

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Engenharia
Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Matheus Pascoal de Freitas

**POTENCIALIDADE DOS PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICO SOLAR E
ENZIMÁTICO PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE
MICROALGAS ORIUNDAS DE SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO**

Belo Horizonte

2020

Matheus Pascoal de Freitas

**POTENCIALIDADE DOS PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICO SOLAR E
ENZIMÁTICO PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE
MICROALGAS ORIUNDAS DE SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Tratamento de Águas Residuárias

Orientadora: Fabiana Lopes Del Rei Passos

Coorientador: Cesar Rossas Mota Filho

Belo Horizonte

2020

F866p

Freitas, Matheus Pascoal de.

Potencialidade dos pré-tratamentos térmico solar e enzimático para produção de biogás a partir de microalgas oriundas de sistemas de tratamento de esgoto [recurso eletrônico] / Matheus Pascoal de Freitas. – 2020.

1 recurso online (81 f. : il., color.) : pdf.

Orientadora: Fabiana Lopes Del Rei Passos.
Coorientador: Cesar Rossas Mota Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Bibliografia: f. 74-81.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Saneamento - Teses.
3. Microalga - Teses. 4. Biogás - Teses. 5. Aquecimento solar - Teses.
I. Passos, Fabiana Lopes Del Rei. II. Mota Filho, César Rossas. III.
Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. IV. Título.

CDU: 628(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
[ESCOLA DE ENGENHARIA]
COLEGIADO DO CURSO DE GRADUAÇÃO / PÓS-GRADUAÇÃO EM [SANEAMENTO, MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS]

FOLHA DE APROVAÇÃO

**["POTENCIALIDADE DOS PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICO SOLAR E ENZIMÁTICO PARA PRODUÇÃO DE
BIOGÁS A PARTIR DE MICROALGAS ORIUNDAS DE SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO"]**

[MATHEUS PASCOAL DE FREITAS]

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia [12 de março de 2020], pela Banca Examinadora designada pelo [Colegiado do Programa de Pós-Graduação **EM SANEAMENTO, MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**] da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Profa. FABIANA LOPES DEL REI PASSOS

Prof. CESAR ROSSAS MOTA FILHO

Prof. CARLOS AUGUSTO DE LEMOS CHERNICHARO

Profa. MARIA DE LOURDES FLORENCIO DOS SANTOS

APROVADA PELO COLEGIADO DO PPG SMARH

Profa. Taciana Toledo de Almeida Albuquerque - Subcoordenadora

Belo Horizonte, 12 de março de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maria de Lourdes Florencio dos Santos, Usuário Externo**, em 13/07/2022, às 09:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Taciana Toledo de Almeida Albuquerque, Professora do Magistério Superior**, em 13/07/2022, às 11:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cesar Rossas Mota Filho, Professor do Magistério Superior**, em 13/07/2022, às 17:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Lopes Del Rei Passos, Professora do Magistério Superior**, em 13/07/2022, às 21:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Augusto de Lemos Chernicharo, Professor do Magistério Superior**, em 20/07/2022, às 20:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1595070** e o código CRC **E3762875**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Fabiana, pela condução deste trabalho, que me proporcionou grandes experiências de amadurecimento e evolução acadêmica, pelas quais sou muito grato. Também fico feliz e honrado de ser seu primeiro orientando no SMARH.

Ao Cesar, pela coorientação e por estar presente no meu percurso acadêmico desde a graduação como um grande exemplo de professor. Serei sempre grato pela contribuição em minha formação, tanto na pesquisa quanto nas aulas, na orientação do TCC e durante minha iniciação científica no projeto Prosperity Fund.

Ao amigo Lucas Vassalle, por todo o auxílio e contribuição desde o início da pesquisa, sem os quais eu jamais conseguiria realizar esse trabalho. Seu empenho e comprometimento profissional, além do bom humor com que sempre encara a vida, são exemplos pra mim.

Ao amigo Andrés Filipe, pelas contribuições na pesquisa, tanto no laboratório quanto nas discussões, e pela disponibilidade de trabalhar em conjunto.

À banca examinadora, professores Carlos Augusto de Lemos Chernicharo e Lourdinha Florêncio, pelo aceite do convite e leitura crítica do trabalho.

Aos alunos de iniciação científica, em especial ao Alcino Trindade e a Camila Cabral. Agradeço ao Alcino pelo trabalho como voluntário durante toda a pesquisa, principalmente nos momentos em que realizou com primazia o trabalho de rotina, me permitindo focar em outras demandas, e nas várias horas que me acompanhou no Q10 durante os experimentos com o aquecedor solar.

Aos amigos do projeto Prosperity Fund, pela convivência mais que agradável, pelo conhecimento compartilhado e por acompanharem meu processo de escolha e ingresso na pós-graduação, sempre com muito incentivo e torcida: Fábio Bianchetti, Thiago Bressani, Lucas Chamhum, Daniel Dutra, Renata Bortolini, Luísa Ornelas, Vanessa Melo, Cecília Souza e Gabriela Maciel (minha querida dupla durante toda a graduação).

Aos amigos e companheiros de SMARH, que proporcionaram os melhores momentos da pós-graduação e ajudaram a tornar este longo e tortuoso caminho bem mais leve: Clarissa, Rafaela, Paulinha, Camila, Brenda, Tiago, Jéssica, Maria Cecília, João Paulo, Bruna, Marina, Kasandra,

Déborah, Priscilla e Carla. À Amanda e ao Fábio, por estarem comigo neste caminho desde a graduação.

Aos professores do PPGSMARH, por serem profissionais exemplares e por se doarem na docência e na dedicação ao saneamento, ao meio ambiente e aos recursos hídricos, em especial: Valter Lúcio de Pádua, Carlos Chernicharo, Marcos von Sperling, Eduardo von Sperling, Léo Heller, Sonaly Rezende, Uende Gomes e Juliana Calábria.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México – UNAM, por ser una institución pública, gratuita e de gran calidad, y por integrar el continente latino mediante la educación. Agradezco a los profesores Dr. Germán Buitrón y Dr. Julián Carillo-Reyes, por la oportunidad brindada y por todo el aprendizaje. A mis amigos mexicanos y latinos, agradezco por su fraternal acogida y dedicación al saneamiento. Al Romário, por ser un pedazo de Brasil en México.

Agradeço à Escola de Veterinária da UFMG, em especial ao professor Rodrigo Melo Meneses pelo fornecimento de conteúdo ruminal para realização da pesquisa. Agradeço também aos residentes de clínica e cirurgia veterinárias, Guilherme e João, pelo auxílio durante a coleta do material.

Aos funcionários do DESA: Gabriel, Érico, Cíntia, Júlio, Eliane, Lucas e Fernanda, pelo profissionalismo e pelo auxílio em diversos momentos. Em especial à Suzane, pela dedicação e paciência com todo mundo do time do esgoto.

Aos amigos do INCT ETEs Sustentáveis, pelo apoio significativo na pesquisa e por me receberem de braços abertos na equipe: Lariza Azevedo, Lucas Chamhum, Lívia Lobato, Bel Chioddi, Ayana Lemos, Thiago Bressani, Marise Daniele, Tomás Germán, Láine Silva, Thiago Morandi e Rafael Pessoa.

Agradeço à Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, por ter sido casa desde 2011, pelas transformações que me proporcionou e por me mostrar o mundo. Por ser referência no país e no mundo, por ser pública e por buscar cada vez mais ser diversa. Ao PPGSMARH, pela formação de qualidade e pelas contribuições à sociedade brasileira e a ciência. À Capes, pela bolsa de mestrado.

Ao INCT ETEs Sustentáveis, pelo apoio primordial na minha pesquisa e pela contribuição para o avanço do saneamento no país.

Agradeço ao povo brasileiro, por financiar a educação pública, gratuita e de qualidade, pela qual me formei. Àqueles que vem de lugares além, e que pelas estruturas impostas não puderam chegar até aqui: eu sou porque nós somos. Agradeço também todos aqueles que, em momentos de retrocesso, saem às ruas para lutar pela manutenção da educação pública, gratuita e de qualidade como projeto de desenvolvimento do Brasil.

Aos meus pais, Maria Flor e Jaime, por dedicarem suas vidas para que eu e meus irmãos pudéssemos perseguir nossos sonhos e por nos mostrarem o caminho através da educação. Apesar de eu ser o primeiro em nossa família a se enveredar pelos caminhos da pesquisa e da pós-graduação acadêmica, incomuns para nós, vocês sempre me apoiaram e me deram todo o suporte necessário, ainda que às vezes não entendam o meu trabalho. Aos meus irmãos, Eduardo e Gustavo, pela amizade, parceria, momentos de descontração, me ajudando a manter a sanidade até mesmo por meio das nossas discussões. Vocês são o meu bem mais precioso, eu amo vocês.

À Deus, por ter criado um universo extremamente complexo e igualmente extraordinário, e por me dotar de ferramentas que me permitem buscar o entendimento de algumas de suas infinitas partes.

*“(…) A vida deu os muitos anos da estrutura
Do humano à procura do que Deus não respondeu
Deu a história, a ciência, arquitetura
Deu a arte, deu a cura e a cultura pra quem leu
Depois de tudo até chegar neste momento me negar
Conhecimento é me negar o que é meu
Não venha agora fazer furo em meu futuro
Me trancar num quarto escuro e fingir que me esqueceu
Vocês vão ter que acostumar porque
Ninguém tira o trono do estudar
Ninguém é o dono do que a vida dá
E nem me colocando numa jaula
Porque sala de aula essa jaula vai virar
(…)
E tem que honrar e se orgulhar do trono mesmo
E perder o sono mesmo pra lutar pelo o que é seu
Que neste trono todo ser humano é rei,
Seja preto, branco, gay, rico, pobre, santo, ateu
Pra ter escolha, tem que ter escola
Ninguém quer esmola, e isso ninguém pode negar
Nem a lei, nem estado, nem turista, nem palácio,
Nem artista, nem polícia militar
Vocês vão ter que engolir e se entregar porque
Ninguém tira o trono do estudar.”*

O trono do estudar - Dani Black

RESUMO

A biomassa de microalgas produzida em sistemas de tratamento de efluentes apresenta um elevado potencial de valoração através da digestão anaeróbia para produção de biogás. Todavia, a hidrólise dessa biomassa durante o metabolismo anaeróbio possui certas limitações, devido ao elevado teor de biopolímeros de baixa biodegradabilidade presentes na parede celular das microalgas e na complexidade da estrutura da mesma. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de duas técnicas de pré-tratamentos no aumento da biodegradabilidade da biomassa microalgal, proveniente de uma lagoa de alta taxa tratando efluente anaeróbio. Para isso, testes em modo de operação batelada foram usados para estudar os pré-tratamentos térmico e enzimático. O pré-tratamento térmico, alternativa mais consistente de acordo com a literatura, apresenta como desvantagem o elevado consumo energético. Dessa forma, visando a redução deste consumo, o pré-tratamento foi realizado a partir de um sistema de aquecimento solar de baixo custo, composto de tubos coletores solares, sendo comparados diferentes tempos de pré-tratamento (4, 7 e 10 horas). Em seguida, foi realizado o teste de potencial bioquímico de metano (BMP) para determinar a condição ótima de biodegradabilidade a partir dos diferentes tempos de exposição. No que diz respeito ao pré-tratamento enzimático, este foi realizado a partir da codigestão da biomassa microalgal com conteúdo ruminal em um experimento de BMP nas relações microalga/rúmen de 0,5, 1, 3 e 5. A vantagem de utilizar o conteúdo ruminal é que, além da capacidade hidrolítica amplamente reportada dos microrganismos ali presentes, utiliza-se coquetéis de enzimas naturais em detrimento ao uso de enzimas comerciais que apresentam custo elevado. Os resultados da dissertação mostraram que, com relação ao pré-tratamento térmico, a temperatura de pico atingida foi de 93°C, após 4 horas de pré-tratamento. A solubilização de DQO alcançada foi de 14%, 22% e 24% após 4, 7 e 10 horas de pré-tratamento, respectivamente. Os testes de BMP que apresentaram o maior rendimento de biogás foram após 7 e 10 horas de pré-tratamento da biomassa (210,2 mL·gSV⁻¹), com um incremento de 63% na produção de biogás em relação ao controle. Em se tratando do pré-tratamento enzimático, a codigestão na proporção 0,5 microalga/rúmen apresentou o maior rendimento de metano (299 mLCH₄·gVS⁻¹), o que corresponde a um incremento de 17% quando comparado ao rendimento teórico. Em relação a literatura prévia, os pré-tratamentos utilizados apresentaram resultados promissores.

Palavras-chave: Microalgas, Biogás, Pré-tratamento, Aquecimento solar, Conteúdo ruminal.

ABSTRACT

The microalgae biomass produced in wastewater treatment systems has a high potential for valorization through anaerobic digestion for biogas production. However, the hydrolysis of this biomass during anaerobic metabolism has certain limitations, mainly because of the high content of biopolymers of low biodegradability present in the cell wall of microalgae and the complexity of its structure. In this sense, the objective of this work was to evaluate the effect of two pretreatment techniques on the biodegradability of microalgal biomass from a high rate algae pond responsible for the post-treatment of the effluent from a UASB reactor. For this purpose, tests in batch operation mode were used to study the thermal and enzymatic pretreatments. The thermal pretreatment, the most consistent alternative according to the literature, has as a disadvantage the high energy consumption. Therefore, in order to reduce this consumption, the pretreatment was carried out using a low-cost solar heating system, composed of solar collector tubes, with different exposure times to the pretreatment being compared (4, 7 and 10 hours). Then, the biochemical methane potential test (BMP) was carried out to determine the optimal biodegradability condition from the different exposure times. Regarding the enzymatic pretreatment, it was conducted by the codigestion of microalgal biomass with rumen content in a BMP experiment, comparing the microalgae/rumen ratios of 0.5, 1, 3 and 5. The advantage of using rumen content is that, in addition to the widely reported hydrolytic capacity of its microorganisms, cocktails of natural enzymes are used instead of the use of commercial enzymes, which entails an elevated cost. The results showed that, regarding the thermal pretreatment, the peak temperature observed was 93°C, after 4 hours of pre-treatment. The COD solubilization achieved was 14%, 22% and 24% after 4, 7 and 10 hours of pretreatment, respectively. The BMP tests that showed the highest biogas yield were after 7 and 10 hours of pre-treatment of the biomass (210.2 mL.gVS⁻¹), with a 63% increase in biogas production compared to the control. In the case of enzymatic pretreatment, codigestion in the 0.5 microalgae/rumen ratio showed the highest methane yield (299 mLCH₄.gVS⁻¹), which corresponds to an increase of 17% when compared to the theoretical methane yield from the microalgal and rumen controls. Regarding the previous literature, the pre-treatments used showed promising results.

Keywords: Microalgae, Biogas, Pretreatment, Solar heating, Ruminant content.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2-1 - Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia da matéria orgânica	20
Figura 2-2 – Tipos de pré-tratamento empregados para melhora da digestão anaeróbia de microalgas.....	23
Figura 2-3 – Principais microrganismos com capacidade hidrolíticas presentes no rúmen.....	31
Figura 4-1 - Plataforma de Metanização de Resíduos Alimentares (pMethar), com suas diferentes etapas de tratamento: (1) Reator anaeróbio de mistura completa; (2) Reator UASB; (3) Separador sólido-líquido e; (4) LAT.....	38
Figura 4-2 – LAT e decantador localizados na plataforma pMethar – Campus Pampulha da UFMG.....	39
Figura 4-3 - Fluxograma do sistema integrado de metanização de resíduos orgânicos implantado no Campus Pampulha da UFMG (Ferreira, 2015)	39
Figura 4-4 – Tubos à vácuo de aquecimento solar utilizados no pré-tratamento térmico.....	40
Figura 4-5 – Frascos utilizados no teste de BMP da biomassa após pré-tratamento térmico ..	42
Figura 4-6 - Temperatura do líquido no interior dos tubos coletores durante testes preliminares	44
Figura 4-7 – Temperatura média do líquido no interior dos tubos coletores durante o pré-tratamento térmico.....	46
Figura 4-8 – Gráfico com as curvas de rendimento de biogás da biomassa de microalgas obtidas no teste de BMP após pré-tratamento térmico sob diferentes tempos de exposição.....	50
Figura 5-1 – LATs em escala piloto do laboratório de pilotos do LIPATA - UNAM	54
Figura 5-2 – Conteúdo ruminal proveniente de um abatedouro local em Querétaro, México e liquidificador industrial utilizado para homogeneização.....	55
Figura 5-3 – Frascos utilizados no pré-tratamento enzimático.....	56
Figura 5-4 – Montagem do teste de BMP da biomassa algal após hidrólise enzimática com conteúdo ruminal e equipamento automático utilizado para o teste.....	57
Figura 5-5 – Concentração de (a) DQO solúvel, (b) ácidos graxos voláteis e (c) carboidratos durante a fase de hidrólise do Experimento UNAM	61
Figura 5-6 – Concentração inicial e final de SV durante a fase de hidrólise na Etapa 1.....	64
Figura 5-7 – Rendimento de metano a partir da codigestão anaeróbia de microalgas e conteúdo ruminal nas proporções 0,5, 1, 3 e 5.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Rendimento de metano acumulado para diferentes microalgas após pré-tratamento térmico.....	26
Tabela 2.2 – Rendimento de metano acumulado para diferentes resíduos orgânicos após pré-tratamento enzimático.....	29
Tabela 2.3 - – Rendimento de metano acumulado na codigestão de microalgas com diferentes resíduos orgânicos	34
Tabela 4.1 – Demanda Química de Oxigênio solúvel das amostras submetidas ao teste preliminar de pré-tratamento térmico nos tubos coletores – Dia 1.....	44
Tabela 4.2 - Demanda Química de Oxigênio solúvel das amostras submetidas ao teste preliminar de pré-tratamento térmico nos tubos coletores – Dia 2.....	45
Tabela 4.3 – Solubilização da biomassa (%) de microalgas após o pré-tratamento térmico solar para os tempos de exposição de 4, 7 e 10 horas	47
Tabela 4.4 – Resultados do teste de Scheffé para significância da solubilização da biomassa no pré-tratamento térmico	48
Tabela 4.5 – Concentração de sólidos voláteis do inóculo anaeróbio e dos substratos utilizados no teste de BMP da biomassa após pré-tratamento térmico.....	49
Tabela 4.6 – Teste de BMP da biomassa microalgal após pré-tratamento térmico sobre diferentes tempos de exposição. Médias (Desvio padrão)	50
Tabela 5.1 – Montagem do experimento de hidrólise enzimática das microalgas a partir do conteúdo ruminal.....	56
Tabela 5.2 – Teor de sólidos voláteis dos substratos e inóculos avaliados no experimento de codigestão de biomassa algal e conteúdo ruminal.....	58
Tabela 5.3 – Solubilização (%) da biomassa na fase de hidrólise do Experimento UNAM....	60
Tabela 5.4 – Eficiência da hidrólise em termos de % de DQO particulada inicial solubilizada durante a fase de hidrólise do Experimento UNAM	62
Tabela 5.5 – Caracterização dos inóculos utilizados no teste de BMP de codigestão da biomassa de microalgas com conteúdo ruminal.....	65
Tabela 5.6 – Rendimentos experimental e teórico de metano (mL CH ₄ /g VS) a partir da codigestão de biomassa microalgal e conteúdo ruminal em diferentes razões. Médias (Desvio padrão).....	66

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BMP – Teste do potencial biometanogênico

CH₄ – Gás metano

CO₂ – Dióxido de carbono ou gás carbônico

CSTR – Continuous stirred tank reactor (ou em português, reator de mistura completa e fluxo contínuo)

DQO – Demanda Química de Oxigênio

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

LAT – Lagoas de Alta Taxa

LIPATA – Laboratorio de Investigación de Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (ou em português, Laboratório de Processos Avançados de Tratamento de Águas)

N₂ – Gás Nitrogênio

NaOH – Hidróxido de Sódio

TDH – Tempo de detenção hidráulico

UNAM – Universidad Nacional Autónoma de México

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO COM MICROALGAS.....	18
2.2	VALORIZAÇÃO DA BIOMASSA: DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	19
2.3	TÉCNICAS DE PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA MICROALGAL.....	22
2.3.1	<i>Pré-tratamento térmico</i>	24
2.3.2	<i>Pré-tratamento enzimático</i>	28
2.4	CODIGESTÃO ANAERÓBIA.....	33
3	OBJETIVOS.....	36
3.1	OBJETIVO GERAL.....	36
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
4	USO DE AQUECEDORES SOLARES PARA PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DA BIOMASSA MICROALGAL VISANDO INCREMENTO DA PRODUÇÃO DE METANO.....	37
4.1	INTRODUÇÃO.....	37
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.2.1	<i>Sistema integrado de tratamento de resíduos alimentares</i>	38
4.2.2	<i>Aparato experimental do pré-tratamento térmico</i>	40
4.2.3	<i>Teste BMP</i>	41
4.2.4	<i>Análise estatística</i>	43
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	43
4.3.1	<i>Efeito da temperatura e do tempo de exposição na solubilização da biomassa de microalgas</i>	43
4.3.2	<i>Efeito do pré-tratamento térmico por aquecimento solar na biodegradabilidade anaeróbia em testes BMP</i>	49
4.4	CONCLUSÕES.....	51
5	PRÉ-TRATAMENTO E CODIGESTÃO DE BIOMASSA MICROALGAL E CONTEÚDO RUMINAL: EFEITOS DE DIFERENTES RAZÕES SUBSTRATO-INÓCULO NA BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA.....	52
5.1	INTRODUÇÃO.....	52
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	53
5.2.1	<i>Etapa 1: Hidrólise da biomassa microalgal pelo conteúdo ruminal</i>	53
5.2.1.1	Biomassa microalgal.....	53
5.2.1.2	Conteúdo ruminal.....	54
5.2.1.3	Pré-tratamento enzimático e solubilização da biomassa.....	55
5.2.1.4	Teste do Potencial Bioquímico de metano (BMP).....	57
5.2.2	<i>Etapa 2: Pré-tratamento e codigestão anaeróbia da biomassa microalgal com conteúdo ruminal</i> 58	
5.2.2.1	Biomassa microalgal.....	58
5.2.2.2	Conteúdo ruminal.....	58
5.2.2.3	Teste BMP.....	58
5.2.3	<i>Análise estatística</i>	59
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	60
5.3.1	<i>Etapa 1: Efeito da temperatura e das relações microalga/conteúdo ruminal na solubilização da biomassa de microalgas</i>	60
5.3.2	<i>Etapa 2: Efeito das relações microalga/conteúdo ruminal na solubilização e aumento da biodegradabilidade da biomassa de microalgas</i>	64
5.4	CONCLUSÕES.....	68
6	CONCLUSÕES.....	69
7	DISCUSSÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES.....	71
8	REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

Na última década o debate sobre o impacto das ações humanas no aumento da temperatura média do planeta têm ganho um protagonismo cada vez maior a medida que os efeitos do aquecimento global se tornam cada vez mais palpáveis. A partir do momento que estudantes fazem greve por todo planeta cobrando ações diretas de seus governantes, a busca por fontes de energias renováveis a despeito do uso indiscriminado de combustíveis fósseis faz-se improtelável, e esforços também devem ser despendidos pela comunidade científica.

