



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
**Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**  
Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo e Geografia - FAENG



**GABRIEL MAGALHÃES CHIQUITO**

**(CO)DIGESTÃO ANAERÓBIA DE MICROALGAS EM FUNÇÃO DO PRÉ-  
TRATAMENTO E INÓCULO**

**Campo Grande, MS**

**2024**

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
FACULDADE DE ENGENHARIAS E ARQUITETURA E URBANISMO E GEOGRAFIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS AMBIENTAIS**

**GABRIEL MAGALHÃES CHIQUITO**

**(CO)DIGESTÃO ANAERÓBIA DE MICROALGAS EM FUNÇÃO DO PRÉ-  
TRATAMENTO E INÓCULO**

Dissertação apresentada visando à obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, área de concentração: Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos.

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Paula Loureiro Paulo**

**Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Mayara Leite Serejo**

Aprovada em:

**Banca Examinadora:**

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Paula Loureiro Paulo

Orientador PGTA- UFMS

Prof. Dr. Marc Árpád Boncz

FAENG - UFMS

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Grazielle Ruas Lagoa da Silva

DEC/FEB - UNESP

**Campo Grande, MS**

**2024**

## AGRADECIMENTOS

Obrigado a todos os meus familiares por sempre torcerem e comemorarem minhas conquistas.

Obrigado à minha orientadora, Paula, pelo apoio, estudos e confiança.

Obrigado à minha coorientadora, Mayara, por ter sido essencial para toda a construção da minha jornada acadêmica e desta pesquisa.

Obrigado aos meus amigos, à turma do labE, em especial aos meus bests Caique, Karen e Sarah, além da Priscila, Larissa, Fernando Bang e ao Prof. Marc; ao Laqua (Marcelão, Prof. Nobuyoshi, Simone e Fábio).

Agradeço ao PGTA, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais (PPGTA), da Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo (FAENG) da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida ao longo do mestrado.

Gostaria de agradecer o suporte obtido pelas instituições Brasileiras: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG; Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto – INCT ETEs Sustentáveis (INCT Sustainable Sewage Treatment Plants).

Além do suporte da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul – FUNDECT (Termo de outorga nº 31/2022).

Adicionalmente, é importante ressaltar que o presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS/MEC - Brasil.

## SUMÁRIO

Sumário.....	II
Lista de tabelas .....	IV
Lista de figuras .....	V
Lista de gráficos.....	VI
Resumo geral .....	VII
General abstract .....	VIII
1. Revisão de literatura .....	1
1.1. Demanda de nutrientes.....	1
1.2. Digestão anaeróbia.....	1
1.3. Substratos.....	3
1.3.1. Microalgas .....	3
1.4. Pré-tratamento.....	4
1.5. Codigestão .....	5
2. Objetivos.....	7
2.1. Objetivo geral .....	7
2.2. Objetivos específicos .....	7
3. Metodologia.....	8
3.1. Microalgas .....	8
3.2. Inóculo .....	9
3.3. Esgoto sintético.....	9
3.4. Pré tratamento e temperatura de digestão. ....	9
3.5. Determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME).....	10
3.6. Potencial Bioquímico de Metano ( <i>Biochemical Methane Potential - BMP</i> ).....	11
3.6.1. BMP 1.....	12
3.6.2. BMP 2.....	12
3.6.3. BMP 3.....	12
3.7. <i>Contínuos Stirred Tank Reactor (CSTR)</i> .....	13

