso molecular, que governam a neutralização de carga e o mecanismo de ponte entre as partículas de algas.

3.5.1.4 Coagulantes a base de tanino

O tanino é um nome geral para grandes compostos polifenólicos, obtidos por compostos naturais, como extrato orgânico de casca e madeira de árvores como Acácia, Castanea ou Schinopsis. E tradicionalmente usado como um agente de curtimento na indústria do couro (YIN et al., 2010). São polímeros catiônicos ramificados, contendo uma estrutura secundária diferente dos polímeros lineares, como quitosana ou poliacrilamida. Tanfloc é muito utilizado para remoção de contaminantes químicos e turbidez em tratamentos de esgoto doméstico. Seu potencial para floculação de microalgas ainda não foi totalmente avaliado (ROSELET et al., 2015a).

O tanino tem propriedade de não alterar o pH, sendo sua faixa ótima de 4,5-8,0. Por atuar em uma ampla faixa de pH, o uso de alcalinizantes como soda ou cal torna-se desnecessário, reduzindo o volume de lodo a ser descartado. Por ser um coagulante biodegradável reduz o odor em estações de tratamento de efluentes (PELEGRINO, 2011).

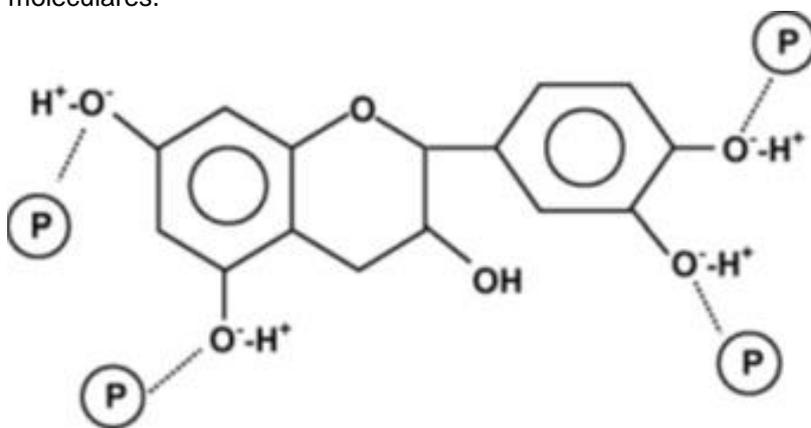
Segundo a descrição da Tanac, o Tanfloc SL nesse estudo, é um polímero orgânico-catiônico de baixo peso molecular, de origem essencialmente vegetal. Atuando como coagulante, floculante e auxiliar de coagulação no tratamento de águas em geral possui 23 a 27% ST e pH de 1,3-2,3. Esse coagulante não altera o pH da água, e é efetivo em pH 4,5-8,0.

Ao contrário de coagulantes convencionais como sais de alumínio e ferro, os floculantes catiônicos, como Ecotan e Tanfloc, podem impedir o consumo de alcalinidade, diminuindo os valores de pH em menos de 1 ponto. Estabilizando o pH entre 7,7 e 7,9 (GUTIÉRREZ et al., 2015a).

A presença de grupos fenólicos indica sua natureza aniônica, por ser um bom doador de hidrogênio (Figura 5). A eficiência do tanino como coagulante natural é influenciada

pela estrutura química do tanino extraído da planta e seu grau de modificação (ÖZACAR; ŞENGİL, 2000).

Figura 5: Representação básica da estrutura do tanino em solução aquosa e possíveis interações moleculares.



*P = Partículas carregadas em solução aquosa.

Figura: Adaptado de Yin et al (2010).

Quanto maior a quantidade de grupos fenólicos existentes na estrutura do tanino, mais eficiente será a coagulação, pois esses grupos podem facilmente desprotonar para formar fenóxido, que é estabilizado via ressonância. Essa desprotonação, aumenta a densidade eletrônica do átomo de oxigênio (YIN et al., 2010).

Cruz (2004) estudou a aplicação e a eficiência do coagulante vegetal no tratamento do efluente de uma lavanderia industrial. Concluiu que a menor concentração de sulfatos, menor geração de lodo e lodo biodegradável caracterizam a aplicação do coagulante tanino catiônico como sendo um processo de tratamento mais limpo.

Roselet et al., (2015) avaliaram a coagulação com Tanfloc para separação da *C. vulgaris oculata*, obtendo remoção de mais de 97%, para concentração de 5mg/L para as duas espécies. Resultados que vão de acordo com Roselet, Burker e Abreu (2016) que atingiram 95-98% de remoção da *N. oculata*, com doses de Tanfloc entre 1 e 10mg/L. Demonstrando que o Tanfloc trabalha bem em meio marinho, tendo potencial para separação de espécies de microalgas marinhas, o que pode ser decorrente de sua estrutura ramificada.

Francisco (2016) obteve recuperação da biomassa superior a 80% quando utilizado Tanfloc em concentrações superiores a 80mg/L, concluindo que o tanino modificado

é eficiente na recuperação da biomassa algácea em concentrações menores que 80mg/L, utilizando pH na faixa neutra e ácida. Ademais, Gutiérrez et al., (2015b) obtiveram recuperação acima de 90% da biomassa utilizando 50mg/L de Tanfloc e 10mg/L para Ecotan.

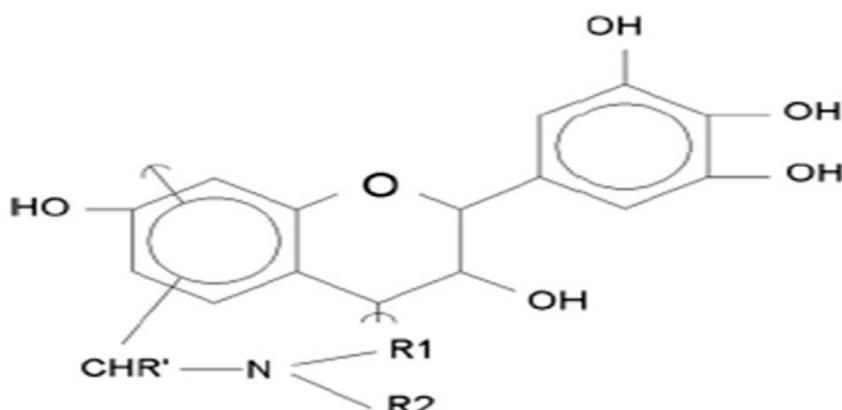
A característica desses polifenóis é sua associação com proteínas e carboidratos, que modifica a estrutura do material orgânico onde o tanino é extraído, e introduz um grupo amino em sua estrutura, gerando-se produtos utilizados no processo de coagulação de águas residuárias (BARRADO-MORENO; BELTRÁN-HEREDIA; MARTÍN-GALLARDO, 2016).

O processo de cationização do tanino, chamado de Reação de Mannich, produzirá um composto modificado mas com as mesmas características do tanino puro e novas características que dão a condição de coagulante, que irá realizar a neutralização de carga (HAMEED et al., 2016).

A reação de Mannich, compreende a modificação do tanino pela adição de (NH₄Cl) ou outro composto de Nitrogênio (por exemplo, mono ou dietanolamina) com formaldeído em certa proporção, para que seja evitada a gelificação do tanino, causando a incapacidade de sua dissolução em água. Seu peso molecular mais elevado é devido ao formaldeído, reticulação da base de Mannich e também tem o caráter anfótero devido à adição de aminas catiônicas ao polímero e fenóis aniônicos (BELTRÁN-HEREDIA; SÁNCHEZ-MARTÍN; GÓMEZ-MUÑOZ, 2010).

O Tanfloc produzido pela TANAC, coagulante e floculante utilizado nesta pesquisa, produz tanino da árvore silvestre *Acacia mearnsii*. Este tanino foi polimerizado pela adição de formaldeído, nitrogênio quaternário (NH₄Cl) e ácido clorídrico. Ocorrendo uma mistura e aquecimento desses três produtos químicos, em seguida extrato de tanino é adicionado. Este processo finaliza quando a mistura viscosa contenha 40% de sólidos. Para o Tanfloc em pó, ainda existe o processo de evaporação (BELTRÁN-HEREDIA; SÁNCHEZ-MARTÍN; GÓMEZ-MUÑOZ, 2012). A Figura 6 demonstra a possível estrutura química do Tanfloc.

Figura 6: Estrutura química provável do Tanfloc



Fonte: Sanchez-Martín et al., 2010.

Hameed et al (2016) analisaram o Tanfloc por espectroscopia de dispersão de energia por raios X (EDX) (Tabela 2) e a presença do nitrogênio e cloreto, confirmou a presença do cloreto de amônio, e o C e O indicaram a presença do formaldeído. Por não ter estrutura química confirmada, a variação na porcentagem elementar é antecipada.

Tabela 2: Composição elementar do Tanfloc.

Elementos	% composição
C	32,32
N	11,21
O	41,67
Cl	13,46
Outros	1,34

Fonte: Adaptado HAMEED (2016).

Hameed et al. (2016) também realizaram a DBO e DQO to Tanfloc em solução aquosa de 100mg/L, chegando a 58 mg/L DBO₅ e 93 mg/L DQO, alcançando uma relação DBO₅/DQO de 0,62. Ademais, segundo Tchobanoglous et al (2003), um efluente com DBO₅/DQO acima de 0,5 é facilmente tratado por bactérias, confirmando a biodegradabilidade do Tanfloc.

Segundo Hou et al.(2018), elevando sua dosagem (5–69 mg.L⁻¹), as cargas positivas se acumulam, aumentando a probabilidade de colisão com a biomassa, removendo com eficiência a *M. aeruginosa*, por neutralização de cargas. Acima desta concentração (69–100mg.L⁻¹), o excesso de cargas catiônicas começa a desestabilizar o sistema e reduzir a eficiência de remoção.

Hoyos (2016) observaram que o floculante Tanfloc em elevadas concentrações, a superfície celular é completamente coberta, sendo “protegida” pelo material, impedindo a floculação.

Hou et al (2018) também, observaram que com o passar dos dias a degradação acelera, enfraquecendo o efeito de proteção da camada de Tanfloc. Mas com agitação adequada, ocorre a homogeneização das células com o Tanfloc de modo a que o polímero reveste as células, formando flocos mais fortes. Com isso sua decomposição é mais lenta e a inibição da análise celular mais longa, se estendendo até oito dias.

Hameed et al (2016) notaram que para o cloreto de alumínio a velocidade de mistura ótima foi de 100rpm durante dez minutos, passando desse tempo havia a quebra dos flocos, enquanto esse mesmo fenômeno não foi observado para o Tanfloc. Uma vez que o mecanismo de ponte produz flocos mais fortes (BOLTO; GREGORY, 2007) e maiores (OZACAR; SENGIL, 2000), devido ao mecanismo de ponte.

O processo de separação das microalgas é um passo inicial para impactar na produção de biogás gerado, concentrando essa biomassa, mas sua composição bioquímica também irá influenciar na quantidade de metano e biogás gerado. Por possuir parede celular difíceis de degradar, limitando o acesso das enzimas ao conteúdo celular. A etapa de hidrólise também se torna um passo limitante para o sucesso da digestão anaeróbia (BOHUTSHY; BETENBAUGH E BOUWER, 2014).

3.5.2 Processos hidrolíticos

O maior gargalo da digestão anaeróbia da biomassa algácea é sua biodegradabilidade. As algas estão encapsuladas por uma parede celular resistente a degradação e com isso pode ser necessário para sua digestão um tempo de detenção de 20-30 dias em um digestor convencional anaeróbio (AFI et al, 1996).

Golueke, Oswald e Gotaas, (1957) relataram microalgas intactas após 30 dias de tempo de retenção hidráulica, Hernández e Córdoba(1993) também observaram a presença de *C.vulgaris* intactas após 45 dias dentro do digestor. E a maior permanência de células intactas foi reportada por Mussgnung et al (2010), que identificou células viáveis de *Scenedesmus* após 6 meses.

Dentre os processos hidrolíticos existentes, destacam-se os processos químicos (com adição de álcalis ou ácidos), térmicos com pressão variada, processos por irradiação com o uso de micro-ondas, processos enzimáticos ou processos mecânicos como a centrifugação, sonicação e maceração. Além da possibilidade da combinação de processos como os termoquímicos que tem ganhado destaque (BOHUTSKYI; BETENBAUGH; BOUWER, 2014b).

Para os pré-tratamentos térmicos, quando se é aplicada temperatura amena, elas irão afetar as ligações fracas de hidrogênio, enquanto para romper a celulose ou hemicelulose, há necessidade de temperaturas mais elevadas. Os pré-tratamentos físicos envolvem a redução do tamanho da partícula e com isso o aumento da relação superfície/volume. Já os pré-tratamentos químicos solubilizam componentes orgânicos favorecendo a degradação microbiana (MENDEZ et al., 2013).

Com isso a hidrólise potencializa a biodegradabilidade da célula algácea, aumenta a taxa de produção e melhora os rendimentos de produção de CH₄. Os pré-tratamentos utilizados para elevar a biodegradabilidade da biomassa algácea são: mecânico, térmico, químico, biológico, elétrico, irradiação e tratamentos combinados como os termoquímicos (BOHUTSHY; BETENBAUGH; BOUWER, 2014).

Os pré-tratamentos térmicos apesar de resultar em elevadas taxas de produção de biogás, possuem alto gasto energético quando comparado aos tratamentos químicos. Estudos prévios apontam que o tratamento alcalino é satisfatório para elevar a solubilização de materiais complexos, como a celulose, trazendo assim, benefícios mais significativos (LIN et al., 2009).

3.5.2.1 Hidrólise alcalina

O pré-tratamento químico é utilizado para propiciar a destruição de componentes orgânicos utilizando ácidos, álcalis e oxidantes (ARIUNBAATAR et al., 2014). O tratamento alcalino é vantajoso por ser um método simples, fácil de operar e de elevada eficiência. Os mais utilizados são o hidróxido de sódio, hidróxido de amônia e hidróxido de cálcio.

O método químico aplicado dependerá das características do substrato. Este tratamento não é adequado para substratos que contenham elevadas quantidades de

carboidratos, devido a sua degradação acelerada e subsequente acumulação de ácidos graxos voláteis, levando a falha na etapa de metanogênese. Mas tem efeitos positivos em substratos ricos em lignina (ARIUNBAATAR et al. 2014).

Os reagentes utilizados na hidrólise ácida e alcalina solubilizam os componentes de hemicelulose e lignina presentes na biomassa. Hidrólise alcalina solubiliza os polímeros favorecendo sua degradação, e é mais eficiente na remoção de lignina (RODRIGUEZ et al., 2015).

A hidrólise ácida é mais eficiente para remoção de biomassa com maior quantidade de hemicelulose. O ácido pode ser concentrado ou diluído, e o ácido sulfúrico o mais utilizado. É um processo de elevada eficiência para essa biomassa, mas de elevado gasto energético. Deve ser mencionado que os produtos dos componentes solubilizados podem ser tóxicos para metanogênese (PASSOS et al., 2014)

As primeiras reações do tratamento alcalino são a solvatação e a saponificação, induzindo o inchaço dos sólidos. Como resultado, a área superficial específica e os substratos são facilmente acessíveis pela comunidade microbiana (ARIUNBAATAR et al., 2014). O residual da reação que permanece na biomassa pode evitar a queda de pH durante a acidogênese (RODRIGUEZ et al., 2015).

A dose do álcali utilizado é um parâmetro essencial para eficiência da hidrólise, se for utilizado alta dose do reagente o residual que permanecer em solução pode destruir o sistema tampão bicarbonato em digestores anaeróbios, e valores elevados de pH podem inibir a ação desses microrganismos (LI et al., 2012). A digestão anaeróbia requer um ajuste de pH elevando sua alcalinidade e por isso o tratamento alcalino é o método preferido (ARIUNBAATAR et al., 2014).

O decaimento de pH após o tratamento alcalino também deve ser observado. Segundo Yang et al. (2011), quando o pH inicial do lodo pré-tratado era menor que 10, ocorria um decréscimo do pH para menos que 8,5 em 24 h, e com isso o lodo poderia ser injetado diretamente no digestor. Quando o pH inicial variava entre 12 e 13, após 24 h esse valor permanecia perto de 12, necessitando de neutralização ácida antes de sua introdução no reator.

Bohutshy, Betenbaugh e Bouwer (2014) utilizaram a hidrólise química, atingindo concentrações de 0 a 21g de NaOH.L⁻¹, para tratar *Chlorella sp.*, *Nannochloropsis sp.*,

Thalassiosira weissflogii, *Tetraselmis sp.* e *Pavlova_cfsp.* A adição de NaOH teve efeito negligenciável na produção de biogás para todas as espécies e diminuiu a produção de biogás de 10-30% para *Nannochloropsis sp.* Isso pode ser explicado pela toxicidade do NaOH em certas concentrações.

Mendez et al. (2013) adicionaram NaOH 4M até atingir pH 10 para a hidrólise alcalina da *Chlorella vulgaris*. A adição do álcali apenas não acarretou a solubilização relevante de carboidratos, mas, quando combinada ao tratamento térmico a solubilização foi cinco vezes maior. Em relação à hemicelulose, não houve mudança na solubilização independente do pré-tratamento aplicado, pois sua temperatura de solubilização é em torno de 150°C.

Segundo Li et al. (2017) as condições ótimas para geração de biogás foram 160°C durante 60min a pH =10 (Ca (OH)_2). Considerando que 160°C foi à temperatura mínima para degradar componentes orgânicos e segundo Neyens et al., (2004) 60 min foi o menor tempo para ocorrer à hidrólise das proteínas no EPS.

Lin et al. (2009) estudaram a digestão anaeróbia de lodo de papel e celulose, utilizando o pré-tratamento alcalino e identificaram a dosagem ótima de 8g NaOH/100gST_{lodo}. Utilizando uma concentração de 4gNaOH/100gST_{lodo}, 8 gNaOH/100gST_{lodo}, 16 gNaOH/100gST_{lodo}, a produção de metano foi 54%, 83% e 84% maior do que a amostra controle, respectivamente.

A digestão anaeróbia de microalgas é uma etapa essencial para o desenvolvimento de um processo integrado e de bom custo/benefício para captura do CO₂ e produção de CH₄. Considerando que esse processo é altamente dependente da degradabilidade de cada espécie e das condições do ambiente, a resistência da parede celular é um dos fatores limitantes da digestão da célula (TARTAKOVSKY; LEBRUN; GUIOT, 2015b). Neste sentido, estudos indicam que a hidrólise poderá potencializar a biodegradabilidade da célula algácea, aumentar a taxa de produção e melhorar os rendimentos de CH₄ (BOHUTSHY; BETENBAUGH; BOUWER, 2014).

3.6 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DE PRODUÇÃO DE METANO (BMP)

Os testes de BMP tem sido reconhecido como uma ferramenta para selecionar a biomassa para produção de biogás além de identificar e desenvolver novos indicadores para a avaliação de potenciais fontes de matérias-primas. Além de oferecer informações sobre quanto e quão rápido o material pode ser degradado sob condições ótimas de operação (STRÖMBERG; NISTOR; LIU, 2014). Os testes de BMP conseguem identificar inibição microbiana, sobrecarga e adaptação da biomassa. Os dados também permitem a definição da carga orgânica e o tempo de detenção hidráulico a ser utilizado no reator anaeróbio (LESTEUR et al., 2010).

O BMP é um teste de biodegradabilidade onde o material orgânico é misturado a uma cultura ativa de bactérias anaeróbias, normalmente amostradas de uma planta ativa de biogás. A cultura ativa de bactérias é incubada por um período de 30 a 60 dias, mantendo uma temperatura estável de 37 ou 52°C, misturada continuamente, minimizando limitações de transferência de massa (ROZZI; REMIGI, 2004)

Ao final da digestão anaeróbia, o metano é medido e o gás carbônico é capturado, através de uma solução alcalina. Esse meio físico de remoção do CO₂ é preferível para métodos volumétricos baseados no deslocamento de água, pois parte do CO₂ pode se dissolver na fase líquida, levando a medições imprecisas (ROZZI E REMIGI, 2004).

Sistemas de medição de gás são frequentemente utilizados para determinar a biodegradabilidade anaeróbia. O gás pode ser quantificado de forma manométrica, mantendo volume constante e medindo a elevação da pressão, ou pelo método volumétrico. Onde a pressão é mantida constante podendo medir o volume de gás.

As técnicas utilizadas para medir a taxa e volume de gás produzido incluem:

- Sistemas como seringas lubrificadas;
- Dispositivos de deslocamento de volume;
- Manômetros ou transdutores de pressão;
- Seringas assistidas por manômetro ou medidores de vazão de baixa pressão.

Além disso, alguns medidores automáticos de fluxo de gás podem ser considerados como sistemas mistos volumétricos / manométricos. Contudo, as variáveis obtidas nos testes devem ser utilizadas como primeira aproximação para previsão do comportamento do digestor contínuo. Sendo a cinética de degradação a mais sensível as condições experimentais da atividade microbiana e acessibilidade da amostra (RAPOSO et al., 2012). Por ser método de elevada duração (BELLATON et al., 2016), existem modelos de regressão que conseguem comparar a quantidade e/ou qualidade da matéria orgânica utilizada e a quantidade de metano produzido (LESTEUR et al., 2010).

Os testes também precisam ser padronizados, atualmente existem diversos padrões internacionais e nacionais, diferindo na configuração do equipamento e experimento (STRÖMBERG; NISTOR; LIU, 2014). A necessidade de um protocolo padrão é desafiadora devido à digestão anaeróbia ser um processo complexo e dinâmico, com variáveis microbiológicas, bioquímicas e físico-químicas (ANGELIDAKI et al., 2009).

O princípio geral dos testes em batelada é a incubação de um inóculo contendo uma diversidade de microrganismos, pH neutro, em temperatura específica. O substrato é adicionado e sua degradação será avaliada segundo um intervalo de tempo pré-determinado, calculando a taxa de conversão (RAPOSO et al., 2012).

Para Raposo et al (2012) e Angelidaki et al. (2009) sugerem que:

- O inóculo deve ser “desgaseificado”, de forma a esgotar o material orgânico biodegradável residual presente nele. A pré-incubação pode ser de 2 a 7 dias. Já Angelidaki et al (2009) sugerem que o lodo fresco deve ser utilizado sempre que possível.
- As replicatas também são importantes, e devem ser realizadas em pelo menos três vezes dependendo da complexidade dos substratos.
- Outra questão importante é a remoção de oxigênio no *Headspace*. Dois tipos de gases são os mais utilizados, o nitrogênio ou misturas entre nitrogênio e dióxido de carbono.
- Relação inóculo /substrato (I/S), essa relação só pode influenciar na cinética do processo, na extensão e na taxa de degradação anaeróbia.

Raposo et al. (2011) considera a relação inóculo substrato de 2 como obrigatória para testes padronizados, considerando que nunca foi relatado efeito inibitório. Cabai et al. (2013) utilizaram valores de I/S 1, 1,5 2, e 3 para lodo de esgoto com intuito de verificar a influência desse parâmetro na degradação da biomassa. Destacando que o crescimento dessa relação pode influenciar na extensão e na taxa de processo de degradação.

Dentre os aparelhos utilizados para realizar o teste, o *Automated Methane Potential Testing System II (AMPTS)* é um método desenvolvido na Suécia, onde a produção de biogás é medida automaticamente em biorreatores contendo inóculo e substrato, adicionados no início do experimento (Bioprocess, 2016).

Figura 7: Unidades de incubação, adsorção de CO₂ e dispositivo de medição, respectivamente.



Fonte: Manual, Bioprocess control, 2016, p.1.

O aparelho pode ser dividido em três unidades (Figura 7). A primeira é a unidade de incubação, onde são inseridos o inóculo e o substrato, passando para a segunda unidade que é a unidade de absorção do CO₂. A última unidade, é onde o volume gerado de metano será lido. O dispositivo de medição funciona de acordo com o princípio de deslocamento e flutuabilidade do líquido, monitorando fluxos de gás ultrabaixos. Um pulso digital é gerado quando o volume definido de gás flui pelo dispositivo. Os dados são arquivados através de um sistema integrado ao equipamento (Bioprocess Control, 2016).

3.7 BALANÇO DE MASSA DE DQO

Para Von Sperling (2007) o balanço de massa é a descrição quantitativa de todos os materiais que entram, saem e se acumulam no sistema com limite físico definido, baseando-se na lei da conservação de massa.

O balanço de massa pode ser realizado de modo indireto, utilizando-se a DQO, que traduz a quantidade de ligações químicas presentes na amostra que estão disponíveis para reação com o oxigênio ou para oxidação. Para um sistema controle, as variações nessas ligações que irão oxidar, traduzirão como conversões de DQO, de modo que a conservação da massa dos substratos orgânicos pode ser representada por um balanço de massa de DQO (ELLER, 2013).

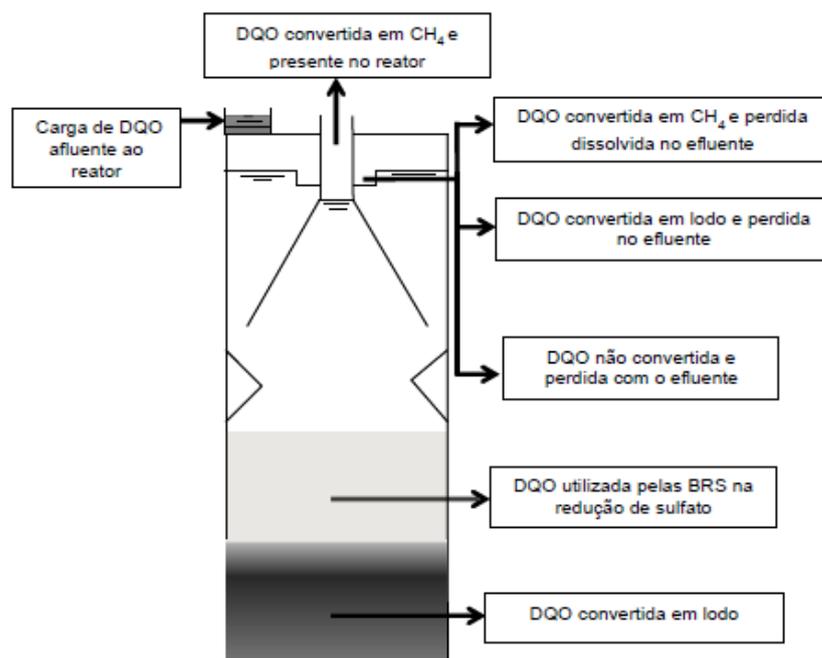
Segundo Van Haandel e Lettinga (1994) o material orgânico em sistemas de tratamento se degrada por quatro vias:

- Conversão em lodo (anabolismo);
- Conversão em metano (catabolismo fermentativo);
- Conversão por oxidação (catabolismo oxidativo);
- Permanência na fase líquida (descarga no efluente).