Neste sentido, a produção de biocombustíveis a partir da biomassa de microalgas tem sido extensivamente estudada como fonte de energia renovável de terceira geração, ou seja, àquela que apresenta elevado potencial mas ainda não possui demonstração em grandes escalas ou apresenta limitações para comercialização (SARATALE *et al.*, 2018). Há décadas diferentes pesquisas tem mostrado o potencial desta biomassa para produção de hidrogênio a partir de processos fotobiológicos; biodiesel, a partir da os lipídeos extraídos de suas células; bioetanol, a partir da fermentação de carboidratos; e biogás a partir da digestão anaeróbia (CÓRDOVA *et al.*, 2018; TEMPLETON; LAURENS, 2015).

Diversas são as vantagens obtidas a partir da produção de biocombustíveis a partir da biomassa de microalgas, dentre elas a elevada taxa de crescimento desta biomassa em comparação com as culturas plantadas e o fato de que sua produção não compete pelo uso do solo com culturas alimentícias (HERNÁNDEZ; PARRA; VARÓN, 2015; PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011). Além disso, esta biomassa apresenta potencial de crescimento em águas de diferentes qualidades, com por exemplo em sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias.

Sistemas de tratamento de águas residuárias à base de microalgas figuram como uma importante alternativa aos sistemas convencionais de lodos ativados. Sua principal vantagem é o fato de não requerer aeração mecânica, visto que o oxigênio dissolvido é fornecido ao meio através da fotossíntese realizada por estes microrganismos. Ademais, culturas de microalgas são capazes de realizar a remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo através de diferentes mecanismos, como assimilação ou precipitação (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011; RAWAT *et al.*, 2011; XIA; MURPHY, 2016).

Outra vantagem é a possibilidade de combinar o tratamento de águas residuárias e a produção de biocombustíveis quando a biomassa é separada ao fim do tratamento. Particularmente, a digestão anaeróbia é a tecnologia mais aplicada quando se trata do aproveitamento de resíduos

orgânicos gerados em estações de tratamento de efluentes para recuperação energética, além de se tratar da prática de aproveitamento da biomassa microalgal mais viável economicamente (CÓRDOVA *et al.*, 2018; SARATALE *et al.*, 2018). Em relação ao rendimento de metano obtido a partir da digestão anaeróbia de microalgas, estudos reportam valores entre 90 – 400 mL CH₄gSV⁻¹ (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012a, b; UGGETTI *et al.*, 2016).

Se tratando da digestão anaeróbia de microalgas, a etapa de hidrólise tem um papel fundamental, visto que a composição da parede celular destes microrganismos impede que a matéria orgânica intracelular esteja disponível para o metabolismo anaeróbio (UGGETTI *et al.*, 2016). Usualmente, microalgas possuem materiais recalcitrantes em sua composição, como lignina, o que leva a altos valores de taxa de hidrólise durante sua digestão anaeróbia. Todavia, existem técnicas de pré-tratamento consolidadas que podem aumentar a biodegradabilidade desta biomassa a partir da ruptura da parede celular, muitas delas derivadas de experiências provenientes do aproveitamento energético do lodo de esgotos (CÓRDOVA *et al.*, 2018).

Diferentes técnicas de pré-tratamento de microalgas tem sido pesquisadas, sejam elas físicas, que visam a ruptura da parede celular por meio de aquecimento, aliado ou não com o aumento da pressão, aplicação de ultrassom, micro-ondas ou até mesmo moagem; ou digestivas, que tornam a parede celular mais permeável a partir da digestão química (alcalina ou ácida) ou enzimática (por meio de enzimas comerciais ou naturais) (CÓRDOVA *et al.*, 2018; SARATALE *et al.*, 2018). Entretanto, alguns autores argumentam que, dependendo do pré-tratamento aplicado, o balanço energético final e a viabilidade econômica da produção de biogás a partir desta biomassa pode ser comprometida, de modo que as técnicas que possuem melhor custo-benefício são aquelas que apresentam menor requerimento energético (PASSOS; FERRER, 2014).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito de duas técnicas de pré-tratamentos de baixo custo e demanda energética no aumento da biodegradabilidade da biomassa microalgal, proveniente de lagoas de alta taxa. Se tratam do pré-tratamento térmico a partir de aquecedores solares e o pré-tratamento enzimático a partir da inoculação com microrganismos hidrolíticos provenientes do resíduo do rúmen de ruminantes após abate.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Sistemas de tratamento de esgoto com microalgas*

Sistemas de tratamento de esgoto evoluíram consideravelmente nas últimas décadas. Não obstante, no Brasil ainda há um déficit no setor, principalmente em áreas rurais. Segundo o Atlas Esgotos – Despoluição das Bacias Hidrográficas, 61,4% dos esgotos gerados no país são coletados e pouco mais de 42,6% dos esgotos são coletados e tratados (ANA, 2017). Neste cenário, alternativas tecnológicas que demandam um baixo custo de operação e uma simples manutenção são preferíveis. Em geral, sistemas de tratamento de esgoto estão cada vez mais sendo apontados como sistemas que devem reduzir a demanda energética e impactos ambientais associados. Ao contrário, tais processos devem valorizar matéria orgânica e nutrientes nos efluentes para o seu reaproveitamento e reciclagem.

Nesse cenário, sistemas de esgoto baseados em microalgas, como lagoas de alta taxa - LAT, são opções para tratar o efluente e produzir uma biomassa de microalgas, rica em carbono, nitrogênio e fósforo. As microalgas compõe um diverso grupo de organismos foto-autotróficos, de diferentes grupos filogenéticos, também conhecidas como algas marinhas, algas verdes, vermelhas e marrons (PASSOS, 2014; SARATALE *et al.*, 2018).

Microalgas são microrganismos unicelulares fotossintéticos, capazes de viver em água doce e salgada, convertendo dióxido de carbono e água em biomassa. Na ficologia aplicada, o termo microalga se refere aos organismos microscópicos eucariontes e bactérias fotossintetizantes (cianobactérias), com tamanho usual entre 1-10 μ m (PASSOS, 2014; XIA; MURPHY, 2016). São compostas basicamente de carboidratos, proteínas e lipídeos, cuja proporção em massa seca varia entre 4-64%, 6-61% e 2-40%, respectivamente (DEMIRBAS, 2010).

LATs para o tratamento de esgoto foram desenvolvidas por primeira vez na década de 1950 na Califórnia, EUA, (OSWALD; GOLUEKE, 1960) e desde então vem sendo aplicadas em todo o mundo para tratar uma variedade de efluentes sanitários, industriais e agrícolas (CHRISTENSON; SIMS, 2011). Nessas unidades, a fotossíntese realizada por microalgas provê o oxigênio necessário para bactérias heterotróficas oxidarem a matéria orgânica sem necessidade de aeração externa. Com isso, o consumo energético é por volta de 0,02 kWh m⁻³, mais de 50% menos quando comparado a sistemas de lodo ativados (PASSOS *et al.*, 2017). Além disso, a biomassa microalgal produzidos em LATs podem ser processadas e valorizadas em diferentes produtos de valor, como ração animal, fertilizante agrícola ou biocombustíveis,

como o biogás, biodiesel, bioetanol e biometano (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012b). Literatura recente mostrou uma eficiência da remoção de matéria orgânica de 90% da demanda química de oxigênio (DQO) e 95% de amônia (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011; PASSOS *et al.*, 2017), associado com uma produção de biomassa microalgal de 12-40 g TSS/m²d (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011).

Entretanto, a eficiência do processo de tratamento está relacionado a uma eficiente separação das microalgas do efluente final. Nesse contexto, a auto-floculação e biofloculação que ocorre com o crescimento de microalgas e bactérias em sistemas de tratamento de esgoto, é potencialmente positivo na separação e concentração dessa biomassa através de sedimentação. Além disso, esses sistemas apresentam um alto potencial de produtividade, visto que se trata de um ambiente mixotrófico, em que microalgas utilizam tanto fontes de carbono orgânica e inorgânica como também obtêm energia através da luz, o que reduz a perda da biomassa em períodos de pouca ou muita iluminação – foto-inibição (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011; PASSOS; FERRER, 2014; XIA; MURPHY, 2016).

2.2 Valorização da biomassa: Digestão anaeróbia

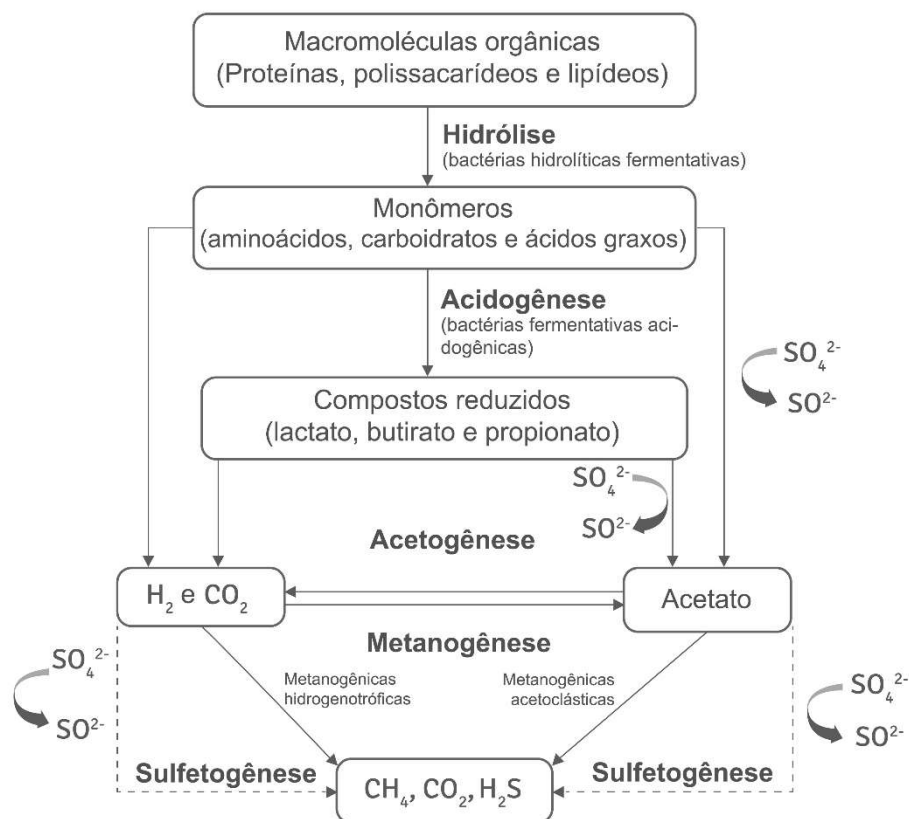
Em relação ao aproveitamento da biomassa, o processo de digestão anaeróbia tem sido amplamente estudado para produção de biogás. A digestão anaeróbia consiste na degradação de moléculas orgânicas complexas em ácidos orgânicos e biogás. Trata-se de um ecossistema onde diversos grupos de microrganismos convertem matéria orgânica complexa em metano, gás carbônico, água, sulfeto de hidrogênio, amônia e novas células bacterianas (YOUNG & MCCARTY, 1969; CHERNICHARO, 2016).

Como os microrganismos não são capazes de assimilar matéria orgânica particulada, o metabolismo anaeróbio se inicia com a hidrólise de materiais orgânicos complexos em materiais dissolvidos mais simples, realizada por bactérias fermentativas hidrolíticas, através de exoenzimas. Em seguida, bactérias fermentativas acidogênicas degradam os produtos da hidrólise em ácidos orgânicos, principalmente acético, propiônico e butírico. Bactérias sintróficas acetogênicas realizam então a oxidação desses compostos intermediários em substratos apropriados aos organismos metanogênicos: acetato, gás hidrogênio e dióxido de carbono. Por fim, na última etapa da digestão, arqueias metanogênicas produzem metano a partir da fermentação do ácido acético (arqueias metanogênicas acetoclásticas) e/ou a partir da redução do dióxido de carbono, utilizando o hidrogênio (arqueias metanogênicas

hidrogenotróficas) (YOUNG & MCCARTY, 1969; METCALF & EDDY, 2003; CHERNICHARO, 2016).

Outra rota possível para conversão de ácidos orgânicos e hidrogênio é a redução do sulfato a sulfeto, realizada por bactérias redutoras de sulfato. Trata-se de um grupo de organismos bastante versátil, que se utilizam de derivados de enxofre como aceptores finais de elétrons e metabolizam vários substratos, competindo, assim, com as arqueias metanogênicas e bactérias acetogênicas (METCALF & EDDY, 2003; CHERNICHARO, 2016). A Figura 2-1 apresenta, de maneira simples, o metabolismo anaeróbico e os diversos grupos microbianos envolvidos no tratamento anaeróbico de esgoto sanitário.

Figura 2-1 - Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia da matéria orgânica



Fonte: Adaptado de Chernicharo & Bressani-Ribeiro (2019).

O grupo de microrganismos responsáveis pelas etapas de hidrólise, acidogênese e acetogênese é composto tanto de bactérias facultativas quanto anaeróbias estritas. Dentre os gêneros mais comuns estão: *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Desulphobacter*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Suntrophobacter* e *Suntrophomonas*. Os microrganismos responsáveis pela produção de metano, classificados dentro do domínio *Archaea*, são anaeróbios estritos. Os principais

gêneros identificados são *Methanosarcina* e *Methanothrix*, que utilizam acetato para produzir metano e dióxido de carbono; e *Methanobacterium*, *Methanobacillus* e *Methanococcus*, que produzem metano a partir do gás carbônico e gás hidrogênio. Vários dessas arqueias metanogênicas identificadas em digestores anaeróbios são similares àquelas encontradas em ambientes anaeróbios como o rúmen de ruminantes e sedimentos orgânicos do fundo de lagos (METCALF & EDDY, 2003; CHERNICHARO, 2016).

O rendimento teórico de metano obtido a partir de microalgas é estimado entre 0,09-0,40 L CH₄:gSV⁻¹ (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012b). Todavia, na prática, os resultados reportados são menores. Um dos principais aspectos que limitam a biodegradabilidade anaeróbia das microalgas é a complexidade da estrutura e composição da parede celular das espécies que são comumente encontradas nesses sistemas, como do gênero *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., ou *Stigeoclonium* sp. (CARRERE *et al.*, 2016; CARRILLO-REYES; BARRAGÁN-TRINIDAD; BUITRÓN, 2016; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012b; PASSOS *et al.*, 2014).

A parede celular fornece à célula proteção física contra microrganismos predadores e resistência ao ambiente severo que normalmente se dá pela alta carga de contaminantes e condições climáticas variáveis. Alguns dos principais componentes da parede celular são a celulose, a hemicelulose e a pectina, podendo ainda conter biopolímeros menos comuns que fornecem resistência extra à célula (CARRILLO-REYES; BARRAGÁN-TRINIDAD; BUITRÓN, 2016). Estes compostos prejudicam a etapa de hidrólise da biomassa no processo de digestão anaeróbia, uma vez que a matéria orgânica retida no citoplasma da célula não é acessível facilmente por microrganismos anaeróbios, sendo a hidrólise desse material influenciada por diversos fatores, tais como temperatura do reator, tempo de residência do substrato, composição do substrato, tamanho das partículas etc. (CARRILLO-REYES; BARRAGÁN-TRINIDAD; BUITRÓN, 2016).

A produção de metano também está relacionada com a composição macromolecular da biomassa (i.e. lipídeos, carboidratos e proteínas). Os lipídeos apresentam maior rendimento teórico de metano, seguido das proteínas e, por último, carboidratos. Contudo, carboidratos intracelulares têm sua hidrólise mais rápida, por não se tratarem de elementos estruturais da célula, de modo que se tornam disponíveis para a digestão anaeróbia mais facilmente (DAY; SLOCOMBE; STANLEY, 2012; SIALVE; BERNET; BERNARD, 2009)

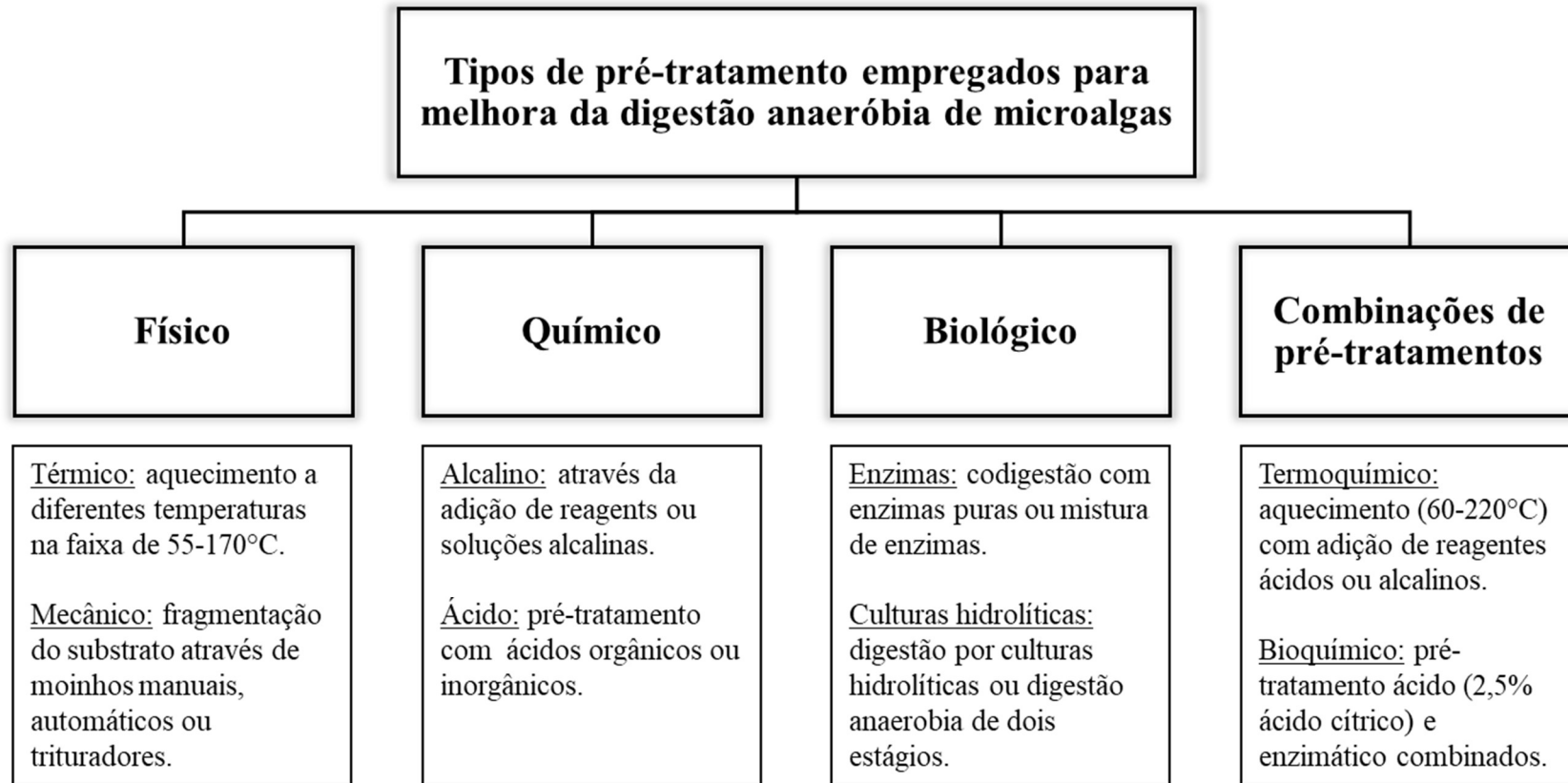
Ainda que tais entraves precisam ser melhor estudados e superados, a literatura já evidencia diversos benefícios advindos da digestão anaeróbia de biomassa microalgal para produção de biogás, tais como: possibilidade da produção da biomassa em águas residuárias das mais diversas qualidades, baixo requerimento energético nos processos de produção e conversão dessa biomassa, baixa produção de lodo, possibilidade de recirculação de nutrientes, aproveitamento quase integral da biomassa produzida e produção sustentável de metano (SARATALE *et al.*, 2018).