3.7.1. Monitoramento e análises .....	13
3.7.2. CSTR .....	13
3.8. Estatística .....	14
4. Resultados e discussão .....	15
4.1. Testes BMP .....	15
4.1.1. Teste BMP 1 .....	15
4.1.2. Teste BMP 2 .....	17
4.1.3. Teste BMP 3 .....	19
4.2. Rendimento de metano .....	21
4.3. AME.....	22
4.4. Superfícies de resposta.....	23
4.4.1. Superfície de resposta BMP .....	23
4.4.2. Otimização BMP .....	25
4.4.3. Superfície de resposta AME.....	26
4.4.4. Otimização AME.....	28
4.5. Reator CSTR.....	29
5. Conclusão .....	32
6. Perspectivas futuras .....	33
7. Referências bibliográficas .....	34
ANEXO A - Testes Simultâneos de Tukey para Diferenças de Médias de BMP e AME no teste BMP 1. ....	39
ANEXO B - Testes Simultâneos de Tukey para Diferenças de Médias de BMP e AME no teste BMP 2. ....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros das condições testadas nos testes BMP 1, BMP 2 e BMP 3.....	11
Tabela 2: Resultados de AME (Atividade Metanogênica Específica) e BMP (Biochemical Methane Potential ou Potencial Bioquímico de metano) dos testes BMP 1, BMP 2 e BMP 3. .....	15
Tabela 3: Informações de Agrupamento por BMP do teste BMP 1 usando Método de Tukey e 95% de Confiança.....	15
Tabela 4: Informações de Agrupamento por AME do teste BMP 1 usando Método de Tukey e 95% de Confiança.....	16
Tabela 5: Períodos (em dias) com maior média de AME no teste BMP 1.....	17
Tabela 6: Informações de Agrupamento por BMP do teste BMP 2 usando Método de Tukey e 95% de Confiança.....	17
Tabela 7: Informações de Agrupamento por AME do teste BMP 2 usando Método de Tukey e 95% de Confiança.....	18
Tabela 8: Períodos (em dias) com maior média de AME no teste BMP 2.....	19
Tabela 9: Informações de Agrupamento do teste BMP 3 para BMP e AME usando Método de Tukey e 95% de Confiança.....	19
Tabela 10: Períodos (em dias) com maior média de AME no teste BMP 3.....	20
Tabela 11: Sumário do modelo gerado durante a Análise de Superfície de Resposta de BMP <sup>23</sup>	
Tabela 12: Análise de variância do modelo gerado pela Análise de Superfície de Resposta para BMP.....	24
Tabela 13: Predição de resposta do modelo de otimização do valor de BMP. ....	25
Tabela 14: Sumário do modelo gerado durante a Análise de Superfície de Resposta de AME. .....	26
Tabela 15: Análise de variância do modelo gerado pela Análise de Superfície de Resposta para AME. ....	27
Tabela 16: Predição de resposta do modelo de otimização do valor de AME. ....	28
Tabela 17: Parâmetros e resultados do teste CSTR.....	29

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1: Lâmina de identificação de espécies de microalgas do consórcio utilizado como substrato.....	8
Figura 2: Imagem aproximada de espécimes identificados como do gênero <i>Scenedesmus</i> .....	8
Figura 3: Imagem aproximada de espécimes identificados como do gênero <i>Chlorella</i> .....	8
Figura 4: Determinação gráfica da taxa máxima de produção de metano.....	11

**LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico 1: DQO de metano produzida por cada condição no teste BMP 1.....	16
Gráfico 2: DQO de metano produzida por cada condição no teste BMP 2.....	18
Gráfico 3: DQO de metano produzida por cada condição produzida no teste BMP 3.....	20
Gráfico 4: Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados indicando quais elementos do modelo para BMP explicaram maior contribuição para a variância total. ....	25
Gráfico 5: Gráficos de curva de otimização de fatores individuais para Inóculo, Codigestão e PT, para BMP .....	26
Gráfico 6: Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados indicando quais elementos do modelo para AME explicaram maior contribuição para a variância total. ....	28
Gráfico 7: Gráficos de curva de otimização de fatores individuais para Inóculo, Codigestão e PT para AME.....	29
Gráfico 8: Curvas de DQO e NT para R1 no teste CSTR 1. ....	30
Gráfico 9: Curvas de DQO e NT para R2 no teste CSTR 1. ....	30
Gráfico 10: Variação de TC, TOC e TIC para R1 no teste CSTR 1. ....	31
Gráfico 11: Variação de TC, TOC e TIC para R2 no teste CSTR 1. ....	31