Se não houver acumulação do material orgânico, o material orgânico afluyente deve ser igual à soma das saídas do reator, seja como metano, lodo ou presente no efluente, mais a massa diária de material orgânico oxidado.

Souza (2010) destaca que no balanço de massa de DQO deve-se considerar as parcelas devido ao metano produzido, que escapa no biogás e dissolvido no efluente, a parcela devido a sulfato redução, a parcela convertida em lodo, que se subdivide no lodo que fica retido no reator e na parte carregada para o efluente e ainda a parcela que sai solubilizada no efluente (DQO filtrada) (Figura 8).

Figura 8: Ilustração das parcelas calculadas no balanço de massa de DQO.



Fonte: Souza (2010).

O balanço de massa em termos de DQO é, segundo Seguezzo (2004), uma ferramenta útil para descrever o fluxo de matéria orgânica através do reator, avaliar desempenho, validar os métodos e variáveis além de prever as saídas. Apesar disso poucos trabalhos investigaram balanços de DQO em reatores anaeróbios do tipo UASB (SOUZA, 2010).

Carmo Junior (1998) analisou o balanço de massa de DQO em reator UASB tratamento de efluentes de suinocultura, observando que dos 145g de DQO inseridos no reator foram removidos diariamente no sistema, sendo que 125 g foram removidas por biodegradação e 20 g foram removidas por ação física (carga orgânica acumulada no sistema) representando 86 e 14% do total removido, respectivamente.

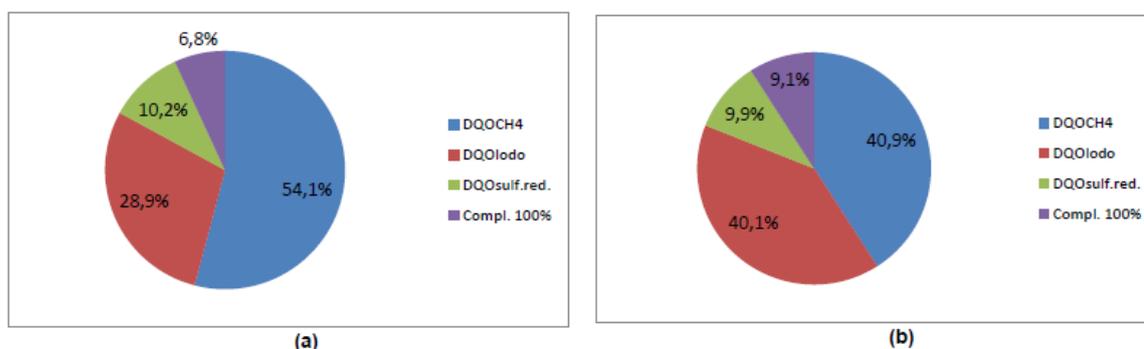
Eller (2013) também realizou o balanço de massa em um reator UASB tratando esgoto doméstico, constatando que 53% da DQO removida é recuperada na forma de CH₄ no biogás, 21% da DQO é convertida em lodo (retido no reator e liberado como sólidos em suspensão no efluente), 15% da DQO é perdida como CH₄ dissolvido no efluente, 4% da DQO é perdida como CH₄ no gás residual, 4% da DQO é eliminada como outras perdas de CH₄ na fase gasosa e 3% da DQO é utilizada pelas BRS na redução de sulfato a sulfeto.

Dantas Leite e Prasad (2000) realizaram o balanço de massa em um reator UASB, capacidade de 2200L, tratando fração orgânica putrescível dos resíduos sólidos urbanos com lodo de esgoto sanitário. Relatando que da DQO total aplicada 36% ficou acumulada na massa residual e de 64% foi transformada, que é a parte da DQO presente no efluente e no biogás, correspondendo respectivamente a 73% e 27%.

Ademais, Mahmoud et al. (2004) realizaram o balanço de massa de um reator UASB tratando esgoto doméstico, a 15°C e TDH de 6 horas, sendo que de 100% de DQO afluente, 29% foi retida no lodo, 54% no afluente e somente 19% foi transformada a metano.

Assis (2017) apresenta o balanço de massa em termos de DQO do processo de codigestão de biomassa de microalgas e esgoto sanitário, no qual o substrato é inserido no reator sem pré-tratamento. A Figura 9 ilustra as parcelas calculadas no balanço de massa. Nota-se que a parcela que mais se destaca é a parcela referente à DQO convertida no processo de metanogênese.

Figura 9: Balanço de massa da DQO convertida no tratamento anaeróbico na etapa sem codigestão (a) e com codigestão de esgoto sanitário e lodo algáceo (b).



Fonte: Assis, 2017.

Observa-se que a DQO convertida em lodo subiu de 28,9% com o tratamento sem a codigestão para 40,1% quando a biomassa de microalgas passa a ser inserida. Esses valores podem estar relacionados a não digestão dessa biomassa algácea coagulada com Tanfloc, pelo reator. Que é explicado pela composição de sua parede celular (Assis, 2017). Esse aumento também pode ter acontecido devido ao uso do Tanfloc, que apesar de biodegradável, em baixas concentrações (Hameed et al, 2016) o coagulante a base de tanino, que produz flocos mais fortes e resistentes (BOLTO E GREGORY, 2007; OZACAR e SENGIL, 2000).

4. METODOLOGIA DE PESQUISA

4.1 PARQUE EXPERIMENTAL

Esta pesquisa foi desenvolvida no âmbito do projeto: “Soluções tecnológicas integradas para potencializar a geração de biocombustíveis em estações de tratamento de esgotos que utilizam processos à base de microalgas”, financiado pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), por meio da Seleção Pública MCTI/FINEP/FNDCT – Subvenção Econômica à Inovação – 02/2013.

Os recursos do projeto viabilizaram a instalação do parque experimental em escala piloto na área da Estação de Tratamento de Esgoto de Araçás (ETE Araçás) da Companhia Espírito Santense de Saneamento – CESAN (Figura 10). A ETE Araçás recebe 520L/s de esgoto afluente, dos quais 0,56L/s são desviados para a ETE piloto, após tratamento preliminar por gradeamentos grosseiro e fino e desarenação.

Figura 10: Foto aérea da ETE Araçás com localização do parque experimental, da área administrativa e laboratórios.



Fonte: Google Earth. Adaptado. Acesso em 20/11/2017.

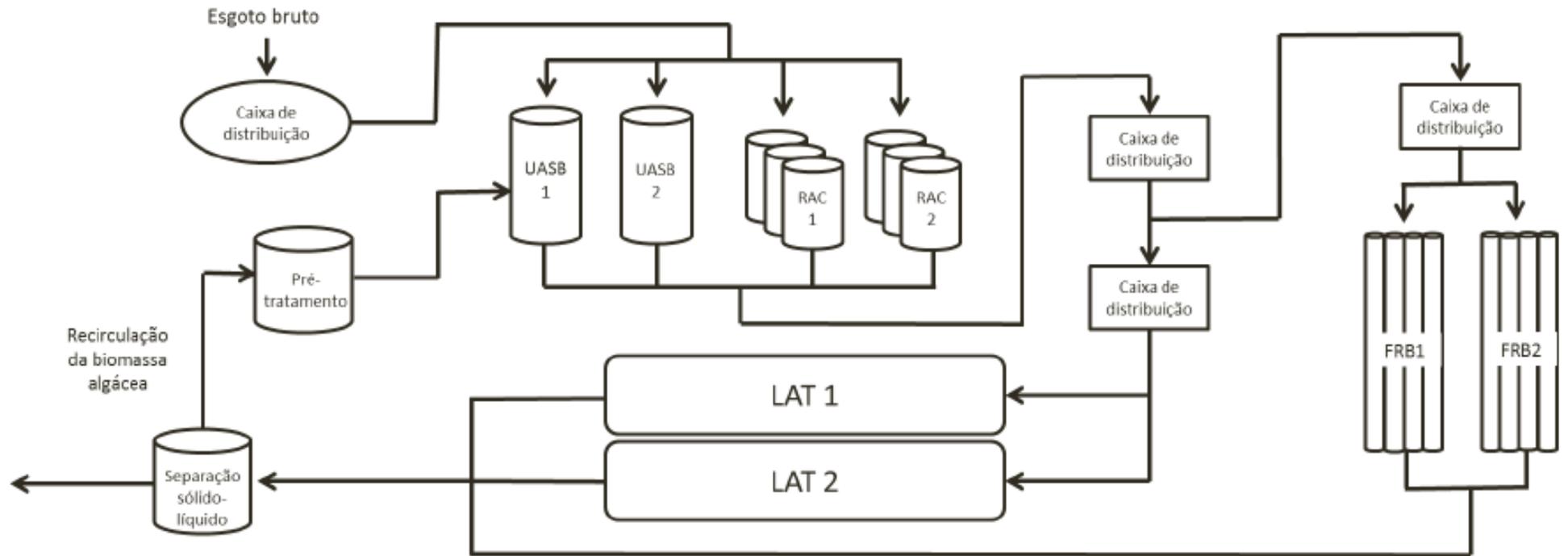
O parque experimental foi projetado para tratar uma população de 302 habitantes, conta com capacidade para tratar uma vazão média de 0,56 L/s de esgoto sanitário de características médias e é composto pelas seguintes unidades:

- Sistema de pré-tratamento composto por gradeamento fino,
- UASB convencional (UASB 1),
- UASB modificado (UASB 2),
- Reator anaeróbio compartimentado modificado (RAC1),
- Reator anaeróbio compartimentado convencional (RAC2),
- Duas lagoas de alta taxa (LAT1 e LAT2),
- Dois fotobiorreatores tubulares (FBR1 e FBR2),
- Três sistemas de Separação sólido-líquido da biomassa algácea,
- Dois sistemas de hidrólise da biomassa algácea.

O esgoto sanitário chega a ETE piloto por uma tubulação de PVC de 75 mm de diâmetro após passar por um uma peneira e gradeamento fino. Chegando à caixa de distribuição 1 (CD 1) de onde é distribuído para o reator em funcionamento, UASB1. Por gravidade o efluente desse reator passa pela caixa de distribuição 2 (CD 2), onde o efluente do UASB1 é encaminhado para as lagoas de alta taxa (LAT 1 e LAT 2) (Figura 11).

O efluente das LATs, por sua vez, é encaminhado ao sistema de separação, onde a biomassa é concentrada por meio de um sistema físico-químico de coagulação, floculação e sedimentação.

Figura 11: Configuração do parque experimental.



Fonte: Louzada (2018).

Figura 12: Foto do parque experimental com indicação dos processos.



Fonte: Autoria própria.

As lagoas de alta taxa (LAT1 e LAT2) foram construídas em plástico reforçado com fibra de vidro (PRFV), com volume útil total $13,7 \text{ m}^3$, cada uma dotada de dois canais com largura de 2,4 m, comprimento de 10,0 m, e área de $22,8 \text{ m}^2$. Submetidas a um TDH de 3 dias a produção média de microalgas nas LAT foi $20 \text{ mgSSV/m}^2\text{d}$.

O processo de separação utilizado para concentrar a biomassa de microalgas é o sistema de separação físico-químico (FQ2), constituído por uma associação em série de uma unidade de mistura rápida e um decantador com vazão média do sistema de separação de $0,08 \text{ L/s}$ (Figura 13). O coagulante utilizado foi o tanino modificado linha Tanfloc SG da marca TANAC® com dose média de 50 mg/L . A vazão média da bomba dosadora (marca EMEC modelo FCE) foi de $0,23 \text{ ml/s}$.

Figura 13: Esquema do fluxo da biomassa de microalgas.

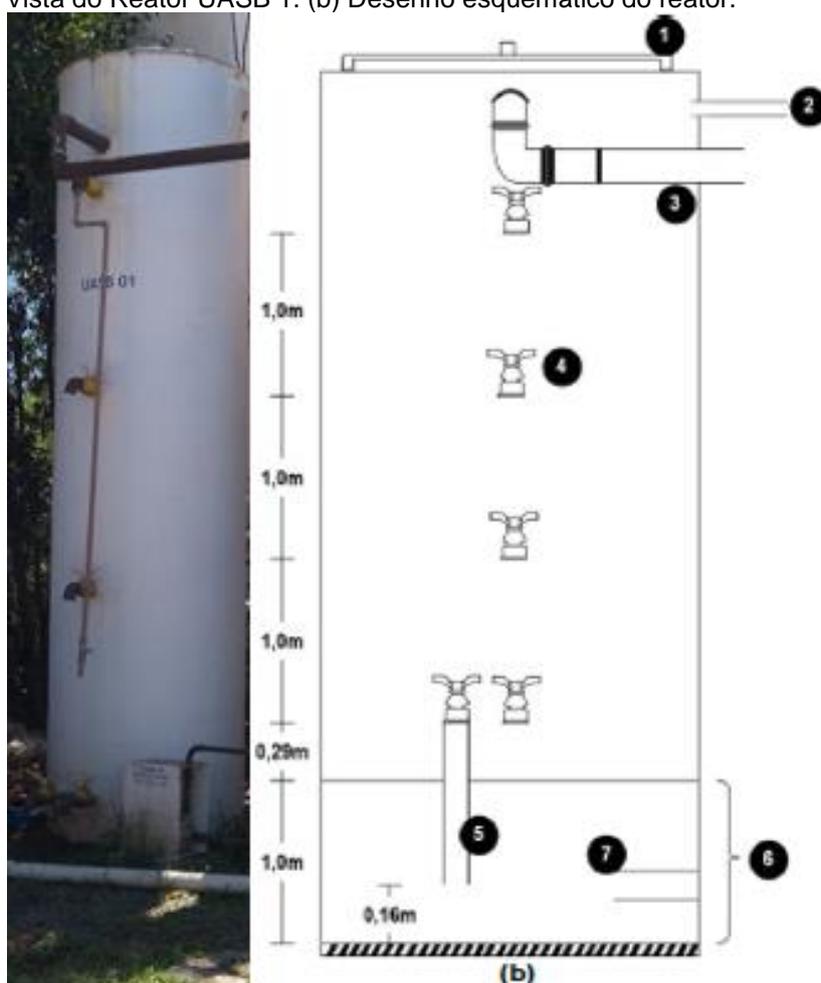


Fonte: Autoria própria.

4.1.2 REATOR UASB

O reator UASB 1 foi construído em plástico reforçado com fibra de vidro (PRFV), possuindo um separador de fases, altura útil de 4,8 m e diâmetro de 1,0 m, sendo um metro da sua altura enterrado. Seu volume útil é de 3,78 m³ e foi dimensionado para tratar uma vazão média de referência de 0,14 L/s (Tabela 3).

Figura 14: (a) Vista do Reator UASB 1. (b) Desenho esquemático do reator.



- 1 - Tampa de PRFV (D = 50 cm);
- 2 - Tubulação de PVC (D = 25 mm) para coleta do biogás;
- 3 - Tubulação de PVC (D=75mm) para a saída do efluente;
- 4 - Registro de amostragem de lodo em PVC (D=50mm);
- 5 - Tubulação de PVC interna acoplada ao registro de amostragem;
- 6 - Zona de digestão correspondente ao leito do reator enterrada a um metro;
- 7 - Tubulação (D=75mm) de chegada do esgoto bruto.

Fonte: (a) Autoria Própria; (b) Gonçalves (2015). Adaptado.

Tabela 3: Principais características do reator UASB.

Características do Reator UASB	
Diâmetro (m)	1,0
Altura útil (m)	4,8
Volume útil (m ³)	3,78
Altura da torneira 1 (m)	0,16
Altura da torneira 2 (m)	1,29
Altura da torneira 3 (m)	2,29
Altura da torneira 4 (m)	3,29
Altura da torneira 5 (m)	4,29

Fonte: Assis, 2017.

O separador trifásico foi vedado através de PVC com 100mm de diâmetro. Uma canalização de PVC com 25mm de diâmetro foi conectada ao separador trifásico para encaminhar o biogás ao medidor de vazão de biogás do tipo turbina Ritter®, modelo TG5.

4.2 DESCRIÇÃO DA ETAPA DE CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE ESGOTO SANITÁRIO E BIOMASSA DE MICROALGAS EM REATORES UASB

O esgoto sanitário e a biomassa de microalgas após passar pelo tratamento anaeróbio no reator UASB1 seguiu parte para o extravasor e parte para as lagoas de alta taxa (LAT 1 e LAT2) por gravidade. A partir de uma fração da vazão do efluente das LAT a biomassa de microalgas foi gerada pelo processo de coagulação – floculação – sedimentação utilizando-se coagulante tanino modificado linha Tanfloc SG, marca TANAC ® (Figura15).

Figura 15: Fluxo da biomassa de microalgas coagulada com Tanfloc durante a codigestão.



Fonte: Autoria própria.

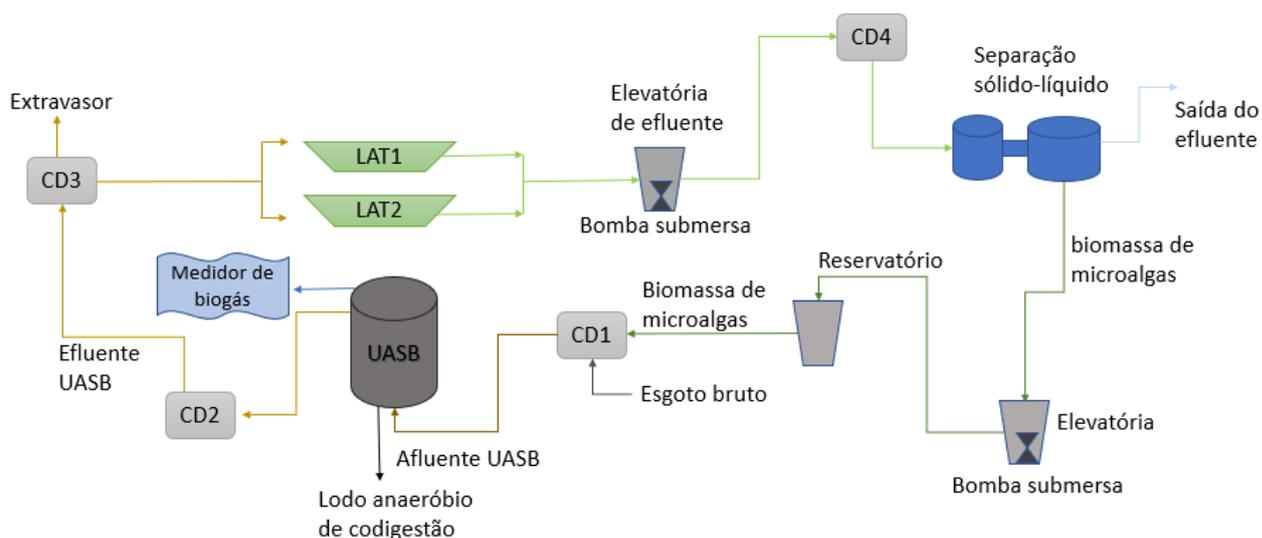
Tabela 4: Dados de operação do sistema de coleta da biomassa de algas

Parâmetro	Valor
Vazão média do sistema de separação sólido-líquido	0,06 L/s
Vazão média da bomba dosadora	0,26 mL/s
Dosagem média de coagulante	50mg TANFLOC/L
Concentração da solução de tanino	2,3%

Fonte: Autoria própria.

Um volume médio diário de 200L da biomassa de microalgas produzida foi diariamente enviada para uma estação elevatória e bombeada (bomba sapo Feka BVP 750). Em seguida, este material era recalcado para alimentar o UASB através de um reservatório de 200L na parte superior do mesmo. A alimentação era realizada uma vez por dia, sendo realizada através de uma mangueira conectada ao fundo do reservatório de alimentação, durando em média de 20min (Figura 13). A Figura 16 mostra o processo de codigestão.

Figura 16: Figura 16: Desenho esquemático da etapa da codigestão.



Fonte: Autoria própria.

A codigestão iniciou-se em 20/06/2017 até 25/06/2018, durando 416 dias. Os valores da pesquisa realizada por Assis (2017) no mesmo aparato experimental foram utilizados para completar a série histórica de um ano de codigestão.

4.3 OPERAÇÃO E CONTROLE DO REATOR UASB

O monitoramento da vazão do reator UASB foi realizado diariamente na caixa de distribuição de vazões 2 (Figura 17). Para tanto, utilizou-se um béquer de 2L para medir o volume e um cronômetro para o tempo (método volumétrico). Foram realizados os ajustes na vazão afluyente para vazão de referência (0,13L/s) visando manter o tempo de detenção hidráulica médio (TDH) do reator próximo a 8 horas durante a pesquisa.

Figura 17: Caixa de distribuição 2.



Fonte: Autoria própria.

Além do TDH, as variáveis operacionais que também foram monitoradas são: carga orgânica volumétrica, carga biológica e velocidade ascensional (Tabela 5). Os cálculos dessas variáveis foram realizados segundo a metodologia de Campos (1999) e para avaliação da quantidade de biomassa presente no reator foi utilizada a metodologia proposta por Chernicharo (1997).

Tabela 5: Parâmetros operacionais do UASB

Parâmetro Operacional	Fórmula	Observação
Carga orgânica volumétrica (KgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	$COV_E = \frac{(Q_E \cdot DQO_E)}{V}$	Q_E = Vazão do esgoto (m ³ .d ⁻¹), DQO_E = DQO do esgoto (kg.m ⁻³), V = Volume do reator UASB (m ³).
	$COV_L = \frac{(V_L \cdot DQO_L)}{V}$	V_L = Volume de biomassa de microalgas(m ³), DQO_L = DQO da biomassa de microalgas (kg.m ⁻³), V = Volume do reator UASB (m ³).
	$COV_{total} = COV_E + COV_L$	COV_E = COV de esgoto, COV_L = COV biomassa de microalgas
Tempo de detenção hidráulico (h)	$TDH = \frac{V}{Q}$	V = Volume total do Reator (m ³), Q = Vazão total afluyente (m ³ /h).
Carga hidráulica volumétrica (m ³ .m ⁻³ .h ⁻¹)	$CHV = \frac{1}{TDH}$	TDH = Tempo de detenção hidráulico (h)
Carga Biológica (KgDQO.KgSVT ⁻¹ .d ⁻¹)	$CB = \frac{C_{total}}{M_t^*}$	C_{total} = Carga total afluyente, M_t = Massa de microrganismos presentes no reator (KgSVT).
Velocidade Ascensional (m.h ⁻¹)	$v = \frac{Q}{A}$	Q = Vazão total afluyente (m ³ /h), A = Área da seção transversal do reator (m ²).

Fonte: Assis (2017)

*O cálculo de M_t foi realizado segundo a metodologia Chernicharo (1997) adaptado, descrita a seguir.

Para o cálculo da massa total de microrganismos presentes no UASB foi considerada a quantidade de sólidos voláteis, ou seja, a parcela de sólidos que representa a quantidade de massa de material celular.

$$M_t = \sum_{i=1}^4 \bar{C}_{i,i+1} * V_i \quad (1)$$

No qual: M_t = Massa de SV presente no reator (kg); $\bar{C}_{i,i+1}$ = Média da concentração de S em i ; $i+1$ (kg.m⁻³), onde i = torneira de amostragem; V_i = Volume do compartimento (m³).

A Tabela 6 mostra os valores das variáveis operacionais durante o período da codigestão.

Tabela 6: Parâmetros operacionais do UASB em regime de codigestão.

Variáveis operacionais	Codigestão
Vazão (L.s ⁻¹)*	0,12 ± 0,03
TDH (h)*	9,03 ± 2,43
Velocidade ascensional (m.h ⁻¹)*	0,55 ± 0,11
COV (KgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)*	1,06 ± 0,57
CHV(m ⁻³ .m ⁻³ .h ⁻¹)*	0,11 ± 0,02
Carga biológica (kgDQO.kgSV.d ⁻¹)*	0,21 ± 0,65

*Valor médio

Fonte: Autoria própria

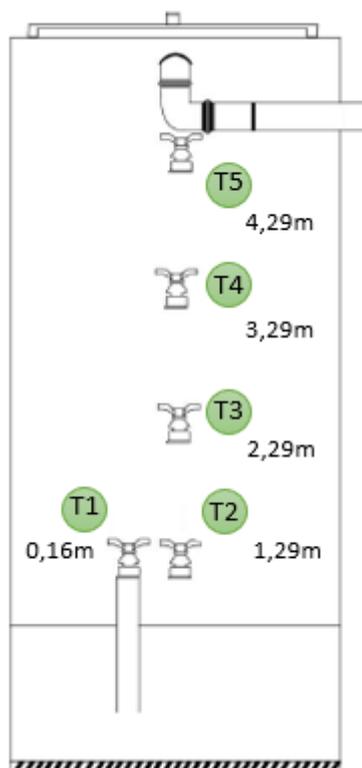
4.3.1 Descarte de lodo

A produção de lodo no UASB foi acompanhada visualmente em relação aos sólidos suspensos totais na saída do reator e foi estimada através dos resultados do perfil de sólidos na sua altura. Com isso, quando a manta de lodo ultrapassava a quarta tomada de amostra (altura = 3,29 m) era realizado o descarte de lodo pela terceira tomada de amostra (Altura = 2,29 m)

4.3.2 Perfil de lodo

O perfil de lodo na altura do UASB indicou as concentrações de sólidos totais e voláteis em cada compartimento, a altura da manta de lodo e o momento de descarte. Para realizar o perfil foram coletadas amostras de lodo das tomadas de amostras T1 (0,16 m) a T5 (4,29 m) (Figura 18) semanalmente, e realizadas análises laboratoriais de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV).