2.3 Técnicas de pré-tratamento da biomassa microalgal

Uma maneira de aprimorar a conversão das microalgas em biogás é através dos pré-tratamentos. Semelhantemente, técnicas de pré-tratamento de resíduos orgânicos tem sido amplamente investigadas para acelerar e incrementar a hidrólise da biomassa e aumentar tanto a biodisponibilidade quanto a biodegradabilidade das macromoléculas para a comunidade microbiana no reator anaeróbio. Diversas técnicas de pré-tratamento têm sido aplicadas para o pré-tratamento de microalgas, dentre elas o pré-tratamento térmico, mecânico, biológico (enzimático) e químico (CARRERE *et al.*, 2016; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012b; SARATALE *et al.*, 2018), como apresentado na Figura 2.2.

Estudos apontam que o tratamento térmico tem sido o mais estudado para aumento do rendimento de metano a partir da digestão anaeróbia de microalgas, com a existência de plantas operando em escala real (hidrólise térmica). O rendimento de metano é a quantidade do gás produzido por massa de sólidos voláteis de substrato adicionado. Dentre as demais alternativas, nota-se que o pré-tratamento biológico e o enzimático possuem elevado potencial, visto seu consumo energético reduzido ou nulo e importantes resultados em escala laboratorial já apresentados (CARRERE *et al.*, 2016; SARATALE *et al.*, 2018). Dessa forma, neste trabalho serão avaliados tais pré-tratamentos, que podem favorecer um rendimento positivo no balanço energético de uma ETE com microalgas. Tais pré-tratamentos são apresentados e discutidos a seguir.

Figura 2-2 – Tipos de pré-tratamento empregados para melhora da digestão anaeróbia de microalgas



Adaptado de Saratale *et al.* (2018).

2.3.1 Pré-tratamento térmico

No pré-tratamento térmico, o calor aplicado rompe parcial ou totalmente as ligações químicas das moléculas que compõe a biomassa, principalmente da sua parede celular, desintegrando-a e/ou causando sua clivagem, liberando, assim, os componentes intracelulares para o meio aquoso (SARATALE *et al.*, 2018). As temperaturas aplicadas para microalgas variam entre 50 e 180°C (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012a; PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013) (Tabela 2.1). O pré-tratamento térmico é subdividido em diferentes tipos, a depender das condições de temperatura e pressão, quais são: baixa temperatura (< 100°C), hidrotérmico (>100°C) e explosão de vapor (140 – 180°C, 4 – 6 bar). Nesta pesquisa será estudado o pré-tratamento térmico de baixa temperatura, já que foi definido em pesquisas anteriores como o mais eficiente em termos energéticos (baixa demanda de energia associado a uma alta eficiência de incremento de metano) (PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013).

Estudos científicos sobre o pré-tratamento térmico mostram que ambos parâmetros associados, a temperatura e o tempo de exposição afetam a biodegradabilidade da biomassa ao final (CARRERE *et al.*, 2016). Contudo, há pesquisas que argumentam que a temperatura, mais que o tempo de exposição, que influencia de fato no aumento da concentração de matéria orgânica solúvel e biodegradável. Um estudo prévio testou diferentes temperaturas entre 110 – 170°C e os resultados demonstraram que, independentemente do tempo de exposição, a biodisponibilidade e a biodegradabilidade da biomassa de microalgas aumentou de maneira concomitante ao aumento da temperatura (ALZATE *et al.*, 2012). Além disso, outro estudo obteve resultados satisfatórios de aumento da produção de metano após pré-tratamento a 75 °C por 10 horas, alcançando valores 70% maior que o reator controle, sem pré-tratamento. Os autores também relataram um balanço energético positivo, com 30% mais energia produzida do que consumida na ETE e a ruptura de praticamente todas as células de microalgas, permanecendo intactas somente as células de espécies de elevada resistência, como diatomáceas (PASSOS; FERRER, 2014).

Além da menor demanda por energia para aquecimento em relação aos demais, esse tipo de pré-tratamento apresenta boa flexibilidade de escalonamento e potencial bastante promissor. Como desvantagem é citado o elevado tempo de exposição ainda requerido, o qual necessita otimização (CARRERE *et al.*, 2016). Outros autores citam que o pré-tratamento térmico, quando seguido da digestão anaeróbia em temperatura ambiente (20°C) pode ser utilizado para redução do requerimento energético (JANKOWSKA; SAHU; OLESKOWICZ-POPIEL,

2017). A Tabela 2.1 resume os principais trabalhos publicados e resultados do pré-tratamento térmico aplicado a microalgas prévio a sua digestão anaeróbia. Como pode ser visto, houve incrementos reportados de metano na faixa de 3 a 220 %. Essa ampla variação se deve às diferentes condições de pré-tratamento, mas também nas diferentes espécies de microalgas usadas e nas condições do experimento de biodegradabilidade.

Uma possibilidade tecnológica sustentável para o pré-tratamento térmico seria utilizar a energia solar ao invés da energia elétrica de outras fontes. Até o momento, não foram encontrados estudos que avaliem o uso de sistemas de aquecimento solar para pré-tratamento térmico de biomassa visando o aumento da sua biodegradabilidade. Essa tecnologia tem sido usado no entanto para outros fins, como a desinfecção de água e esgoto (Carielo et al., 2017; Pichel et al., 2016). Por exemplo, um estudo em batelada automatizado em sistemas de aquecimento solar a vácuo a 85 °C, alcançou a eficiência de eliminação de todos os microrganismos avaliados, assegurando a portaria de potabilidade brasileira em relação a esse quesito (Carielo et al., 2017).

Tabela 2.1 - Rendimento de metano acumulado para diferentes microalgas após pré-tratamento térmico

Resíduo	Condições de pré-tratamento	Condições da digestão anaeróbia	Resultados	Referência
Microalga proveniente de sistemas de tratamento de esgoto	100°C, 8 horas	Batelada	33% de incremento na produção de metano. ¹	(CHEN; OSWALD, 1998)
Microalga: <i>Scenedesmus</i>	90°C, 3 horas	Batelada, 35°C	220% de incremento na produção de metano. ¹	
Microalga: <i>Scenedesmus</i>	80°C, 25 minutos	Batelada, 35°C	57% de incremento na produção de metano. ¹	(GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ <i>et al.</i> , 2012a)
Microalgas: <i>Scenedesmus</i> e <i>Clamydomonas</i>	55°C, 12 e 24 horas	Batelada, 35°C	Redução de 4-8% na produção de metano. ¹	(ALZATE <i>et al.</i> , 2012)
Microalgas: <i>Acutodesmus obliquus</i> e <i>Oocystis</i> sp.	55°C, 12 e 24 horas	Batelada, 35°C	Redução de 3-13% na produção de metano. ¹	(ALZATE <i>et al.</i> , 2012)
Microalga: <i>Microspora</i>	55°C, 12 e 24 horas	Batelada, 35°C	Redução de 4-5% na produção de metano. ¹	(ALZATE <i>et al.</i> , 2012)
Microalga: <i>Chlorella vulgaris</i>	120°C, 40 minutos	Batelada, 35°C	92% de incremento na produção de metano. ¹	(MENDEZ <i>et al.</i> , 2013)
Microalgas: <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Scenedesmus obliquus</i>	165°C, 30 minutos	Batelada, 38°C	44% de incremento na produção de metano. ¹	(OMETTO <i>et al.</i> , 2014)
Microalga proveniente de sistemas de tratamento de esgoto	95°C, 10 horas	Contínua, TDH de 15 dias, 37°C	20% de incremento na produção de metano. ¹	(PASSOS; FERRER, 2014)
Microalga proveniente de sistemas de tratamento de esgoto	95°C, 10 horas	Contínua, THD de 20 dias, 37°C	72% de incremento na produção de metano. ¹	(PASSOS; FERRER, 2014)
Microalga proveniente de sistemas de tratamento de esgoto	75°C, 10 horas	Contínua, TDH de 20 dias, 37°C	67% de incremento na produção de metano. ¹	(PASSOS; FERRER, 2014)
Microalga: <i>Scenedesmus obliquus</i>	120°C, 1,5 horas	Batelada, 38°C	37% de incremento na produção de metano. ¹	(CAMPO <i>et al.</i> , 2018)

Resíduo	Condições de pré-tratamento	Condições da digestão anaeróbia	Resultados	Referência
Microalga: <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	98°C, 6 horas	Batelada, 37°C	76% de incremento na produção de metano. ¹	(CORTÉS-CARMONA <i>et al.</i> , 2018)
Microalga proveniente de sistemas de tratamento de esgoto	120°C, 1 hora	Batelada, 35°C	18% de incremento na produção de metano. ¹	(PASSOS <i>et al.</i> , 2018)
Microalga proveniente de sistemas de tratamento de esgoto	180°C, 15 minutos	Batelada, 35°C	18% de incremento na produção de metano. ¹	(PASSOS <i>et al.</i> , 2018)
Microalga proveniente de sistemas de tratamento de esgoto	75°C, 10 horas	Batelada, 35°C	62% de incremento na produção de metano. ¹	(SOLÉ-BUNDÓ <i>et al.</i> , 2018)

Adaptado de Passos, García & Ferrer (2013) e expandido pelo autor.

¹Em comparação com o controle.

2.3.2 Pré-tratamento enzimático

O pré-tratamento biológico ou enzimático envolve o uso de enzimas ou microrganismos para realizar a hidrólise da biomassa de resíduos a ser digerida anaerobicamente. No que diz respeito à hidrólise de microalgas, as principais enzimas aplicadas com este propósito são a hemicelulase, pectinase, protease e amilase (EHIMEN *et al.*, 2013). Este pré-tratamento pode ser realizado tanto por enzimas puras, coquetéis enzimáticos (mistura de enzimas puras ou extratos produzidos por consórcio de microrganismos) quanto pelo uso de culturas de microrganismos com atividades hidrolíticas e enzimáticas em contato direto com a biomassa (CARRILLO-REYES; BARRAGÁN-TRINIDAD; BUITRÓN, 2016).

De acordo com Giménez *et al.* (2017), a principal vantagem do pré-tratamento enzimático é o seu balanço energético mais favorável em relação às demais alternativas, que demandam acentuado consumo energético, o que pode ser um fator crucial para sua implementação em escala plena. Contudo, os autores destacam que enzimas puras podem acarretar um custo considerável ao processo, apesar de apontarem a escassez de estudos que avaliam aspectos econômicos.

Neste sentido, diversas pesquisas têm avaliado a aplicação de enzimas naturais e coquetéis de microrganismos cultivados para pré-tratamento da biomassa. Carrillo-Reyes *et al.* (2016) e Giménez *et al.* (2017) apontam o elevado potencial de culturas hidrolíticas obtidas de ecossistemas onde ocorre naturalmente a degradação de compostos como a celulose, tais como o trato digestivo de cupins e o rúmen de ruminantes; como também alguns microrganismos com funções hidrolíticas, por exemplo algumas espécies de fungos. A Tabela 2.2 apresenta resultados de rendimento de metano após pré-tratamento enzimático a partir de enzimas comerciais, coquetéis de enzimas e culturas hidrolíticas.

Cabe ressaltar a importância da escolha da enzima, principalmente quando se trata de microrganismos ou culturas hidrolíticas. No estudo conduzido por Alexandropoulou *et al.* (2017), o rendimento de metano após o pré-tratamento com o fungo *L. menziesii* foi menor do que o obtido com a biomassa controle. Isso pode ter ocorrido devido à conversão da biomassa em dióxido de carbono durante o crescimento do fungo, o que reduz a quantidade de biomassa convertida à metano.

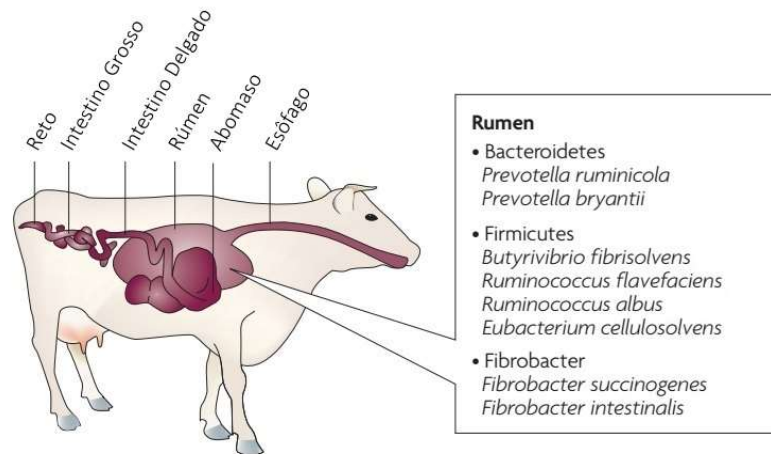
Tabela 2.2 – Rendimento de metano acumulado para diferentes resíduos orgânicos após pré-tratamento enzimático

Substrato	Microrganismo/ Enzima	Rendimento de Metano (mL CH ₄ /g SV)		Observações	Referência
		Controle	Pré-tratada		
Serragem	Fungo <i>L. menziesii</i>		62,46	Possível conversão da DQO solubilizada à CO ₂ durante o crescimento do fungo <i>L. menziesii</i> .	(ALEXANDROPOULOU <i>et al.</i> , 2017)
	<i>A. biennis</i>	95,5 ± 4,3	136,7 ± 1,1		
Microalgas	Laccase (comercial)	83 ± 1	100 ± 7		(HOM-DIAZ <i>et al.</i> , 2016)
	<i>T. versicolor</i>		144 ± 2		
Microalgas	Celulase (comercial)	188,6	203,0		(PASSOS <i>et al.</i> , 2016)
	Coquetel enzimático (celulase, glucohidrolase e xilanase)		217,3		
Esterco bovino e resíduos de milho	Digestato	173,43	217,48		(WEI <i>et al.</i> , 2015)
<i>Botryococcus braunii</i> (Microalga)	<i>A. discolor</i>	326	521		(CIUDAD <i>et al.</i> , 2014)
Esterco bovino	Líquido ruminal	228	311		(OZBAYRAM <i>et al.</i> , 2018)
Lodo da produção de papel	Líquido ruminal	-	182,7	Digestão em reator CSTR, TDH de 20 dias, 39°C, com rendimento de CH ₄ maior que estudos anteriores para o mesmo substrato.	(LI <i>et al.</i> , 2018)
Bagaço de cana	Líquido ruminal	85,6	100	Digestão anaeróbia em estado sólido com diferentes inóculos: lodo anaeróbio (controle), lodo anaeróbio com líquido ruminal e lodo anaeróbio com esterco bovino fresco.	(LIMA <i>et al.</i> , 2018)
	Esterco bovino fresco		143,3		

Substrato	Microrganismo/ Enzima	Rendimento de Metano (mL CH ₄ /g SV)		Observações	Referência
		Controle	Pré-tratada		
Lodo da produção de papel	Líquido ruminal	67,64	230		(TAKIZAWA <i>et al.</i> , 2018)
Esterco bovino	Líquido ruminal e cultura hidrolíticas enriquecida do líquido ruminal	125	261	Teste de BMP realizado em duas temperaturas: 36°C e 41°C, sendo que os maiores rendimentos foram obtidos na maior temperatura.	(OZBAYRAM <i>et al.</i> , 2018)
		168	311		
Palha de milho e esterco suíno	Líquido ruminal	-	258	Melhor condição de pré-tratamento: TDH de 3 dias, baixa mistura e relação 1:1 de líquido ruminal e substratos.	(JIN <i>et al.</i> , 2018)
Biomassa microalgal	Líquido ruminal	-	193 ± 6	Maior rendimento apresentado pra relação S/X de 0,5, que também apresentou maior eficiência de hidrólise (29%).	(BARRAGÁN-TRINIDAD; CARRILLO-REYES; BUITRÓN, 2017)
<i>U. lactuca</i> (macroalga) e lodo anaeróbio	Líquido ruminal	58,47	101,19		(ZOU <i>et al.</i> , 2018)

Uma fonte potencial de culturas hidrolíticas é o material ruminal. O trato intestinal de mamíferos possui algumas regiões com populações bastante densas de microrganismos, dentre elas o rúmen e o intestino grosso, cujo número de bactérias, por exemplo, pode exceder 10^{11} por grama. Tais regiões são conhecidas por conterem microrganismos ativos na degradação de polissacarídeos vegetais (FLINT *et al.*, 2008). As principais espécies de microrganismos presentes no rúmen bovino responsáveis pela atividade hidrolítica são *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* e *Fibrobacter succinogenes* (KOIKE *et al.*, 2003; KOLKE; KOBAYASHI, 2001). Flint *et al.* (2008) citam que grande parte da diversidade destes microrganismos ainda é indefinida. Todavia, os autores indicam que os principais microrganismos conhecidos pela degradação de polissacarídeos vegetais presentes neste ambiente pertencem aos filos *Bacteroidetes*, *Firmicutes* e *Fibrobacter*, conforme ilustrado pela Figura 2-3. Mais especificamente, os autores sugerem que os principais polissacarídeos utilizados por cada filo são: amido e xilano, pelos *Bacteroidetes*; celulose e xilano, pelos *Firmicutes*; e, pelos *Fibrobacters*, celulose.

Figura 2-3 – Principais microrganismos com capacidade hidrolíticas presentes no rúmen



Fonte: Adaptado de Flint *et al.* (2008)

Em digestores inoculados com líquido ruminal a 36°C e 41°C, foram observadas poucas mudanças em relação à comunidade microbiana, com destaque para o importante papel desempenhado pelos organismos *Firmicutes flaveciens* e *R. albus* a 41°C, afetando positivamente a produção de metano (OZBAYRAM *et al.*, 2018).

Ao se estudar a aplicação de líquido ruminal no pré-tratamento de biomassa microalgal, Barragán-Trinidad, Carrillo-Reyes e Buitrón (2017) alertam para a importância de se avaliar não somente o aumento da produção de metano ao fim da digestão anaeróbia, como também a

hidrólise da biomassa a partir do inóculo adotado para pré-tratamento. Os autores realizaram o estudo em duas etapas, avaliando diferentes razões substrato/inóculo (S/I) na hidrólise da biomassa e, posteriormente na produção de metano. A razão S/I de 0,5 apresentou a melhor eficiência de hidrólise (29%), com um rendimento de metano de 193 mL de CH₄gDQO⁻¹. Os autores realizaram também a caracterização das comunidades bacterianas no líquido ruminal coletado após seu enriquecimento, sendo as principais espécies com capacidade hidrolíticas encontradas pertencentes aos gêneros *Clostridium*, *Proteocatella*, e *Pseudomonas*.