## RESUMO GERAL

Com o aumento da população mundial, a demanda por alimentos também é crescente, e visto que grande parte das reservas de nutrientes para o cultivo de alimentos não são renováveis, é imperativo encontrar formas de reaproveitar esses recursos. O pós-tratamento do esgoto com microalgas em estações de tratamento de esgoto possibilita a assimilação de boa parte dos nutrientes que seriam descartados em corpos hídricos, causando problemas como a eutrofização, e a geração de uma biomassa rica em nitrogênio que possui grande potencial para uso como fonte de adubação para agricultura. A digestão anaeróbia é uma tecnologia eficiente para degradar essa biomassa algal sem ocasionar a perda dos nutrientes assimilados no processo, gerando ainda a possibilidade de obtenção de outros produtos de valor agregado, como o gás metano. As microalgas são, entretanto, uma matéria orgânica de difícil degradação pelos microrganismos responsáveis pela digestão anaeróbia, então estratégias para otimizar esse processo são necessárias para torná-lo mais eficaz e viável. Uma forma de reduzir esse problema da digestão é realizar um pré-tratamento no substrato, visando romper a parede celular rígida das microalgas. Um dos pré-tratamentos mais utilizados é o pré-tratamento térmico. Outra forma de otimizar esse processo é com o uso de co-substratos na digestão capazes de melhorar parâmetros, como a relação carbono/nitrogênio (relação C/N), que deve estar entre 20:1 e 30:1 (RAJLAKSHMI et al., 2023). Para determinar as melhores condições de tempo de pré-tratamento térmico, concentração de inóculo e relação de codigestão, testes em batelada foram executados. Verificou-se que a melhor opção para o processo de digestão anaeróbia foi o uso de codigestão, que aumentou o rendimento de metano em 100% e 74% entre as condições sem e com pré-tratamento, respectivamente, com 1,5 gSV/L de inóculo, enquanto a taxa de produção foi aumentada em 124% e 102% para as condições sem e com pré-tratamento, respectivamente, com 1gSV/L de inóculo, e 44% e 64% para as condições sem e com pré-tratamento, respectivamente, com 1,5 gSV/L de inóculo. Como produto final foi gerado um digestato com baixa relação C/N e rico em nitrogênio.

**Palavras-chave:** pré-tratamento térmico, digestão mesofílica, co-digestão anaeróbia, liberação de nutrientes.

## GENERAL ABSTRACT

With the increase in world population, the demand for food is also growing, and given that a large portion of nutrient reserves for food cultivation are non-renewable, it is imperative to find ways to reuse these resources. Post-treatment of sewage with microalgae in wastewater treatment plants enables the assimilation of a significant portion of the nutrients that would otherwise be discarded into water bodies, causing issues such as eutrophication, and generates a nitrogen-rich biomass with great potential for use as fertilizer in agriculture. Anaerobic digestion is an efficient technology to degrade this algal biomass without causing the loss of assimilated nutrients in the process, also offering the possibility of obtaining other value-added products, such as methane. However, microalgae are a substrate difficult to degrade by the microorganisms responsible for anaerobic digestion, so strategies to optimize this process are necessary to make it more effective and viable. One way to reduce this digestion problem is by pre-treating the substrate to break down the rigid cell wall of microalgae. One of the most commonly used pre-treatments is thermal pre-treatment. Another way to optimize this process is by using co-substrates in digestion that can improve parameters, such as the carbon/nitrogen ratio (C/N ratio), which should be between 20:1 and 30:1 (RAJLAKSHMI et al., 2023). Batch tests were conducted to determine the best conditions for thermal pre-treatment time, inoculum concentration, and co-digestion ratio. It was found that the best option for the anaerobic digestion process was co-digestion, which increased methane yield by 100% and 74% between conditions without and with pre-treatment, respectively, with 1.5 gSV/L of inoculum, while the production rate increased by 124% and 102% for conditions without and with pre-treatment, respectively, with 1gSV/L of inoculum, and by 44% and 64% for conditions without and with pre-treatment, respectively, with 1.5 gSV/L of inoculum. As a final product, a digestate with a low C/N ratio and rich in nitrogen was generated.