Figura 18: Localização das tomadas de amostras do reator UASB.



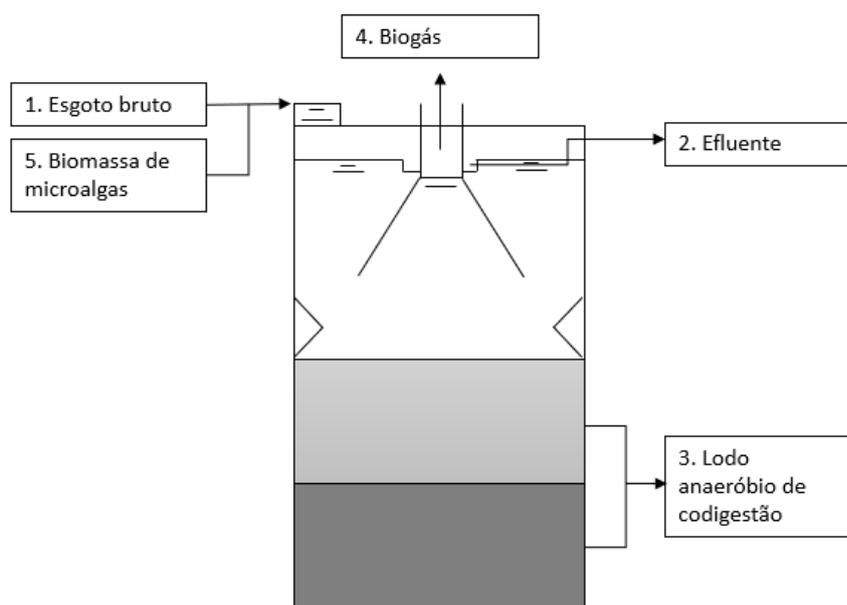
Fonte: Adaptado Gonçalves (2015).

O procedimento consistiu em descartar 500mL de lodo de cada torneira para evitar a coleta do lodo retido na tubulação da mesma, seguida da coleta de aproximadamente 250mL de lodo em frascos de plástico para análises laboratoriais. As análises de lodo foram realizadas conforme as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

4.4 MONITORAMENTO DO DESEMPENHO DO UASB

Foram coletadas amostras do esgoto bruto, do efluente do reator, do lodo anaeróbio de codigestão (lodo anaeróbio mais biomassa) e do biogás produzido pelo UASB (Figura 19).

Figura 19: Pontos de monitoramento do reator UASB.



Fonte: Autoria própria

O programa de monitoramento do reator se encontra na Tabela 8.

Tabela 3: Programa de monitoramento do reator UASB.
(CONTINUA)

PARÂMETRO	UNIDADE	MÉTODO	REFERÊNCIA	PONTOS E FREQUÊNCIA DE MONITORAMENTO			
				AFLUENTE	EFLUENTE	BIOGÁS	LODO
FASE LÍQUIDA							
Sólidos Suspensos Totais (SST)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540D	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540D; 2540E	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
Sólidos Totais (ST)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540E	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
Sólidos Voláteis (SV)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540E	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
Sólidos Sedimentáveis	ml/l	Método do cone Imhoff 2540 F	APHA,2012	-	2/semana		
DQO total	mg/l	Colorimétrico 5220D	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
DQO filtrada	mg/l	Colorimétrico 5220D	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₃)	mg/l	Titulometria – 4500-NH ₃ B; C	APHA,2012	1/semana	1/semana	-	-
Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK)	mg/l	Titulometria 4500-N _{org} B	APHA,2012	1/semana	1/semana	-	-
Fósforo Total (P)	mg/l	Colorimétrico – 4500-P; E	APHA,2012	1/semana	1/semana	-	-
Sulfato	mg/l	Turbidimétrico 4500 SO ₄ ²⁻ E	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
Sulfeto Total	mg/l	Iodométrico - 4500 – S ²⁻	APHA,2012	1/semana	1/semana	-	-
Turbidez	NTU	Nefolométrico 2130 B	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
Temperatura	°C	Potenciométrico 2550 B	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
pH	-	Método Eletrométrico 4500- H B+	APHA,2012	2/semana	2/semana	-	-
FASE GASOSA							
Produção de Biogás	litro			-	-	diário	-
FASE SÓLIDA							

Tabela 4: Programa de monitoramento do reator UASB.
(conclusão)

Lodo anaeróbio de codigestão							
Sólidos Totais (ST)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540E	APHA,2012	-	-	-	1/semana
Sólidos Voláteis (SV)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540E	APHA,2012	-	-	-	1/semana
DQO Total	mg/l	Colorimétrico5220D	APHA,2012	-	-	-	1/semana
Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK)	mg/l	Titulometria 4500-N _{org} B	APHA,2012	-	-	-	1/semana
Biomassa							
Sólidos Totais (ST)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540E	APHA,2012	-	-	-	2/semana
Sólidos Voláteis (SV)	mg/l	Gravimétrico 2540B; 2540E	APHA,2012	-	-	-	2/semana
DQO Total	mg/l	Colorimétrico5220D	APHA,2012	-	-	-	2/semana
Sulfato	mg/l	Turbidimétrico 4500 SO ₄ ²⁻ E	APHA,2012	-	-	-	2/semana
Sulfeto total	mg/l	Iodométrico - 4500 – S ²⁻					
Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK)	mg/l	Titulometria 4500-N _{org} B	APHA,2012	-	-	-	1/semana
Fósforo Total (P)	mg/l	Colorimétrico – 4500-P; E	APHA,2012	-	-	-	1/semana

Fonte: Autoria própria.

As análises foram realizadas no laboratório da CESAN, situado na ETE Araçás e seguiram as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Ao final da codigestão foi avaliada normalidade da distribuição dos dados da série histórica de resultados e assim escolhido o teste estatístico apropriado para o tratamento dos dados.

O monitoramento da vazão de biogás foi realizado através de um medidor da marca Ritter, modelo TG 5 (Figura 20). Esse equipamento foi instalado na tubulação de biogás do reator UASB, conectado por meio de uma mangueira de gás 3/8` de diâmetro. Todo dia pela manhã era lido o volume de biogás, que é medido em litros pelo reator. O monitoramento da fase gasosa juntamente com valores anteriores obtidos por Assis (2017) durou 418 dias.

Figura 20: Medidor de biogás Ritter TG5.



Fonte: Autoria própria.

As coletas do lodo foram realizadas no mesmo dia e frequência da coleta do esgoto sanitário, sendo coletadas dentro da bombona com amostragem simples e manual.

4.5 EFEITOS DA CODIGESTÃO SOBRE O DESEMPENHO DO REATOR UASB

As eficiências de tratamento no reator foram calculadas conforme a Equação 1.

$$E (\%) = \frac{(C_e \cdot V_e + C_L \cdot V_L) - (C_{efl} \cdot V_e)}{(C_e \cdot V_e + C_L \cdot V_L)} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde:

$E (\%)$ = eficiência de remoção do parâmetro avaliado;

C_e = Concentração do parâmetro referente ao esgoto sanitário (mg.L^{-1});

V_e = Volume de esgoto sanitário (L).

C_L = Concentração do parâmetro referente à biomassa (mg.L^{-1});

V_L = Volume de biomassa (L).

C_{efl} = Concentração do parâmetro analisado referente ao efluente (mg.L^{-1}).

4.6 ANALISE DO EFEITO DA CODIGESTÃO ANAERÓBIA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DO LODO DO UASB

Em relação aos efeitos da codigestão sobre as mudanças qualitativas e quantitativas de lodo do UASB, foram adotadas as relações SV/ST e C/N. Para a relação C/N, foi utilizado um fator de conversão de Demanda Química de Oxigênio (DQO) para Carbono Orgânico Total (COT), no qual a DQO é dividida pelo fator de 3 (Menger-Krug 2012). A idade do lodo ou tempo de retenção de sólidos (TRS) foi calculado segundo Chernicharo (1997). A produção de sólidos foi calculada através da equação (2).

$$Massa_{ST} = \left[\frac{(Massa_{ST_{t2}} - Massa_{ST_{t1}}) + Massa_{descartada_{ST}}}{t2 - t1} \right] \quad (2)$$

Onde:

$Massa_{ST}$ = Produção de lodo retido no reator (KgST.d^{-1});

$Massa_{ST_{t1}}$ = Massa de ST presente no UASB em t1 (kg);

$Massa_{ST_{t2}}$ = Massa de ST presente no reator em t2 (kg);

$Massa_{descartada_{ST}}$ = Massa de lodo descartada do reator entre t2 e t1;

t1 = Data de realização do perfil de lodo em t1;

t2 = Data de realização do perfil de lodo após vinte dias em t2.

4.6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Com objetivo de identificar espécies e verificar a existência de células hidrolisadas dentro do reator, realizou-se a observação microscópica de amostras coletadas nos seguintes pontos:

- Entrada no reator UASB (esgoto sanitário e biomassa de microalgas);
- Tomadas de amostra 1 a 5 do reator UASB;
- Efluente do reator UASB.

A coleta foi realizada utilizando-se um Becker, coletando-se cerca de 500mL e depois transferindo-se cerca de 50 mL para o tubo Falcon. As amostras foram analisadas no laboratório LUCCAR, UFES Maruípe, utilizando-se o MEV marca JEOL modelo JSM6610LV (Figura 21). As amostras foram lidas com escala de 1 μ m, 5 μ m, 10 μ m e 50 μ m.

Figura 21: MEV JEOL modelo JSM6610LV.



Fonte: Autoria própria.

As amostras seguiram o protocolo padrão, descrito no Anexo I. O protocolo seguia uma série de etapas de lavagem, fixação, pós-fixação da amostra finalizando-se com sua desidratação antes de passar para os stubs (Figura 22). Após inseridas nos Stubs,

cada amostra passava pela etapa de evaporação com ouro. Finalizando o procedimento.

Figura 22: Stubs com deposição das amostras.

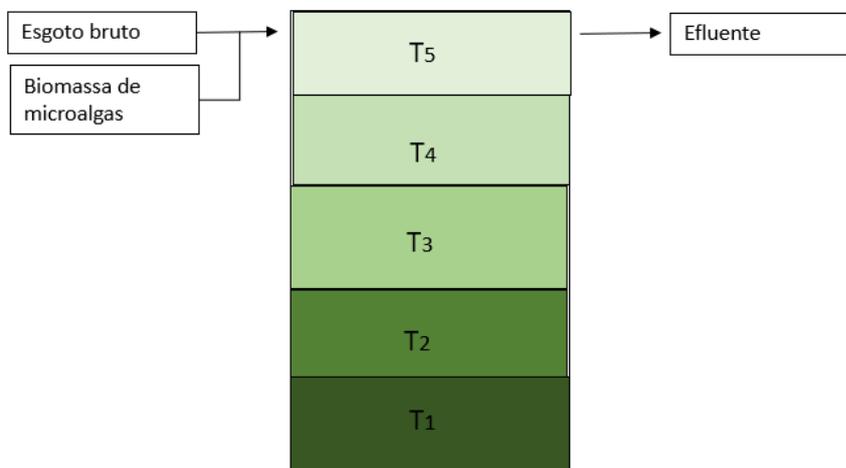


Fonte: Autoria própria.

4.6.2 Balanço populacional de contagem de células/mL

Visando entender o carregamento das células de microalgas dentro do reator UASB, realizou-se o balanço populacional de células/mL através da contagem de células de microalgas que: entram no reator pelo esgoto bruto e biomassa de microalgas, as células que ficam nas camadas digestoras do reator, fazendo a média entre as alturas das torneiras consecutivas, e as que saem no efluente do UASB (Figura 23).

Figura 23: Parcelas do balanço populacional de contagem de células/mL.



Fonte: Autoria própria.

A coleta foi realizada através de amostragem simples, enchendo-se um Becker de 500mL de cada ponto, passando-se para um tubo Falcon de 50 mL. Foram realizadas todas as segunda-feiras e quarta-feiras, na parte da manhã, contabilizando-se dez amostras de cada ponto de tomada de amostra.

Após a coleta, as amostras foram levadas refrigeradas para o LABSAN e diluídas para melhor visualização das células de microalgas (Tabela 8). A contagem de células seguiu metodologia de Andersen e Kawachi (2005).

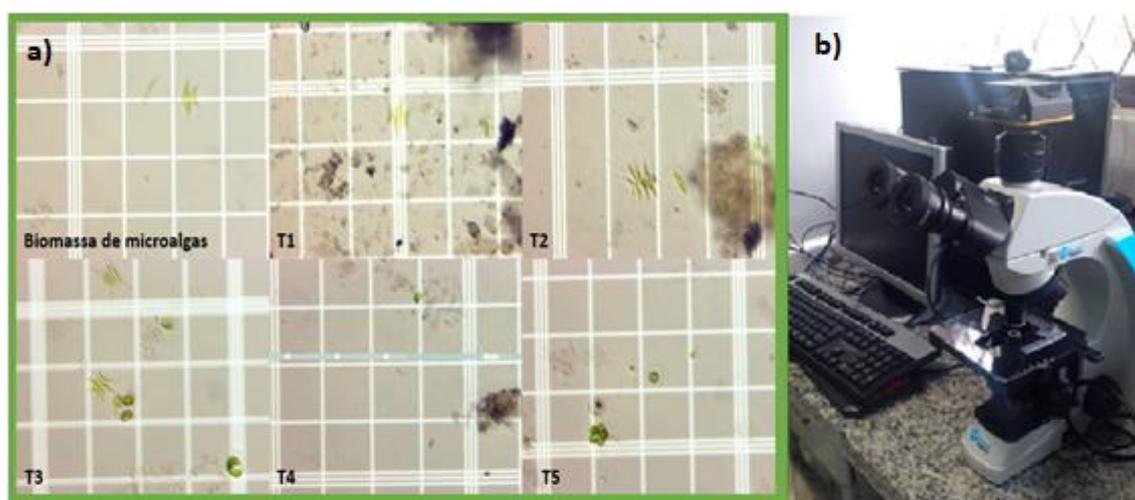
Tabela 5: Diluições dos pontos monitorados.

Ponto	Diluição
Esgoto sanitário	Sem diluição
Biomassa de microalgas	4
T1	10
T2	10
T3	10
T4	10
T5	6
Efluente UASB	Sem diluição

Fonte: Autoria própria.

A contagem em cada ponto foi realizada em quadruplicata em um microscópio óptico (modelo O400 com quatro objetivas equipado com câmera científica alta resolução 14.0 ultraK HD Opt14000, software Opticam OPTHD) aplicando-se ampliação de 40x e Câmara de Neubauer (Figura 24).

Figura 24: a) Imagem obtida pela Opticam OPTHD, b) microscópio óptico.



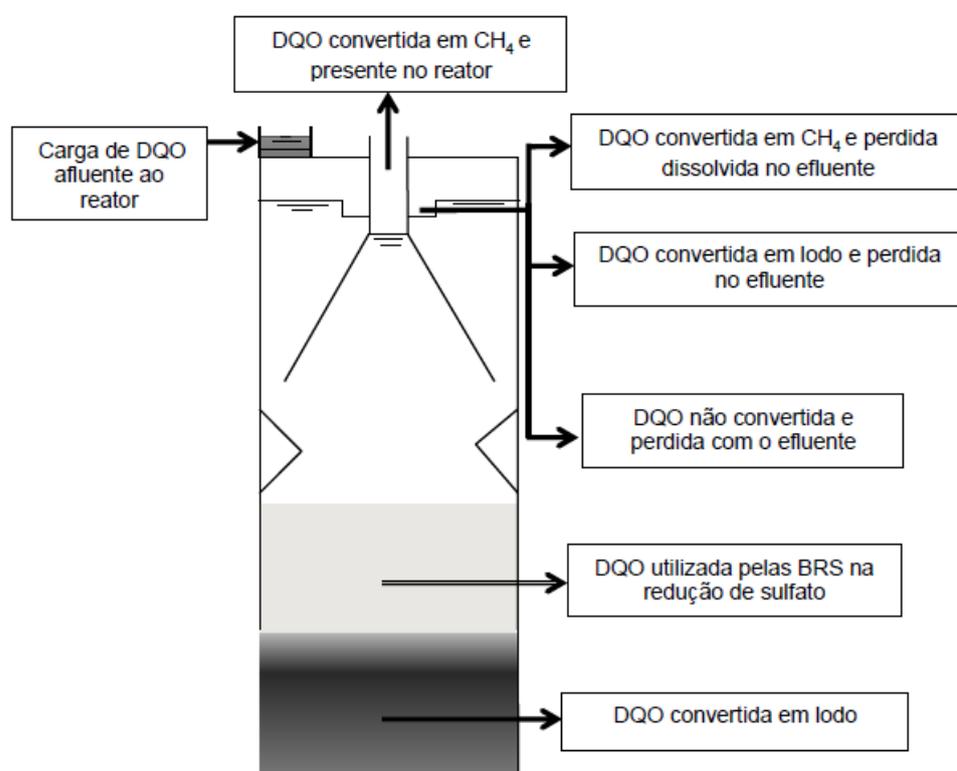
Fonte: Autoria própria.

A câmara foi preenchida com a amostra homogeneizada, procedendo-se com a contagem. Após todas as contagens foi realizado o cálculo de células/mL para realizar o balanço populacional de contagem de células/mL.

4.7 BALANÇO DE MASSA DE DQO DURANTE A CODIGESTÃO

Para realizar o balanço de massa de DQO no reator UASB foi utilizada a metodologia proposta por Souza (2010) (Figura 25). Com isso foram consideradas as seguintes parcelas de conversão: DQO convertida a metano, que estará presente no biogás e a que escapa no efluente; DQO consumida no processo de redução de sulfato, parcela solubilizada no efluente e a parcela de DQO convertida em lodo, que seria o lodo retido no reator e o carregado no efluente. A parcela referente à biomassa de microalgas não hidrolisada recirculada para o UASB foi adicionada ao cálculo do balanço, sendo esta a adaptação ao modelo proposto por Souza (2010).

Figura 25: Parcela do balanço de massa de DQO.



Fonte: Souza (2010).

Para o cálculo, será utilizada a média de cada parcela descrita acima em unidades de massa de DQO por dia. Foram utilizados dados quinzenais do perfil de lodo, determinando a quantidade de DQO utilizada para o crescimento celular. Para essa conversão foi utilizado o coeficiente empírico $1,48 \text{ mgDQO.mgSSV}^{-1}$ (Souza, 2010).

O coeficiente estequiométrico $2 \text{ gDQO.gS}_{\text{SO}_4}^{-1}$ utilizado por Souza (2010) para conversão do consumo de sulfato em DQO necessária para essa redução bioquímica também foi considerado. Quanto ao metano dissolvido no líquido, foram considerados os coeficientes estequiométricos para conversão em DQO: de $4 \text{ mg DQO.mg CH}_4^{-1}$ e para o metano no biogás $64 / 26,87 \text{ gDQO.LCH}_4^{-1}$ (25°C, 0,91 atm).

O cálculo da porcentagem de CH_4 presente no biogás foi realizada por cromatografia gasosa (GC 14B Shimadzu) e utilizada a média entre as duas medições. O CH_4 dissolvido no efluente do reator UASB foi calculado de acordo com a equação 4 (PROBIO, 2015).

A concentração de metano dissolvido no efluente é dada por:

$$pL = \frac{C_{\text{CH}_4}}{100} \cdot Kh \cdot Fs \quad (4)$$

Em que:

C_{CH_4} = Concentração de metano no biogás (% v/v);

pL = Concentração de metano dissolvido no efluente (mg.L^{-1});

Kh = Constante de Henry ($\text{mg.L}^{-1}.\text{atm}^{-1}$);

De acordo com o Cenário típico proposto pelo modelo citado, adotou-se o valor de 21,5 para a constante de Henry (Kh), valor indicado para a temperatura de 25°C (PERRY e CHILTON, 1973, apud PROBIO 2015. Por fim, aplicou-se o software STAN na versão 2.6 para o cálculo do balanço de massa de DQO no UASB.

Tabela 6: Equações do balanço de massa de DQO.

Parcelas	Equações
DQO afluente total	$DQO_{CoD} = Q_E \cdot DQO_E + Q_B \cdot DQO_B$
DQO Convertida	$DQO_{CoD} = (Q_E \cdot DQO_E) + (Q_B \cdot DQO_B) - (Q_E \cdot DQO_{efl,sol})$
DQO efluente solúvel	$DQO_{CoD} = Q_E \cdot DQO_{efl,sol}$
DQO de lodo no efluente	$DQO = Q_E \cdot (DQO_{efl,tot} - DQO_{efl,sol})$
DQO da sulfato redução	$DQO_{CoD} = [(Q_E \cdot S_{SO_4^2- E}) + (Q_B \cdot S_{SO_4^2- B}) - (Q_E \cdot S_{SO_4^2- efl})] \cdot 2$
DQO de metano dissolvido	$DQO_{CoD} = Q_E \cdot CH4_{diss} \cdot 4$
DQO de lodo retido no reator	$DQO_{CoD} = \left[\frac{SV_{t2} - SV_{t1} + SV_{D,t1,t2}}{t2 - t1} \right] \cdot 1,48$
DQO de metano no biogás	$DQO_{CoD} = Q_{biog} \cdot CH_4 \cdot \left(\frac{64}{26,87} \right)$

Notas: DQOCOD: carga total de DQO afluente na codigestão (Cod) (gDQO.d-1); Qe: vazão de esgoto bruto (L.d-1); DQOe: DQO total do esgoto bruto (g.L-1); QB: rendimento de biomassa de microalgas (L.d-1); DQOb: DQO total de biomassa de microalgas(g.L-1); DQOefl, sol: DQO solúvel do efluente (g.L-1); DQOefl, tot: DQO total do efluente (g.L-1); S_SO42-e: concentração do sulfato no esgoto bruto (g.L-1); S_SO42-efl: concentração de sulfato no efluente (g.L-1); S_SO42-B: concentração de sulfato na biomassa de microalgas (g.L-1); CH4_diss: DQO de metano dissolvido no efluente(g.L-1); SVt1: massa de sólidos voláteis no tempo t1 (gSV); SVt2: massa de sólidos voláteis no tempo t2 (gSV); SVD, t1, t2: massa de sólidos voláteis descarregada entre t1 e t2 (gSV), Qbiog: vazão de biogás (L.d-1); CH4: porcentagem de metano no biogás (%); Relação estequiométrica: 2gDQO / gSO42-; 4gDQO / gCH4; 64 / 26,87 gDQO.LCH4-1 (25°C, 0,91 atm); Coeficiente empírico: 1,48 gDQO.gSSV-1.

Fonte: SOUZA(2010) Adaptado

4.8 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ENERGÉTICO DO PROCESSO DE CODIGESTÃO ANAERÓBIA

Com base nos resultados do medidor de biogás e da porcentagem de metano encontrada na análise de cromatografia gasosa foi calculado o potencial energético do metano.

4.8.1. Cálculo do Potencial Energético do Biogás

O cálculo do potencial energético disponível considerou a conversão do biogás em energia elétrica através de um conjunto moto-gerador. Para o cálculo da produção normalizada de metano, foi utilizada a porcentagem de metano obtida pela a caracterização do biogás através da cromatografia gasosa (GC 14B Shimadzu).

O cálculo do potencial energético disponível foi feito utilizando a Equação 3 do modelo de Lobato, Chernicharo e Souza (2012):

$$PE_{CH_4}^{Real} = Q_{CH_4}^{N-Real} \times E_{CH_4} \quad (3)$$

$PE_{CH_4}^{Real}$ = potencial energético disponível (MJ.dia⁻¹)

$Q_{CH_4}^{N-Real}$ = produção real normalizada de metano (Nm³.dia⁻¹)

E_{CH_4} = Energia calorífica decorrente da combustão do metano (35,9 MJ/Nm³)

4.9 ESTUDO DO EFEITO DA BIOMASSA COAGULADA COM TANFLOC HIDROLISADA PELA VIA ALCALINA NA PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Com a finalidade de avaliar o efeito da hidrólise alcalina e do floculante Tanfloc na produção de metano, foram realizados quatro ensaios experimentais do potencial metanogênico da biomassa de microalgas. Nos ensaios experimentais I e II foram utilizadas como substrato biomassas de microalgas sem coagulante e coagulada com Tanfloc. Nos experimentos III e IV, foram utilizadas como substrato além das biomassas mencionadas, as biomassas obtidas após hidrólise alcalina.

4.9.1 Avaliação do Potencial Metanogênico da Biomassa (BMP).

Para a avaliação do potencial metanogênico da biomassa (BMP, do inglês *Biomethane Production*) foi utilizado o equipamento analítico AMPTS II, da Bioprocess Control™, desenvolvido para medições online de produção de metano e biogás a partir da digestão anaeróbia de qualquer substrato biologicamente degradável em escala de laboratório. O preparo do equipamento com as amostras e sua operação foi realizado segundo o manual de controle e operação do equipamento. (*Bioprocess Control*, 2016). A Tabela 10 abaixo descreve os experimentos.

Tabela 7: Experimentos realizado no AMPTS II.

	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Experimento 4
Inóculo				
Leito	X		x	
Manta		x		x
Substrato				
Biomassa	x	x		
Biomassa + Tanfloc	x	x		
Biomassa hidrolisada			x	x
Biomassa +Tanfloc hidrolisada			x	x

Fonte: Autoria própria.

As amostras utilizadas nesse estudo foram coletadas por amostragem simples e os substratos mantidos sobre refrigeração até o momento do experimento. As análises foram realizadas no laboratório de saneamento da UFES (LABSAN) e seguiram as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). A Tabela 11 lista os volumes do inóculo, substratos, controle positivo, controle negativo, utilizados nos experimentos I ao IV.

Tabela 8: Volumes inseridos nos frascos de 400mL do AMPTS II.

mL					
Experimento	Inóculo	Substratos		Controle Positivo	Controle negativo
	Leito/Manta	biomassa	biomassa+Tanfloc	Acetato	Água destilada
I	50	292			58
	50		145		205
	50			37	313
	50				350
II	155	96			149
	155		122		245
	155			37	245
	155				245
III	193	108			99
	193		55		152
	193			37	170
	193				350
IV	32	225			143
	32		155		213
	32			37	331
	32				350

Fonte: Autoria própria.