Para além da economia de custo associado ao uso de coquetéis naturais enzimáticos provindos do rúmen de animais ruminantes, outro ponto favorável é que tais coquetéis podem ser recuperados como resíduos do processo de produção desses animais. Em relação à produção de gado de corte, a geração dos resíduos ruminais se dá nas etapas de processamento final, que pode ser realizada em três unidades diferentes (CETESB, 2008): abatedouros, onde é realizado o abate dos animais para produção de carcaças (carne com ossos) e vísceras comestíveis, não realizando a industrialização da carne; frigoríficos, onde a carne é industrializada, podendo ou não realizarem o abate também e; por fim, as graxarias, que processam os subprodutos e/ou resíduos de abatedouros e/ou frigoríficos, produzindo principalmente sebo, gordura animal e farinha de carne e ossos. A quantidade de resíduos gerados a partir de um bovino de 250 kg é de 4,5 kg de esterco, 95 kg de graxarias, 20-25 kg de conteúdo estomacal e intestinal e 15-20 L de sangue do processo de abate (IPEA, 2012).

Segundo o Diagnóstico ambiental das indústrias de abate do estado de Minas Gerais (2010), realizado pela Fundação Estadual do Meio Ambiente – FEAM, foi evidenciado que este resíduo possui elevadas concentrações de matéria orgânica, apresentando um teor de sólidos voláteis de aproximadamente 86%, referente ao conteúdo de massa seca. Sendo assim, outras formas de aproveitamento desse resíduos devem ser pensadas anteriormente à destinação final em aterros licenciados. No mesmo diagnóstico, é apontado o elevado potencial de produção de biogás a partir da digestão anaeróbia desse resíduo, com ressalvas à necessidade de realizar a digestão em conjunto com outras biomassas (codigestão), visando o balanço adequado de carbono e nitrogênio, uma vez que o conteúdo ruminal apresenta elevadas concentrações de nitrogênio.

2.4 Codigestão anaeróbia

Além do pré-tratamento, a codigestão anaeróbia também é uma alternativa para aumento da produção de metano a partir de diferentes substratos. Enquanto a primeira visa aumentar a cinética de hidrólise da biomassa, a segunda permite um balanceamento adequado da proporção sólido/líquido, de macro e micronutrientes (como a relação carbono/nitrogênio) e a diluição de compostos tóxicos ou inibitórios (como graxos e óleos) (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012b; ZHEN *et al.*, 2016). Além disso, possibilita também o tratamento simultâneo de mais de um resíduo.

Neste sentido, a codigestão de microalgas com diferentes tipos de resíduos como lodo do tratamento de esgotos sanitários (ARIAS *et al.*, 2018; CAPORGNO *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2013; WANG; PARK, 2015), esterco de avicultura (LI, R. *et al.*, 2017), glicerol (NEUMANN *et al.*, 2015) e resíduos alimentares (KIM; KANG, 2015; ZHEN *et al.*, 2016) vem sendo avaliada juntamente com o ganho na produção de metano. A Tabela 2.3 apresenta um resumo de alguns resultados de rendimento de metano acumulado a partir da codigestão de microalgas com diferentes resíduos orgânicos.

Observa-se, a partir dos resultados obtidos nas pesquisas apresentadas na Tabela 2.3, um aumento considerável no rendimento de metano acumulado na codigestão dos resíduos com a biomassa de microalgas, quando comparado com a digestão isolada de microalgas. Contudo, algumas pesquisas (CAPORGNO *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2013) apresentaram rendimentos de metano acumulado para a codigestão menores que para a digestão anaeróbia do outro resíduo (lodo secundário). Ainda que a digestão unicamente de um resíduo possa apresentar valores de rendimento acumulado de metano próximos ou ainda superiores aos obtidos na codigestão, esta apresenta vantagens o aumento na eficiência da cinética de hidrólise (CAPORGNO *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2013; WANG; PARK, 2015). Wang e Park (2015) apresentaram um rendimento acumulado de metano para a digestão somente do lodo ativado de $243 \text{ CH}_4 \text{ mL} \cdot \text{g SV}^{-1}$, maior que o obtido para a codigestão com *Micractinium* sp ($236 \text{ CH}_4 \text{ mL} \cdot \text{g SV}^{-1}$). Todavia, reportaram uma maior degradação de sólidos voláteis de 47,5% para a codigestão com lodo secundário em relação a digestão de *Micractinium* sp, além de um aumento na biodegradabilidade das microalgas devido ao aumento na taxa de hidrólise.

Tabela 2.3 - – Rendimento de metano acumulado na codigestão de microalgas com diferentes resíduos orgânicos

Tipo de Reator	Espécies de Microalgas	Tipo de Resíduo	Razão MA:R ¹	Rendimento de Metano (CH ₄ mL:g SV ⁻¹)		Referência
				Microalga	Codigestão	
Batelada	Cultura mista	Lodo secundário	0,2:0,8	82	187 ± 9	(ARIAS <i>et al.</i> , 2018)
Batelada	<i>S. capricornutum</i>	Lodo secundário	0,25:0,75	271 ± 6	394 ± 14	(CAPORGNO <i>et al.</i> , 2015)
Batelada	<i>Chlorella</i> sp.	Lodo secundário	0,41:0,59	124	295	(WANG <i>et al.</i> , 2013)
Semi-contínuo	<i>Chlorella</i> sp.	Lodo secundário	0,21:0,79	230	253	(WANG; PARK, 2015)
	<i>Micractinium</i> sp.			209	236	
Batelada	<i>B. braunii</i>	Glicerol	0,9:0,1	404 ± 11	428 ± 16	(NEUMANN <i>et al.</i> , 2015)
Semi-contínuo	<i>Scenedesmus</i> sp.- <i>Chlorella</i> sp.	Resíduo de papel	0,5:0,5	143,3 ± 7,0	292,5 ± 18,8	(YEN; BRUNE, 2007)
Batelada	<i>Chlorella</i> sp.	Resíduos alimentares	0,5:0,5	24,8 ± 2,0	116,1 ± 3,5	(KIM; KANG, 2015)
		Lodo Primário			31,1 ± 7,5	
Batelada	<i>Scenedesmus</i> sp.- <i>Chlorella</i> sp.	Resíduos alimentares	0,2:0,8	106.9 ± 3.2	639.8 ± 1.3	(ZHEN <i>et al.</i> , 2016)

¹Microalga:Resíduo

Finalmente, esse trabalho pretende avaliar o aumento na cinética e produção final de metano em testes de batelada de digestão anaeróbia de microalgas provenientes de sistemas de tratamento de esgoto, a partir de dois métodos de pré-tratamento: térmico solar e enzimático com resíduo de rúmen. Ambos apresentam diversas vantagens, como o baixo custo energético e, no caso do enzimático, o uso de um resíduo gerado no processo de produção animal, que pode ainda se caracterizar como um processo de codigestão anaeróbia.

3 OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral*

Avaliar o efeito dos pré-tratamentos térmico e enzimático no aumento da biodegradabilidade da biomassa microalgal proveniente de lagoas de alta taxa pós-tratando águas residuárias.

3.2 *Objetivos específicos*

- Avaliar o incremento da taxa de hidrólise e o rendimento de biogás e metano em testes de digestão anaeróbia em batelada após o pré-tratamento térmico via aquecimento solar em diferentes tempos de exposição;
- Avaliar o incremento da taxa de hidrólise e rendimento de biogás e metano em testes de digestão anaeróbia em batelada após o pré-tratamento enzimático por inoculação com resíduo ruminal, em diferentes proporções inóculo/substrato.
- Comparação entre os pré-tratamentos térmico via aquecimento solar e o enzimático por inoculação com resíduo ruminal.

4 USO DE AQUECEDORES SOLARES PARA PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DA BIOMASSA MICROALGAL VISANDO INCREMENTO DA PRODUÇÃO DE METANO

4.1 Introdução

Nas últimas décadas, as microalgas tem atraído atenção de pesquisadores e empreendedores como uma tecnologia sustentável para o tratamento de efluentes e concomitante recuperação de carbono e nutrientes por meio da biomassa produzida. Essa biomassa, após separação e concentração, pode ser uma fonte energética alternativa aos combustíveis fósseis. Neste sentido, a digestão anaeróbia é uma tecnologia já estabelecida e de baixo custo, além de consolidada para outros resíduos sólidos como lodo de esgotos. Recentemente, diversos estudos podem ser encontrados avaliando diferentes aspectos da digestão anaeróbia de microalgas, e sua grande maioria aponta a etapa de hidrólise como a etapa limitante do processo de conversão, principalmente devido à complexa estrutura e à composição da parede celular desses microrganismos (ALZATE *et al.*, 2012; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012b).

O pré-tratamento térmico tem sido amplamente investigado para aumentar a cinética e produção de metano anterior ao processo de digestão anaeróbia. Segundo a literatura, temperaturas tem sido aplicadas variando entre 55 e 180°C (PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013). Quando realizado em baixas temperaturas (<100°C), o pré-tratamento térmico parece aumentar a solubilidade da matéria orgânica particulada e, conseqüentemente, aumentar a taxa e o rendimento de metano, além de reduzir a demanda por energia, o que pode contribuir para um melhor balanço energético viabilidade do sistema (PASSOS; FERRER, 2014; PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013). Todavia, uma desvantagem comum de pré-tratamentos é a concentração da biomassa. Um estudo prévio mostrou que se a biomassa encontra-se diluída, i.e. com um teor de sólidos voláteis (SV) inferior a 1%, é pouco provável obter um balanço energético positivo utilizando pré-tratamento térmico, sendo ideal uma concentração superior a 3% (PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013).

Nesse contexto, o uso de fontes alternativas de energia para o pré-tratamento térmico poderia garantir o balanço energético final positivo, independente de fatores como tempo de exposição ao pré-tratamento, temperatura e concentração da biomassa. Entretanto, não foram encontrados trabalhos que avaliassem outras alternativas ao uso da energia térmica ou elétrica externa. Em localidades com alta radiação solar, como muitas regiões do Brasil, o aquecimento solar poderia ser usado como fonte de energia renovável para aquecer e pré-tratar a biomassa.

Sendo assim, de acordo com conhecimento adquirido durante revisão da literatura, o presente trabalho é o primeiro em avaliar sistemas de aquecimento solar para pré-tratamento de biomassa a baixa temperatura. Este estudo teve como objetivo avaliar a aplicação desse método alternativo para a hidrólise de microalgas cultivadas em uma lagoa de alta taxa, tratando digestato de resíduos alimentares. Nesse sentido, investigou-se o efeito de diferentes tempos de exposição na solubilização da biomassa e na cinética e produção de biogás a partir de sua digestão anaeróbia em testes em batelada ou testes potenciais bioquímicos de metano (BMP).

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Sistema integrado de tratamento de resíduos alimentares

A biomassa de microalgas usada nesse estudo foi proveniente de uma lagoa de alta taxa (LAT) para tratar o digestato de um reator anaeróbio para o tratamento de resíduos alimentares produzidos nos restaurantes universitários do campus Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais (Brasil). O sistema integrado era alimentado com em média 500 kg/d de resíduos orgânicos, e constava de uma unidade de triagem e trituração, um sistema de digestão anaeróbia em duas etapas, contando com um reator de mistura completa e um reator UASB, separadores líquido-sólido, uma LAT e um decantador para separação e concentração da biomassa (Figura 4-1).

Figura 4-1 - Plataforma de Metanização de Resíduos Alimentares (pMethar), com suas diferentes etapas de tratamento: (1) Reator anaeróbio de mistura completa; (2) Reator UASB; (3) Separador sólido-líquido e; (4) LAT



A LAT (Figura 4-2) tem um volume total de 2,5 m³, contabilizando o decantador secundário e uma profundidade de 0,3 m. A lagoa foi confeccionada em alvenaria e conta com pás mecânicas

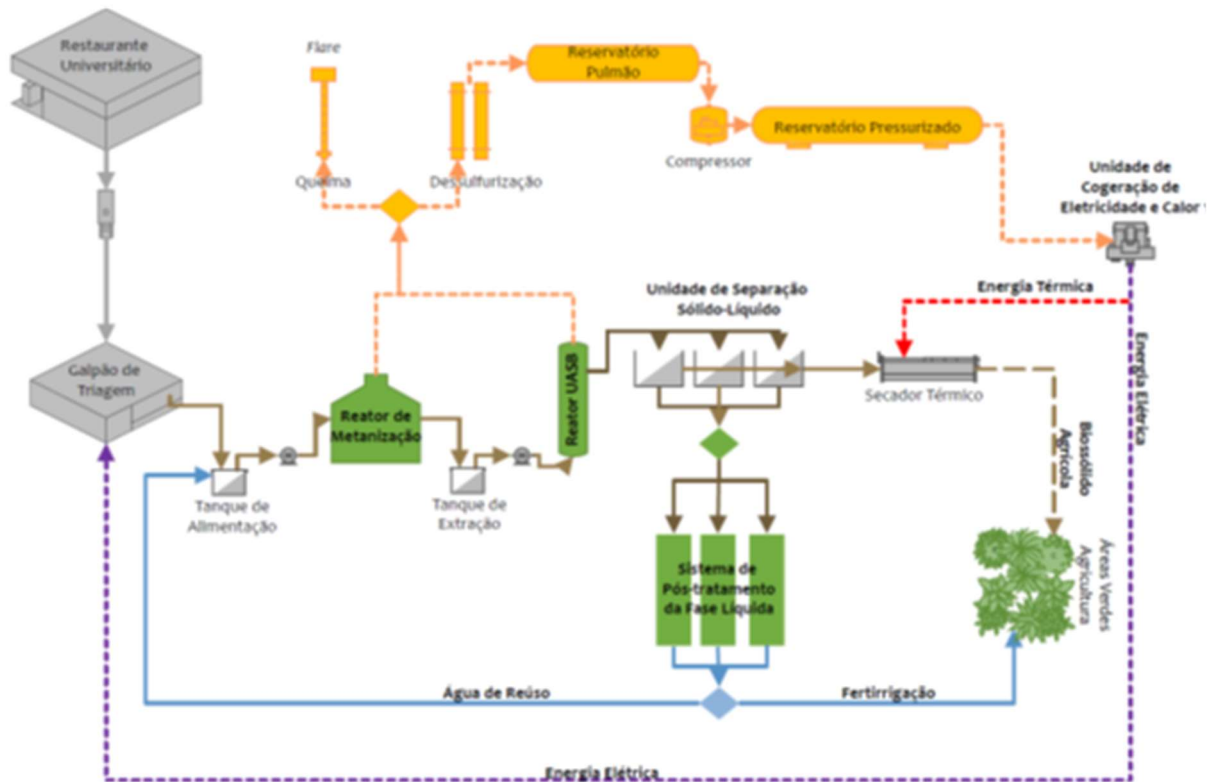
para manter todo o volume homogêneo. É operada com um TDH de 10 dias e uma carga orgânica volumétrica de $0,01-0,05 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ (5 – 25% v/v).

Figura 4-2 – LAT e decantador localizados na plataforma pMethar – Campus Pampulha da UFMG



O fluxograma da *pMethar* é apresentado na Figura 4-3.

Figura 4-3 - Fluxograma do sistema integrado de metanização de resíduos orgânicos implantado no Campus Pampulha da UFMG (Ferreira, 2015)



4.2.2 Aparato experimental do pré-tratamento térmico

Visando realizar o pré-tratamento térmico utilizando energia solar, foram instalados três tubos coletores solares na *pMethar*, adaptados de um aquecedor solar acoplado, utilizado em residências para aquecimento de água. Os tubos foram dispostos paralelamente ao eixo dos meridianos e com uma inclinação de 20° em relação ao norte magnético, visando maior aproveitamento da radiação solar ao longo do dia. Os tubos coletores são compostos de três camadas distintas, além de uma camada de vácuo entre as camadas que absorvem a energia do sol e a parte interna, onde ocorre o aquecimento da água. A primeira camada, antirreflexo, tem como objetivo evitar que a radiação recebida seja refletida. A segunda camada, principal, é responsável pela absorção da radiação solar, denominada camada absorvente, por fim, a terceira camada é reflexiva para os raios infravermelhos da luz solar. A Figura 4-4 apresenta os tubos utilizados no experimento e uma esquematização das camadas que os compõem.

Figura 4-4 – Tubos à vácuo de aquecimento solar utilizados no pré-tratamento térmico



Os tubos coletores possuíam volume interno útil aproximado de 2,8 L. Para determinar os tempos de exposição ao pré-tratamento para os testes de biodegradabilidade, foram realizados testes preliminares, em que cada tubo foi alimentado com 2,5 L de biomassa microalgal coletada

dos decantadores das LATs apresentados na Figura 4-2. A temperatura dentro dos tubos foi medida em intervalos de 30 minutos por sensores de temperatura em formato sonda e termômetro digital da marca Minipa®, modelo MT-405. Além da temperatura, foram monitorados pH, sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e demanda química de oxigênio (DQO) total e filtrada, em conformidade com *Standard Methods for evaluation of water and wastewater* (APHA-AWWA-WPCF, 2005).

Após os testes preliminares, foram estabelecidos os tempos de exposição ao pré-tratamento de 4, 7 e 10 horas. Da mesma maneira, foram monitorados os parâmetros citados no parágrafo anterior, com o acréscimo da análise de carboidratos em fase solúvel, conforme o método fenol sulfúrico (Dubois et al., 1956). Ao fim de cada tempo de exposição, a biomassa pré-tratada foi coletada para o teste BMP.

O efeito do pré-tratamento foi avaliado a partir da solubilização da matéria orgânica (DQO), ou seja, a partir do incremento de DQO solúvel antes e após o pré-tratamento, de acordo com a Equação 4.1, onde S representa o grau de solubilização após o pré-tratamento (%), DQOt o teor de DQO total, DQOs o teor de DQO solúvel após o pré-tratamento e DQOso o teor de DQO solúvel antes do pré-tratamento.

$$S (\%) = \frac{DQOs - DQOso}{DQOt - DQOso} \times 100 \quad (4.1)$$

4.2.3 Teste BMP

Após o pré-tratamento, foi realizado o teste BMP, ou o potencial bioquímico de metano. Seu objetivo é a comparação da biodegradabilidade anaeróbia da biomassa microalgal não tratada e pré-tratada sob diferentes condições. O teste foi realizado em triplicata, em frascos âmbar, com volume total de 270 mL, volume útil líquido de 180 mL e volume de armazenamento de gás de 90 mL (Figura 4.4).

Figura 4-5 – Frascos utilizados no teste de BMP da biomassa após pré-tratamento térmico



O teste de BMP foi realizado de acordo com a padronização estabelecida por Holliger *et al.* (2016), ou seja, usando uma relação substrato/inóculo S_0/X_0 de 0,5 em relação à matéria orgânica; em condições mesofílicas de temperatura (37°C); o lodo anaeróbico sendo utilizado como inóculo; usando brancos contendo somente inóculo anaeróbico para mensurar o biogás produzido a partir do próprio lodo; pH final nos frascos foi ajustado para a faixa de $6,9 < \text{pH} < 7,1$, utilizando soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e ácido sulfúrico (H_2SO_4), ambas com concentração 0,01N; e, por fim, a atmosfera dos frascos foi lavada com gás nitrogênio (N_2) comprimido por 60 segundos para garantir o meio anaeróbico. O lodo anaeróbico usado como inóculo foi coletado em um reator UASB em operação tratando esgoto doméstico.

O volume de biogás produzido foi medido diariamente utilizando um sistema composto de uma torneira descartável de 3 vias e uma seringa esmerilhada. A produção final acumulada de biogás foi calculada após subtrair o volume de biogás produzido no controle endógeno e dividido pela massa de SV de microalgas inseridos em cada reator (NmL biogás/g SV).

Para avaliar a cinética do processo de digestão anaeróbia nos testes de BMP, os dados experimentais foram ajustados para um modelo de cinética de primeira ordem (Equação 4.2.) pelo método do quadrado mínimo.

$$B = B_0 * (1 - e^{-kt}) \quad (4.2)$$

Em que B_0 é o potencial de produção de biogás (mL biogás/g SV), k é a constante cinética de primeira ordem (d^{-1}), B é a produção de biogás acumulada no tempo t (mL biogás/g SV), e t é o tempo em dias.

4.2.4 Análise estatística

O efeito do pré-tratamento térmico na solubilização da biomassa de microalgas, na taxa de hidrólise da digestão anaeróbia e no rendimento de biogás obtido no teste de BMP, foram determinados a partir do teste de Análise de Variância (ANOVA) e do teste de Scheffé, com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), utilizando o software Statistica® 12.