**Keywords:** thermal pre-treatment, mesophilic digestion, anaerobic co-digestion, nutrient release.

## **1. REVISÃO DE LITERATURA**

### **1.1. Demanda de nutrientes**

A busca por suprir a crescente demanda de alimentos para uma população cada vez maior é um dos desafios chave para a humanidade nas próximas décadas. Os principais nutrientes utilizados para fertilização de campos de cultivo são a base de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), sendo que sua produção industrial envolve a exploração de fontes não renováveis e sua comercialização pode variar conforme as tendências geopolíticas envolvendo seus maiores produtores. A produção mundial de amônia em 2022 foi estimada em 182,2 Mt, enquanto a de cloreto de potássio foi estimada em 62,1 Mt valores 1% e 15%, respectivamente, menores que em 2021, enquanto a produção de ácido fosfórico aumentou para 64,8 Mt, valor 2% maior que em 2021 (IFA, 2023). No segundo quadrante de 2022, esses fertilizantes apresentaram recordes nos valores comerciais devido a possíveis sanções comerciais à Rússia, levando ao atraso ou não aplicação de muitos compradores (IFA, 2023), reforçando a necessidade de soluções para a obtenção desses insumos de fontes renováveis e descentralizadas.

No cenário brasileiro, que depende da importação de uma parcela equivalente a 85% dos fertilizantes utilizados para seu cultivo (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA A DIFUSÃO DE ADUBOS, 2016), o reaproveitamento dos nutrientes presentes nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) ganha grande relevância. O processo mais utilizado para tratamento de esgotos no Brasil é a via anaeróbia (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA), 2017), que na maioria dos casos é utilizado como etapa única de tratamento e apresenta insuficiente remoção de patógenos, nitrogênio (N), fósforo (P) e de matéria orgânica (MO) (70 a 90%) (CHERNICHARO, 2007), gerando a oportunidade de reaproveitar os nutrientes das ETEs ao mesmo tempo que o custo do processo de tratamento é reduzido com o aproveitamento de um subproduto de valor agregado, diversificando a matriz de insumos agrícolas brasileiras e sanando um problema recorrente em diversas plantas de tratamento de esgoto.

### **1.2. Digestão anaeróbia**

“A digestão anaeróbia é um processo metabólico complexo que requer condições anaeróbias (potencial redox < -200 mV) e depende da atividade conjunta de uma associação de microrganismos para transformar material orgânico em dióxido de carbono e metano” (KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, 2019). O processo todo é dividido em 4 etapas distintas (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese), cada qual contendo suas próprias

comunidades de microrganismos e, conseqüentemente, condições ambientais levemente diferentes que devem se ajustar para que o processo todo possa ocorrer.

Na hidrólise, os microrganismos hidrolíticos degradam, com a ajuda de enzimas extracelulares, compostos com elevado peso molecular em substâncias orgânicas mais simples (monômeros). Nessa etapa, carboidratos são transformados em açúcares de cadeia curta, proteínas são transformadas em aminoácidos e peptídeos e gorduras são transformadas em glicerina e ácidos graxos (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008). Essa é muitas vezes a etapa limitante do processo, pois a velocidade de degradação das macromoléculas depende do substrato em questão e da sua relação com a comunidade microbiológica presente no lodo, variando de algumas horas para carboidratos a alguns dias para proteínas e lipídeos (KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, 2019).

Na acidogênese, as moléculas orgânicas simples formadas na hidrólise são transformadas por bactérias anaeróbias obrigatórias ou facultativas em ácidos voláteis de cadeia curta, com até 5 carbonos, álcoois, ácido láctico, gás carbônico e hidrogênio (CHERNICHARO, 2007). A formação dos produtos dessa fase é influenciada pela pressão parcial de hidrogênio: quanto maior for, maior será a concentração formada de moléculas com cadeias de carbono maiores.