Inóculo

O inóculo utilizado para os experimentos I e III foi coletado do leito do UASB, e para o experimento II e IV da manta do mesmo reator. Os inóculos coletados continham biomassa coagulada com Tanfloc.

Para os experimentos 1 e 2 os inóculos foram estocados durante cinco dias a temperatura ambiente, com intuito de liberar o biogás excedente. Para o experimento 3 o inóculo foi estocado durante 3 semanas e para o 4, o leito ficou um mês estocado. O maior tempo de estocagem foi necessário pois havia sido iniciado o processo de hidrólise na estação, podendo comprometer as características do inóculo e não ser possível a comparação com os experimentos 1 e 2.

Substratos

A biomassa algácea foi coletada das lagoas de alta taxa, e concentrada utilizando-se recipientes no qual a biomassa decantava durante dois dias. A biomassa decantada era concentrada, a fim de atingir a DQO mínima necessária ao experimento. A biomassa com Tanfloc foi coletada após o sistema de separação, no decantador.

4.9.2 Avaliação da hidrólise dos substratos nos experimentos III e IV

A hidrólise da biomassa e biomassa com Tanfloc ocorreu conforme metodologia proposta por Lamberti (2017), à temperatura ambiente, dosando-se uma solução de NaOH 1M para elevar a pH 12 durante uma hora. Ao final as amostras eram neutralizadas a pH 7,0 com HCl 1M e refrigeradas até o momento da análise. O equipamento utilizado foi um Jar Test (Figura 26) (Ethiktechnology, Mod. 218-3LDB).

Figura 26: Equipamento Jar Test utilizado para hidrólise dos substratos.



Fonte: Autoria própria.

Utilizou-se os parâmetros SV e DQO filtrada para avaliar a solubilização dos compostos orgânicos, além das análises de carboidrato filtrado e proteína filtrada antes e após a hidrólise (Tabela 12).

Tabela 9: Parâmetros analisados na eficiência dos processos hidrolíticos dos substratos.

Análise	Experimento	Princípio do método	Referência
SV	1,2,3,4	Gravimetria	APHA, 2012
DQO	1,2,3,4	Colorimetria	APHA, 2012
Carboidratos	1,2,3,4	Colorimetria	DUBOIS <i>et al.</i> , 1956
Proteínas	1,2,3,4	Fator de conversão a partir de NTK	LOURENÇO, 2006

Fonte: Autoria própria.

4.9.1 Configuração experimental

Para cada experimento foram realizados:

1. Controle positivo (inóculo e acetato);
2. Controle negativo (inóculo e água destilada);
3. Inóculo e biomassa (experimento 1 e 2) ou biomassa hidrolisada (experimento 3 e 4);
4. Inóculo e biomassa com Tanfloc (experimento 1 e 2) ou biomassa com Tanfloc hidrolisada (experimento 3 e 4);

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e não foi adicionado nenhum meio mineral, considerando-se que a falta de micronutrientes e oligoelementos é compensada pelo inóculo (CABBAI, 2013).

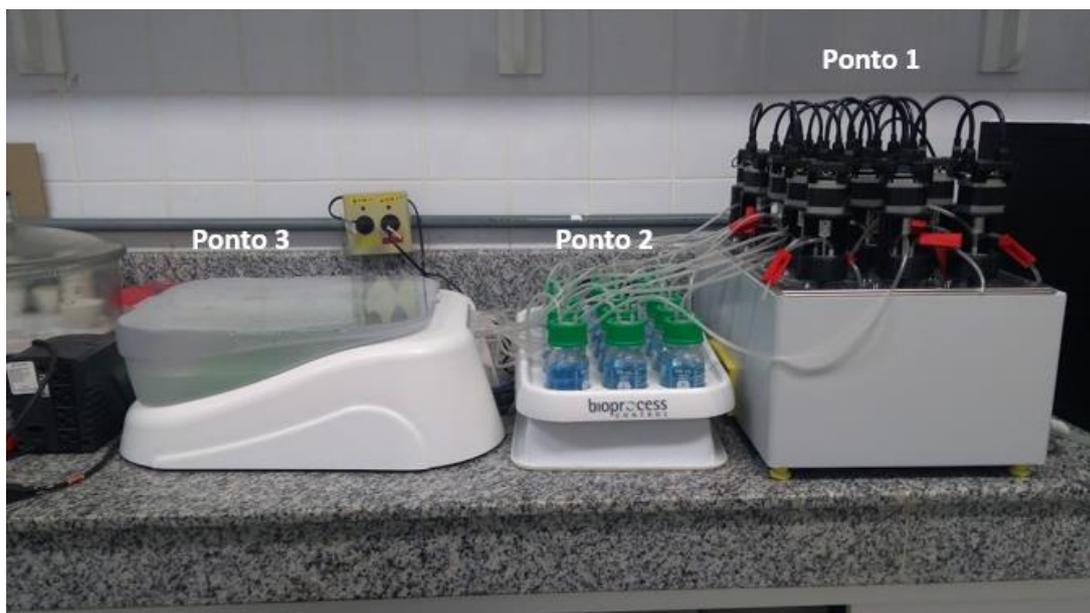
Montagem do experimento

O AMPTS II (Figura 27) foi configurado e operado segundo o Manual de Operação e Manutenção do Controle de Bioprocessos (Bioprocess Control, 2016). Após quantificar SSV do inóculo e DQO dos substratos, os frascos na unidade de incubação (Ponto 1) foram preenchidos com as quantidades definidas de volume de inóculo, de substrato e, se necessário, de água destilada para preencher os 400ml. Os frascos foram colocados em banho-maria, na mesma ordem utilizada para a colocação da unidade de fixação de CO₂ (Ponto 2).

A unidade de incubação foi preenchida com água, permitido atingir a temperatura de operação antes de se inserir os reatores e mantido a 35 ° C. Posteriormente, os frascos de adsorção de CO₂ foram preenchidos com NaOH 3M, com intuito de somente o metano ser analisado, e o dispositivo de medição de volume de gás foi preenchido com água destilada (Ponto 3).

Ao final, procedeu-se à purga de oxigênio de todos os quinze frascos no banho maria com gás nitrogênio. A válvula do tanque de nitrogênio foi aberta com um baixo fluxo de gás por 30 s. Cada uma das células de fluxo no dispositivo de medição de volume de gás foi aberta manualmente, para liberar o gás restante na unidade.

Figura 27: Equipamento AMPTS II em funcionamento.



Fonte: Autoria própria.

Grampos foram usados para impedir o fluxo de gás dentro e fora da unidade de incubação. As unidades de fixação de CO_2 foram lavadas e preenchidas até a marca de 80 ml com o meio indicador de NaOH, conforme o necessário. Essas unidades foram monitoradas diariamente para se observar mudanças da cor de azul para incolor. A mudança de cor indicou saturação do meio de CO_2 .

Uma vez o equipamento pronto, o software AMPTS® fornecido pela Bioprocess Control™ foi iniciado e o painel de controle foi aberto. Os dispositivos utilizados no experimento foram monitorados diariamente. Os níveis de água do dispositivo de medição de gás e na unidade de incubação foram mantidos nos padrões do fabricante, ao longo dos experimentos.

Os dados brutos de produção de biometano por dia para cada matéria-prima foram registrados em triplicata, conforme sugerido pelo manual. A partir dos relatórios gerados pelo software Bioprocess Control™, foi calculada a produção média de biometano em mLCH_4/gSV , a qual era diminuída pelo controle negativo (inóculo mais água destilada), obtendo-se assim os valores de geração de biometano em cada teste.

4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise dos dados foram utilizados os software Excel versão 2013 e Statística versão 7.0. Para cálculos do balanço de massa de DQO, além de Excel versão 2013, foi utilizado o software STAN 2.6, um freeware que ajuda a realizar a análise de fluxo de material de acordo com a norma austríaca ÖNorm S 2096 (Análise de fluxo de material - Aplicação em gerenciamento de resíduos). Utilizou-se o Action Stat para realizar o teste deTukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DO ESGOTO SANITÁRIO

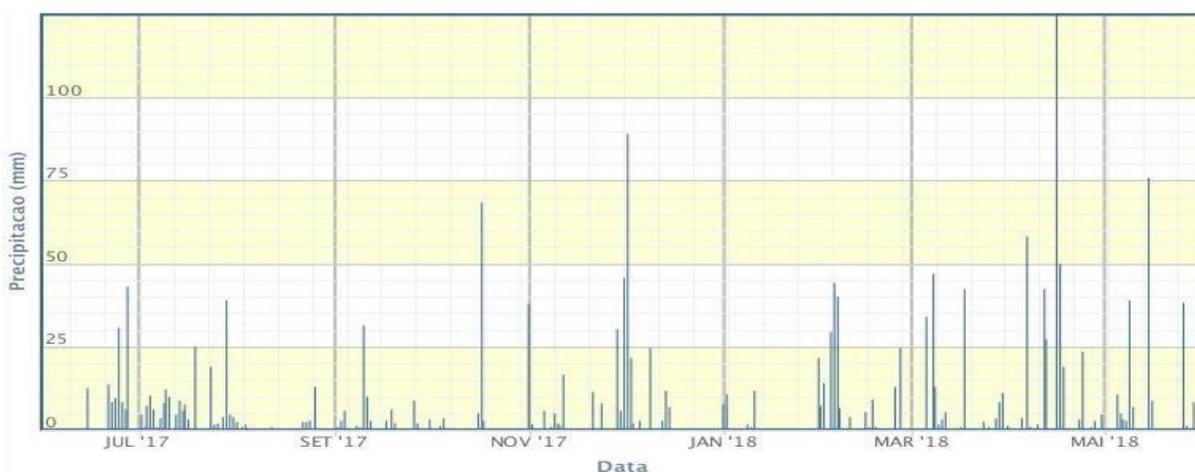
A variação temporal da maioria dos constituintes do esgoto bruto ao longo do tempo de monitoramento foi significativa (Tabela 13). Atribui-se este fato à ocorrência de chuvas no período e à rede coletora mista existente na bacia de esgotamento (Figura 28).

Tabela 10: Características físico-químicas do esgoto sanitário afluyente ao reator UASB.

Variáveis	(n)	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	CV(%)
DQO total(mg.L ⁻¹)	72	338	140	326	135	1107	41,3
DQO filtrada(mg.L ⁻¹)	72	156	80	150	11	569	51,6
ST (mg.L ⁻¹)	60	996	582	827	208	3892	58
SV (mg.L ⁻¹)	69	243	132	214	58	864	54
SST (mg.L ⁻¹)	67	115	43	102	27	237	37
SSV (mg.L ⁻¹)	87	87	37	83	16	170	42
NTK (mg.L ⁻¹)	36	53,1	22,0	50,0	19,6	125,0	41,0
N-NH ³	24	38,1	13	40,3	10,7	76,2	33,6
P Total (mg.L ⁻¹)	34	4,3	0,9	4,5	1,7	6,6	23,2
Sulfato (mgS.L ⁻¹)	76	38,7	25,6	29,5	12,1	128,4	25,6
Sulfeto (mgS.L ⁻¹)	26	9,9	4,34	9,6	2,8	20,0	44,0
pH	83	7.2	0,03	7,3	5,7	7,8	4,4
Turbidez (NTU)	83	102,4	17,9	102	52,3	177,0	17,5
Temperatura (°C)	83	25,0	2,0	24,9	20,7	29,6	9,3
DBO ₅ /DQO	19	0,63	0,15	0,62	0,38	0,94	0,24

Fonte: Autoria própria.

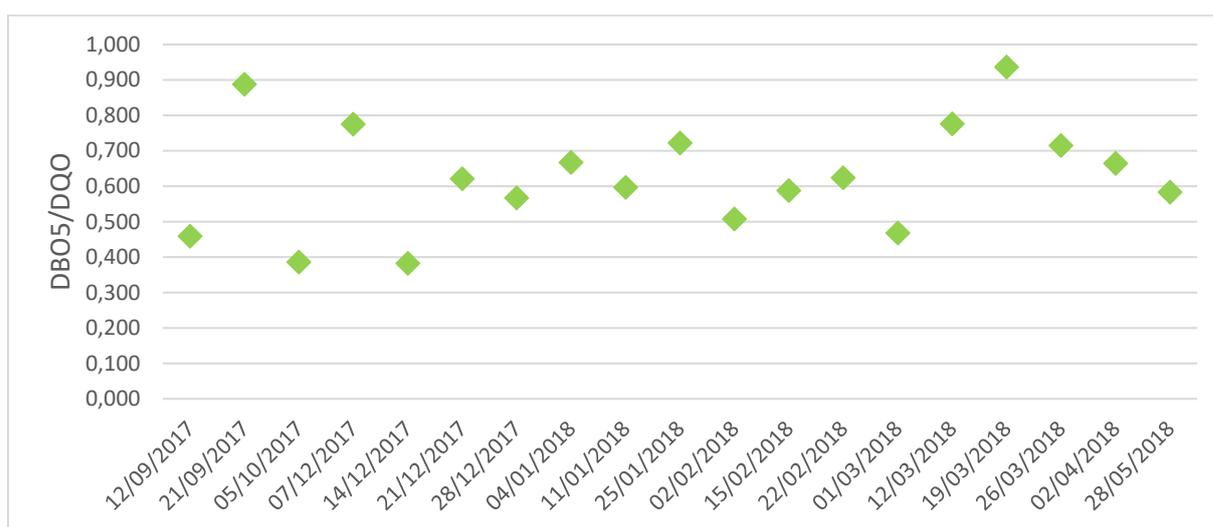
Figura 28: Precipitação (mm) mensal em Vitória de de junho de 2017 a junho de 2018.



Fonte: Dados da Rede do INMET, acesso em 20/01/2019.

A concentração média de DQO total foi 338 mg.L^{-1} , valor relativamente baixo para os padrões brasileiros (Jordão e Pessoa, 2011; Von Sperling e Chenicharo, 2005). A relação média DBO_5/DQO foi 0,63, indicando que o afluente pode ser tratado por processos biológicos (TCHOBANOGLIOUS; 2003) (Figura 29).

Figura 29: Relação DBO_5/DQO durante a codigestão.



Fonte: Autoria própria.

A concentração média de sólidos suspensos foi inferior valores típicos reportados por Von Sperling e Chenicharo (2005), o que caracteriza esgoto como diluído. Isto é corroborado pelas concentrações médias de NTK ($53,1 \text{ mg.L}^{-1}$) e de fósforo ($4,29 \text{ mg.L}^{-1}$), também abaixo das concentrações médias características de esgoto sanitário no Brasil.

A temperatura média foi de 25°C , permanecendo dentro da faixa ótima para digestão anaeróbia $25\text{-}35^\circ\text{C}$ (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2003; Jordão e Pessoa, 2011). O pH também permaneceu faixa ideal para digestão anaeróbia, com média de 7,3.

A relação DQO:N:P de 82:13:1 encontrou-se dentro da faixa não limitante da digestão anaeróbia 300:5:1 (Tchobanoglou, 2003), 50:4:1 (THAVEESRI et al., 1995) a 350:5:1 (Brunetti et al., 1983).

5.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS

As características da biomassa de microalgas são fortemente influenciadas pelas condições de funcionamento da lagoa de alta taxa, em especial das variações de temperatura, radiação solar e disponibilidade de nutrientes e matéria orgânica (SCHNURR; ALLEN, 2015). A variação desses fatores durante a pesquisa causou a elevada variação dos sólidos totais e sólidos voláteis no efluente das LAT. A Tabela 14 apresenta as características físico-químicas dessa biomassa coletada após coagulação – floculação sedimentação com Tanfloc.

Tabela 11: Características físico-químicas da biomassa.

Variáveis	(n)	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	CV (%)
DQO total (mg.L ⁻¹)	66	4333	1561	4520	1150	8200	36
Sulfato (mgS.L ⁻¹)	57	15,6	12	15,6	2,3	93	77,1
Sulfeto (mgS.L ⁻¹)	16	67,1	39,5	57,4	8,9	158	39,5
ST (mg.L ⁻¹)	68	2980	1259	3040	1000	5930	42,3
SV (mg.L ⁻¹)	68	2088	1200	2020	360	5900	57,5
NTK (mg.L ⁻¹)	47	332	126	280	30	1596	81,5
P Total (mg.L ⁻¹)	44	16,1	10	14,3	2,3	53,8	63
SV/ST	67	0,6	0,15	0,67	0,28	0,88	22,89
C/N	39	14,4	3	7,9	1,6	43	54,9
DQO/NTK	39	24,8	33	16,8	2,7	202,3	133,4
Produção de biomassa (L.d ⁻¹)	70	171	43,2	180	10	210	25,3

Fonte: Autoria própria.

A relação SV/ST média igual a 0,60 caracteriza uma biomassa com alto teor de matéria orgânica biodegradável. A relação C/N média foi 14,4, considerada como limitante à digestão anaeróbia por alguns autores. Quando essa relação é menor que 20, o desequilíbrio entre os requisitos de carbono e nitrogênio pode resultar em inibição do processo por excesso de amônia (WARD; LEWIS e GREEN; 2014). Valores próximos aos desta pesquisa foram obtidos por Assis (2017): SV/ST = 0,73 e C/N = 12.

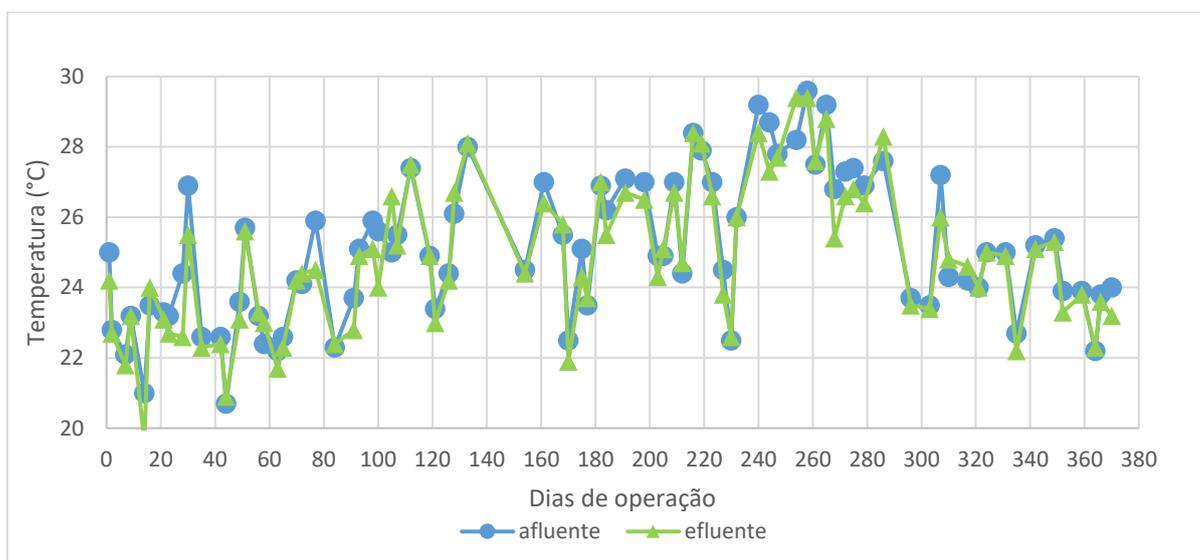
Estudando o comportamento de LATs tratando esgoto sanitário, Lopes (2017) encontrou valores médios de COT:NTK:Ptotal de 32:9:1 e C inorgânico:NTK:Ptotal de 56:9:1. Embora estes resultados possam representar limitações de carbono e nitrogênio para o crescimento algáceo, (SUTHERLAND et al., 2015) afirmam que a limitação decorrente da relação C:N:P depende das espécies algáceas envolvidas no

processo. Para eles, a razão típica para o funcionamento de LATs sob condições ideais é C:N:P igual a 106:16:1. Segundo Posadas et al. (2015), a biomassa composta por microalgas e bactérias apresenta relação C:N:P de 50:9:1.

5.3 DESEMPENHO DO TRATAMENTO ANAERÓBIO

O reator operou com temperatura afluente média de $25,05 \pm 2,04$ °C, mínima de 20,70°C e máxima de 29,60°C ao longo do tempo de monitoramento (Figura 30). Temperatura favorável a digestão anaeróbia.

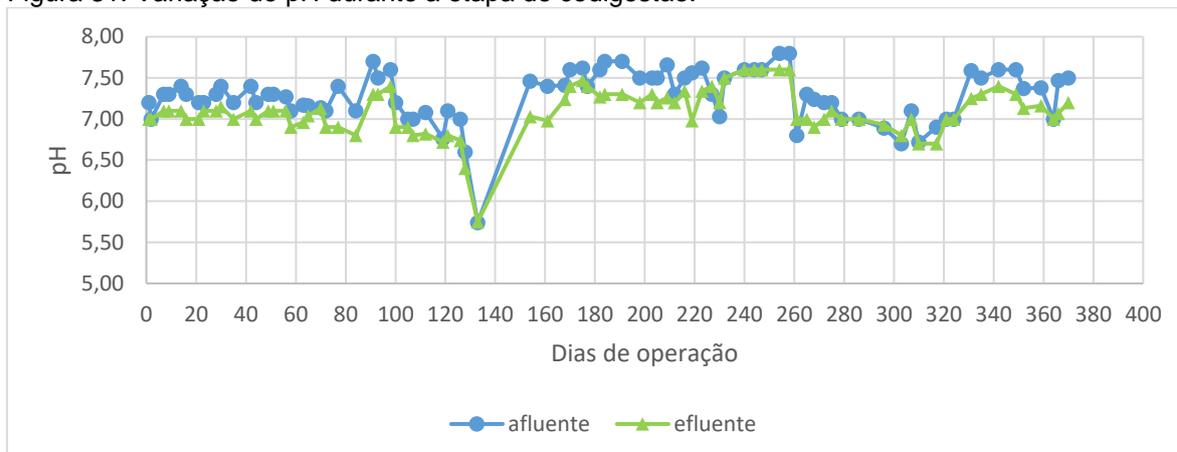
Figura 30: Variação da temperatura ao longo da codigestão.



Fonte: Autoria própria.

Os valores médios de pH do afluente e do efluente situaram-se próximos à neutralidade. Situados dentro da faixa ótima da atividade metabólica das arqueias, entre 6,6 a 7,4. Quando os valores ficam abaixo de 6,0 e acima de 8,3, pode ocorrer inibição por completo da formação de metano (CHERNICHARO, 2007).

Figura 31: Variação do pH durante a etapa de codigestão.



Fonte: Autoria própria.

É possível se afirmar que em momento algum da pesquisa houve acumulação de ácidos graxos voláteis de cadeia curta (AGV) retorno UASB (Figura 31). Com isso, o processo de codigestão seguramente não interferiu negativamente na estabilidade do processo acidificando-o

Uma comparação entre as condições operacionais impostas ao UASB nas etapas de digestão e codigestão por Assis (2017) e nesta pesquisa é apresentada na Tabela 15. Observando valores próximos da etapa de codigestão das duas pesquisas para todas as variáveis operacionais.

Tabela 12: Variáveis operacionais do reator UASB.

Variáveis operacionais	Assis (2017)		Essa pesquisa
	Etapa de digestão	Etapa de codigestão	Etapa de codigestão
Vazão (L/s) *	0,12 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,12 ± 0,03
TDH (h) *	8,8 ± 2,1	9,5 ± 1,6	9,0 ± 2,43
Velocidade ascensional (m.h-1)*	0,55 ± 0,1	0,50 ± 0,1	0,55 ± 0,1
COV (kgDQO.m-3.d-1) *	1,14 ± 0,3	0,98 ± 0,5	1,06 ± 0,6
CHV (m ³ .m-3.h-1) *	0,11 ± 0,03	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,02
Carga biológica(kgDQO.kgSV.d-1)*	0,11 ± 0,04	0,09 ± 0,03	0,10 ± 0,06

*valor médio

Fonte: Autoria própria.

A COV média aplicada ao reator UASB foi de 1,06 kgDQO.m⁻³.d⁻¹, valor semelhante ao praticado por Assis (2017). Em ambos os casos, a COV média apresentou relativamente baixo, mesmo com o aporte da biomassa de microalgas como substrato. A faixa recomendada para UASBs com lodo floculento, alimentados com esgotos com DQO de 1000 a 2000 mg.L⁻¹, é de 2 a 4 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ (TCHOBANOGLIOUS, 2003).

As CHVs médias aplicadas no UASB nas duas pesquisas também foram muito próximas. Segundo Campos (1999), a carga hidráulica volumétrica não deve ser superior de $0,21 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$.

Os valores médios de todos os parâmetros físico-químicos do afluente apresentados na Tabela 16 correspondem às médias ponderadas das características do esgoto sanitário e da biomassa de microalgas. Fogem a esta regra o pH, a turbidez e a temperatura, cujos valores correspondem somente ao esgoto sanitário.

Tabela 13: Desempenho característico do UASB durante a codigestão.

Variáveis	Afluente*	Efluente	% de remoção
DQO total ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$402 \pm 144,12$	$144 \pm 58,12$	$63 \pm 9,88$
DQO filtrada ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$154 \pm 76,80$	$82 \pm 48,57$	$45 \pm 19,89$
ST ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$933 \pm 371,72$	$641 \pm 213,54$	$27 \pm 17,16$
SV ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$293 \pm 234,20$	$116 \pm 51,19$	$52 \pm 19,17$
SST ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$117 \pm 42,52$	$43 \pm 22,39$	$59 \pm 19,15$
SSV ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$88 \pm 37,31$	$28 \pm 19,77$	$65 \pm 22,59$
NTK ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$53 \pm 18,79$	$47,8 \pm 28,57$	$0,11 \pm 0,32$
P Total ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$4,2 \pm 0,71$	$4,2 \pm 0,93$	$-0,02 \pm 0,38$
Sulfato ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$25,5 \pm 6,02$	$13,7 \pm 5,55$	$0,46 \pm 0,22$
Sulfeto ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$10,5 \pm 0,45$	$17,6 \pm 0,56$	$-0,21 \pm 9,76$
pH**	$7,28 \pm 0,32$	$7,09 \pm 0,28$	
Turbidez (NTU)**	$101,2 \pm 18,11$	$53,8 \pm 11,77$	$45,4 \pm 13,35$
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)**	$25,05 \pm 2,04$	$24,8 \pm 2,08$	

**somente esgoto sanitário.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 14: Referencial teórico sobre a remoção de DQO.