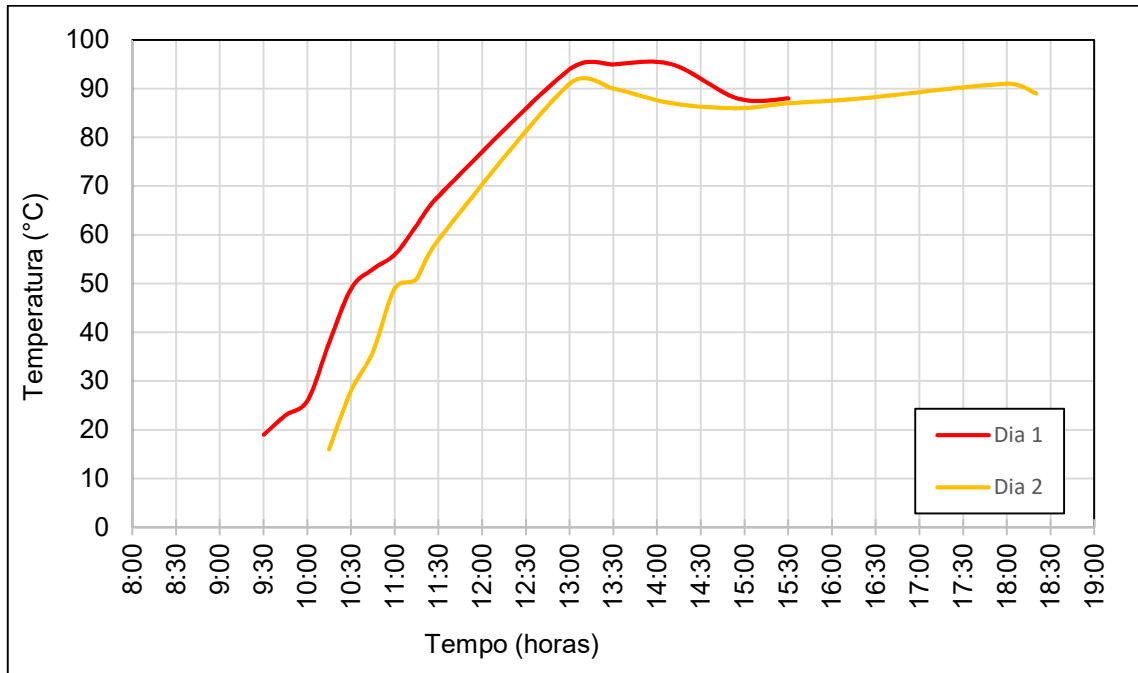
4.3 Resultados e Discussões

4.3.1 Efeito da temperatura e do tempo de exposição na solubilização da biomassa de microalgas

Um experimento preliminar foi realizado para avaliar a evolução da temperatura dentro dos tubos coletores ao longo do tempo de exposição, assim como a solubilização da biomassa de microalgas utilizada para alimentar os tubos. Para isto, os tubos foram alimentados com 2,5 L de biomassa em dois dias consecutivos, nas concentrações de 1,40 g SV/L e 1,56 g SV/L, respectivamente. Foram monitorados os parâmetros pH e DQO e a temperatura do líquido no interior dos tubos, medida a cada 30 minutos. Cabe ressaltar que os experimentos foram realizados durante o verão, em dias ensolarados com pouca interferência de nuvens.

A evolução da temperatura ao longo do tempo de exposição é apresentada na Figura 4-6. No dia 1, o experimento foi iniciado às 9:30 e concluído às 15:30, com duração total de 6 horas. Já no dia 2, o experimento teve a duração de 8 horas, mais precisamente das 10:00 às 18:00. O objetivo destes experimentos foi avaliar o aumento da temperatura e a solubilização da biomassa em diferentes tempos de exposição ao pré-tratamento: 1, 2, 4 e 6 horas de exposição no primeiro dia e 2, 4, 6 e 8 horas de exposição, no segundo dia.

Figura 4-6 - Temperatura do líquido no interior dos tubos coletores durante testes preliminares



O gráfico apresentado na Figura 4-6 teve como tempo 0 o horário correspondente de 9:30, para que seja possível comparar a evolução da temperatura em ambos os experimentos de acordo com a hora do dia, independente do horário de início de cada um. Nota-se que, em um primeiro momento, ambos os experimentos mostram um aumento linear da temperatura até que seja atingido um pico, seguido por uma relativa manutenção da temperatura até o fim do monitoramento.

Para ambos os experimentos, o pico de temperatura foi observado próximo às 13:00, com temperaturas máximas de 95 e 91°C, respectivamente. A temperatura se manteve próxima a estes valores, sendo observados valores de 89 e 88°C ao fim dos experimentos.

Em relação a solubilização da matéria orgânica, os resultados são apresentados na Tabela 4.1 e na Tabela 4.2, para os experimentos do dia 1 e do dia 2, respectivamente. Para o primeiro dia, foram monitorados os valores de pH inicial e após cada um dos tempos de exposição ao pré-tratamento, que foram: 7,04; 6,78; 6,53; 6,52 e 6,94. Nota-se que houve uma ligeira queda nos valores de pH, apresentando uma pequena acidez, mas relativamente próximos à neutralidade.

Tabela 4.1 – Demanda Química de Oxigênio solúvel das amostras submetidas ao teste preliminar de pré-tratamento térmico nos tubos coletores – Dia 1

Amostra	DQO (mg/L)	% Solubilização
Inicial (total)	1382*	-
Inicial	372	-

Amostra	DQO (mg/L)	% Solubilização
Pré-tratadas	1 hora	422
	2 horas	572
	4 horas	688
	6 horas	755

* Valor correspondente a DQO total. Os demais valores apresentados são referentes à DQO solúvel.

Tabela 4.2 - Demanda Química de Oxigênio solúvel das amostras submetidas ao teste preliminar de pré-tratamento térmico nos tubos coletores – Dia 2

Amostra	DQO (mg/L)	% Solubilização
Inicial (total)	1925*	-
Inicial	535	-
Pré-tratadas	2 horas	610
	4 horas	790
	6 horas	870
	8 horas	980

* Valor correspondente a DQO total. Os demais valores apresentados são referentes à DQO solúvel.

A partir dos dados apresentados nas tabelas anteriores, nota-se um aumento na solubilização de matéria orgânica, evidenciado pelo aumento na concentração de DQO solúvel, a medida em que se aumenta o tempo de exposição ao pré-tratamento térmico. Isto já era de se esperar, visto que há um aumento crescente na temperatura dentro dos tubos, o que acarreta na possível desintegração da parede celular desta biomassa e a consequente liberação da matéria orgânica intracelular para o meio.

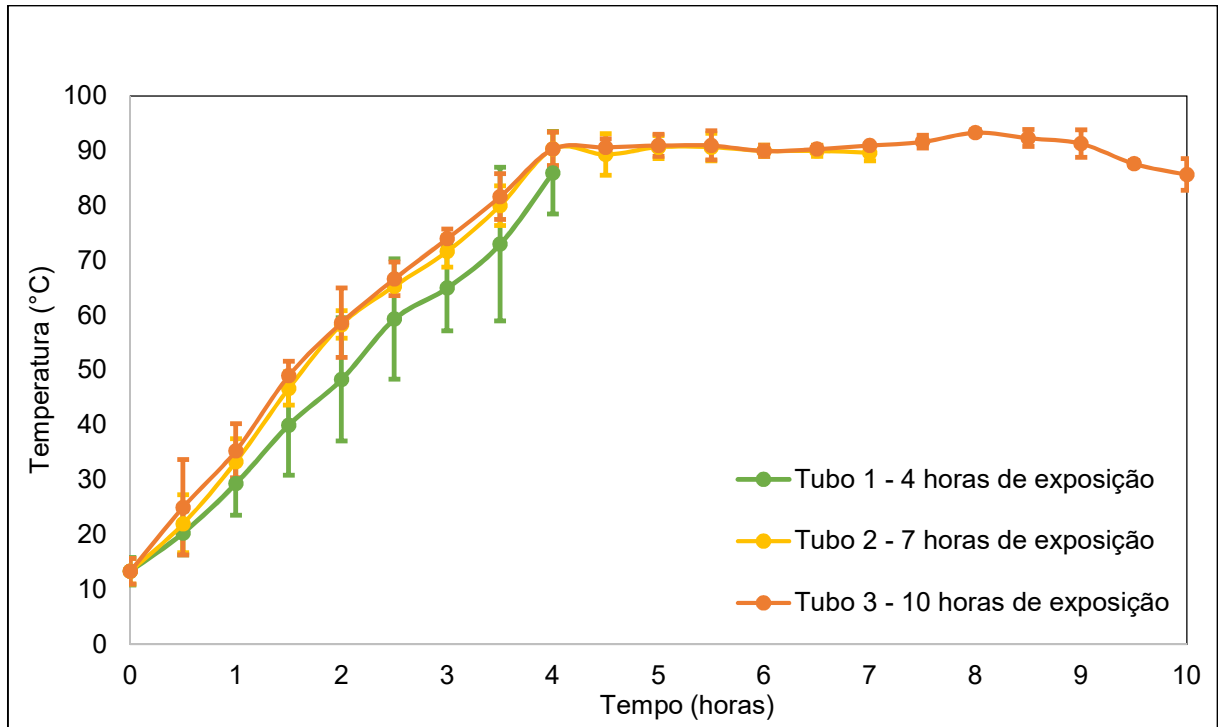
É possível observar também que os maiores percentuais de solubilização da biomassa em relação à DQO particulada inicial foram obtidos a partir de 4 horas de exposição ao pré-tratamento térmico (~ 30-60%), o que se deve as maiores temperaturas atingidas e mantidas no sistema após este tempo de exposição.

Baseado nestes resultados, a influência da temperatura e do tempo de exposição ao pré-tratamento foram estudados a partir de um novo experimento em triplicata, que avaliou os tempos de exposição de 4, 7 e 10 horas, ou seja, a primeira fase de aumento linear da temperatura (4 h), o maior período de exposição à radiação solar (10 h) e um ponto médio (7 h).

Estes experimentos também foram realizados em três dias consecutivos, tendo início às 9:00 e término às 19:00. Também foram realizados durante o verão, em dias ensolarados e com pouca ou nenhuma interferência de nuvens. Em relação à temperatura da biomassa de microalgas no

interior dos tubos, os resultados do monitoramento são apresentados no gráfico da Figura 4-7. A evolução da temperatura apresentou comportamento similar ao observado nos testes preliminares, com um aumento linear nas 4 primeiras horas, seguido de uma manutenção da temperatura no restante do experimento.

Figura 4-7 – Temperatura média do líquido no interior dos tubos coletores durante o pré-tratamento térmico



Da mesma forma, os experimentos preliminares já haviam evidenciado que a solubilização da biomassa foi maior após 4 horas de exposição ao pré-tratamento térmico, comportamento também corroborado pelos resultados apresentados na Tabela 4.3. É possível observar que os maiores percentuais de solubilização da matéria orgânica foram obtidos após 10 horas de exposição ao pré-tratamento térmico.

Tabela 4.3 – Solubilização da biomassa (%) de microalgas após o pré-tratamento térmico solar para os tempos de exposição de 4, 7 e 10 horas

Amostra	Experimento						
	A		B		C		
	DQO (mg/L)	S(%)	DQO (mg/L)	S(%)	DQO (mg/L)	S(%)	
Inicial (total)	1137*		2359*		1832*		
Inicial	253		286		284		
Pré-tratadas	4 horas	485	26%	449	8%	546	17%
	7 horas	531	31%	604	15%	626	22%
	10 horas	795	61%	649	17%	652	24%

* Valor correspondente a DQO total. Os demais valores apresentados são referentes à DQO solúvel.

As diferenças entre os percentuais de solubilização obtidos em cada experimento (A, B e C) se devem ao dia de coleta das amostras para alimentação dos tubos. Apesar dos experimentos terem sido realizados durante três dias consecutivos, as amostras foram coletadas diretamente da LAT no início de cada dia, logo antes da alimentação, para evitar qualquer influência do armazenamento da amostra em ambiente resfriado na solubilização da matéria orgânica.

Além disso, a LAT da qual as amostras foram coletadas é alimentada em fluxo semi-contínuo, de modo que a alimentação havia sido feita no dia anterior ao experimento A e a alimentação seguinte somente foi realizada no dia posterior ao experimento C. Sendo assim, devido aos processos biológicos de degradação da matéria orgânica, há de se esperar que havia uma maior quantidade de material recalcitrante nos experimentos B e C, o que explicaria os menores percentuais de solubilização quando comparados ao experimento A. Ainda que a concentração de material particulado, passível de solubilização, tenha sido expressivamente maior nos experimentos B e C, o pré-tratamento térmico aplicado, nas faixas de temperatura atingidas, não foi capaz de solubilizar essa matéria orgânica recalcitrante.

No que se refere à influência da temperatura, observa-se que os maiores percentuais de solubilização da biomassa ocorreram concomitante com as maiores temperaturas observadas (80-95°C). O que sugere que o pré-tratamento nestas temperaturas foram eficientes na solubilização de compostos que permaneceram insolúveis em menores temperaturas.

Diversos estudos prévios apontaram que o principal parâmetro de influência na solubilização da matéria orgânica pelo pré-tratamento térmico é a temperatura, tendo o tempo de exposição um menor impacto na solubilização de biomassa microalgal, com o aumento da solubilização observado nas primeiras 4 horas (CHEN; OSWALD, 1998). Todavia, os autores não avaliaram longas exposições ao pré-tratamento. Entretanto, estudos posteriores que avaliaram o pré-

tratamento térmico de baixas temperaturas demonstraram que experimentos com biomassa de microalgas pré-tratadas a 55, 75 e 95°C obtiveram um aumento da solubilidade expressivo com o aumento do tempo de exposição de 5 para 10 horas, com aumento pouco expressivo após 10 horas de exposição (PASSOS, 2014). Tais resultados foram corroborados pelos resultados dos testes realizados neste trabalho, que apresentaram maior solubilidade após 10 horas de exposição ao pré-tratamento.

Para o experimento C que, conforme apontado anteriormente, apresenta maior teor de materiais de difícil solubilização, o aumento na solubilização foi mais influenciado pela temperatura do que pelo tempo de exposição. Neste experimento, o aumento na solubilidade obtido de 7 para 10 horas de exposição foi de somente 2%, enquanto o aumento obtido entre 4 e 7 horas, onde há uma diferença na temperatura média, foi cerca de 2 vezes maior.

Para este teste, obteve-se um p-valor na Análise de Variância – ANOVA igual a 0,01, indicando haver diferenças significativas da solubilização de biomassa em pelo menos dois dos três tempos de exposição ao pré-tratamento. A partir deste resultado, foi realizado o teste de Scheffé para avaliar entre quais grupos havia diferença significativa ou não. Os resultados se encontram na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Resultados do teste de Scheffé para significância da solubilização da biomassa no pré-tratamento térmico

Tempos de exposição ao pré-tratamento	4 horas	7 horas	10 horas
4 horas		Existe diferença significativa.	Existe diferença significativa.
7 horas	Existe diferença significativa.		Não existe diferença significativa.
10 horas	Existe diferença significativa.	Não existe diferença significativa.	

O resultado do teste de Scheffé corrobora com os resultados mostrados pela literatura do tema e já discutidos anteriormente, de que a temperatura tem maior relevância do que o tempo de exposição na solubilização da biomassa, uma vez que não há diferença significativa valores de solubilização da biomassa após 7 e 10 horas de pré-tratamento.

4.3.2 Efeito do pré-tratamento térmico por aquecimento solar na biodegradabilidade anaeróbia em testes BMP

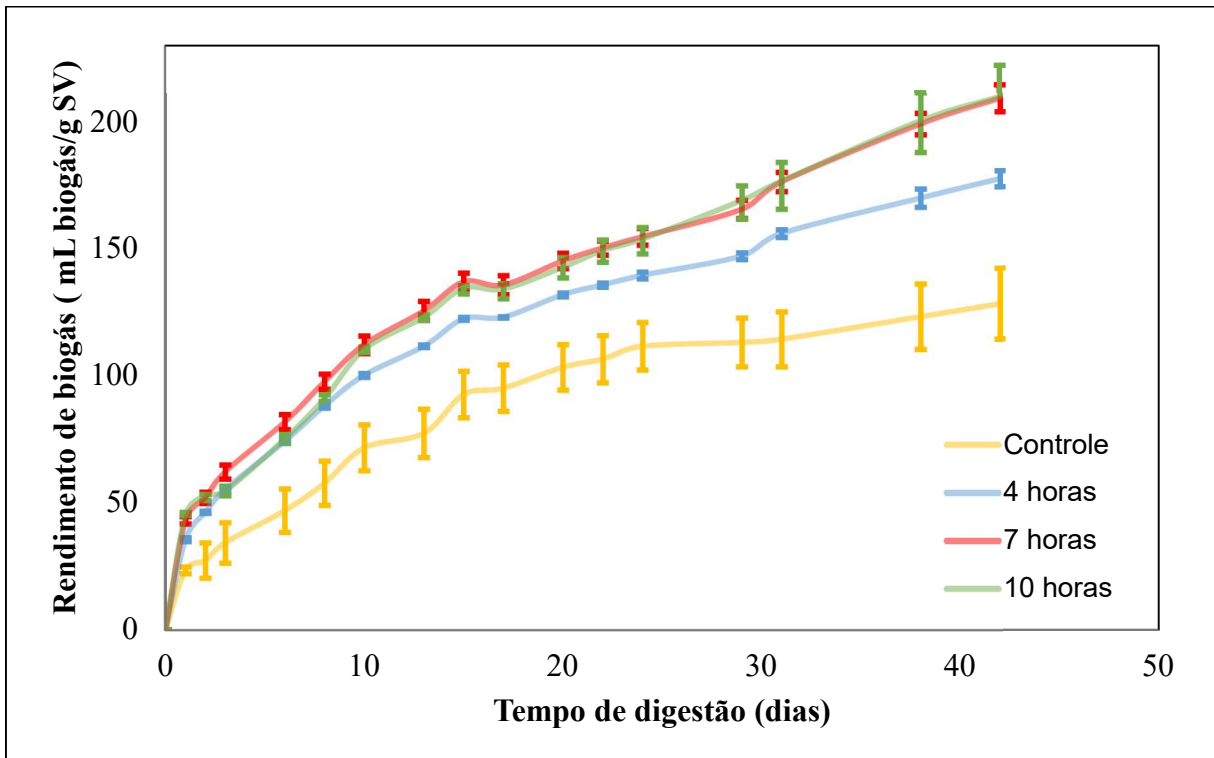
A partir da biomassa utilizada no experimento C, apresentado na Tabela 4.3, foi montado o teste de BMP para avaliar o efeito do pré-tratamento térmico por aquecimento solar na biodegradabilidade anaeróbia da biomassa microalgal. Os dados de concentração inicial das biomassas e do inóculo anaeróbio são apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Concentração de sólidos voláteis do inóculo anaeróbio e dos substratos utilizados no teste de BMP da biomassa após pré-tratamento térmico.

Amostra	Concentração (g SV/L)
Inóculo	36,35
Biomassa de microalgas não tratada - Controle	1,64
	4 horas de exposição
	1,84
Biomassa pré-tratada	7 horas de exposição
	1,81
	10 horas de exposição
	1,80

O rendimento de metano após um período de incubação de 42 dias é mostrado na Figura 4-8. Em comparação com a biomassa controle (sem pré-tratamento) todas as condições de pré-tratamento proporcionaram um aumento no rendimento final de biogás (38 – 63%). O maior rendimento de biogás foi obtido após o pré-tratamento a 7 e 10 horas de exposição, com valores de 210 NmL biogás/g SV. Essa semelhança entre ambas respostas à digestão anaeróbia está de acordo com os resultados de solubilidade obtidos, onde não houve diferença significativa.

Figura 4-8 – Gráfico com as curvas de rendimento de biogás da biomassa de microalgas obtidas no teste de BMP após pré-tratamento térmico sob diferentes tempos de exposição



Os demais resultados de rendimento final de metano e taxa de digestão anaeróbia são apresentados na Tabela 4.6. O menor valor de rendimento final de metano foi obtido para a biomassa após 4 horas de exposição ao pré-tratamento.

Já em relação à taxa de hidrólise, pode-se perceber que não houve diferenças aparentes no valor de k antes de depois das diferentes condições de pré-tratamento (0,07-0,09) (Tabela 4.6). Inclusive, os valores para os pré-tratamentos com maior rendimento de metano (7 e 10 h), apresentaram valores relativamente mais baixos de taxa inicial de degradação. Isso pode ser devido à desintegração de moléculas durante o pré-tratamento que ainda não estão prontamente biodisponíveis, mas que foram subsequentemente degradadas e convertidas a metano durante o experimento.