A acetogênese é a fase em que vão ser formados os substratos utilizados pelas metanogênicas para produzir metano e gás carbônico. Nessa fase, os ácidos voláteis formados na fase acidogênica são degradados em reações endotérmicas e transformados em ácidos com cadeia de apenas 1 ou 2 carbonos (fórmico e acético), havendo também a formação de gás carbônico e hidrogênio no processo (KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, 2019), que podem causar um decréscimo no pH do meio. Há duas formas pelas quais esse efeito é evitado: I – o hidrogênio e o gás carbônico são consumidos na produção de ácidos orgânicos; e II - as arqueas metanogênicas consomem o hidrogênio formado durante a produção de metano, razão pela qual essa fase deve acontecer de maneira sintrófica com a próxima fase, a metanogênese (CHERNICHARO, 2007).

A metanogênese é a fase final do processo, na qual a formação de metano ocorre sob condições estritamente anaeróbias e com reações exotérmicas. Os microrganismos atuantes nessa etapa podem ser divididos em duas categorias de acordo com o substrato que utilizam para produzir metano: arqueas acetoclásticas e arqueas hidrogenotróficas (KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, 2019). O grupo das arqueas acetoclásticas, que produz metano a partir de acetato, possui poucas espécies mas é responsável por cerca de 60 a 70% de toda a produção na digestão anaeróbia, enquanto o grupo das arqueas hidrogenotróficas produz metano a partir de hidrogênio e gás carbônico e é responsável por cerca de 30 a 40% da

produção. Essa relação entre os dois grupos tem se mostrado, entretanto, bem dinâmica; as arqueas acetoclásticas são mais sensíveis a mudanças de pH e susceptíveis à inibição por amônia, o que pode levar ao favorecimento das hidrogenotróficas, situação na qual o acetato passa a ser convertido em hidrogênio e gás carbônico por bactérias homoacetogênicas (KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, 2019).

Em uma ETE, essas quatro fases da digestão anaeróbica ocorrem em uma unidade específica. Quando essa unidade é a principal forma de tratamento, a ETE é classificada como anaeróbia. Existem diversas tecnologias de tratamento que envolvem essa via de remoção de matéria orgânica dos efluentes, dentre as quais podem ser citadas como principais os filtros anaeróbios, lagoas anaeróbias e os reatores anaeróbios, que constituem a tipologia de tratamento mais difundida no Brasil, com cerca de 37% das ETEs registradas adotando esse sistema (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2020). Por não necessitarem de aeração para funcionar, esses sistemas possibilitam redução de custos através de menor necessidade de mecanização e gasto energético, o que aliado à baixa geração de sólidos, baixa demanda de área e uma boa adaptação a climas tropicais (CHERNICHARO, 2007), possibilitou uma ótima adaptação dessa via de tratamento biológico ao cenário brasileiro.

Dentre as limitações apresentadas pelo processo anaeróbio de tratamento de esgoto, a insuficiência na remoção de patógenos e de nutrientes (N e P) é a que gera a maior necessidade de um tratamento complementar. As imposições das legislações ambientais quanto à remoção de ambos e a capacidade de assimilação do corpo hídrico receptor (que frequentemente é o caso) pressionam os sistemas mais simples quanto à sua eficiência (CHERNICHARO, 2006). Em ETEs de via anaeróbia, a remoção de N pode ser efetuada através dos processos de nitrificação e desnitrificação com a adição de uma etapa de tratamento aeróbio, porém a remoção biológica de fósforo é comprometida caso a biomassa gerada nesta etapa seja redirecionada para a etapa anaeróbia para estabilização, fazendo necessária a precipitação química de fósforo ou uma destinação diferente da biomassa (CHERNICHARO, 2006).