Referência	Redução de DQO (%)	TDH
Florêncio, Kato, Morais (2001)	60-90	8,8 a 9,7
Syutsubo et al (2011)	64	9,7
Castro (2010)	66	8,4
Chernicharo, Cardoso (1999)	80	7,5
Assis (2017) Etapa de digestão	68	8,8
Assis (2017) etapa de codigestão	67	9,5
Hoyos (2016)	66	11,8
Takahashi et al (2011)	63	8
Essa pesquisa	63	9

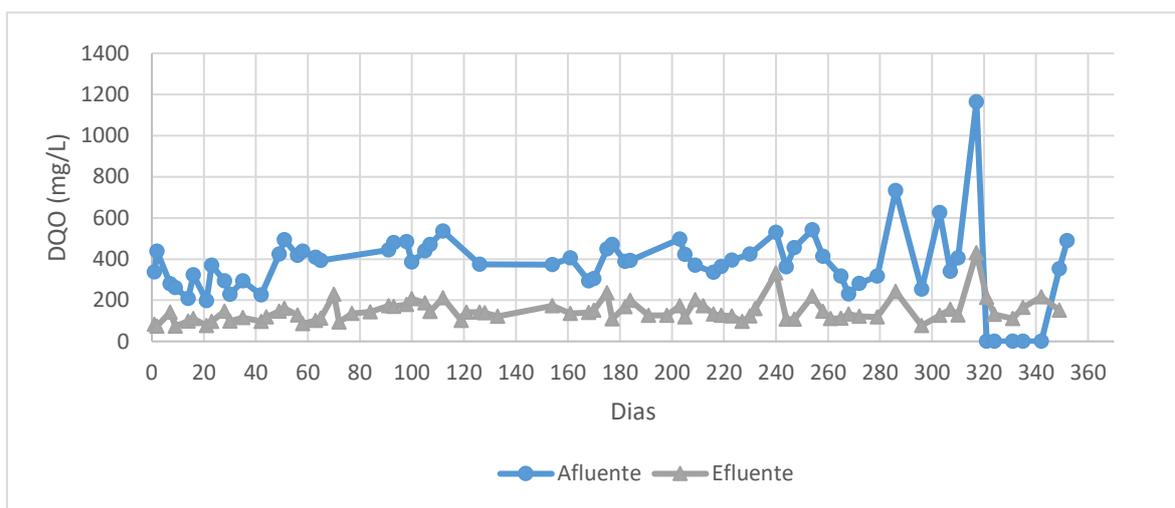
Fonte: Autoria própria.

As variações na composição química das microalgas podem afetar o processo de digestão anaeróbia (SIALVE; BERNET; BERNARD, 2009) e conseqüentemente a remoção de matéria orgânica no UASB. Apesar disso, observa-se que durante o período de um ano de codigestão a suplementação com biomassa de microalgas não afetou o desempenho do reator.

O efluente do UASB apresentou valor médio de DQO de $144 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, considerado comum nos efluentes de reatores anaeróbios (COUTO, 2016). Para uma carga

orgânica média afluente de $3,8 \text{ kgDQO.d}^{-1}$, média ponderada de esgoto sanitário e biomassa de microalgas, a remoção foi 63%. A eficiência média de remoção de DQO total foi de 63% (Tabela 16), valor este dentro da eficiência reportada por alguns autores (Tabela 17).

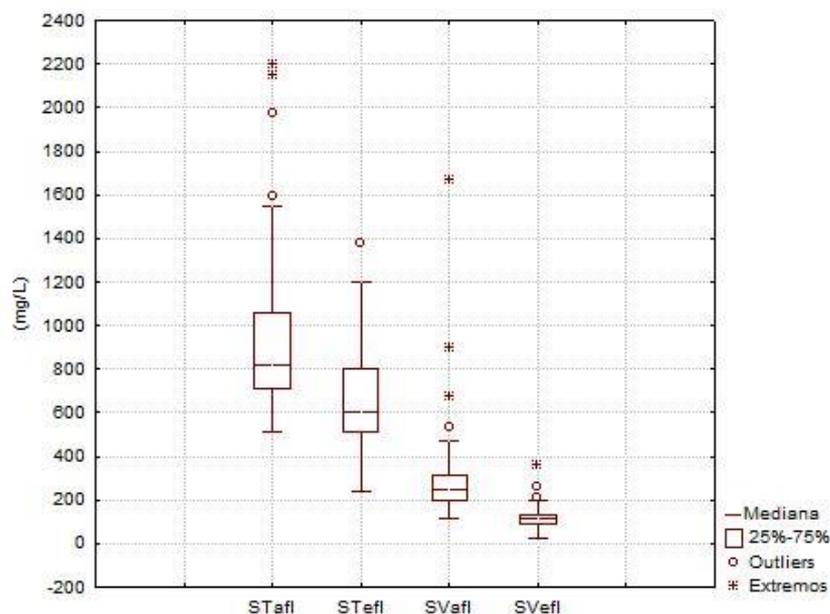
Figura 32: Eficiência de remoção da DQO durante etapa de codigestão.



Fonte: Autoria própria.

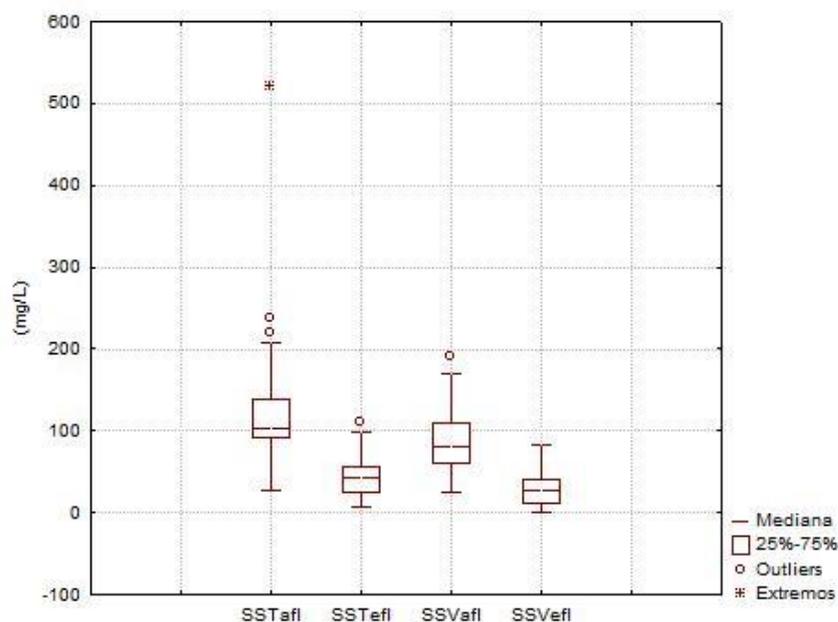
No caso dos sólidos, o UASB apresentou eficiência média de remoção de 27% de ST, 59% de SST e 65% de SSV. Esses valores de eficiência de remoção são similares às encontradas por diversos autores em condições semelhantes (FLORÊNCIO et al., 2001, SYUTSUBO et al., 2011, YASMEEN et al., 2014; KHAN et al., 2015, ASSIS, 2017). As Figuras 33 e 34 mostram a variação dos sólidos no afluente e efluente do UASB durante a codigestão.

Figura 33: Blox-pot de sólidos totais e sólidos voláteis



Fonte: Autoria própria.

Figura 34: Blox-pot de sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis.



Fonte: Autoria própria.

A média de remoção da turbidez foi de 45%. Os valores médios de turbidez encontrados no efluente foram de 54 NTU, valor compatível com o encontrado por Assis (2017). Que durante a digestão com esgoto sanitário a turbidez no efluente foi de 58 NTU e durante a codigestão 60 NTU. Esse aumento pode ter ocorrido devido à presença de microalgas no efluente do reator UASB.

Por outro lado, observa-se que o reator UASB praticamente não removeu nitrogênio e fósforo. Não obstante, um efluente anaeróbio rico em nutrientes é vantajoso como afluente às lagoas de alta taxa, que irão produzir microalgas e realizar a remoção complementar da matéria orgânica carbonácea.

A concentração média de NTK no efluente foi de $47,8 \pm 28,6$, valor similares aos obtidos por Santiago (2013). A concentração média de fósforo total no efluente foi de 4,2. A baixa eficiência de remoção encontrou-se dentro do esperado. Para a realidade do sistema piloto em estudo, um efluente anaeróbio rico em nutrientes é benéfico para produção de microalgas nas lagoas de alta taxa.

Para o crescimento ótimo da biomassa de microalgas com a composição típica de $C_{106}H_{181}O_{45}N_{16}P$, a relação N:P ideal é 16:1 (PARK; CRAGGS, 2011). Esse valor pode variar de 4: 1 para quase 40: 1, dependendo da espécie, das condições de cultivo e dos nutrientes disponíveis.

5.4 CARACTERÍSTICAS DO LODO ANAERÓBIO DE CODIGESTÃO

5.4.1 Idade do lodo e produção de sólidos

A Produção de lodo teve valor médio de $0,50 \text{ kg ST} \cdot \text{d}^{-1}$ e a DQO removida diariamente foi $3,81 \text{ KgDQO}_{\text{removida}} \cdot \text{d}^{-1}$, o que resultou em uma produção específica de lodo de $0,13 \text{ KgST/KgDQO}_{\text{removida}}$. A média de 86 dias (Tabela 18) desse trabalho está de acordo com a faixa encontrada na literatura.

Van Haandel e Lettinga (1994) encontraram idades de lodo variando de 20 a 50 dias um UASB submetido a TDHs de 4 a 6 horas, em região de clima tropical. Cavalcanti et al. (1999) encontraram idade do lodo de 40 dias para um TDH de 4h e de 100 dias para um TDH de 8h, experimento realizado em um UASB escala piloto.

Takahashi et al. (2011) encontraram a idade de lodo de 293 dias, com TDH de 8 horas e temperatura variando de $10,6$ a $27,7$ °C. Assis (2017) obteve um valor de idade de lodo de 108 dias na etapa de digestão e TDH médio de 8,8 h e 98 dias na etapa de codigestão de esgoto sanitário e biomassa de microalgas, para um TDH médio de 9,5h.

Tabela 15: Produção de lodo durante a etapa de codigestão.

Variáveis do lodo	Valores médios
Idade do lodo	86 dias
Produção de lodo	$0,50 \pm 1,19$ kg ST.d ⁻¹
Produção específica de lodo	$0,13$ KgST/KgDQO _{removida}

Fonte: Autoria própria.

Louzada (2018) observou que a codigestão de biomassa mixotrófica não-hidrolisada aumentou a frequência necessária do processo de descarte de lodo. Através dos dados do perfil de lodo, dados dos sólidos sedimentáveis e microscopia óptica, observou-se que as microalgas eram arrastadas para o efluente do UASB, levando a maiores frequências de descarte e diminuindo a idade de lodo.

5.4.2 Perfil de sólidos no lodo do reator

Observou-se um lodo com elevada concentração de matéria orgânica biodegradável nas alturas 0,16m a 2,29m (Figura 35). A concentração média de ST (Tabela 20) no leito do UASB situou-se na faixa típica de 4 a 10% e abaixo da faixa típica da manta de (1,5 a 3%) (Chernicharo, 2007).

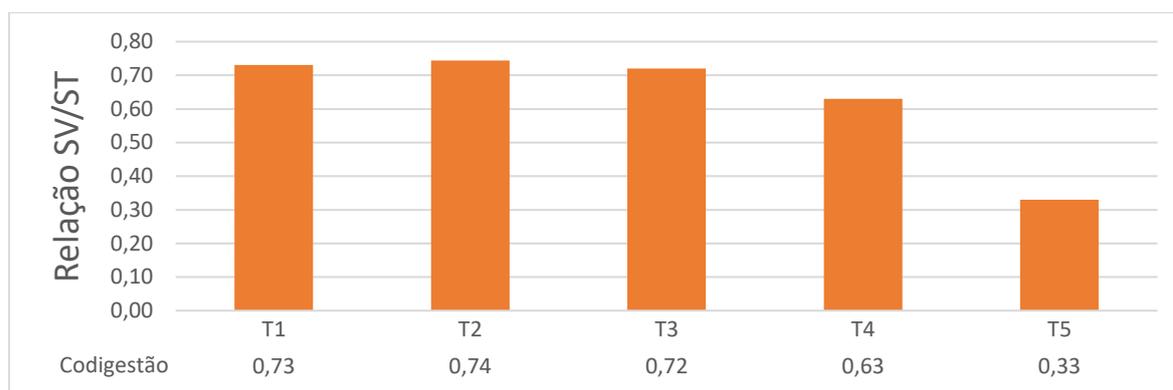
Tabela 20: Variação de SST ao longo da altura do UASB.

Variável	(N)	T1	T2	T3	T4	T5
h (m)		0,16	1,29	2,29	3,29	4,29
ST (g/l)		$41,75 \pm 7,32$	$12,86 \pm 4,20$	$9,26 \pm 3,53$	$6,16 \pm 3,68$	$1,05 \pm 0,67$
SV(g/l)	48	$30,51 \pm 3,40$	$9,57 \pm 3,40$	$6,76 \pm 2,86$	$4,19 \pm 2,79$	$0,42 \pm 0,51$
SF(g/l)		$11,24 \pm 2,67$	$3,29 \pm 1,16$	$2,50 \pm 0,86$	$1,77 \pm 0,95$	$0,62 \pm 0,25$
SV/ST		$0,73 \pm 0,03$	$0,74 \pm 0,04$	$0,72 \pm 0,07$	$0,63 \pm 0,15$	$0,33 \pm 0,17$

Fonte: Autoria própria.

Os resultados sugerem que, durante a codigestão, o UASB se adaptou ao aporte da biomassa de microalgas como substrato, ocorrendo um possível acúmulo nas camadas digestoras do processo. É importante ressaltar que esse resultado é contrário ao publicado por Assis (2017) e Louzada (2018), que observaram arraste de microalgas para o efluente do reator.

Figura 35: Relação SV/ST as tomadas de amostra do reator UASB.



Fonte: Autoria própria.

Como a velocidade ascensional (0,55m/h) se encontrou dentro da faixa de operação de UASBs com lodo floculento (0,50-0,70 m/h) (CAMPOS, 1999), o acúmulo da biomassa pode ser conseqüência de sua coagulação com Tanfloc, que leva a formação de flocos maiores e mais rígidos (CHU et al., 2003).

5.4.3 Relação C/N

A média da relação C/N da biomassa de microalgas foi de 14,4, com mínimo de 1,6 e máximo de 117,4, demonstrando a elevada variação dos valores. Essa média encontra-se abaixo dos valores reportados na literatura (Tabela 19).

Tabela 16: Valores ótimos para relação C/N.

Referencias	Relação C/N
Parkin, Owen (1986)	20-30
Yen e Brune (2007)	20-25
Ehimen et al (2009)	>30
Weiland (2010)	15-30

Fonte: Autoria própria.

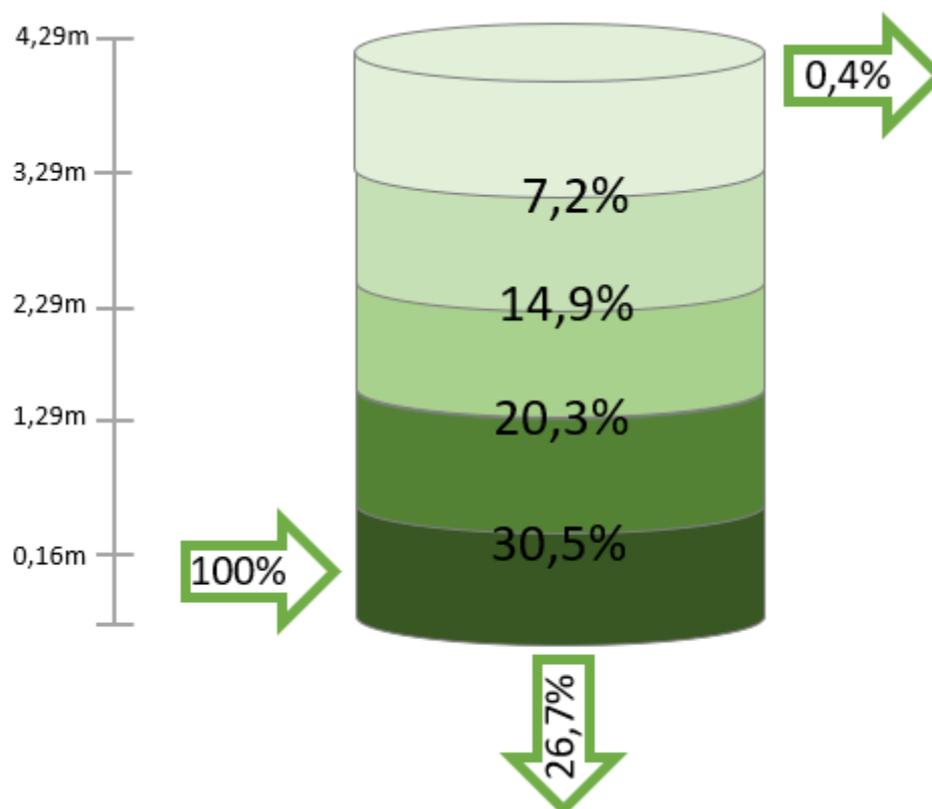
A média da relação C/N do lodo do leito foi 23, encontrando-se dentro da média reportada pela literatura 15 a 30 (tabela 18). A média desta relação na manta de lodo do UASB foi 14, portanto um pouco abaixo da faixa citada como ideal. Não obstante, não foram percebidos indícios de inibição da anaerobiose no processo.

5.4.4 Balanço populacional de células/mL

Ao longo do período em que foi realizada a contagem de células, não foram observadas células de microalgas no esgoto bruto. A concentração média de células na biomassa de microalgas foi de $1,68 \cdot 10^5$ células/mL (Figura 36).

Através do balanço populacional de células, notou-se que o reator praticamente não expeliu microalgas (0,4%), 30,5% das células se encontraram entre as alturas 0,16m e 1,29m e 20,3% entre as alturas 1,29m e 2,29m do UASB. Ademais, notou-se uma elevada relação SV/ST nas amostras de lodo coletadas nas alturas de 0,16m a 2,29m.

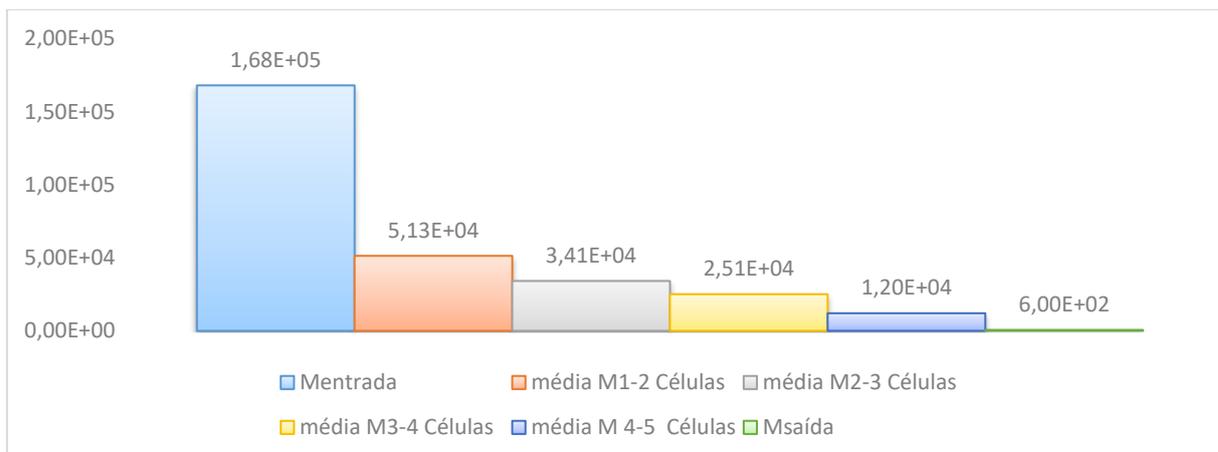
Figura 36: Balanço populacional de contagem de células/mL.



Fonte: Autoria própria.

Admitiu-se que o descarte de lodo e a possível lise da biomassa algácea são responsáveis por 26,7% do balanço. Em dois descartes de lodo (21/05/2018 e 18/06/2018) realizados pela altura 2,29m, foram retiradas $2,4 \cdot 10^4$ células/mL, ou seja, $1,2 \cdot 10^4$ células/mL por descarte (Figura 38), valor relativo à média de células entre as alturas 3,39m e 4,29m. Correspondendo a 14,3%, sendo assim 12,4% seriam responsáveis pela lise celular.

Figura 37: Média de todos os pontos do balanço populacional de contagem de células.



Fonte: Autoria própria.

Tartarovisk, Lebrun e Guiot (2015) verificaram comportamento diferente operando um reator UASB de 3,5L a 35°C. Os autores observaram que, independente da velocidade ascensional testada no reator, às células intactas que permaneciam no lodo correspondiam a menos de 10% do total de células. Esses resultados podem ser consequência de um menor volume do reator UASB, além dos autores terem inserido uma biomassa concentrada sem adição de coagulante.

Segundo Chu et al. (2003) o emprego de uma coagulante catiônico confere aos flocos do lodo biológico maior tamanho e maior resistência à deterioração estrutural durante a digestão anaeróbia. Tal fato pode ter levado a uma maior concentração de células de microalgas no lodo de leito e manta do UASB dessa pesquisa.

Hameed et al. (2018) que relataram uma maior resistência dos flocos formados com Tanfloc em comparação com os formados pela adição cloreto de alumínio. Segundo estes pesquisadores, o mecanismo de formação de pontes por parte do polímero produz flocos mais resistentes.

Hoyos (2016) explica que o Tanfloc pode proteger as células, bloqueando a liberação de substâncias intracelulares e, possivelmente, induzindo à secreção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Estas formariam membranas protetoras ao redor das células, o que também prejudicaria a degradação dessa biomassa.

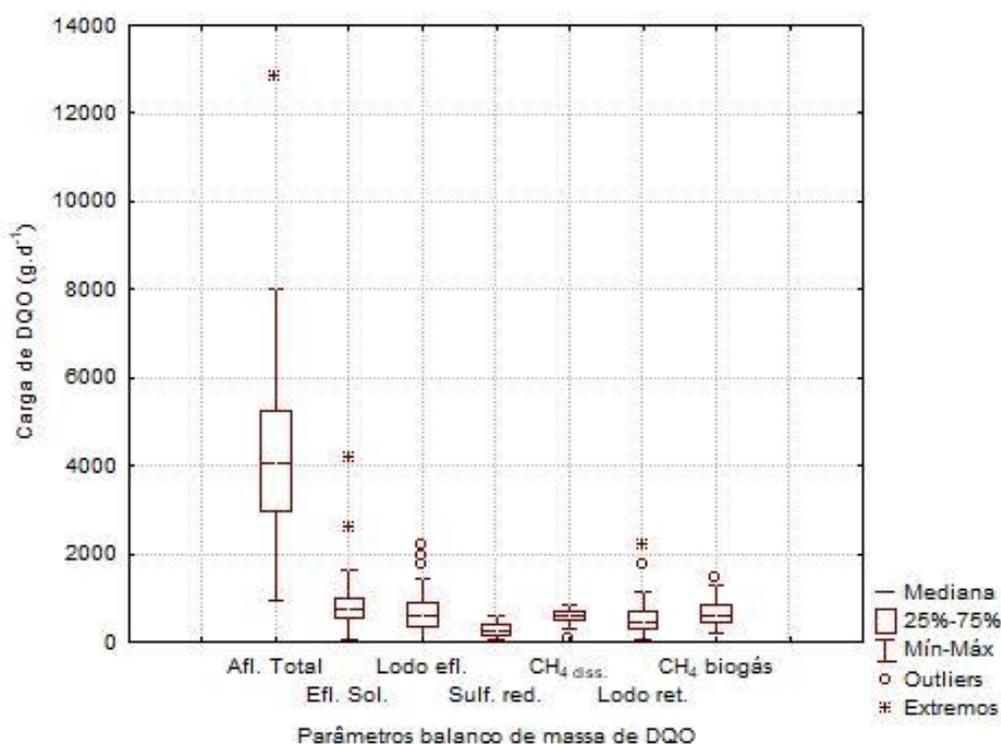
Portanto, os dados levam à hipótese de que a codigestão de biomassa algácea com Tanfloc pode acarretar a formação de flocos maiores e mais resistentes à degradação,

postergando a lise celular e concentrando a biomassa não digerida principalmente no leito de lodo do UASB, prejudicando o processo de digestão anaeróbia.

5.5 BALANÇO DE MASSA DE DQO

Os valores de desvio padrão indicam que ocorreu uma elevada variação de carga orgânica afluyente ao UASB, com carga orgânica média de 1628 gDQO.d⁻¹ e concentração da biomassa de microalgas introduzida no reator, 729 gDQO.d⁻¹ (Figura 38).

Figura 38: Balanço de massa de DQO.