Tabela 4.6 – Teste de BMP da biomassa microalgal após pré-tratamento térmico sobre diferentes tempos de exposição. Médias (Desvio padrão)

Amostra	Tempo de exposição ao pré-tratamento	Solubilização (%)	Taxa de hidrólise (d-1)	Rendimento de biogás (NmL biogás/g SV)	Acréscimo (%)
Controle	-	-	0,080 (0,029)	128,6 (13,9)	-
1	4 horas	17	0,093 (0,007)	177,8 (3,1)	38%
2	7 horas	22	0,083 (0,004)	209,6 (5,3)	62,9%

Amostra	Tempo de exposição ao pré-tratamento	Solubilização (%)	Taxa de hidrólise (d-1)	Rendimento de biogás (NmL biogás/g SV)	Acréscimo (%)
3	10 horas	24	0,073 (0,004)	210,0(12,4)	63,4%
Resultados ANOVA					
p-valor	0,010		0,614	0,052	

No geral, é importante destacar que, devido ao regime de alimentação do sistema que compreende a LAT ser semi-contínuo, a biomassa utilizada no experimento C e, em seguida, no teste de BMP, poderia apresentar um conteúdo maior de material recalcitrante, o que implicaria nos valores próximos de rendimento final de metano e no baixo percentual de acréscimo em relação à biomassa controle. Ademais, o sistema, no período do experimento, apresentava baixas eficiências de separação sólido-líquido, de modo que a biomassa utilizada nos testes possuía teor de sólidos próximo de 0,1%, estando bastante diluída. Isso sugere que os rendimentos de metano poderiam ser mais altos em outros momentos de operação da LAT. Não obstante, como um experimento BMP, usado para comparar condições de pré-tratamento, os resultados permitem observar uma melhora na solubilização e biodegradabilidade da biomassa com um pré-tratamento a partir de 7 h de exposição.

4.4 Conclusões

Neste capítulo foram avaliados o efeito do pré-tratamento térmico em tubos coletores de um sistema de aquecedor solar. A eficiência do pré-tratamento foi influenciada principalmente pela temperatura, que após quatro horas de exposição se manteve na maior faixa observada (88-95°C) e que, após aumento no tempo de exposição para 7 e 10 horas ocasionou em um acréscimo de somente 2% na solubilidade da biomassa de microalgas, não havendo diferença significativa. Cabe ressaltar também a influência da data de coleta da amostra em relação à alimentação do sistema de LAT semi-contínuo, que afeta diretamente na concentração e biodegradabilidade da biomassa. Em relação aos testes de BMP, todas as condições de pré-tratamento apresentaram aumento no rendimento final de metano (18-32%) em relação ao biomassa controle. O maior rendimento de biogás foi alcançada após o pré-tratamento a 7 e 10 h, obtendo uma média acumulada de 210 NmL biogás/g SV.

5 PRÉ-TRATAMENTO E CODIGESTÃO DE BIOMASSA MICROALGAL E CONTEÚDO RUMINAL: EFEITOS DE DIFERENTES RAZÕES SUBSTRATO-INÓCULO NA BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA

5.1 Introdução

O pré-tratamento biológico de microalgas vem sendo intensamente pesquisado como uma alternativa aos demais tipos de pré-tratamento que demandam energia. Estes pré-tratamentos que requerem consumo de energia (térmico e/ou mecânico) ou mesmo maior custo devido ao uso de reagentes (químico) podem suplantiar o ganho energético com o incremento na produção de biogás, resultando em um balanço negativo ao fim do processo (JANKOWSKA; SAHU; OLESKOWICZ-POPIEL, 2017; PASSOS *et al.*, 2014).

Alguns estudos tem avaliado a hidrólise da biomassa microalgal a partir de microrganismos provenientes da fração líquida do conteúdo ruminal, após etapa de enriquecimento. Por exemplo, Barragán-Trinidad, Carrillo-Reyes e Buitrón (2017) inocularam a biomassa microalgal com o líquido ruminal em diferentes proporções S_0/X_0 , de modo que a razão de 0,5 apresentou a melhor eficiência de hidrólise (29%), com um rendimento de metano de 193 mL de CH_4 gDQO⁻¹. Ainda, Zou *et al.* (2018) obtiveram um incremento de cerca de 73% na produção de metano a partir da digestão anaeróbia da microalga *U. lactuca* após hidrólise com microrganismos presentes no conteúdo ruminal.

As bactérias degradadoras de celulose, também denominada celulolíticas, são definidas por sua capacidade de degradar e crescer a partir das mais diversas formas de celulose como única fonte de energia em cultura pura (HALLIWELL; BRYANT, 1963). Estes microrganismos formam associações com as superfícies fibrosas, formando uma espécie de biofilme. Em se tratando dos microrganismos presentes no rúmen, as comunidades bacterianas que aderem as partículas sólidas compreendem uma maior proporção de *Firmucutes* (cerca de 70%) do que a fração líquida do rúmen (TAJIMA *et al.*, 1999).

Além de sua capacidade no aceleração da hidrólise da digestão anaeróbia, o uso de coquetéis naturais enzimáticos provindos do rúmen de animais ruminantes podem ser recuperados como resíduos do processo de produção desses animais. Em relação à produção de gado de corte, a geração dos resíduos ruminais se dá nas etapas de processamento final, que pode ser realizada em três unidades diferentes (CETESB, 2008): abatedouros, frigoríficos e, graxarias. A

quantidade de resíduos gerados a partir de um bovino de 250 kg é de 4,5 kg de esterco, 95 kg de graxarias, 20-25 kg de conteúdo estomacal e intestinal e 15-20 L de sangue do processo de abate (IPEA, 2012). Dessa forma, o processo de digestão anaeróbia com resíduo ruminal pode ser caracterizado como um processo de pré-tratamento e co-digestão.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a hidrólise de microalgas cultivadas em uma lagoa de alta taxa tratando diferentes efluentes a partir de sua inoculação com conteúdo ruminal sólido. Para isso, investigou-se o efeito de diferentes relações substrato/inóculo (S_0/X_0) entre microalgas e conteúdo ruminal, na solubilização da biomassa e na cinética e produção de biogás a partir de sua digestão anaeróbia em testes em batelada.

5.2 Materiais e Métodos

A pesquisa relatada neste capítulo foi desenvolvida em duas etapas. A primeira foi realizada no *Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas – LIPATA*, sediado no *Instituto de Ingeniería da Universidad Nacional Autónoma de México – UNAM*, Campus Juriquilla, Querétaro, México. Este trabalho foi o resultado de uma parceria com os professores Dr. Germán Buitrón e Dr. Julián Carillo-Reyes, que possibilitaram um estágio em laboratório durante os meses de novembro e dezembro de 2018.

A segunda etapa do trabalho foi realizada no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – DESA, da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG com auxílio do professor Dr. Rodrigo de Melo Meneses, da Escola de Veterinária da UFMG.

5.2.1 Etapa 1: Hidrólise da biomassa microalgal pelo conteúdo ruminal

5.2.1.1 Biomassa microalgal

Para realização do experimento, a biomassa de microalgas foi coletada no decantador de duas LATs instaladas dentro do laboratório de pilotos do LIPATA, apresentadas na Figura 5-1. As LATs foram alimentadas com esgoto sanitário após tratamento preliminar, proveniente de uma ETE localizada no município de Querétaro (México). As LATs foram fabricadas em fibra de vidro e possuem uma capacidade total de 80 L cada, com 50 L de volume de trabalho. São operadas em regime contínuo, com fotoperíodos de 12/12 horas e iluminação artificial fornecida por 14 lâmpadas de luz fria ($200 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação) e tempo de detenção hidráulico de 6 dias. As temperaturas variam de 20 a 22°C e o pH é de $8,4 \pm 0,4$.

Figura 5-1 – LATs em escala piloto do laboratório de pilotos do LIPATA - UNAM

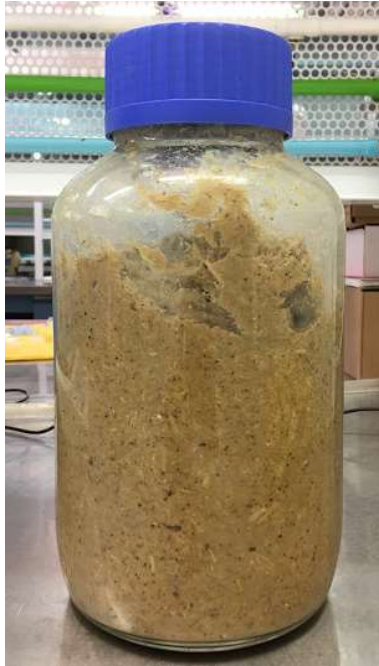


Após coletadas, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 15 minutos, visando concentrá-las para realização do experimento. Para realização do pré-tratamento, foi determinado o teor de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) em conformidade com *Standard Methods for evaluation of water and wastewater* (APHA-AWWA-WPCF, 2005), para que o material pudesse ser pesado e inserido nos frascos na proporção adequada do teste.

5.2.1.2 Conteúdo ruminal

O conteúdo ruminal foi coletado em um abatedouro de carneiros nos arredores de Querétaro (México), e é apresentado na Figura 5-2. Este material é um resíduo do abate de ruminantes, tendo sido doado pela empresa local para realização da pesquisa. Após a coleta, o material foi levado para o laboratório, triturado com o auxílio de um liquidificador industrial para homogeneização, armazenado em frasco de vidro com volume de 2L e a atmosfera foi lavada com N₂. Como para as microalgas, foi determinado o teor de ST e SV para o preparo do experimento de pré-tratamento

Figura 5-2 – Conteúdo ruminal proveniente de um abatedouro local em Querétaro, México e liquidificador industrial utilizado para homogeneização



5.2.1.3 Pré-tratamento enzimático e solubilização da biomassa

O pré-tratamento enzimático foi realizado em frascos de vidro com volume total de 500 mL e volume líquido de 300 mL. Neste experimento de hidrólise enzimática buscou-se avaliar o efeito de diferentes temperaturas e diferentes relações substrato/inóculo. Sendo assim, a biomassa microalgal foi inoculada com o conteúdo ruminal em diferentes proporções S_0/X_0 , sendo eles: 0,5, 1, 3 e 5.

Além disso, foi avaliado o efeito de diferentes temperaturas, uma temperatura associada à digestão mesofílica (37°) e outra mais próxima à temperatura ambiente (30°C), para identificar a possibilidade de realização do pré-tratamento sem ou com o mínimo de aquecimento.

As diferentes relações S_0/X_0 , as temperaturas e a duração do teste, estabelecida em 5 dias, foram estabelecidas a partir dos resultados encontrados por Barragán-Trinidad; Carrillo-Reyes; Buitrón (2017a). Nos dias 1, 3 e 5 do teste, amostras foram coletadas em cada um dos frascos para determinação de DQO solúvel, Ácidos Graxos Voláteis (AGVs) e Carboidratos.

A montagem do teste foi realizada com o auxílio do software *Design-Expert* versão 7.0.0, da empresa *Stat-Ease Inc.*, através de um planejamento fatorial D-ótimo. Como resultado do planejamento fatorial, foram preparados 14 frascos para realização do experimento, conforme ilustrado pela Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Montagem do experimento de hidrólise enzimática das microalgas a partir do conteúdo ruminal

Frasco	Temperatura °C	Razão S ₀ /X ₀	Concentração final (g SV/L)	Concentração de cada substrato no frasco (g SV/L)	
				Microalga	Rúmen
1	30	0,5	25	2,5	5
2	30	0,5	25	2,5	5
3	30	1	25	3,75	3,75
4	30	3	25	5,625	1,875
5	30	3	25	5,625	1,875
6	30	5	25	6,25	1,25
7	37	0,5	25	2,5	5
8	37	1	25	3,75	3,75
9	37	3	25	5,625	1,875
10	37	5	25	6,25	1,25
11	30	-	25	7,5	-
12	30	-	25	-	7,5
13	37	-	25	7,5	-
14	37	-	25	-	7,5

A concentração final de SV em cada frasco, 25 g SV/L, foi determinada a partir de outros trabalhos similares da literatura, visando que, ao final da etapa de hidrólise, os frascos contivessem quantidade de matéria orgânica suficiente para alimentação do teste de BMP de acordo com o protocolo utilizado (HOLLIGER *et al.*, 2016). Após montagem dos frascos e limpeza da atmosfera com N₂, as primeiras amostras (dia 1) foram coletadas, e os frascos foram colocados em duas incubadoras com agitação contínua de 150 rpm e temperaturas de 30 e 37°C. Os frascos utilizados são apresentados na Figura 5-3.

Figura 5-3 – Frascos utilizados no pré-tratamento enzimático



Ao fim do quinto dia, os frascos foram retirados das incubadoras, amostras foram coletadas para análises de ST, SV, DQO solúvel, AGVs e Carboidratos. O cálculo do grau de solubilização, ou também denominado eficiência de hidrólise, foi realizado a partir da DQO

solúvel da biomassa pré-tratada e da biomassa inicial, sem pré-tratamento, conforme mostra a equação 5.1.

$$S (\%) = \frac{DQOs(\text{pré} - \text{tratada}) - DQOs (\text{inicial})}{DQOs (\text{inicial})} \quad 5.1$$

5.2.1.4 Teste do Potencial Bioquímico de metano (BMP)

Após o pré-tratamento, foi realizado o teste BMP. Seu objetivo foi a comparação da biodegradabilidade anaeróbia da biomassa microalgal não tratada e pré-tratada, assim como a avaliação do efeito das diferentes temperaturas na hidrólise da biomassa e posterior produção de metano. O teste foi realizado em triplicata, em equipamento automatizado, com volume total de 500 mL e volume útil adotado de 300 mL. A Figura 5-4 apresenta a montagem do teste de BMP e o equipamento automatizado AMPTS II utilizado para o teste.

Figura 5-4 – Montagem do teste de BMP da biomassa algal após hidrólise enzimática com conteúdo ruminal e equipamento automático utilizado para o teste.



O teste de BMP foi realizado de acordo com o protocolo interno do LIPATA: relação substrato/inóculo S_0/X_0 de 0,5; em condições mesofílicas de temperatura (37°C); o lodo anaeróbio utilizado como inóculo foi um lodo granular proveniente de um reator piloto em operação no LIPATA; controles contendo somente inóculo anaeróbio também foram inoculados para mensurar o metano produzido a partir do próprio lodo; também foram adicionados controles positivos com glicose granular e controles com a microalga sem pré-tratamento; o pH final nos frascos foi ajustado para a faixa de $6,9 < \text{pH} < 7,1$; e, por fim, a atmosfera dos frascos foi lavada com gás nitrogênio (N_2) comprimido por 60 segundos para garantir o meio anaeróbio. O teste foi realizado em duplicada. O equipamento utilizado, AMPTS II, da fabricante Bioprocess, fornece medições contínuas do volume de metano produzido em cada frasco.

5.2.2 Etapa 2: Pré-tratamento e codigestão anaeróbia da biomassa microalgal com conteúdo ruminal

5.2.2.1 Biomassa microalgal

Para realização do experimento, a biomassa de microalgas foi coletada no decantador de duas LATs instaladas na *pMethar*, apresentadas na Figura 4-2. As LATs são alimentadas com digestato proveniente da digestão anaeróbia de resíduos alimentares após passar por reator UASB e filtro de areia.

Após coletadas, as amostras foram armazenadas em câmara fria a 4°C durante 24 para sedimentação. Após este período, o sobrenadante foi descartado e foram determinados o teor de ST e SV em conformidade com *Standard Methods for evaluation of water and wastewater* (APHA-AWWA-WPCF, 2005), para que o material pudesse ser pesado e inserido nos frascos na proporção adequada do teste.

5.2.2.2 Conteúdo ruminal

O conteúdo ruminal foi coletado diretamente do rúmen de um animal fistulado, na Escola de Veterinária da UFMG. Após coleta, foi armazenado em câmara fria até a montagem do experimento de codigestão. Foram determinados o teor de ST e SV (APHA-AWWA-WPCF, 2005). Também foi analisado o teor de N total a partir do método estabelecido por Jackson (1976) e Bremner (1979) (MATOS, 2015).

5.2.2.3 Teste BMP

O teste BMP foi realizado em triplicata, em frascos âmbar, apresentados na Figura 4-5, com volume total de 270 mL e volume útil adotado de 180 mL. Para avaliar a codigestão, foram inoculados os dois substratos (biomassa microalgal e conteúdo ruminal) em diferentes proporções microalgas/rúmen: 0,5, 1, 3 e 5, conforme experimento anterior. Os dados considerados para a montagem do experimento estão relacionados na Tabela 5.4.

Tabela 5.2 – Teor de sólidos voláteis dos substratos e inóculos avaliados no experimento de codigestão de biomassa algal e conteúdo ruminal

Dados considerados na montagem do experimento		
Volume do frasco	mL	270
Concentração do lodo anaeróbio	gSV/L	21,91
Concentração da biomassa de microalgas	gSV/L	4,55
Concentração do conteúdo ruminal rúmen	gSV/kg	130,68

O teste de BMP foi realizado de acordo com a padronização estabelecida por Holliger *et al.* (2016): em triplicata; relação substrato/inóculo S_0/X_0 estabelecida de 0,5; em temperatura mesofílica (37°C); com inóculo (lodo anaeróbio) proveniente de um reator UASB em operação; controles contendo somente inóculo para mensurar o biogás produzido a partir do próprio lodo foram encubados; pH final nos frascos foi ajustado para a faixa de $6,9 < \text{pH} < 7,1$, utilizando soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e ácido sulfúrico (H₂SO₄), ambas com concentração 0,01N; e, por fim, a atmosfera dos frascos foi lavada com N₂ comprimido por 60 segundos para garantir o meio anaeróbio.

O volume de biogás produzido foi medido diariamente utilizando um sistema composto de uma torneira descartável de 3 vias e uma seringa esmerilhada. A concentração de metano no biogás foi determinada por cromatografia gasosa (GC) no Cromatógrafo de gás da marca Perkin Elmer, modelo Autosystem XL com detector de ionização por chama (FID – *Flame Ionization Detector*), a partir da comparação com um padrão com concentração conhecida de metano (85% CH₄). Os resultados do teste foram expressados de acordo com a taxa de hidrólise (d⁻¹), com o fim de analisar a melhora na cinética do processo de degradação. A produção final acumulada de metano foi calculada após subtrair o volume de metano produzido no branco (somente inóculo) e dividido pela massa de SV de microalgas inseridos em cada reator (NmL CH₄/g SV).

Para avaliar a cinética do processo de digestão anaeróbia nos testes de BMP, os dados experimentais foram ajustados para um modelo de cinética de primeira ordem (Equação 5.2.) pelo método do quadrado mínimo.

$$B = B_0 * (1 - e^{-kt}) \quad (5.2)$$

Em que B₀ é o potencial de produção de metano (mL CH₄/g SV), k é a constante cinética de primeira ordem (d⁻¹), B é a produção de metano acumulada no tempo t (mL CH₄/g SV), e t é o tempo em dias.

5.2.3 Análise estatística

O efeito do pré-tratamento na solubilização da biomassa de microalgas, na taxa de hidrólise da digestão anaeróbia e nos testes de BMP foram determinados a partir do teste de Análise de Variância (ANOVA), com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), utilizando o software Statística® 12.

5.3 Resultados e discussões

5.3.1 Etapa 1: Efeito da temperatura e das relações microalga/conteúdo ruminal na solubilização da biomassa de microalgas

Na primeira etapa do trabalho, as microalgas e o conteúdo ruminal foram incubados durante 5 dias em diferentes proporções e a diferentes temperaturas. Após os 5 dias incubadas para essa fase de hidrólise, foi possível observar um aumento considerável na concentração de DQO solúvel nas amostras em relação a DQO solúvel inicial, conforme apresentado na Tabela 5.3. Este aumento da concentração de matéria orgânica solúvel pode ser considerado indicativo de atividade hidrolítica por parte dos microrganismos do rúmen, visto que as temperaturas utilizadas (30 e 37°C) não seriam capazes de promover uma solubilização térmica desta biomassa.