### **1.3. Substratos**

#### *1.3.1. Microalgas*

Por conta da abundância de espécies e sua aplicação em diversas áreas, as microalgas são uma alternativa promissora para um pós tratamento para a via anaeróbia, pois os efluentes de tratamento anaeróbio possuem uma baixa turbidez e uma carga elevada de nitrogênio (SOARES; MARTINS; GONÇALVES, 2019). As microalgas possuem uma taxa de crescimento cerca de 100 vezes maior que das plantas terrestres, têm grande potencial na

produção de biocombustíveis para a geração de energia, pois não competem com a indústria alimentícia e não necessitam de água limpa, terras cultiváveis e fertilizantes (BARBOT; AL-GHAILI; BENZ, 2016), e seu cultivo oferece benefícios como a absorção de metais pesados e remoção de nutrientes (SOARES; MARTINS; GONÇALVES, 2019).

O uso de consórcios de microalgas com bactérias é tido como vantajoso, visto que suas interações aumentam o nível de absorção de nutrientes e são capazes de desenvolver um sistema compacto capaz de resistir às mudanças das condições ambientais (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2016). Ademais, o sistema conjunto pode incrementar os processos de tratamento de águas residuais tornando a emissão de gases de efeito estufa associada às ETEs insignificantes, dado que as microalgas transformam o CO<sub>2</sub> liberado pelas bactérias em matéria orgânica (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2016). A geração de biomassa como subproduto é outra característica relacionada ao uso desse tipo de consórcio. Como as algas são ricas em lipídios, proteínas e carboidratos (MOHD UDAIYAPPAN et al., 2017), a biomassa produzida pode ser convertida em biocombustíveis, como o biodiesel e o etanol, o que pode diminuir significativamente as emissões de gases de efeito estufa e o custo de todo o processo. A simultânea produção de biometano e a disposição de biomassa indesejada formam um sistema de manejo de resíduos sinérgico com a vantagem da conservação de recursos (BARBOT; AL-GHAILI; BENZ, 2016).

A digestão anaeróbia como forma de destinação para essa biomassa traz como vantagens a produção de biogás e de um digestato rico em nitrogênio e fósforo, cuja reutilização é essencial para a viabilidade econômica do processo (WARD; LEWIS; GREEN, 2014). Devido à sua elevada concentração de nutrientes do substrato e a baixa remoção dos mesmos no processo anaeróbio, os subprodutos do processo podem ser usados para enriquecimento mineral do solo. Digestatos gerados a partir da decomposição anaeróbia de microalgas apresentam matéria orgânica e macronutrientes, especialmente nitrogênio amoniacal e orgânico, aceitáveis para correção de solos cultiváveis (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2017).

#### **1.4. Pré-tratamento**

Dentre as fases da digestão anaeróbia (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese), a hidrólise costuma ser a etapa limitante em relação à taxa de conversão (ZHEN et al., 2017), e a alta concentração de sólidos na biomassa costuma ser um dos fatores que contribuem para isso. O pré-tratamento da biomassa é uma abordagem muito utilizada para reduzir essa limitação. Os tipos de pré-tratamento são classificados como físico, térmico, químico e biológico, dependendo de como ocorre a quebra das estruturas moleculares. Métodos físicos são baseados na aplicação de forças físicas, como radiação ou ultrassom, métodos

térmicos promovem a ruptura através de calor, métodos químicos através da natureza destrutiva de produtos químicos e métodos biológicos na habilidade de enzimas hidrolíticas (KENDIR; UGURLU, 2018).

De acordo com WARD; LEWIS; GREEN (2014), as microalgas são capazes de passar por um reator de digestão anaeróbia e ainda continuarem não digeridas, o que está relacionado à sua parede celular que, quando não degradada, ocasiona uma menor conversão de matéria orgânica a biogás durante o processo, e conseqüentemente, uma menor liberação de nutrientes. Vários autores conduziram estudos relacionados à aplicação de pré-tratamento em biomassa algal com subsequente digestão anaeróbia (SCARCELLI et al., 2020; WILSON et al., 2011; XUE et al., 2015) e, em geral, os métodos utilizados para a ruptura celular apresentam vantagens e desvantagens de acordo com seu requerimento energético, tipo de microalga, eficiência, aplicabilidade e custo (KENDIR; UGURLU, 2018). SIROHI et al. (2021) aponta que os métodos de pré-tratamento devem ser conduzidos em função da densidade, forma, tamanho, meio de cultivo, células em suspensão e a espécie de microalga a ser tratada com microondas como promissores na área das técnicas físicas, e que um controle preciso sobre as condições do processo pode oferecer um menor gasto energético.