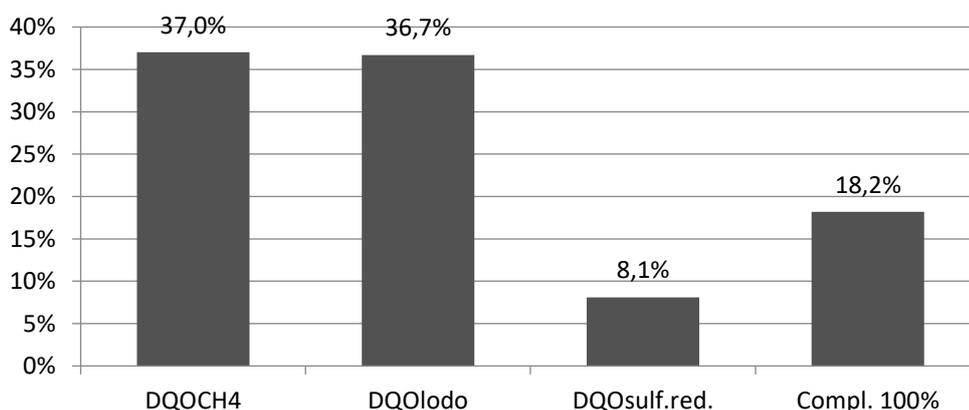


Fonte: Autoria própria.

Observa-se que a maior parcela da DQO afluyente foi convertida a metano, seguida por 36,7% para DQO convertida a lodo (Figura 39). Este é um valor elevado quando comparado ao obtido por Assis (2017) durante a etapa de digestão, em que 28,9% da DQO foi convertida a lodo. Seguramente, a codigestão de esgoto sanitário com a biomassa coagulada com o Tanfloc contribuiu para o aumento da DQO convertida em lodo no UASB.

Cumpra-se observar que tais valores corroboram o balanço populacional de células, que mostra claramente que a biomassa não é expelida pelo reator, ficando cerca de 50% entre as alturas 0,16m a 2,29m do reator.

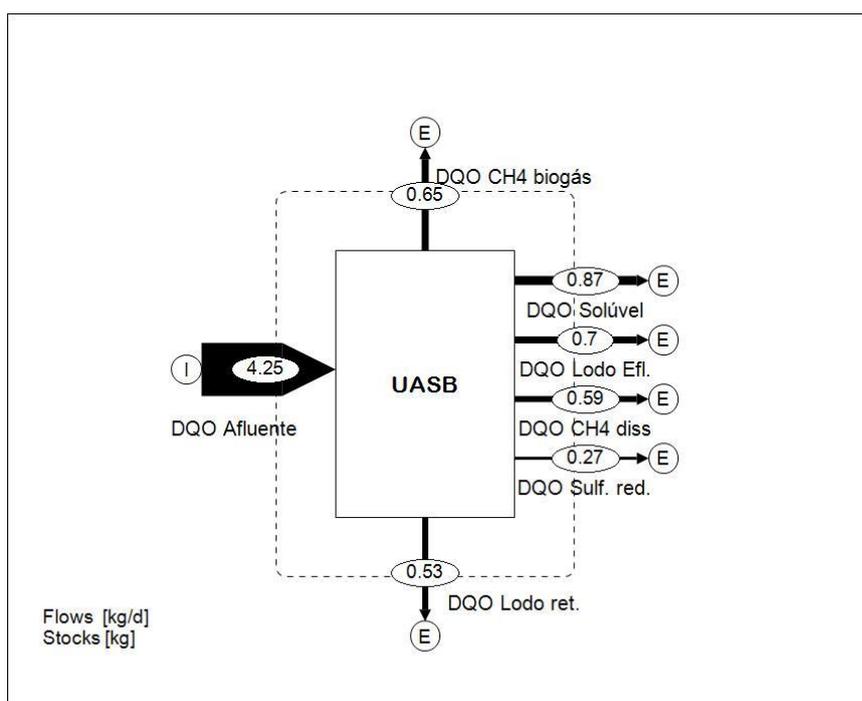
Figura 39: Parcelas do balanço de massa de DQO do reator UASB durante a codigestão.



Fonte: Autoria própria.

Observa-se que de $4,25 \text{ kg.d}^{-1}$ DQO afluente, $0,7 \text{ kg.d}^{-1}$ DQO vão para o lodo no efluente e $0,53 \text{ kg.d}^{-1}$ DQO ficam para o lodo retido no reator (Figura 40). Esse último valor é elevado quando comparado a Assis (2017), que obteve na etapa de digestão $0,31 \text{ kg.d}^{-1}$ DQO.

Figura 40: Balanço de massa de DQO do UASB durante a codigestão



Fonte: Autoria própria.

Portanto, mesmo que a codigestão não tenha prejudicado a eficiência do UASB, a biomassa de microalgas não foi digerida e ficou retida no lodo. Isto afeta negativamente sua capacidade de desaguabilidade, exigindo um tratamento antes de sua disposição.

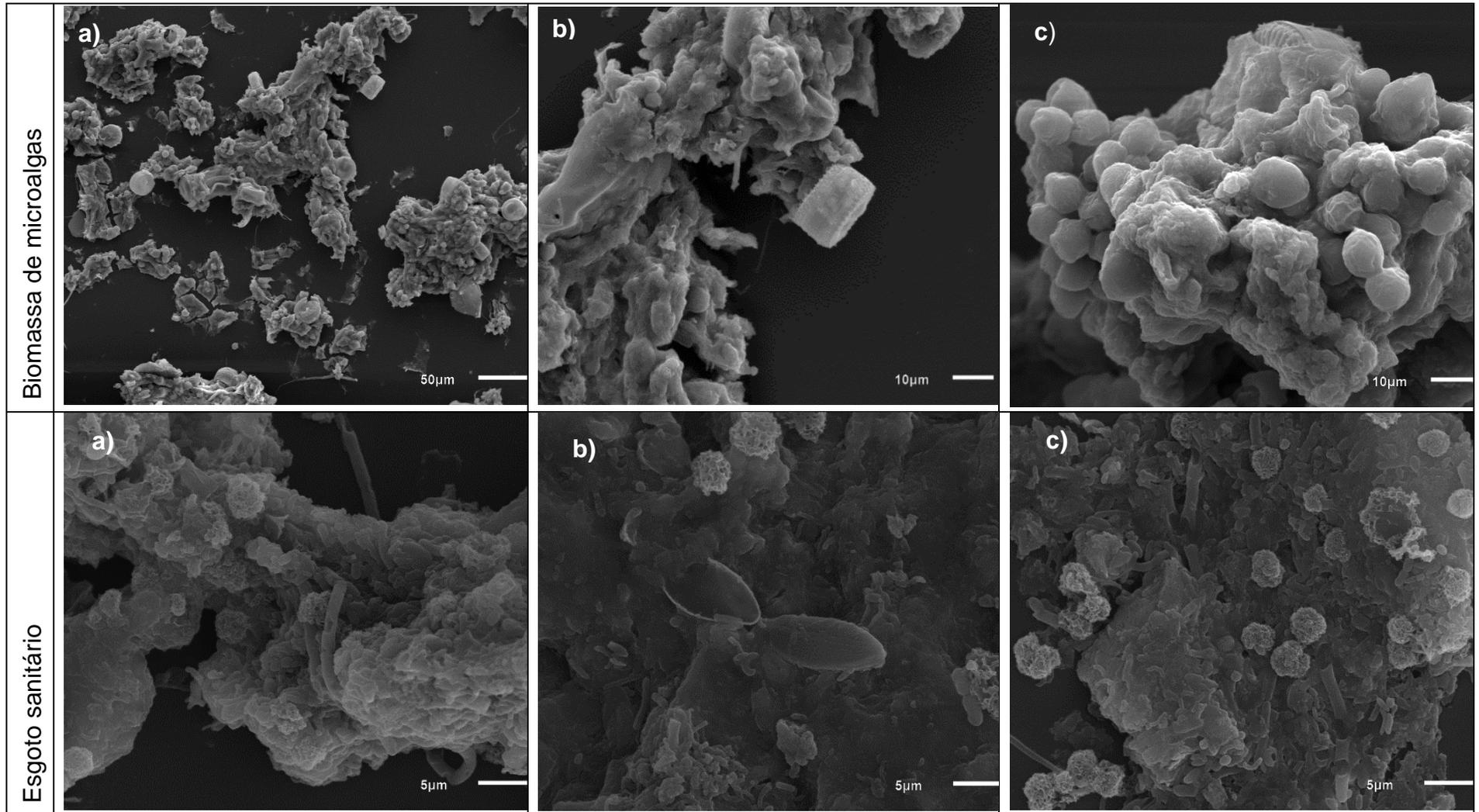
5.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

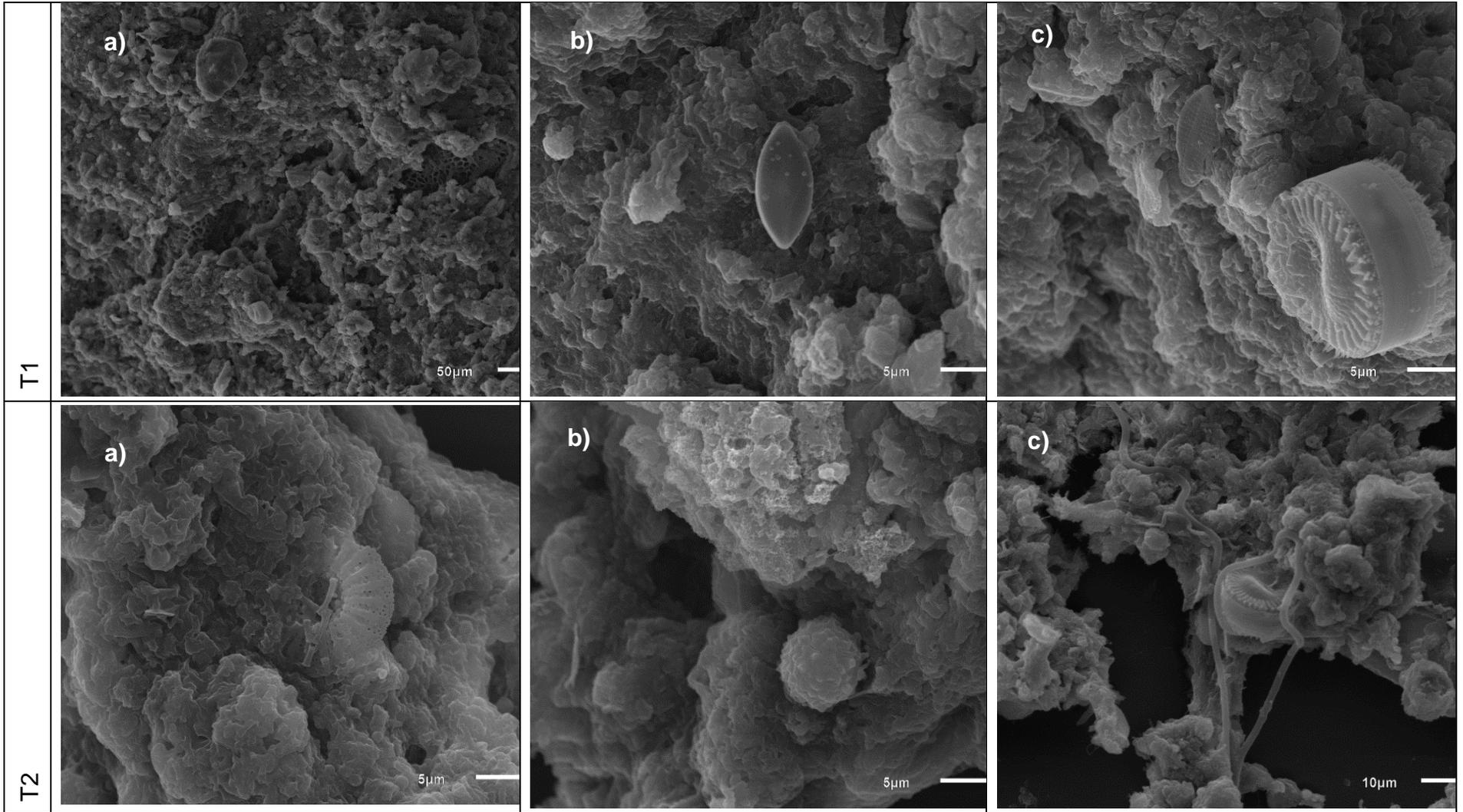
No início da etapa de codigestão foi observada a presença de microalgas no efluente do reator UASB, mas, com o passar do tempo, a maior parte das microalgas passaram a permanecer retidas na camada de digestão do reator. De acordo com o balanço populacional, somente 0,4% das células aportadas na alimentação do UASB saíram no seu efluente. Nas imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi possível se observar células intactas e indícios de lise de microalgas em todas as tomadas de amostra ao longo da altura do reator.

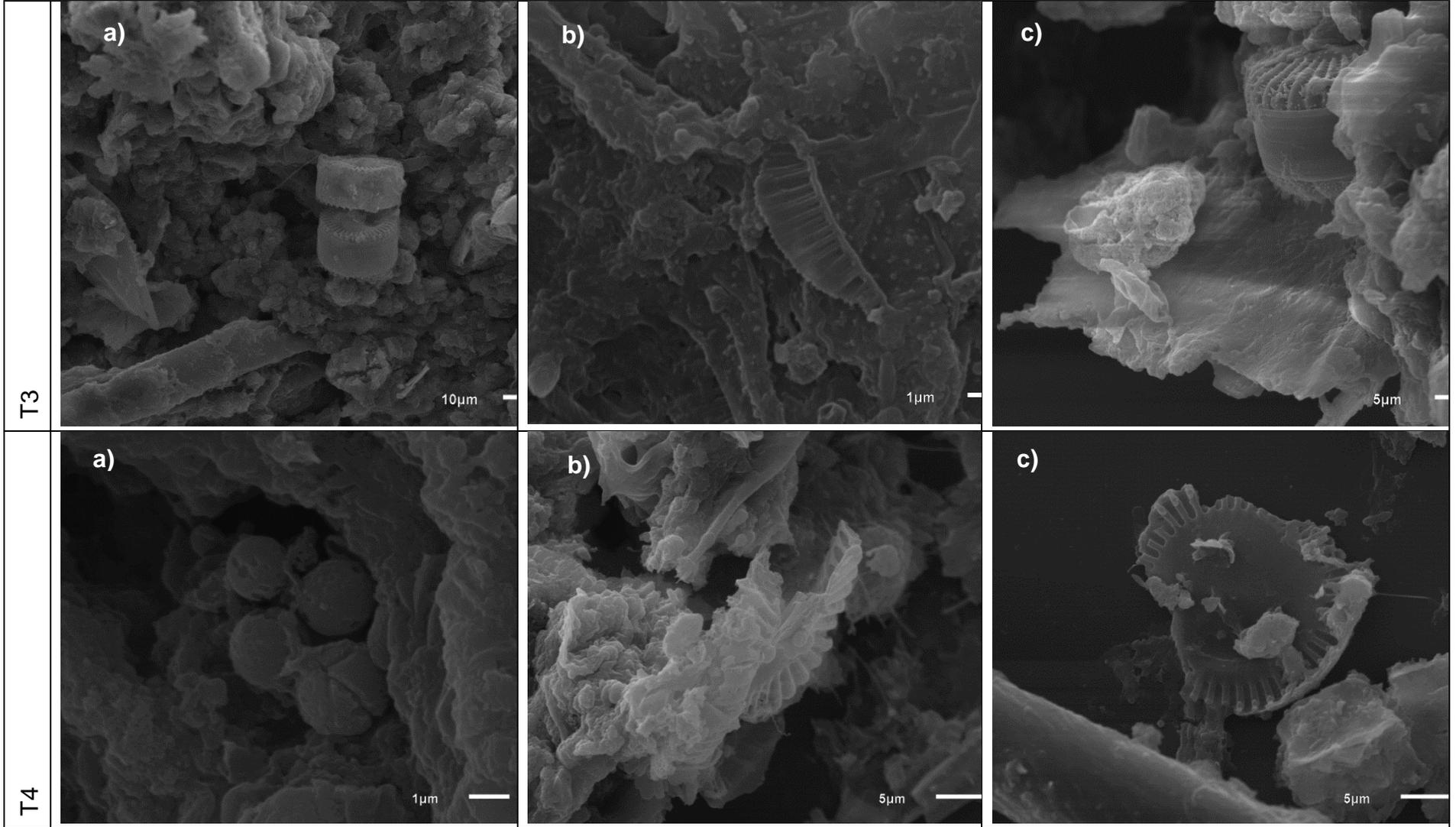
Dentre os táxons observados, detectou-se a presença de *Chlorella vulgaris* em grupos nas tomadas de amostra 1(0,16m) (b) e 4 (a), aparentando uma possível lise na torneira 5(4,29m) (a). Foi detectada a presença da *Nitzschia amphibia* no esgoto sanitário (b), na tomada de amostra 1(0,16m) (b) e o que aparenta ser parte de sua estrutura no efluente do reator UASB (c).

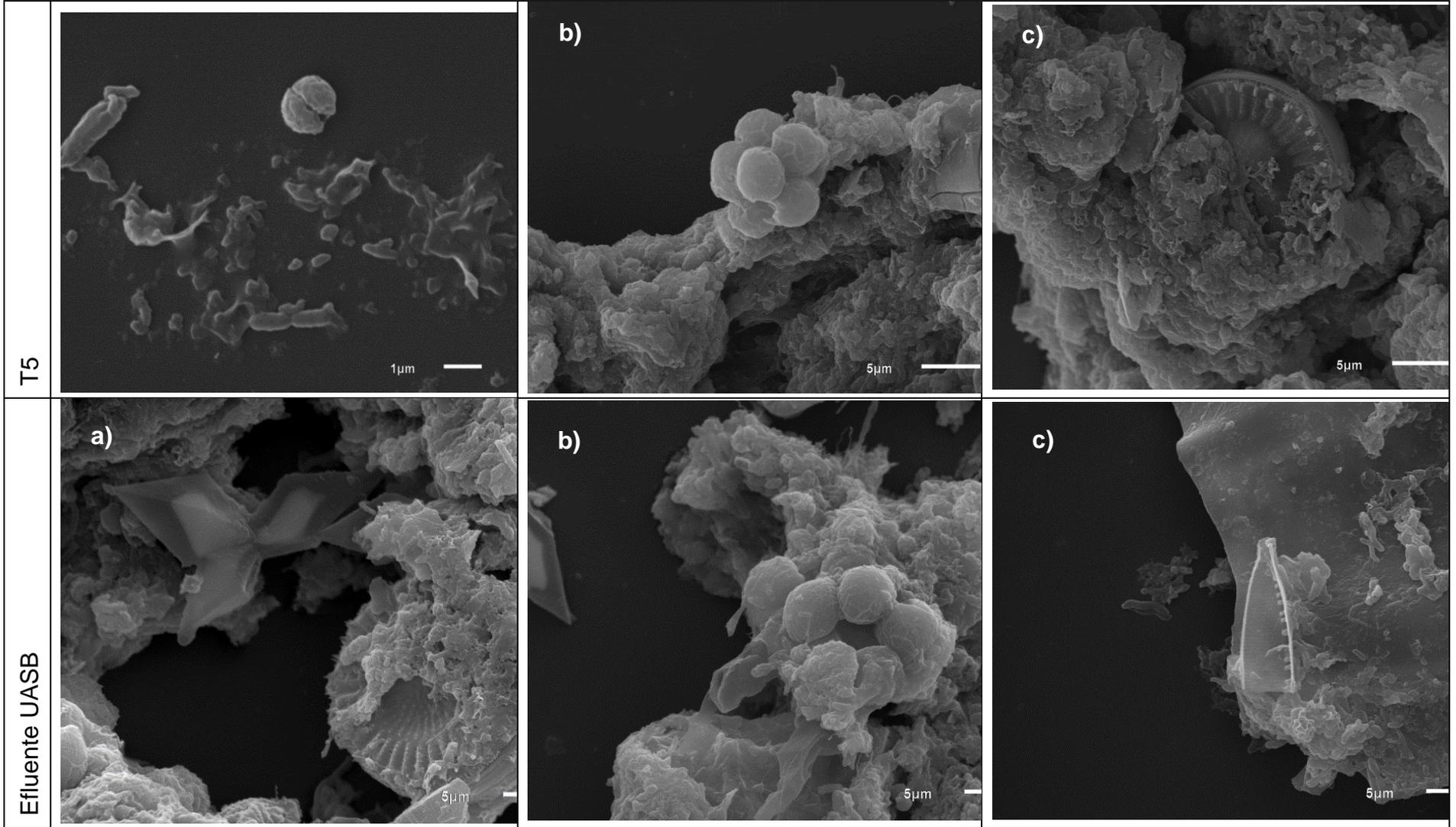
A presença de diatomáceas cêntricas do gênero *Cyclotella* (*Stephanodiscaceae*) foi observada em todas as tomadas de amostra (T1 c, T2c, T3 a e c, T4 b e c, T5 c) e no efluente do reator UASB.

Figura 41: : Imagens obtidas através de MEV do esgoto bruto, biomassa de microalgas, tomadas de amostra e efluente do UASB









Fonte: Autoria própria.

Pereira (2018) observou a presença de diversos gêneros de microalgas no efluente do UASB alimentado com biomassa algácea, dentre eles: Chlorophyta (*Chlorella*; *Desmodesmus*; *Tetradasmus*; *Scenedesmus*; *Chlamydomonas*; *Chlorococcum*; *Oocystis*); Bacillariophyta (*Gomphonema*); e, em menor quantidade, Euglenophyta (*Trachelomonas*).

A presença de microalgas inteiras em todas as camadas de digestão nessa pesquisa provavelmente tem relação direta com as características químicas da parede celular. Em sua maioria composta por matéria orgânica de baixa biodegradabilidade e ou biodisponibilidade, como a celulose (25 a 30%), hemicelulose (15 a 25%), glicoproteínas (5 a 10%) e 35% de pectina (WANG e EVANGELOU, 1995).

A celulose por exemplo, por ser um carboidrato estrutural com regiões amorfas que pode afetar a ação enzimática que resultará na sua desintegração da célula (WANG e EVANGELOU, 1995). Com isso, o acesso ao conteúdo intracelular é dificultado, tornando os pré-tratamentos hidrolíticos essenciais para solubilizar a biomassa e elevar a taxa de digestão anaeróbia (PASSOS *et al.*, 2014).

5.6 PRODUÇÃO DE BIOGÁS NO UASB DURANTE A CODIGESTÃO ANAERÓBIA

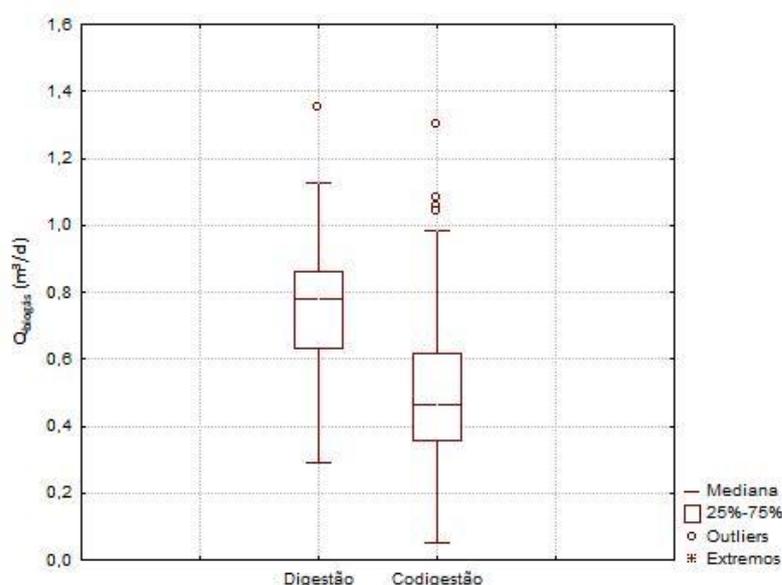
A produção de biogás média no processo de codigestão foi de $0,49\text{m}^3.\text{d}^{-1}$ (Tabela 20), mesmo valor obtido por Assis (2017) na operação do mesmo reator em regime de codigestão de esgoto sanitário e biomassa de microalgas. Ambos os valores de produção de biogás, entretanto, foram consideravelmente menores que o valor médio de $0,755\text{m}^3.\text{d}^{-1}$, obtido por Assis (2017) durante a etapa de digestão apenas de esgoto sanitário (Figura 42).

Tabela 17: Estatística descritiva da produção de biogás em $\text{m}^3.\text{d}^{-1}$.

Estatística descritiva	Produção de biogás ($\text{m}^3.\text{d}^{-1}$)
Média	0,49
DP	0,21
CV	0,39
Mediana	0,46
Mínimo	0,13
Máximo	1,30
n	247

Fonte: Autoria própria.

Figura 42: Produção de biogás etapa de digestão (Assis, 2017) e codigestão dessa pesquisa.



Fonte: Autoria própria.

É de conhecimento geral que uma variedade de substratos aplicados a um mesmo digester anaeróbio eleva a produção de biogás, devido a sinergias positivas no meio e pela suplementação de nutrientes pelos substratos. A codigestão garante que haja uma condição ótima de entrada no afluente, elevando a produtividade do biogás (AJEEJ et al., 2015).

Entretanto, Caporgno et al. (2015) também observaram que não houve aumento na produção de biogás durante a codigestão de microalgas, relacionando às características da parede celular de algumas espécies de microalgas.

Foram analisadas as séries históricas de DQO afluente, COV aplicada e temperatura durante etapa de digestão de Assis (2017) e durante um ano de codigestão dessa pesquisa, com intuito de entender a baixa da produção de biogás. Notou-se que as médias de DQO afluente eram parecidas na etapa de digestão (406 mg/L) e codigestão (402 mg/L), assim como as de carga orgânica volumétrica, 1,07 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ para digestão e 1,06 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ na codigestão.

A temperatura teve uma leve queda de 26,8 °C na etapa de digestão anaeróbia para 25,0 °C na codigestão, o que pode ter prejudicado a produção de biogás. Assis (2017) confirmou, através da correlação multivariada, que a produção de biogás aumentou com o aumento de temperatura e de carga orgânica volumétrica aplicada.

Outra hipótese é a influência do coagulante Tanfloc no comportamento do UASB. No início da codigestão, UASB estava expelindo parte da biomassa de microalgas nele alimentada, conforme citado por Assis (2017). Entretanto, durante um ano de codigestão o reator adaptou-se a a biomassa de microalgas que ficou retida em sua maioria nas alturas de 0,16m a 2,29m do reator UASB.