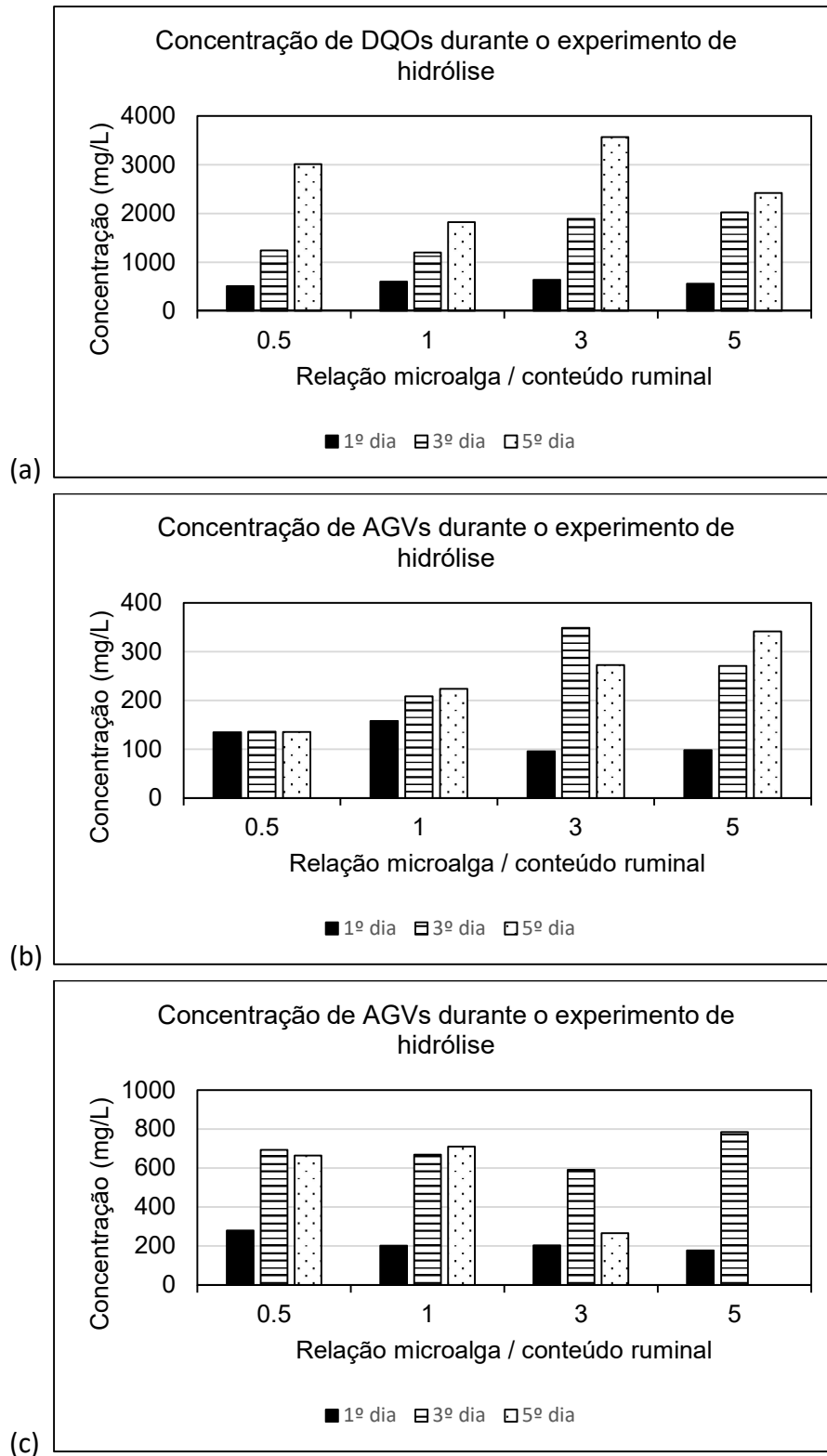
Tabela 5.3 – Solubilização (%) da biomassa na fase de hidrólise do Experimento UNAM

Temperatura	Razão S ₀ /X ₀	Concentração DQOs (mg DQOs/L)		Solubilização (%)
		Inicial	Final	
30	0,5	510	3010	155%
30	1	600	1820	54%
30	3	640	3565	202%
30	5	560	2420	105%
37	0,5	560	1700	60%
37	1	640	2190	107%
37	3	740	3150	197%
37	5	700	3780	257%

Este aumento na concentração de DQO solúvel também é ilustrado no gráfico apresentado na Figura 5-5. Nota-se um elevado aumento, variando entre 50-250% entre o primeiro e quinto dias de experimento. O gráfico também apresenta a evolução das respectivas concentrações de AGVs e carboidratos na fração solúvel da amostra. Para ambos os parâmetros, nota-se um aumento no início do experimento (1º para o 3º dia) e uma ligeira redução ao fim (3º para o 5º dia). No primeiro dia, a quantidade de carboidratos solúveis correspondiam a cerca de 8-28% da DQO solúvel total nas amostras, e a quantidade de AGVs correspondiam a uma parcela maior, de cerca de 20-70%. Nas amostragens seguintes (3º e 5º dias), mesmo com o aumento observado na concentração de açúcares e AGVs, notou-se uma redução no seu percentual de DQO solúvel correspondente. Para os carboidratos, os valores encontrados variaram entre 0,6-20% e 2,9-14% no terceiro e quinto dia, respectivamente. Já para os AGVs, o percentual

correspondente da DQO solúvel total ficou entre os intervalos de 4-85% e 3-66%, para o terceiro e quinto respectivamente.

Figura 5-5 – Concentração de (a) DQO solúvel, (b) ácidos graxos voláteis e (c) carboidratos durante a fase de hidrólise do Experimento UNAM



Esta redução nos percentuais de DQO solúvel correspondentes à carboidratos e AGVs poderiam indicar o consumo da matéria orgânica por microrganismos da digestão anaeróbia. Isso é plausível já que os AGVs são produtos da hidrólise pelos microrganismos ruminantes e se trata de metabólitos a serem consumidos nas primeiras etapas do metabolismo anaeróbio (CHERNICHARO, 2016).

A eficiência da atividade hidrolítica em experimentos que tem a biomassa de microalgas como substrato vem sendo calculada indiretamente a partir da solubilização da DQO particulada inicial (HE *et al.*, 2016). Deste modo, a eficiência da hidrólise pode ser determinada a partir da razão entre diferença entre a DQO solúvel final da amostra e a DQO solúvel final dos controles e a DQO particulada inicial, conforme ilustra a equação a seguir:

$$Efic. da hidrólise = \frac{(DQOs\ final\ (amostra) - DQOs\ final\ (CM) - DQOs\ final\ (CR))}{DQO\ particulada\ inicial\ (microalgaa)}$$

Em que CM corresponde ao controle de biomassa de microalgas e CR ao controle de conteúdo ruminal. Os resultados calculados são apresentados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 – Eficiência da hidrólise em termos de % de DQO particulada inicial solubilizada durante a fase de hidrólise do Experimento UNAM

Temperatura (°C)	Razão microalga / conteúdo ruminal (g SV/ g SV)	Eficiência da hidrólise (%)
30	0,5	40%
	1	-38%
	3	-22%
	5	-48%
37	0,5	-17%
	1	-27%
	3	-30%
	5	-25%

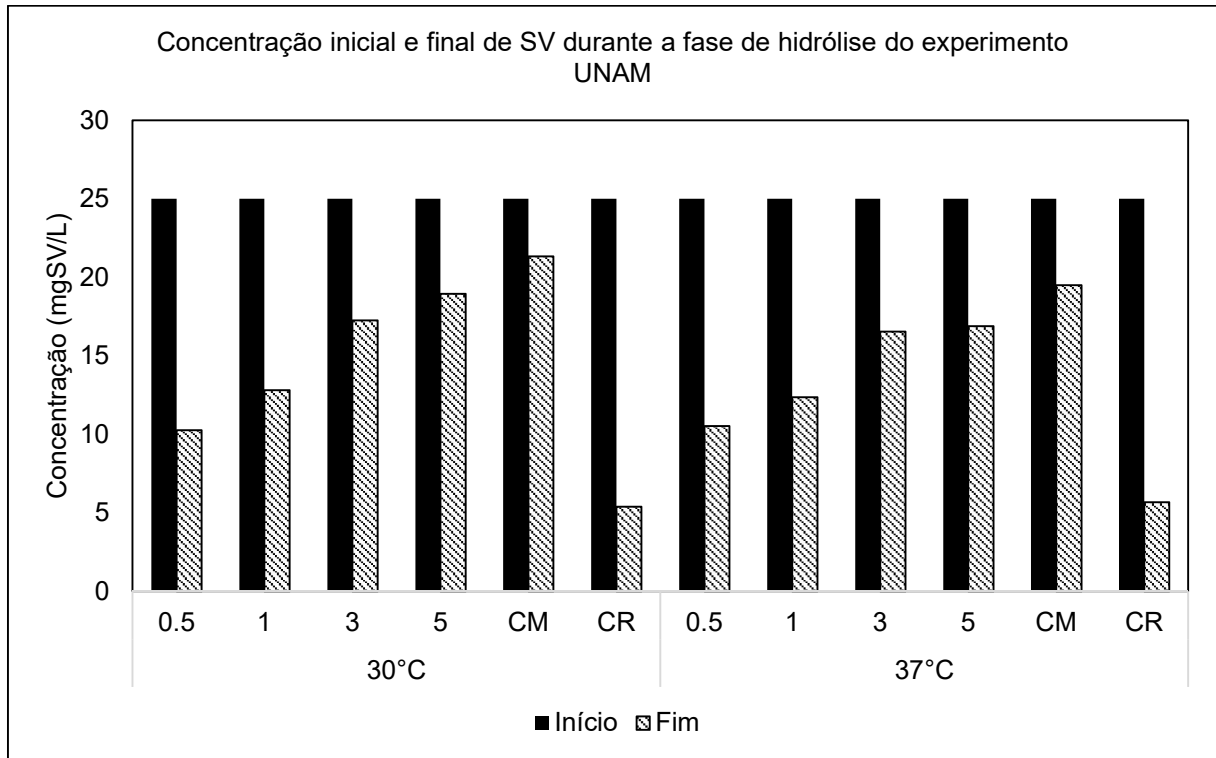
Nota-se que somente a amostra pré-tratadas a 30°C com razão microalga/conteúdo ruminal de 0,5 apresentou eficiência de hidrólise positiva. Os resultados negativos ocorreram devido a uma maior concentração de DQO solúvel nas amostras controle (microalga e conteúdo ruminal) do que nas amostras pré-tratadas. A explicação para tal fato é que parte da DQO solubilizada nas amostras pré-tratadas foram convertidas a biogás (metano) na fase de hidrólise do experimento, visto que devido à diversidade de microrganismos presentes na biomassa coletada das lagoas (microalgas e bactérias) e no conteúdo ruminal (bactérias e arqueias), microrganismos presentes no metabolismo anaeróbio tenham realizado a conversão parcial desta matéria orgânica solúvel.

Como não foram realizadas medidas de volume de metano produzidos nesta etapa, a confirmação possível desta conversão foi realizada a partir da comparação entre os valores de concentração inicial e final de matéria orgânica (SV) nas amostras durante o experimento de hidrólise. O gráfico apresentado na Figura 5-6 ilustra esta comparação.

Nota-se que os valores finais de concentração de SV em todas as amostras e nos controles são menores que os valores iniciais. Se o experimento estivesse ocorrido conforme esperado, tendo sido realizada somente a hidrólise do material particulado, as concentrações de SV totais deveriam permanecer inalteradas. A redução destas concentrações indica que parte da matéria orgânica solubilizada foi convertida a metano nesta fase do experimento. Resultados similares foram obtidos por Giménez *et al.* (2017) utilizando um reator de mistura contínua em escala laboratorial. Durante a primeira fase de pré-tratamento da biomassa de microalgas por microrganismos do rúmen, os autores relataram produção de metano para TDHs de cerca de 7 dias, devido à ausência de competição que permitiu o crescimento de microrganismos anaeróbios.

Com relação às duas temperaturas investigadas, os resultados sugerem que não houveram grandes diferenças entre os testes. Ainda que não seja possível avaliar o efeito da temperatura no rendimento de metano, nota-se pelo gráfico apresentado na Figura 5-6 que a parcela de matéria orgânica convertida à metano na etapa inicial do experimento foi similar para as duas temperaturas avaliadas. Tal questão pode indicar que temperaturas mais baixas poderiam ser usadas, contribuindo para o balanço energético do processo.

Figura 5-6 – Concentração inicial e final de SV durante a fase de hidrólise na Etapa 1



De acordo com os resultados obtidos nessa etapa de experimento, o próximo passo foi realizar o pré-tratamento junto a digestão anaeróbia, analisando o metano produzido durante essa fase. Isso se deve à constatação de que a hidrólise pelos microrganismos ruminantes ocorrem simultaneamente à degradação devido à presença de microrganismos anaeróbios no conteúdo ruminal.

5.3.2 Etapa 2: Efeito das relações microalga/conteúdo ruminal na solubilização e aumento da biodegradabilidade da biomassa de microalgas

Uma vez que os resultados da etapa de hidrólise da Etapa 1 não permitiram uma avaliação adequada da produção de metano na etapa de digestão anaeróbia, já que parte da matéria orgânica já havia sido consumida, resolveu-se realizar um novo experimento em etapa única, visando a codigestão de ambos substratos (Etapa 2). A Tabela 5.5 apresenta a caracterização dos inóculos e substratos utilizados no teste de BMP de codigestão da biomassa de microalgas com conteúdo ruminal.

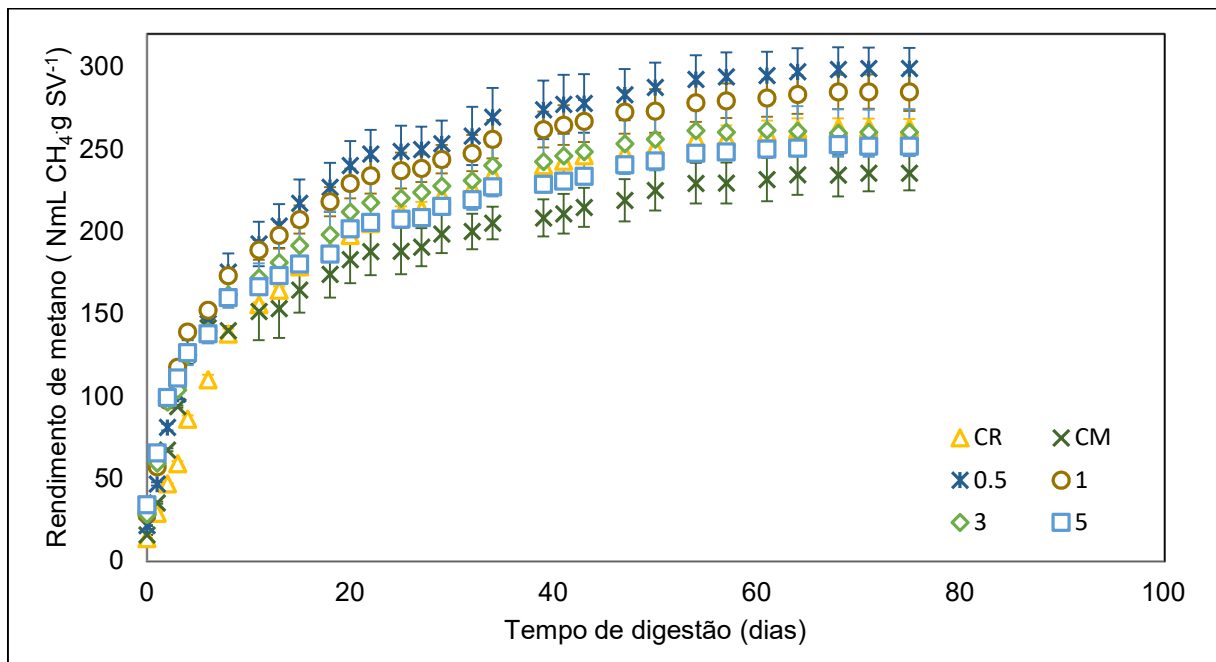
Tabela 5.5 – Caracterização dos inóculos utilizados no teste de BMP de codigestão da biomassa de microalgas com conteúdo ruminal

Teor de SV da biomassa de microalgas	gSV/L	4,55
Teor de SV do conteúdo ruminal	gSV/kg	130,68
Teor de N total do conteúdo ruminal	g N/kg	4,42

O rendimento de metano após um período de incubação de 80 dias é mostrado na Figura 5-7. Em comparação com os controles ruminal e de microalgas (sem pré-tratamento), todas as condições de codigestão proporcionaram um incremento no rendimento final de metano (4,8 – 18%). O maior rendimento de metano foi obtido com a proporção de microalgas / conteúdo ruminal de 0,5, estando em conformidade com resultados de outros autores reportados na literatura (BARRAGÁN-TRINIDAD; CARRILLO-REYES; BUITRÓN, 2017).

Isso mostra que um maior percentual de conteúdo ruminal em relação à biomassa de microalgas contribui para a hidrólise desse material e, conseqüentemente, para uma maior produção de metano. A medida que a quantidade proporcional de microalgas é aumentada, reduz-se o rendimento de metano, provavelmente devido as características da composição dessa biomassa que a torna pouco disponível para os microrganismos da digestão anaeróbia. Todavia, todas as amostras apresentaram aumento no rendimento de metano quando comparadas ao controle de microalgas.

Figura 5-7 – Rendimento de metano a partir da codigestão anaeróbia de microalgas e conteúdo ruminal nas proporções 0,5, 1, 3 e 5.



O menor rendimento de metano obtido pelo controle de microalgas está diretamente relacionada com a baixa disponibilidade da matéria orgânica intracelular para os microrganismos da digestão anaeróbia e, uma vez que este material não sofreu ou sofreu pouca desintegração, a acessibilidade dos substratos aos microrganismos metanogênicos é bastante reduzida (PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013).

Com o intuito de se observar o efeito da codigestão com o conteúdo ruminal e a influência dos microrganismos hidrolíticos presentes nesta biomassa, foram calculados os rendimentos teóricos de metano para cada uma das amostras de codigestão, a partir dos rendimentos experimentais das amostras controle e da quantidade de cada resíduo (biomassa de microalgas e conteúdo ruminal) presente em cada amostra. Os valores são apresentados na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 – Rendimentos experimental e teórico de metano (mL CH₄/g VS) a partir da codigestão de biomassa microalgal e conteúdo ruminal em diferentes razões. Médias (Desvio padrão).

Amostra	Rendimento de metano (mL CH ₄ /g VS)	Rendimento Teórico de Metano (mL CH ₄ /g VS)	Taxa de hidrólise (d ⁻¹)	Incremento (%)
CR	263 (5.25)	-	0,074 (0,007)	-
CM	236 (10.5)	-	0,146 (0,014)	-
0.5	299 (12.6)	254	0,106 (0,015)	17.7
1	285 (11.8)	249.5	0,139 (0,015)	14.2
3	261 (13.9)	242.7	0,137 (0,013)	7.5
5	252 (6.2)	240.4	0,165 (0,011)	4.8

Amostra	Rendimento de metano (mL CH₄/g VS)	Rendimento Teórico de Metano (mL CH₄/g VS)	Taxa de hidrólise (d⁻¹)	Incremento (%)
Resultados ANOVA				
p-valor	0,028		0,0001	

Nota-se que, para todas as amostras de codigestão, os valores de rendimento de metano obtidos experimentalmente superam os valores teóricos. Esse aumento nos valores experimentais é indicativo de um efeito sinérgico, ou seja, confirma a contribuição da codigestão como alternativa de hidrólise da biomassa de microalgas e incremento na produção de metano, não somente como uma alternativa de disposição conjunta de dois ou mais resíduos.

Em relação à análise estatística, o teste ANOVA demonstrou que dentre as diferenças observadas existem pelo menos diferença significativa entre duas amostras para o rendimento de metano obtido no teste BMP. Com o teste de Scheffé foi possível determinar que a única amostra que apresentou diferença significativa em relação ao controle de microalgas foi a amostra com a proporção de microalgas / conteúdo ruminal de 0,5. Este resultado indica que a relação microalga/contéudo ruminal exerce uma influência significativa na solubilização da matéria orgânica, o que está de acordo com a literatura (BARRAGÁN-TRINIDAD; CARRILLO-REYES; BUITRÓN, 2017).

Em relação à taxa de hidrólise, pode-se perceber que a co-digestão melhorou a cinética de digestão quando comparado ao controle de rúmen (0,06 vs 0,10-0,16). Porém, o controle de microalgas apresentou um valor de k semelhante que após as condições de pré-tratamento e codigestão com rúmen (0,10-0,16) (Tabela 5.6).

Se tratando da taxa de hidrólise, o teste ANOVA demonstrou que também existem diferenças significativas entre pelo menos duas amostras. A análise à posteriori realizada, o teste de Scheffé, demonstrou que as taxas de hidrólise das demais amostras são significativamente diferentes do controle ruminal, exceto a amostra com a proporção de microalgas / conteúdo ruminal de 0.5. Ademais, a taxa de hidrólise da amostra com a proporção de microalgas / conteúdo ruminal de 5.0 foi a única a apresentar diferença significativa em relação a amostra com a proporção de microalgas / conteúdo ruminal de 0.5, o que indica que um material inicial mais facilmente biodegradável é produzido à medida que se aumenta a relação microalgas/contéudo ruminal..