O pré-tratamento térmico se mostra interessante por ocasionar aumento na produção de biogás durante a digestão anaeróbia de microalgas (SCARCELLI et al., 2020) sendo uma das tecnologias mais viáveis economicamente em termos de consumo de energia (PASSOS; FERRER, 2014). Um estudo publicado em 2023 concluiu que o uso de pré-tratamento resultou em maior solubilização da biomassa e liberação de compostos celulares de um consórcio microalgas-bactérias (CABEZA; VAN LIER; VAN DER STEEN, 2023). Ainda nesse estudo, foi concluído que pré-tratamento térmico do substrato a 70°C por 1h aumentou a produção de metano em 78%. OMETTO et al. (2014) aplicou diferentes formas de pré-tratamento em microalgas e concluiu que a hidrólise térmica promoveu um acréscimo de 60 a 100% na produção de biogás.

### **1.5. Codigestão**

A digestão anaeróbia simultânea de dois ou mais compostos orgânicos é definida como codigestão (DONOSO-BRAVO et al., 2019). Essa estratégia é usada misturando um segundo substrato ao substrato primário de forma a melhorar algum aspecto do processo anaeróbio e, conseqüentemente, a produção de biogás (HAGOS et al., 2017). Ajuste de pH, aumento de capacidade tampão, maior disponibilidade de matéria orgânica biodegradável, melhor relação carbono/nitrogênio (C/N) e diluição de compostos possivelmente inibitórios são alguns dos possíveis benefícios obtidos (HAGOS et al., 2017).

Nem todas as microalgas têm elevado potencial para serem substratos para a digestão anaeróbia, portanto é necessário escolher bem as espécies e as condições do processo para obter melhores resultados (MUSSGNUM et al., 2010). A relação C/N é um parâmetro de grande importância a ser observado no processo, pois as microalgas geralmente possuem uma baixa relação C/N, podem levar ao acúmulo de amônia e ácidos voláteis, substâncias que são inibitórias em reatores anaeróbios se em grandes quantidades (CAPORGNO et al., 2016). KHALEKUZZAMAN et al. (2023) utilizou lodo fecal na codigestão com microalgas e atingiu uma relação C/N otimizada para a produção de hidrogênio, além de alcançar uma produção de biometano 24% maior com uma mistura 50-50 se comparada com a cultura pura de microalgas.

ZHEN et al., (2016) publicou um estudo no qual uma cultura mista de microalgas contendo *Scenedesmus sp.* e *Chlorella sp.* foram codigeridas com restos de comida, e seus resultados levaram à conclusão de que a codigestão apresentou uma produção de metano 4,99 vezes maior que as microalgas usadas individualmente como substrato, e que a sinergia aumentou não somente a produção total, mas como também a taxa da metanogênese. VASSALLE et al. (2020) adicionou microalgas em um Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (RAFA) e atingiu uma produção de metano 25% maior se comparada ao controle.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Encontrar a condição ótima para digerir anaerobiamente biomassa algal, cultivada em sistema terciário, em função de codigestão e pré-tratamento térmico, para liberação de nutrientes.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Investigar as condições ideais da codigestão no processo de digestão anaeróbia de microalgas visando melhor rendimento na produção de metano e na liberação de nutrientes;
- Avaliar o uso do pré-tratamento térmico para promover a hidrólise das microalgas no processo de digestão anaeróbia.
- Investigar a liberação de nutrientes em reatores de mistura completa.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Microalgas