Essa biomassa retida no reator pode ser consequência da formação de flocos maiores e mais resistentes, limitando o movimento das espécies dentro do reator UASB. Tal fenômeno pode prejudicar os estágios acidogênicos e metanogênicos subsequentes de produzir metano (CHO et al, 2003), diminuindo assim a produção de biogás.

Com a concentração média de metano de 60% no biogás, a vazão média de metano foi de 0,29m³/d. O reator UASB foi projetado para uma população de 76 habitantes, o que resultou em uma produção per capita do biogás de 10 L/hab/dia. Segundo Lopes (2011), em uma estação de tratamento de esgoto com UASB a produção per capita de biogás pode variar entre 5 a 20 L/hab/dia.

Segundo Noyola et al. (2006) o poder calorífico do biogás com 60% de metano é 21,5 MJ.Nm⁻³, correspondendo a 67% do poder calorífico do gás natural. Quando o poder calorífico se encontra entre 21,5 e 25,1 MJ/Nm³, o biogás pode ser recuperado para uso direto como combustível; cogeração de eletricidade e calor; geração de eletricidade; combustível alternativo para aproveitamento como combustível veicular.

5.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL METANOGENICO DA BIOMASSA

5.7.1 Caracterização dos substratos utilizados nos experimentos.

O menor valor de DQO encontrado foi de 3,55 g.L⁻¹ na biomassa hidrolisada e maior valor na biomassa hidrolisada coagulada com tanfloc de 14,53 g.L⁻¹. Parte da DQO da biomassa coagulada com Tanfloc vem do coagulante que, diluído a 2,3%, possui concentração média de DQO igual a 10 g.L⁻¹ (ASSIS, 2017).

Os substratos utilizados apresentaram valores de SV/ST acima de 0,70, exceto as biomassas hidrolisadas, indicando predomínio de microrganismos em sua composição. A biomassa com Tanfloc do segundo experimento obteve maior valor, 0,85 (Tabela 21).

As concentrações de proteínas foram calculadas com base no valor de NTK, observando-se que em todos os experimentos encontram-se abaixo do reportado pela literatura como inibidor. Com relação aos teores de sólidos dos substratos, somente a biomassa com Tanfloc hidrolisada do experimento III apresentou concentração maior que 1%.

Tabela 18: Caracterização dos substratos.

Variáveis (g/l)	Experimento I		Experimento II		Experimento III		Experimento IV	
	BM*	BM + Tanfloc	BM	BM + Tanfloc	BM Hidrolisada	BM Hidrolisada + Tanfloc	BM Hidrolisada	BM hidrolisada + Tanfloc
DQO	4,0	5,5	8,36	6,6	7,5	14,5	3,6	5,2
ST	0,37%	0,37%	0,65%	0,6%	0,50%	1,5%	0,31%	0,58%
SV	2,7	2,9	5,1	5,1	2,6	10,0	1,4	3,8
SSV	2,6	2,6	5,4	9,2	2,3	11,4	1,2	3,7
SV/ST	0,74	0,77	0,79	0,85	0,52	0,77	0,45	0,67
Carboidrato	0,2	0,2	0,6	0,7	0,1	0,7	0,2	0,2
Proteína	0,3	0,4	0,5	0,7	0,5	0,9	0,3	0,8

Fonte: Autoria própria.

Nota: BM= biomassa de microalgas.

A preocupação com compostos protéicos das microalgas se deve ao fato de que, quando degradados, estes podem liberar concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal para fase líquida, podendo inibir a digestão anaeróbia (WARD, LEWIS e GREEN 2014; SIALVE, BERNET E BERNARD, 2009).

A amônia livre (NH_3) e o amônio (NH_4^+) são potenciais inibidores da digestão anaeróbia, causando mudanças do pH intracelular, inibição de reações enzimáticas específicas e aumento na demanda de energia para manutenção celular (WITTMANN et al. 1995).

Segundo Parkin e Owen, (1986), a amônia tem efeito inibitório moderado no processo de degradação anaeróbia em concentrações entre 1500 e 3000 mg.L^{-1} . Para Albertson (1961) e Melbinger e Donnellon (1971), na faixa de 1500 a 3000 mg.L^{-1} e pH inferior a 7,4 há relatos de inibição, e quando superior a 3000 mg.L^{-1} há inibição em qualquer valor de pH. Entretanto, McCarty e McKinney (1961) observaram efeitos inibitórios importantes quando a concentração de nitrogênio amoniacal livre era de 150 mg.L^{-1} .

Segundo Alzate et al. (2012), para mesma proporção Inóculo/substrato(I/S), diminuindo a concentração de sólidos totais de 1% para 0,3% é provável uma redução de até 25% na produção de metano, enquanto elevando a concentração de sólidos totais em até 2%, pode acarretar um acréscimo de 9% na produção de metano.

5.7.2 Eficiência dos processos hidrolíticos nos experimentos III e IV

A produção de metano a partir do substrato orgânico é diretamente relacionada à extensão de sua solubilização enquanto a taxa de degradação dependerá da hidrólise, no caso de microalgas (RAPOSO et al, 2011). Por isso foi analisado a eficiência de solubilização da DQO, carboidratos e proteínas filtrados a $\text{pH}=12$, durante uma hora (Tabela 22).

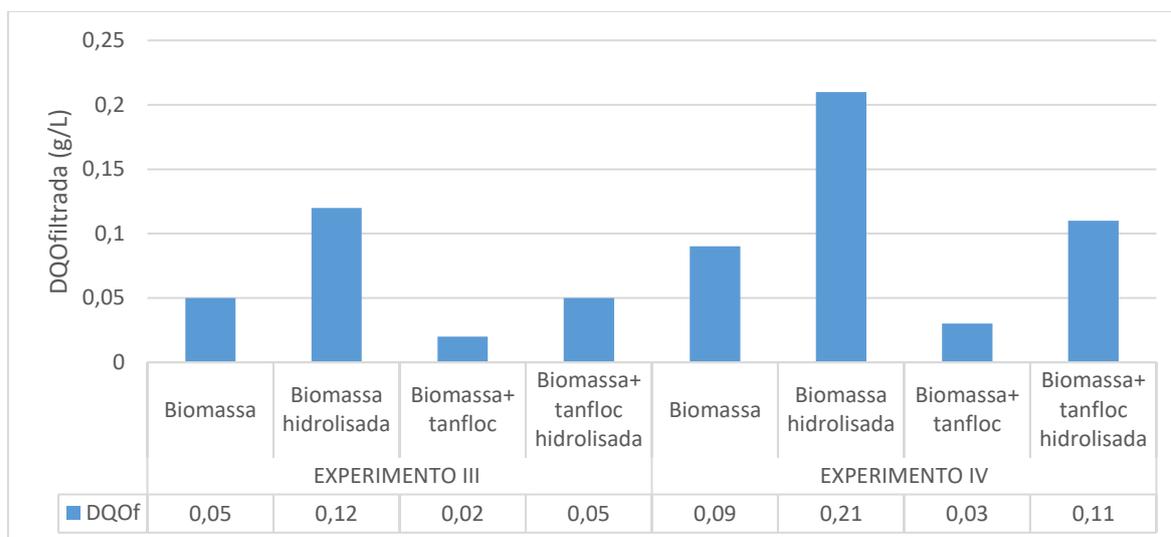
Tabela 19: Eficiência de hidrólise dos substratos no experimento III e IV.

Variáveis (g/L)	Experimento III				Experimento IV			
	Biomassa de microalgas	Biomassa de microalgas hidrolisada	Biomassa de microalgas + Tanfloc	Biomassa de microalgas + Tanfloc hidrolisada	Biomassa de microalgas	Biomassa de microalgas hidrolisada	Biomassa de microalgas + Tanfloc	Biomassa de microalgas + Tanfloc hidrolisada
DQOf	0,05	0,12	0,02	0,05	0,09	0,21	0,03	0,11
Eficiência de solubilização	140%		150%		133%		267%	
Carboidrato f	0,006	0,014	0,003	0,007	0,007	0,31	0,06	0,18
Eficiência de solubilização	133%		133%		4329%		200%	
Proteína f	0,065	0,086	0,105	0,109	0,036	0,118	0,057	0,083
Eficiência de solubilização	33%		4%		224%		46%	

Fonte: Autoria própria.

A solubilização de DQOf foi bem parecida nos experimentos III e IV, obtendo-se maior eficiência na hidrólise da biomassa coagulada com Tanfloc (73%) (Figura 43). Esse aumento da DQOf é relatada como consequência de várias reações, como a saponificação de ácidos urônicos e ésteres de acetila, reações que com grupos carboxílicos livres, reações de neutralização de diversos ácidos formados a partir de degradação do substrato (PENAUD, 1999).

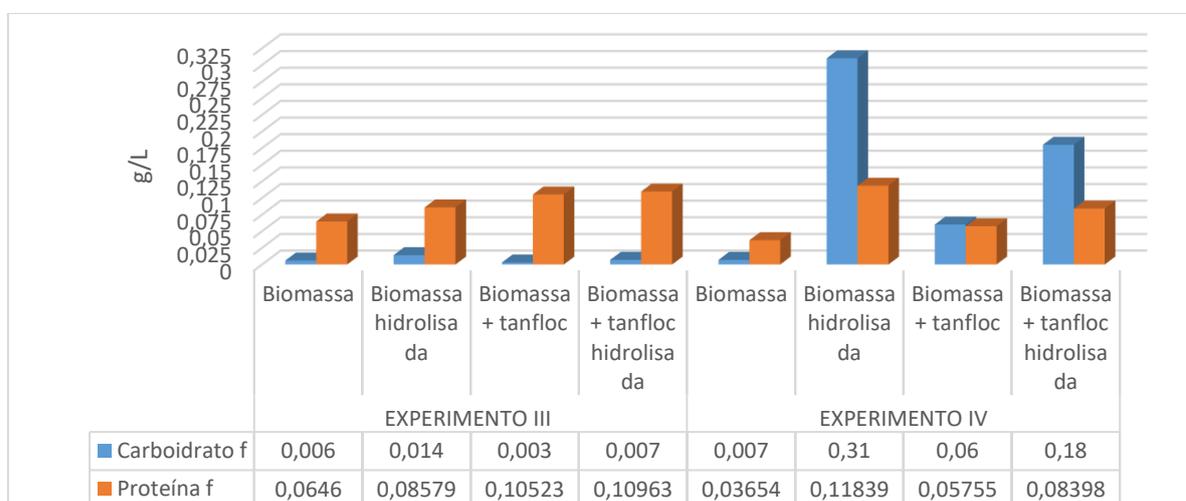
Figura 43: solubilização de DQO filtrada dos substratos nos experimentos III e IV.



Fonte: Autoria própria.

Observa-se uma maior dissolução de carboidratos comparado a proteínas (Figura 44), consequência de sua hidrólise mais lenta (SIALVE, BERNET, BERNARD, 2009).

Figura 44: Solubilização de carboidratos e proteínas filtradas no processo de hidrólise alcalina.



Fonte: Autoria própria.

A solubilização dos carboidratos filtrados foi acima de 100% para todos os substratos, com maior solubilização de 4329% na hidrólise da biomassa no experimento IV. Lamberti (2017) observou que a concentração de carboidratos solúveis aumentou cerca de 25 vezes na hidrólise com pH=10, 25 vezes com pH=11 e cerca de 33 vezes com a hidrólise a pH 12 todas com o tempo de reação de 4 horas.

A eficiência na solubilização de proteína foi mais baixa, pois a pH 12 pode ter ocorrido à volatilização do nitrogênio amoniacal total. Zhang et al. (2015) notaram essa volatilização quando pH atingiu 10,63.

5.7.3 Avaliação do potencial metanogênico da biomassa (BMP).

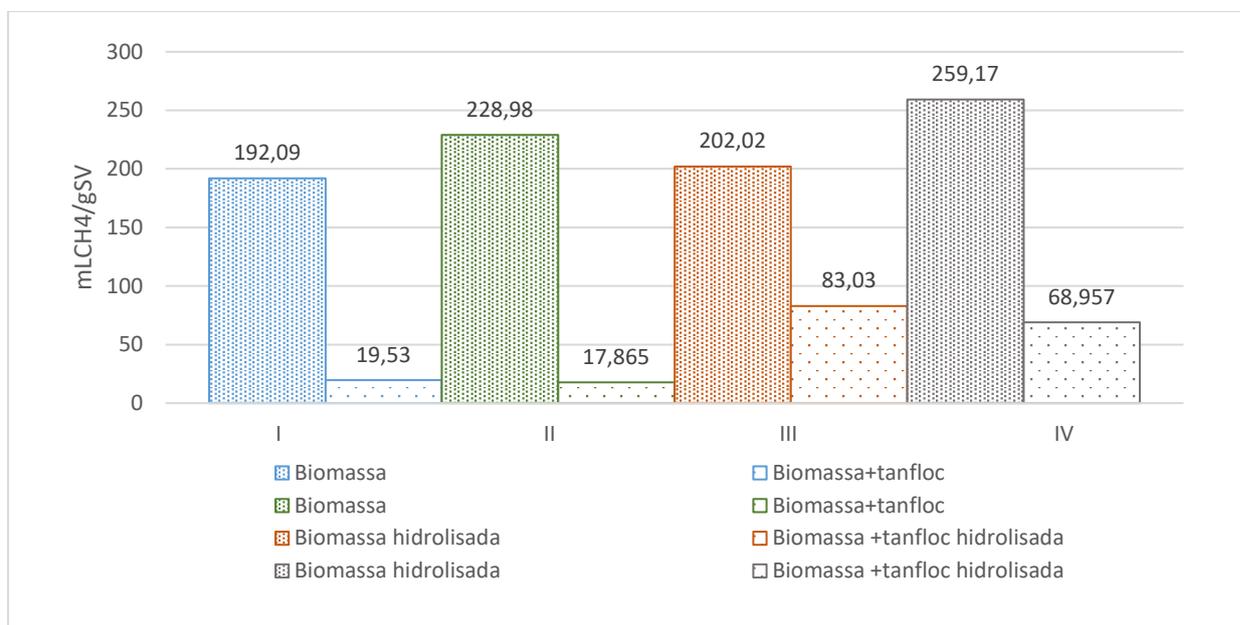
A produção média do controle negativo, ou seja, apenas o inóculo foi semelhante segundo o teste de Tukey ($p>0,05$) em todos os experimentos, sendo a média de seus valores respectivamente de 58,2 mLCH₄, 47,6 mLCH₄ e 42,3 mLCH₄, 23,9 mLCH₄. Os valores da produção média do controle positivo também foram semelhantes segundo o teste de Tukey ($p>0,05$). Os valores observados nos experimentos I a IV foram respectivamente, 403,5 mLCH₄, 310,2 mLCH₄ 334,4 mLCH₄, e 261,7 mLCH₄.

Ince et al (2001) observaram que com alimentação de 500 a 2000mg/L de acetato, a produção de metano variou de 16 a 152 mLCH₄/SSV.d. Badsha et al. (2012) encontraram valores menores para o controle positivo, variando de 200 a 250 mL CH₄. Com 1g de acetato de sódio, Bellaton et al. (2016) obtiveram um controle positivo de 319 NmL CH₄/g SV.

A variação dos valores de BMP encontrada na literatura é relacionada ao tipo de lodo utilizado como inóculo, qualidade da solução de acetato e parâmetros operacionais como temperatura, agitação, relação A/M e métodos de medição (SOTO *et al.*, 1993; JAWED e TARE, 1999).

A Figura 45 mostra as médias da produção acumulada de metano obtidas nos experimentos I ao IV, utilizando a biomassa pura e coagulada com Tanfloc, antes e após a hidrólise.

Figura 45: Produção média acumulada dos substratos utilizados nos experimentos I ao IV.



Fonte: Autoria própria.

As biomassas nos experimentos I e II renderam valores médios parecidos ($192,1 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{SV}^{-1}$ e $229 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{SV}^{-1}$). Com a hidrólise dessa biomassa os valores chegaram a $202,2 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{SV}^{-1}$ no experimento III, e $259,17 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{SV}^{-1}$ no experimento IV, onde o controle negativo foi um pouco menor (Figura 46). Mesmo com elevada eficiência de solubilização de matéria orgânica filtrada a geração de metano não foi muito superior aos testes com a biomassa bruta (Tabela 25).

Testes de Tukey sobre os substratos utilizados nos experimentos I ao IV indicaram que houve diferença significativa ($p > 0,05$) nas médias de todas as biomassas concentradas por sedimentação, com relação as biomassas coaguladas com Tanfloc. Fica evidente, portanto, a a inibição causada pelo coagulante à digestão anaeróbia.

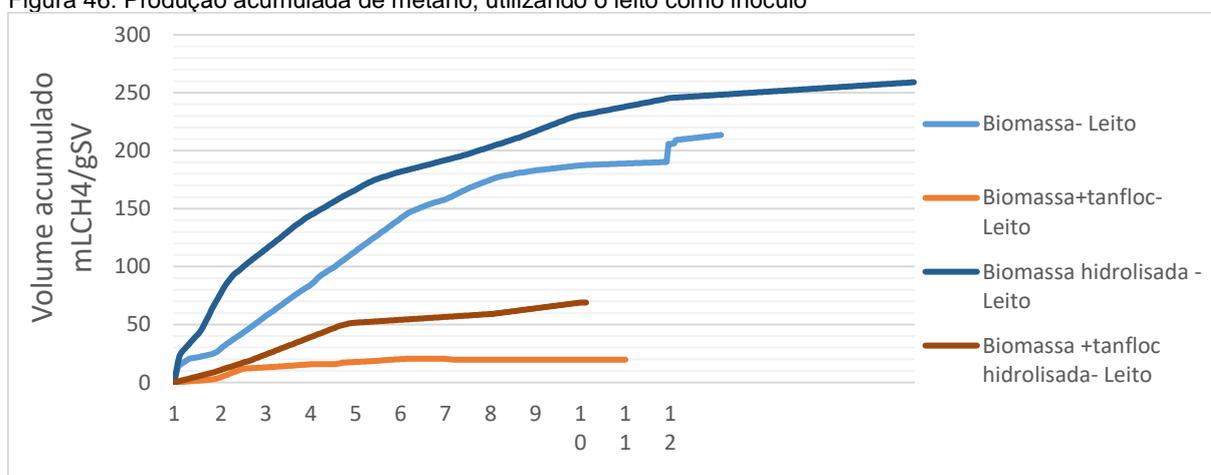
O teste Tukey também confirmou que, independentemente do inóculo (manta ou leite) utilizado, tanto as BMP médias da biomassa concentrada por sedimentação quanto as da biomassa coagulada com tanfloc foram semelhantes ($p > 0,05$) em todos os experimentos. Isto leva a se concluir que a hidrólise alcalina a pH12 durante uma hora não trouxe efeito positivo na geração de biometano.

A produção acumulada de metano ao longo dos testes de BMP também demonstra o efeito negativo do coagulante sobre a digestão anaeróbia (Figura 43 e Figura 44).

Na Figura 46 parece haver um leve impacto positivo da hidrólise sobre a biomassa não coagulada. No entanto, comparando-se a biomassa coagulada hidrolisada e a coagulada não hidrolisada, observa-se que as curvas aparentam ser próximas, sugerindo inibição do coagulante no meio. Neste caso, não há como a hidrólise ter gerado um impacto positivo no processo.

Os testes com substrato hidrolisado também podem ter sido prejudicados pelo aumento da temperatura e o pH, que alteraram o equilíbrio entre a amônia livre e o íon amônio. Isto resulta na geração de mais íons tóxicos na forma de amônia (WARD; LEWIS e GREEN; 2014).

Figura 46: Produção acumulada de metano, utilizando o leite como inóculo



Fonte: Autoria própria.

Chu et al (2003) observaram situação semelhante durante os seis primeiros dias de testes de digestão anaeróbia do lodo. Os autores observaram que a biomassa floculada com polieletrólitos resultou em melhor solubilização e produção de metano (cerca de 55 g CH₄/kgTS) quando comparado ao controle (cerca de 45 g CH₄/kgTS). Porém, após dez dias de digestão no processo, a produção de metano mostrou sinais de inibição.

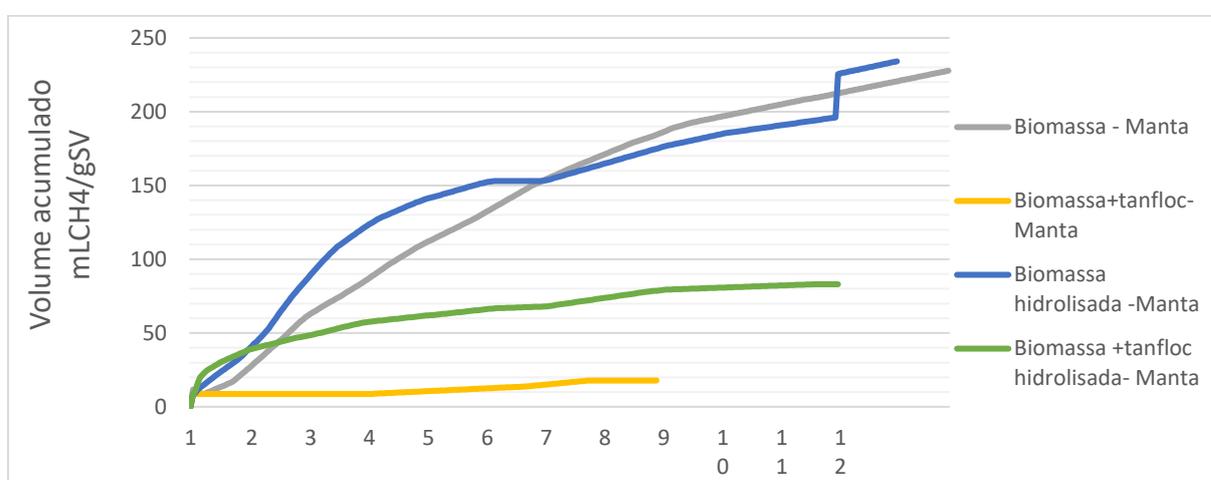
Os autores sugerem que o coagulante forma um lodo maior e mais resistente à deterioração estrutural. Isto prejudica o movimento de espécies dentro do floco, podendo impedir os estágios acidogênicos e metanogênicos da digestão anaeróbia.

Outra hipótese é que, como o reator não está expelindo as microalgas, a concentração do coagulante pode ter se elevado no seu interior, ocasionando toxicidade à digestão

anaeróbia. He et al (2007) notaram que, diluindo-se o tanino de 4900mg/L para 490mg/L, ele passa de inibidor para substrato facilmente biodegradável.

Na Figura 47, a hidrólise também demonstra um impacto inicial positivo sobre a biomassa não coagulada. Porém, apesar da resposta mais lenta, as biomassas não coagulada e não hidrolisada alcançaram maior produção de metano no período. Neste caso, os testes com as biomassas coaguladas e submetidas à hidrólise apresentaram um resultado levemente melhor do que os testes sem hidrólise.

Figura 47: Produção acumulada de metano, utilizando a manta como inóculo.



Fonte: Autoria própria.

Resultados semelhantes foram obtidos por Bohutshy, Betenbaugh e Bouwer (2014), que observaram que a adição de NaOH (até 21g/L de NaOH) teve efeito negligenciável na produção de biogás com todas as espécies (*Chlorella sp.*, *Thalassiosiraweiss flogii*, *Tetraselmis sp.* e *Pavlova_cfsp*) e diminuiu a produção de biogás de 10 a 30% com *Nannochloropsis sp.*

Gutiérrez et al. (2015) realizaram testes de BMP com a dosagem ótima de Ecotan e Tanfloc, demonstrando que nenhum floculante teve um efeito claro sobre a biodegradabilidade anaeróbia da biomassa floculada. A biomassa controle chegou a 163mL CH₄/g VS e, após a coagulação-floculação com Ecotan (10mg/L) e Tanfloc (50mg/L), a 162 e 166mL CH₄/g VS. O percentual de metano obtido foi o mesmo nas três ocasiões.

Outra possível explicação para o baixo rendimento da hidrólise é a inibição pela concentração do íon Na⁺. Isto foi relatado como inibitório para a flora metanogênica

por PENAUD, (1999). Rinzema et al. (1988) observaram inibição de 10%, 50% e 100%, causados pela concentração de Na^+ de 5,1 e 14 g.L^{-1} , respectivamente, em comparação com a atividade metanogênica acetoclástica máxima do lodo granular.

Zhang et al. (2015) observaram que, para 80 mg NaOH/g ST de lodo ativado, a concentração de Na^+ de 10,52 g.kg^{-1} foi suficiente para causar inibição da digestão anaeróbia. Penaud et al. (1999) explicaram que valores elevados de pH também podem levar a formação de componentes refratários na fase líquida, considerados como uma barreira extra na digestão anaeróbia, devido a sua baixa biodegradabilidade.

A diferença na geração de metano com a biomassa concentrada por sedimentação e biomassa coagulada com tanfloc é nítida em todos os experimentos. Porém, devido as baixas taxas de sedimentação de 0,1-2,6cm/h a biomassa poderá se deteriorar tornando sua utilização em escala piloto complicada quando comparada aos processos de separação físico-químico.

Observou-se que o coagulante tanfloc foi prejudicial a formação de biometano nos testes de BMP, sendo necessário um estudo aprofundado sobre o comportamento do coagulante dentro do reator, para que seja investigado as possíveis causas de inibição. E a possível relação com os substratos hidrolisados pela via alcalina, que não obtiveram resultados positivos na geração de metano.

6. CONCLUSÕES

A codigestão de esgoto sanitário com biomassa de microalgas no reator UASB não apresentou efeito deletério ao seu desempenho e não apresentou sinais de toxicidade por excesso de compostos de enxofre e nitrogênio amoniacal. Entretanto, foi observada uma baixa na produção de biogás no UASB, quando comparada a série histórica de digestão somente com esgoto sanitário de ASSIS (2017).

Através dos resultados do perfil de lodo, balanço de massa de células/mL e balanço de massa de DQO, observou-se que a maior parte das microalgas está acumuladas no compartimento de digestão do UASB, e praticamente não são expelidas pelo reator UASB. Os dados sugerem que o tanfloc pode limitar a lise celular, que, segundo balanço populacional de células, foi de somente 12,4%.