Ainda que não foram encontrados até o fechamento deste documento estudos que avaliem a codigestão de biomassa de microalgas e resíduos de abatedouros, diversos estudos já evidenciam a potencialidade de tratar efluentes de atividades agrossilvipastoris com sistemas de tratamento de efluentes baseados em microalgas (AZIZ *et al.*, 2019; SHAHID *et al.*, 2020). Entretanto, diversos estudos ilustram o efeito sinérgico obtido através da codigestão de microalgas com os mais diversos resíduos, tais como resíduos alimentares (KIM; KANG, 2015; ZHEN *et al.*, 2016), resíduos da produção de papel (YEN; BRUNE, 2007) e lodo secundário (CAPORGNO *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2013; WANG; PARK, 2015).

5.4 Conclusões

No presente estudo foram investigados os efeitos do pré-tratamento e codigestão anaeróbia de conteúdo ruminal com biomassa de microalgas em diferentes proporções. Na primeira etapa, foi possível observar um aumento expressivo da solubilização da DQO particulada durante a etapa de hidrólise do experimento, como também a conversão de parte desta matéria orgânica à metano, indicando que durante a fase de pré-tratamento houve também conversão da matéria orgânica à biogás. Dessa forma, na segunda etapa, foi estudado o pré-tratamento e BMP em uma única etapa, co-digerindo microalgas e conteúdo ruminal. Os resultados indicaram que a razão microalga/contéudo ruminal de 0,5 obteve maior rendimento de metano ($299,1 \pm 12,6$ mL CH₄/g VS). Estudos adicionais são importantes para avaliar a codigestão destes resíduos em sistemas contínuos, visando a otimização dos parâmetros operacionais e a avaliação da estabilidade do sistema.

6 CONCLUSÕES

Esta dissertação foi elaborada visando investigar uma melhor aproveitamento da biomassa microalgal proveniente de sistemas de tratamento de efluentes. Um dos princípios norteadores da pesquisa foi tornar a matéria orgânica que compõe esta biomassa disponível para os microrganismos da digestão anaeróbia através da hidrólise destas células. Visando reduzir os custos e demanda energética das tecnologias de pré-tratamento já consolidadas na literatura, os testes foram realizados com alternativas de pré-tratamento que não demandam energia elétrica (aquecedores solares) e que são obtidos de fontes naturais que são resíduos de outros processos produtivos (conteúdo ruminal). Em relação aos objetivos específicos, é possível concluir que:

- A hidrólise térmica utilizando aquecedores solares acarretou num acréscimo de matéria orgânica solubilizada na amostra compatível com resultados reportados na literatura para pré-tratamentos térmicos de baixa temperatura (<100°C). A influência da temperatura foi bastante relevante, visto que os tempos de exposição ao pré-tratamento cujo obtiveram maiores solubilizações foram àqueles os quais a temperatura já havia atingido seu pico diário. No experimento realizado o pico foi atingido após 4 horas de exposição, mas foi necessário 7 horas de exposição para chegar ao máximo de rendimento de biogás (210 NmL CH₄/g SV), que foi 63% maior em relação ao controle, não pré-tratado.
- A primeira etapa do pré-tratamento enzimático apresentou como principal conclusão a perda de matéria orgânica durante a fase de hidrólise ou pré-tratamento do rúmen com as microalgas. Isso ocorreu provavelmente devido à diversidade de microrganismos presentes no rúmen e, conseqüentemente, no resíduo ruminal. Assim, parte da matéria orgânica solubilizada foi imediatamente convertida à metano. Todavia, a hidrólise foi comprovada pelo aumento da fração solúvel da matéria orgânica e seu consumo ao final da etapa de hidrólise, confirmando a hipótese de que os microrganismos hidrolíticos presentes no rúmen contribuiriam para o aumento da solubilidade da biomassa de microalgas.
- Na segunda etapa do experimento de pré-tratamento enzimático, os resultados indicaram que o máximo rendimento de metano foi observado com as menores quantidades de microalgas (razão microalga/rúmen de 0,5). Isto está relacionado à menor biodegradabilidade da biomassa de microalgas e ao fato de que a biota presente

no conteúdo ruminal está adaptada ao substrato em que se encontra aderida, tornando mais simples sua conversão à metano.

Em geral, a biomassa produzida em sistemas de tratamento de águas residuárias baseados em microalgas apresenta potencial de valoração através da digestão anaeróbia para produção de biogás. Com o objetivo de aprimorar essa valoração, as alternativas de pré-tratamento aqui estudadas se mostraram eficazes, levando a um incremento no rendimento de metano com a vantagem de serem alternativas que apresentam um possível balanço energético favorável e a possibilidade de redução de custos.

7 DISCUSSÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES

Neste capítulo busca-se realizar uma discussão final que abarque as alternativas de pré-tratamento avaliadas neste trabalho, assim como os principais pontos observados durante a realização dos experimentos e a partir de seus resultados.

Destaca-se primeiro a importância de um sistema de separação sólido-líquido em boas condições de operação juntamente com as LATs. Nota-se que, para ambos os testes de BMP realizados, a biomassa coletada na LAT da plataforma p-Methar encontrava-se diluída, com um teor de sólidos voláteis aproximado de 0,1%. Grande parte da literatura sobre o tema consultada nesta pesquisa reportou teores de sólidos iguais ou maiores que 1% para alimentação do teste de BMP.

Substratos com baixos teores de sólidos voláteis implicam em um possível aumento nos erros analíticos do teste de BMP, visto que é indicado uma concentração de SV total nos fracos de 20 – 60 g SV/L (HOLLIGER *et al.*, 2016). Deste modo, substratos diluídos requerem fracos de volume útil bastante elevados para garantir a concentração recomendada, o que não é comum na realização destes testes. Ademais, para o aproveitamento desta biomassa em escala plena, teores de sólidos de 0,1% representam algo similar ao esgoto bruto, não apresentando características de um resíduo sólido com alto teor de material orgânico passível de aproveitamento. Torna-se portanto essencial um sistema de separação sólido-líquido eficaz para garantia do aproveitamento desta biomassa.

Com relação ao pré-tratamento térmico utilizando tubos à vácuo de aquecedores solares, os resultados apresentados ilustram o potencial de aplicação desta tecnologia para o pré-tratamento da biomassa de microalgas e, eventualmente, de outros subprodutos do tratamento de efluentes como lodo. A faixa de temperatura alcançada é compatível com o que é aplicado em sistemas convencionais de pré-tratamento térmico de baixas temperaturas, com a vantagem de se permitir um ganho no balanço energético final do sistema, uma vez que se poupa o consumo de energia nesta etapa.

Não foi possível observar neste trabalho o efeito da temperatura na hidrólise da biomassa algal a partir da codigestão com conteúdo ruminal, e conseqüentemente na produção de metano. Todavia, ainda que a literatura indique a faixa de temperatura mesofílica (~39°C) como ideal

para o crescimento e manutenção da microbiota presente no rúmen (FLINT *et al.*, 2008; KOIKE *et al.*, 2003), os resultados do experimento da Etapa 1 indicam que há possibilidade de realizar esta codigestão em temperaturas ambientes e ainda promover a hidrólise da biomassa algal.

Quanto à razão microalga/conteúdo ruminal, foi possível demonstrar que sua influência é direta na produção de metano, sendo que o rendimento de metano aumenta a medida que esta proporção decresce. Portanto, o uso de microrganismos hidrolíticos presentes no rúmen como inóculo para realizar a hidrólise da biomassa de microalgas é eficaz.

Como recomendações para estudos posteriores, cabe ressaltar:

- Estudos em fluxo contínuo e/ou semi-contínuo aplicando as técnicas de pré-tratamento avaliadas neste trabalho são encorajados uma vez que permitem não só otimizar os parâmetros operacionais e avaliar a estabilidade do sistema, como também possibilitam avaliar o impacto das melhores condições de pré-tratamento aqui estabelecidas na biodegradabilidade da biomassa e na quantidade de biogás produzido. Ademais, dados de sistemas em fluxo contínuo e/ou semi-contínuo podem alimentar avaliações de viabilidade econômica e balanço energético do sistema.
- Em relação ao pré-tratamento térmico em tubos coletores de aquecimento solar, faz-se necessário ir além da avaliação dos tubos e de sua capacidade de aquecimento da biomassa, como do sistema completo: tubos e reservatório. Neste caso, operando em fluxo contínuo ou semi-contínuo, é interessante avaliar o comportamento do sistema não só em termos de temperatura de pico, mas de manutenção da temperatura em suas diferentes partes (tubos e reservatório) e como se dariam a alimentação e retorno da biomassa para codigestão anaeróbia.
- Uma outra avaliação interessante do sistema de aquecimento solar para o pré-tratamento seria o monitoramento expandido, para que se possa avaliar a influência da sazonalidade nas temperaturas alcançadas para o pré-tratamento.
- Em relação a hidrólise da biomassa algal por microrganismos do rúmen, segere-se que estudos sejam feitos em fluxo contínuo que permitam não só otimizar os parâmetros operacionais e avaliar a estabilidade do sistema, como também avaliar o comportamento e a evolução da microbiota ao longo da operação do sistema. Estudos em temperatura ambiente também poderiam fornecer resultados interessantes do ponto de vista do efeito

de temperaturas mais baixas que o interior do rúmen (39°C) na prevalência e atividade metabólica destes microrganismos. Ainda em relação a esse pré-tratamento, seria interessante identificar a comunidade microbiana do rúmen e de diferentes resíduos do processo de abatedouro. Assim é possível entender melhor a possível eficiência do uso desse co-substrato na melhora da hidrólise (microrganismos hidrolíticos) e como inóculo do processo de digestão (microrganismos anaeróbios).

8 REFERÊNCIAS

APHA; AWWA; WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. ed.. Washington: APHA,1998.

ALEXANDROPOULOU, M. *et al.* Fungal pretreatment of willow sawdust and its combination with alkaline treatment for enhancing biogas production. *Journal of Environmental Management*, v. 203, p. 704–713, 2017.

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.

ANA. *Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas*. [S.l: s.n.], 2017.

ARIAS, D. M. *et al.* Integrating microalgae tertiary treatment into activated sludge systems for energy and nutrients recovery from wastewater. *Bioresource Technology*, v. 247, n. July 2017, p. 513–519, 2018.

AZIZ, A. *et al.* Biological wastewater treatment (anaerobic-aerobic) technologies for safe discharge of treated slaughterhouse and meat processing wastewater. *Science of the Total Environment*, v. 686, p. 681–708, 2019.

BARRAGÁN-TRINIDAD, M.; CARRILLO-REYES, J.; BUITRÓN, G. Hydrolysis of microalgal biomass using ruminal microorganisms as a pretreatment to increase methane recovery. *Bioresource Technology*, v. 244, n. May, p. 100–107, 2017.

CAMPO, G. *et al.* Thermal , alkali , and thermo-alkali pretreatments applied to monospecific microalgal biomass to improve anaerobic biogas production. v. 127, n. September 2017, p. 22995, 2018.

CAPORGNO, M. P. *et al.* Biogas production from sewage sludge and microalgae co-digestion under mesophilic and thermophilic conditions. *Renewable Energy*, v. 75, p. 374–380, 2015.

CARRERE, H. *et al.* Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. *Bioresource Technology*, v. 199, p. 386–397, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.007>>.

CARRILLO-REYES, J.; BARRAGÁN-TRINIDAD, M.; BUITRÓN, G. Biological pretreatments of microalgal biomass for gaseous biofuel production and the potential use of rumen microorganisms: A review. *Algal Research*, v. 18, p. 341–351, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.07.004>>.

CHERNICHARO, C. A. L. *Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Volume 5: Reatores Anaeróbios*. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016. 379 p.

CHERNICHARO, C. A. L.; BRESSANI-RIBEIRO, T. (Ed). *Anaerobic Reactors for Sewage Treatment: Design, construction and operation*. London: IWA Publishing, 2019. 709 p.

CHEN, P. H.; OSWALD, W. J. Thermochemical treatment for algal fermentation. *Environmental International*, v. 24, n. 8, p. 889–897, 1998.

CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, v. 29, n. 6, p. 686–702, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.015>>.

CIUDAD, G. *et al.* Performance of an enzymatic extract in *Botryococcus braunii* cell wall disruption. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 117, n. 1, p. 75–80, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.06.012>>.

CÓRDOVA, O. *et al.* Microalgae digestive pretreatment for increasing biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 82, n. August, p. 2806–2813, 2018.

CORTÉS-CARMONA, M. *et al.* Methane production from thermally pretreated *Scenedesmus obtusiusculus* biomass in semi-batch reactors at low reaction times. v. 136, p. 61–68, 2018.

DAY, J. G.; SLOCOMBE, S. P.; STANLEY, M. S. Overcoming biological constraints to enable the exploitation of microalgae for biofuels. *Bioresource Technology*, v. 109, p. 245–251, 2012.

DEMIRBAS, A. Use of algae as biofuel sources. *Energy Conversion and Management*, v. 51, n. 12, p. 2738–2749, 2010.

EHIMEN, E. A. *et al.* Influence of different pre-treatment routes on the anaerobic digestion of a filamentous algae. *Renewable Energy*, v. 50, p. 476–480, 2013.

Ferreira, B. 2015. *Avaliação de um sistema de metanização de resíduos alimentares com vistas ao aproveitamento energético do biogás*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, PPG SMARH. Belo Horizonte: UFMG, 2015.

FLINT, H. J. *et al.* Polysaccharide utilization by gut bacteria : potential for new insights from genomic analysis. v. 6, n. february, p. 121–131, 2008.

GIMÉNEZ, J. B. *et al.* Use of rumen microorganisms to boost the anaerobic biodegradability of microalgae. *Algal Research*, v. 24, n. February, p. 309–316, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.003>>.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. *et al.* Comparison of ultrasound and thermal pretreatment of *Scenedesmus* biomass on methane production. v. 110, p. 610–616, 2012a.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. *et al.* Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part II: Focus on biomethane production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, v. 6, n. 3, p. 205–218, 2012b.

HALLIWELL, B. Y. G.; BRYANT, M. P. The Cellulolytic Activity of Pure Strains of Bacteria from the Rumen of Cattle. *J. Gen. Microbiol.*, v. 32, p. 441–448, 1963.

HE, S. *et al.* Enhanced methane production from microalgal biomass by anaerobic. *Bioresource Technology*, v. 204, p. 145–151, 2016.

HERNÁNDEZ, V. A. C.; PARRA, C. A. M.; VARÓN, M. P. Uso de lagunas algales de alta tasa para tratamiento de aguas residuales. (Spanish). *Ingeniería y desarrollo*, v. 33, n. 1, p. 98–125, 2015. Disponível em: <[10.14482/inde.33.1.5318%5Cnhttp://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=102596287&lang=es&site=ehost-live](http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=102596287&lang=es&site=ehost-live)>.

HOLLIGER, C. *et al.* Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.

HOM-DIAZ, A. *et al.* Enzymatic pretreatment of microalgae using fungal broth from *Trametes versicolor* and commercial laccase for improved biogas production. *Algal Research*, v. 19, p. 184–188, 2016.

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. October 2015, p. 692–709, 2017.

JIN, W. *et al.* Performance enhancement by rumen cultures in anaerobic co-digestion of corn straw with pig manure. *Biomass and Bioenergy*, v. 115, n. April, p. 120–129, 2018.

KIM, J.; KANG, C. M. Increased anaerobic production of methane by co-digestion of sludge with microalgal biomass and food waste leachate. *Bioresource Technology*, v. 189, p. 409–412, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.028>>.

KOIKE, S. *et al.* Phylogenetic analysis of fiber-associated rumen bacterial community and PCR detection of uncultured bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, v. 229, n. 1, p. 23–30, 2003.

KOLKE, S.; KOBAYASHI, Y. Development and use of competitive PCR assays for the ruminal cellulolytic bacteria *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* dan *Ruminococcus flavefaciens*. *FEMS Microbiol*, v. 204, n. April, p. 361–366, 2001.

LEE, E. *et al.* Kinetic parameter estimation model for anaerobic co-digestion of waste activated sludge and microalgae. *Bioresource Technology*, v. 228, p. 9–17, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.072>>.

LI, N. *et al.* Effect of Feedstock Concentration on Biogas Production by Inoculating Rumen Microorganisms in Biomass Solid Waste. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 184, n. 4, p. 1219–1231, 2018.

LI, R. *et al.* Co-digestion of chicken manure and microalgae *Chlorella* 1067 grown in the recycled digestate: Nutrients reuse and biogas enhancement. *Waste Management*, v. 70, p. 247–254, 2017.

LIMA, D. R. S. *et al.* Influence of different thermal pretreatments and inoculum selection on the biomethanation of sugarcane bagasse by solid-state anaerobic digestion: A kinetic analysis. *Industrial Crops and Products*, v. 111, n. November 2017, p. 684–693, 2018.

MENDEZ, L. *et al.* Enhancing methane production of *Chlorella vulgaris* via thermochemical pretreatments. *Bioresource Technology*, v. 149, p. 136–141, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.136>>.

- NEUMANN, P. *et al.* Anaerobic co-digestion of lipid-spent microalgae with waste activated sludge and glycerol in batch mode. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 100, p. 85–88, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.01.020>>.
- OMETTO, F. *et al.* ScienceDirect Impacts of microalgae pre-treatments for improved anaerobic digestion : Thermal treatment , thermal hydrolysis , ultrasound and enzymatic hydrolysis. v. 5, 2014.
- OSWALD, J.; GOLUEKE, G. Biological transformation of solar energy. *Advances in Applied Microbiology*, v. 2, p. 223–262, 1960.
- OZBAYRAM, E. G. *et al.* Rumen bacteria at work: bioaugmentation strategies to enhance biogas production from cow manure. *Journal of Applied Microbiology*, v. 124, n. 2, p. 491–502, 2018.
- PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 1, p. 35–42, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.158>>.
- PASSOS, F. *et al.* Anaerobic co-digestion of coffee husks and microalgal biomass after thermal hydrolysis. *Bioresource Technology*, v. 253, n. December 2017, p. 49–54, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.071>>.
- PASSOS, F. *et al.* Improving biogas production from microalgae by enzymatic pretreatment. *Bioresource Technology*, v. 199, p. 347–351, 2016.
- PASSOS, F. *Microalgal conversion to biogas: Pretreatment methods to improve the anaerobic digestion of microalgal biomass grown in wastewater treatment systems.* 2014. 235 f. Universitat Politècnica de Catalunya, 2014.
- PASSOS, F. *et al.* Pretreatment of microalgae to improve biogas production: A review. *Bioresource Technology*, v. 172, p. 403–412, 2014.
- PASSOS, F. *et al.* Towards energy neutral microalgae-based wastewater treatment plants. *Algal Research*, v. 28, n. November, p. 235–243, 2017.

PASSOS, F.; FERRER, I. Microalgae conversion to biogas: Thermal pretreatment contribution on net energy production. *Environmental Science and Technology*, v. 48, n. 12, p. 7171–7178, 2014.

PASSOS, F.; GARCÍA, J.; FERRER, I. Impact of low temperature pretreatment on the anaerobic digestion of microalgal biomass. *Bioresource Technology*, v. 138, p. 79–86, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.114>>.

RAWAT, I. *et al.* Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, v. 88, n. 10, p. 3411–3424, 2011.

SARATALE, R. G. *et al.* A critical review on anaerobic digestion of microalgae and macroalgae and co-digestion of biomass for enhanced methane generation. *Bioresource Technology*, 2018.

SHAHID, A. *et al.* Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric carbon mitigation; a review. *Science of the Total Environment*, v. 704, 2020.

SIALVE, B.; BERNET, N.; BERNARD, O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgae biodiesel sustainable. *Biotechnology Advances*, v. 27, n. 4, p. 409–416, 2009. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0734975009000457/1-s2.0-S0734975009000457-main.pdf?_tid=bd3be0c4-e2f0-11e6-b859-00000aacb362&acdnat=1485343607_d7ddeb29ce19f4450d390d72e901417e%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.03.001>.

SOLÉ-BUNDÓ, M. *et al.* Strategies to Optimize Microalgae Conversion to Biogas: Co-digestion, Pretreatment and Hydraulic Retention Time. *Molecules*, v. 23, n. 2096, p. 1–16, 2018.

TAJIMA, K. *et al.* Rumen bacterial diversity as determined by sequence analysis of 16S rDNA libraries. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 29, 1999.

TAKIZAWA, S. *et al.* Pretreatment with rumen fluid improves methane production in the anaerobic digestion of paper sludge. v. 78, p. 379–384, 2018.