Os testes de BMP mostraram que a biomassa de microalgas coagulada com tanfloc comparada, produziram menos metano do que os testes com a biomassa pura. A produção de metano foi próxima à do controle negativo, indicando a toxicidade desse coagulante à digestão anaeróbia. Isso explica a retenção de microalgas não digeridas no reator, elevando sua concentração na biomassa anaeróbia, tornando um inibidor do processo de digestão anaeróbia. Esta observação foi confirmada pelas imagens obtidas através de MEV, onde se observaram algas inteiras nos flocos coletados no leito e na manta de lodo do UASB.

Quando aplicado o processo de hidrólise alcalina nesses substratos, o aumento na produção de metano também não foi significativo. A influência do coagulante sobre a formação dos flocos anaeróbios e o processo natural de hidrólise dentro do reator deve ser melhor estudado para que se entendam as causas de toxicidade à anaerobiose neste tipo de processo. Esta é uma exigência *sine qua non* para que o balanço energético de ETEs com produção, coleta e utilização de biomassa de microalgas como substrato de processos anaeróbios seja positivo.

7. RECOMENDAÇÕES

- Estudar a interação do coagulante com a microalga e com lodo anaeróbio a fim de se verificar possível toxicidade e as características do floco formado;
- Avaliar a influência do carreamento das microalgas no UASB, utilizando-se as técnicas de caracterização do comportamento hidrodinâmico do processo, para se avaliar melhor a dispersão de microalgas dentro do reator;

8. REFERÊNCIAS

- AFI, L. et al, Bacterial degradation of green microalgae: incubation of *Chlorella emersonii* and *Chlorella vulgaris* with *Pseudomonas oleovorans* and *Flavo bacterium aquatile*, **Elsevier Science Ltd**, Vol. 25, p. 117-130, 1996.
- ANDERSEN, R. A., & KAWACHI, M. Traditional microalgae isolation techniques. Algal culturing techniques. Edited by: Andersen RA. 2005.
- AJEEJ, A. et al. An overview of bio augmentation of methane by anaerobic co-digestion of municipal sludge along with microalgae and waste paper. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 270–276, 2015.
- ALZATE, M. E. et al. Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 488–494, 2012.
- ANGELIDAKI, I. et al. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. **Water Science and Technology**, v. 59, n. 5, p. 927–934, 2009.
- ANTHONY, R. J. et al. Effect of coagulant/flocculants on bioproducts from microalgae. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 65–70, 2013.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association, Washington, DC, 2012.
- ARAÚJO, T. L. DA S. Desempenho de reator anaeróbio híbrido (leito fixo e manta de lodo) tratando esgoto sanitário em escala piloto. 2014.
- ARIUNBAATAR, J. et al. Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. **Applied Energy**, v. 123, p. 143–156, 2014.
- ASSIS, T. I., **Codigestão anaeróbia de esgoto sanitário e lodo algáceo em reatores anaeróbios do tipo UASB**, Dissertação, Programa de Pós- Graduação em Engenharia e Desenvolvimento sustentável, Universidade Federal do Espírito Santo, 2017.
- COUTO, E. G. **Produção de biomassa em lagoas de alta taxa com diferentes profundidades e seu aproveitamento para geração de energia via liquefação hidrotérmica**. Tese, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Viçosa, 2016.
- BARRADO-MORENO, M. M.; BELTRÁN-HEREDIA, J.; MARTÍN-GALLARDO, J. Removal of *Oocystis* algae from freshwater by means of tannin-based coagulant. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 3, p. 1589–1595, 2016.
- BARROS, A. I. et al. Harvesting techniques applied to microalgae: A review sedimentation shou. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, n. 2015, p. 1489–1500, 2015.

BATSTONE, D. J. et al. Platforms for energy and nutrient recovery from domestic wastewater: A review. **Chemosphere**, v. 140, p. 2–11, 2015.

BELLATON, S. et al. Early assessment of a rapid alternative method for the estimation of the biomethane potential of sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 206, p. 279–284, 2016.

BELTRÁN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; GÓMEZ-MUÑOZ, C. Performance and characterization of a new tannin-based coagulant. **Applied Water Science**, v. 2, n. 3, p. 199–208, 2012.

BELTRÁN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; GÓMEZ-MUÑOZ, M. C. New coagulant agents from tannin extracts: Preliminary optimisation studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, n. 3, p. 1019–1025, 2010.

BITTON, G..; **Wastewater microbiology**.3 ed. Canadá, 2005.

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

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

BOLTO, B.; GREGORY, J. Organic polyelectrolytes in water treatment. **Water Research**, v. 41, n. 11, p. 2301–2324, 2007.

BONAMIGO, M. A. Passo Fundo. 2014.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, 2010.

Brunetti, A., Boari, G., Passino, R., Rozzi, A., 1983. Physico-chemical factors affecting start-up in UASB digestors. In: Proc. of European Symposium on Anaerobic Wastewater Treatment, Noordwijkerhout, The Netherlands, pp. 317.

CABBAL, V. et al. BMP tests of source selected OFMSW to evaluate anaerobic codigestion with sewage sludge. **Waste Management**, v. 33, n. 7, p. 1626–1632, 2013.

CAPORGNO, M. P. et al. Microalgae cultivation in urban wastewater: Nutrient removal and biomass production for biodiesel and methane. **Algal Research**, v. 10, p. 232–239, 2015.

CARLSSON, M.; SCHNÜRER, A. Handbok metanpotential. **SGC Rapport**, n. 271, 2011.

CASTRO, F. M. S. de. **Estudo do comportamento hidrodinâmico de uma nova proposta de configuração interna para reator UASB**. 2010.Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em

Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Porto Alegre.

CAMPOS, R. J. (Coord.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**, PROSAB. 1999.

CASSINI, S. T. et al. Alkaline and acid hydrolytic processes in aerobic and anaerobic sludges: Effect on total EPS and fractions. **Water Science and Technology**, v. 53, n. 8, p. 51–58, 2006.

CHEN, C. Y. et al. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71–81, 2011.

CHERNICHARO, C. A. L.; DOS REIS CARDOSO, M. Development and evaluation of a partitioned upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor for the treatment of domestic sewage from small villages. **Water science and technology**, v. 40, n. 8, p. 107-113, 1999.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios – Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. 2. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, v. 5, 1997. 380 p. 2005.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. 2.ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Universidade Federal de Minas Gerais. (Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias, v. 5),), 380 p. 2007.

CHO, S. et al. Evaluation of thermal, ultrasonic and alkali pretreatments on mixed-microalgal biomass to enhance anaerobic methane production. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 330–336, 2013.

CHONG, S. et al. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment - A State-of-the-art review. **Water Research**, v. 46, n. 11, p. 3434–3470, 2012.

CHU, C. P. et al. Anaerobic digestion of polyelectrolyte flocculated waste activated sludge. **Chemosphere**, v. 53, n. 7, p. 757–764, 2003.

COSTA, J. C. et al. Biomethanation potential of macroalgae *Ulva* spp. and *Gracilaria* spp. and in co-digestion with waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 320–326, 2012.

DANTAS, A.; LEITE, V.; PRASAD, S. Iii-032-Balanço De Massa De Dqo Em Reator Anaeróbio De Batelada Tratando Resíduos Sólidos Orgânicos. n. 1, p. 1–6, 2000.

DE SOUZA, C. L. Estudo Das Rotas De Formação , Transporte E Consumo Dos Gases Metano E Sulfeto De Hidrogênio. p. 147 p, 2010.

DE, U. et al. Universidade de são paulo escola de engenharia de são carlos eloá cristina figueirinha pelegriano. 2011.

DIOHA, I. J. et al. Effect of Carbon To Nitrogen Ratio on Biogas Production. **International Research Journal of Natural Sciences**, v. 1, n. 3, p. 1–10, 2013.

ELLER, C. M. Caracterização Dos Compostos Traços Influentes No. **Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Engenharia Ambiental da**

Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Ambiental, área de concentração em Poluição do Ar. Vitória- ES., 2013.

ENGENHARIA, D. D. E.; AMBIENTAL, S. E. Aplicabilidade Do Reator Anaeróbio De Fluxo Ascendente Com Manta De Lodo (Uasb) Para O. 1998.

FEITOSA CAVALCANTI, P. F. et al. Excess sludge discharge frequency for UASB reactors. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 8, p. 211–219, 1999.

FLORÊNCIO, L.; KATO, M. T.; MORAIS, J. C. Domestic sewage treatment in full-scale UASB plant at Mangueira, Recife, Pernambuco. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 71-77, 2001.

GERARDO, M. L. et al. Harvesting of microalgae within a biorefinery approach: A review of the developments and case studies from pilot-plants. **Algal Research**, v. 11, p. 248–262, 2015.

GOLUEKE, C. G.; OSWALD, W. J.; GOTAAS, H. B. Anaerobic digestion of Algae. **Applied microbiology**, v. 5, p. 47–55, 1957.

GRIMA, E. M. et al. Recovery of microalgal biomass.pdf. v. 20, p. 491–515, 2003.

GUTIÉRREZ, R. et al. Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production. **Algal Research**, v. 9, p. 204–211, 2015a.

GUTIÉRREZ, R. et al. Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production. **Algal Research**, v. 9, p. 204–211, 2015b.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de Separação por Membranas**. [s.l: s.n.].

HALALSHEH, M. et al. Treatment of strong domestic sewage in a 96 m³UASB reactor operated at ambient temperatures: Two-stage versus single-stage reactor. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 5, p. 577–585, 2005.

HAMEED, Y. T. et al. A tannin-based agent for coagulation and flocculation of municipal wastewater: Chemical composition, performance assessment compared to Polyaluminum chloride, and application in a pilot plant. **Journal of Environmental Management**, v. 184, p. 494–503, 2016.

HAMEED, Y. T. et al. A tannin-based agent for coagulation and flocculation of municipal wastewater as a pretreatment for biofilm process. **Journal of Cleaner Production**, v. 182, p. 198–205, 2018.

HERNÁNDEZ, E. P.; CÓRDOBA, L. Anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris* for energy production. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 9, p. 127–132, 1993.

HERRMANN, C. et al. Optimised biogas production from microalgae through co-digestion with carbon-rich co-substrates. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 328–337, 2016.

HOU, J. et al. Changes in *Microcystis aeruginosa* cell integrity and variation in

microcystin-LR and proteins during Tanfloc flocculation and floc storage. **Science of the Total Environment**, v. 626, p. 264–273, 2018.

HOYOS, N. L. M. Análise comparativa do desempenho de reator anaeróbio híbrido e reator de manto de lodo de fluxo ascendente (UASB) aplicados ao tratamento de esgoto sanitário. 2016.

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

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

JANKOWSKA, E.; SAHU, A. K.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 75, n. September, p. 692–709, 2017.

JIN, Z.; GONG, H.; WANG, K. Application of hybrid coagulation microfiltration with air backflushing to direct sewage concentration for organic matter recovery. **Journal of Hazardous Materials**, v. 283, p. 824–831, 2015.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domesticos - Eduardo Pacheco Jordão, Constantino Arruda Pessoa - 6ª edição.pdf**, 2011.

KHAN, Abid Ali; MEHROTRA, Indu; KAZMI, A. A. Sludge profiling at varied organic loadings and performance evaluation of UASB reactor treating sewage. **Biosystems Engineering**, v. 131, p. 32-40, 2015

KLEINHEINZ, G.; HERNANDEZ, J. Comparison of two laboratory methods for the determination of biomethane potential of organic feedstocks. **Journal of Microbiological Methods**, v. 130, p. 54–60, 2016.

LAMBERTI, G. G. **Solubilização da matéria orgânica e nutrientes do lodo algáceo de uma lagoa de estabilização através de processos hidrolíticos alcalino e térmico**. Dissertação, Programa de Pós- Graduação em Engenharia e Desenvolvimento sustentável, Universidade Federal do Espírito Santo, 2017.

LEE, J. W. **Advanced biofuels and bioproducts**. [s.l: s.n.]. v. 9781461433

LESTEUR, M. et al. Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 4, p. 431–440, 2010.

LI, C. et al. Hydrothermal and alkaline hydrothermal pretreatments plus anaerobic digestion of sewage sludge for dewatering and biogas production: Bench-scale research and pilot-scale verification. **Water Research**, v. 117, p. 49–57, 2017.

LI, H. et al. Optimized alkaline pretreatment of sludge before anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 189–194, 2012.

LIN, Y. et al. Alkali pretreatment enhances biogas production in the anaerobic digestion of pulp and paper sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 170, n. 1, p. 366–373, 2009.

LOBATO, L. C. DAA S. Aproveitamento Energético de Biogás Gerado em Reatores UASB Tratando Esgoto Doméstico. **Smarh.Eng.Ufmg.Br**, p. 184, 2011.

LOBATO, L.C.S.; CHERNICHARO, C.A.L.; SOUZA, C.L. Estimates of methane loss and energy recovery potential in anaerobic reactors treating domestic wastewater. **Water Science and Technology**, 2012, v.6, p. 2745-2753.

LOPES, N. T. **Influência do tempo de detenção hidráulica e da profundidade no desempenho de lagoas de alta taxa aplicadas ao pós-tratamento de efluente de reatores UASB**. Dissertação, Programa de Pós- Graduação em Engenharia e Desenvolvimento sustentável, Universidade Federal do Espírito Santo, 2017.

LOUZADA, L. M. **Influência da codigestão anaeróbia de biomassa mixotrófica no desaguamento do lodo de descarte de um UASB tratando esgoto sanitário**. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. UFES. 2018.

LOPES, A. O. Produção de metano em estações de tratamento de esgotos e cogeração de energia elétrica: um estudo de caso em Passos-MG. In: **Encontro Nacional de Engenharia de Produção**. Inovação tecnológica e propriedade intelectual: desafios da engenharia de produção na consolidação do Brasil no cenário econômico mundial. Anais... Belo Horizonte-MG. 2011.

MAHMOUD, N. et al. Anaerobic sewage treatment in a one-stage UASB reactor and a combined UASB-Digester system. **Water Research**, v. 38, n. 9, p. 2347–2357, 2004.

MARRONE, B. L. et al. Review of the harvesting and extraction program within the National Alliance for Advanced Biofuels and Bioproducts. **Algal Research**, v. 33, n. June 2016, p. 470–485, 2018.

MCCARTY, P. L.; BAE, J.; KIM, J. Domestic Wastewater Treatment as a Net Energy Producer À Can This be Achieved ? 2011.

McCARTY, Perry L.; MCKINNEY, Ross E. Salt toxicity in anaerobic digestion. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 399-415, 1961.

MELBINGER, N. R.; DONNELLON, J.; ZABLATZKY, Herman R. Toxic effects of ammonia nitrogen in high-rate digestion [with discussion]. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 1658-1670, 1971

MENDEZ, L. et al. Enhancing methane production of *Chlorella vulgaris* via thermochemical pretreatments. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 136–141, 2013.

MONNET, F. An Introduction to Anaerobic Digestion of Organic Wastes. **Remade Scotland Report**, n. November, p. 1–48, 2003.

MUSSGUG, J. H. et al. Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. **Journal of Biotechnology**, v. 150, n. 1, p. 51–56, 2010.

NEYENS, E. et al. Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. **Journal of Hazardous Materials**, v. 106, n. 2–3, p. 83–92, 2004.

NORTHCOTE, D. H.; GOULDING, K. J.; HORNE, R. W. The Chemical Composition and Structure of the Cell Wall of *Chlorella pyrenoidosa*. **The Biochemical Journal**, v. 70, n. 3, p. 391–7, 1958.

NOYOLA, A.; MORGAN-SAGASTUME, J. M.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J. E. Treatment of biogas produced in anaerobic reactors for domestic wastewater: Odor control and energy/resource recovery. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 93–114, 2006.

OLGUÍN, E. J. Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 5, p. 1031–1046, 2012.

OLSSON, J. et al. Co-digestion of cultivated microalgae and sewage sludge from municipal waste water treatment. **Bioresource Technology**, v. 171, n. 1, p. 203–210, 2014.

OSWALD, W. J.; GOLUEKE, C. G. Biological Transformation of Solar Energy. **Advances in Applied Microbiology**, v. 2, n. C, p. 223–262, 1960.

ÖZACAR, M.; ŞENGİL, I. A. Effectiveness of tannins obtained from valonia as a coagulant aid for dewatering of sludge. **Water Research**, v. 34, n. 4, p. 1407–1412, 2000.

PAPAZI, A.; MAKRIDIS, P.; DIVANACH, P. Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 3, p. 349–355, 2010.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J. Algal production in wastewater treatment high rate algal ponds for potential biofuel use. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 10, p. 2403–2410, 2011.

PARKIN, G. F.; OWEN, W. F. Fundamentals of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludges. **Journal of Environmental Engineering**, v. 112, n. 5, p. 867–920, 1986.

PASSOS, F. et al. Pretreatment of microalgae to improve biogas production: A review. **Bioresource Technology**, v. 172, p. 403–412, 2014.

PENAUD, V. Thermo-chemical pretreatment of a microbial biomass: influence of sodium hydroxide addition on solubilization and anaerobic biodegradability. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 25, n. 3–5, p. 258–263, 1999.

PEREIRA, M. V. N. L. **Cultivo de microalgas autóctones em efluente de reator anaeróbio: prospecção de cepas e efeito da taxa de diluição na produtividade de biomassa e tratamento terciário**. Tese Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. UFES. 2018.

PINTO, D. D. D.; ARAÚJO, O. DE Q. F.; MEDEIROS, J. L. DE. Curso de Membranas - Módulo I: Conceitos Básicos. 2009.

PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 17–25, 2011.

PROBIO. **Fundamentação teórica**: Programa de Estimativa de Produção de Biogas em reatores UASB. 2015. Disponível em: site.sanepar.com.br/probio.. Acesso em: 20 fev. 2018.

POSADAS, E. et al. Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways. **CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL**, v. 265, p. 239–248, 2015.

PUYOL, D. et al. Resource recovery from wastewater by biological technologies: Opportunities, challenges, and prospects. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. JAN, p. 1–23, 2017.

SYUTSUBO, K., YOOCHATCHAVAL, W., TSUSHIMA, I., ARAKI, N., KUBOTA, K., ONODERA, T., YONEYAMA, Y. Evaluation of sludge properties in a pilot-scale UASB reactor for sewage treatment in a temperate region. **Water Science and Technology**, v. 64, n. 10, p. 1959-1966, 2011.

QUIROZ ARITA, C. E.; PEEBLES, C.; BRADLEY, T. H. Scalability of combining microalgae-based biofuels with wastewater facilities: A review. **Algal Research**, v. 9, p. 160–169, 2015.

RAPOSO, F. et al. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 861–877, 2012.

RINZEMA, A.; VAN LIER, J.; LETTINGA, G. Sodium inhibition of acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 10, n. 1, p. 24–32, 1988.

RODRIGUEZ, C. et al. Pre-treatment techniques used for anaerobic digestion of algae. **Fuel Processing Technology**, v. 138, p. 765–779, 2015.

ROSELET, F. et al. Screening of commercial natural and synthetic cationic polymers for flocculation of freshwater and marine microalgae and effects of molecular weight and charge density. **Algal Research**, v. 10, n. 1, p. 183–188, 2015.

ROSELET, F.; BURKERT, J.; ABREU, P. C. Flocculation of *Nannochloropsis oculata* using a tannin-based polymer: Bench scale optimization and pilot scale reproducibility. **Biomass and Bioenergy**, v. 87, p. 55–60, 2016.

ROZZI, A.; REMIGI, E. <Methods of assessing microbial activity and inhibition under anaerobic conditions, a literature review.pdf>. p. 93–115, 2004.

SAMSON, R.; LEDUY, A. Influence of mechanical and thermochemical pretreatments on anaerobic digestion of *Spirulinamaxima* algal biomass. **Biotechnology Letters**, v. 5, n. 10, p. 671–676, 1983.

SANTIAGO, A. F. **Avaliação do desempenho de Lagoas de Alta Taxa no tratamento de esgoto pré-desinfectado submetidas a diferentes níveis de radiação solar**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

SCHNURR, P. J.; ALLEN, D. G. Factors affecting algae biofilm growth and lipid production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 418–429, 2015.

SCHWEDE, S. et al. Anaerobic co-digestion of the marine microalga *Nannochloropsis salina* with energy crops. **Bioresource Technology**, v. 148, p. 428–435, 2013.

SEGHEZZO, L. Anaerobic treatment of domestic wastewater in subtropical regions. **Advances in Water and Wastewater Treatment Technology**, v. 27, p. 75–75, 2004.

SHELEF, G.; SUKENIK, A.; GREEN, M. Microalgae Harvesting and Processing: A Literature Review; A Subcontract Report. n. 0, 1965.

SOUZA, M. E. DE. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. **Revista DAE**, v. 44, n. 137, p. 7, 1984.

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

SPERLING, M. VON; LEMOS CHERNICHARO, C. A. DE. Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions. **IWA Publishing**, p. 1–856, 2005.

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

SUTHERLAND, D. L. et al. Enhancing microalgal photosynthesis and productivity in wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 222–229, 2015.

TAKAHASHI, M. et al. Evaluation of treatment characteristics and sludge properties in a UASB reactor treating municipal sewage at ambient temperature. **International Journal of Environmental Research**, v. 5, n. 4, p. 821–826, 2011.

TARTAKOVSKY, B.; LEBRUN, F. M.; GUIOT, S. R. High-rate biomethane production from microalgal biomass in a UASB reactor. **Algal Research**, v. 7, p. 86–91, 2015a.

TARTAKOVSKY, B.; LEBRUN, F. M.; GUIOT, S. R. High-rate biomethane production from microalgal biomass in a UASB reactor. **Algal Research**, v. 7, p. 86–91, 2015b.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D. **Metcalf-eddy wastewater engineering treatment and reuse.pdf**, 2003.

TENNEY, M., W. et al. Algal flocculation with synthetic organic polyelectrolytes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 18, n. 6, p. 965–971, 1969.

THAVEESRI, J. et al. Granulation and sludge bed stability in upflow anaerobic sludge bed reactors in relation to surface thermodynamics. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 10, p. 3681–3686, 1995.

UDOM, I. et al. Bioresource Technology Harvesting microalgae grown on wastewater. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 101–106, 2013.

UMMALYMA, S. B. et al. Bioflocculation: An alternative strategy for harvesting of

microalgae – An overview. **Bioresource Technology**, v. 242, p. 227–235, 2017.

USU, M. D. O. ProBio 1.0. p. 1–18, 2015.

VANDAMME, D. et al. Flocculation of microalgae using cationic starch. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 4, p. 525–530, 2010.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLELAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production - 1-s2.0-S0167779912002247-main.pdf. v. 31, n. 4, p. 233–239, 2013.

Van Haandel, A. and Lettinga G (1994). Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate. John Wiley & Sons.

VASUDEVAN, P. T.; BRIGGS, M. Biodiesel production—current state of the art and challenges. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 421, 2008.

VERSIANI, B. M. Desempenho De Um Reator Uasb Submetido A Diferentes Condições Operacionais Tratando Esgotos Sanitários Do Campus Da Ufrj. p. 78, 2005.

WANG, J.; EVANGELOU, V. P. Metal tolerance aspects of plant cell wall and vacuole. **Handbook of Plant and Crop Physiology. Marcel Dekker, Inc., New York**, p. 695-717, 1995.

WANG, M. et al. Anaerobic co-digestion of microalgae *Chlorella* sp. and waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v. 142, p. 585–590, 2013.

WARD, A. J.; LEWIS, D. M.; GREEN, F. B. Anaerobic digestion of algae biomass: A review. **Algal Research**, v. 5, n. 1, p. 204–214, 2014.

WITTMANN, Christoph; ZENG, A.-P.; DECKWER, W.-D. Growth inhibition by ammonia and use of a pH-controlled feeding strategy for the effective cultivation of *Mycobacterium chlorophenolicum*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 44, n. 3-4, p. 519-525, 1995.

YANG, Z. et al. Fermentative hydrogen production from lipid-extracted microalgal biomass residues. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3468–3472, 2011.

YASMEEN, T. et al. Start-up of UASB reactors treating municipal wastewater and effect of temperature/sludge age and hydraulic retention time (HRT) on its performance. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 780–786, 2014.

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

YIN, C. Y. Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 9, p. 1437–1444, 2010.

ZHANG, S. et al. Influence of NaOH and thermal pretreatment on dewatered activated sludge solubilisation and subsequent anaerobic digestion: Focused on high-solid state.

Bioresource Technology, v. 185, p. 171–177, 2015.

ZHENG, H. et al. Harvesting of microalgae by flocculation with poly (γ -glutamic acid).
Bioresource Technology, v. 112, p. 212–220, 2012.

ANEXO I

Protocolo básico

Primeiro foi realizada a lavagem da amostra em PBS em temperatura ambiente. Passando para fixação com Gluteraldeído 2,5% e Tampão cacodilato 0,1M, deixando por duas horas em temperatura ambiente e após passando para geladeira até o dia seguinte.

A lavagem foi realizada com tampão cacodilato 0,1M (pH 7,2-7,4) por três vezes a cada dez minutos. A etapa de pós-fixação foi realizada com OsO₄ 1% em cacodilato 0,1M adicionado de ferrocianeto de potássio 1,25%. Ao final os eppendorfs foram embrulhados com papel laminado durante 40 minutos a temperatura ambiente, na capela e no escuro.

Passando novamente para etapa de lavagem com tampão cacodilato 0,1M (pH 7,2-7,4) uma vez por dez minutos. E duas vezes com água mili-Q por dez minutos cada.

A sexta etapa foi a desidratação onde foram realizados banhos com etanol a temperatura ambiente. Todos os banhos tiveram duração de 10 minutos, o primeiro banho foi realizado com etanol 30% por 10 minutos, o segundo com 50%, terceiro com 70%, quarto com 90% e a amostra foi desidratada três vezes com etanol 100%, também por dez minutos. Optou-se por não realizar a secagem pelo ponto crítico para que não houvesse a lise das microalgas. Ao final montou-se os stubs e ocorreu a evaporação com ouro.