As microalgas utilizadas como substrato foram coletadas nos sedimentadores de saída de 3 reatores do tipo *High Rate Algal Pounds* (HRAP) tratando, com um consórcio de microalgas+bactérias, esgoto primário coletado na entrada de uma estação de tratamento de efluentes domésticos e agroindustriais em Campo Grande (MS), após as etapas de gradeamento e remoção de sólidos grosseiros. Os reatores eram feitos de fibra de vidro, sendo dois de 48L e um de 64L de volume, com 0,35m<sup>2</sup> de área iluminada cada, com agitação constante, expostos ao ar livre e com regime contínuo de alimentação. O substrato foi coletado e refrigerado a  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , até ser transferido para a sala de temperatura controlada para aclimação por 24h à temperatura de digestão (32°C) antes da incubação a fim de evitar choque térmico no inóculo. Essa cultura de microalgas utilizada como substrato apresenta 7,54 gO<sub>2</sub>/L de DQO total, 140,3 mgO<sub>2</sub>/L de DQO solúvel, 7,70 g/Kg de sólidos totais (ST), 133,75 mgN/L total e 64,10 mgN/L solúvel.

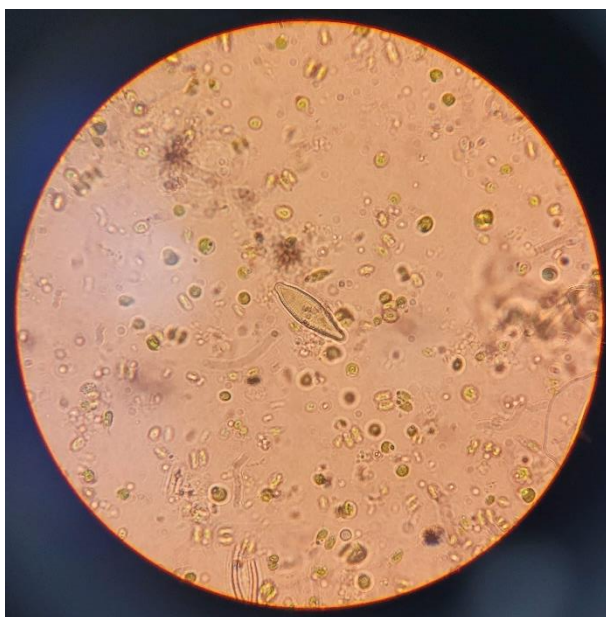


Figura 1: Lâmina de identificação de espécies de microalgas do consórcio utilizado como substrato



Figura 2: Imagem aproximada de espécimes identificados como do gênero *Scenedesmus*.

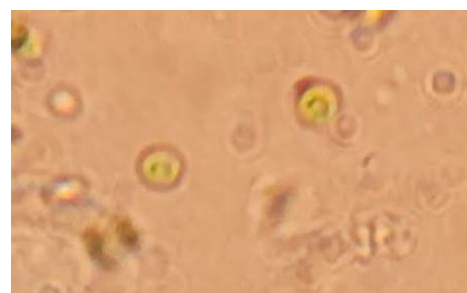


Figura 3: Imagem aproximada de espécimes identificados como do gênero *Chlorella*.

A Figura 1 apresenta uma lâmina utilizada para identificação das espécies no consórcio de microalgas utilizado como substrato. É possível verificar a predominância de microalgas do gênero *Scenedesmus*, de forma oblonga e formando agrupamentos de poucos indivíduos (Figura

2), e uma quantidade menor de microalgas do gênero *Chlorella*, caracterizadas pela forma arredondada e não formação de estruturas (Figura 3), ambas espécies comumente encontradas em sistemas de tratamento onde microalgas crescem espontaneamente.

### **3.2. Inóculo**

O inóculo utilizado, de coleta única de uma estação de tratamento de efluentes de uma fábrica de refrigerantes em Campo Grande (MS), foi mantido em suspensão através de refrigeração a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ . Para cada teste, uma parte do lodo anaeróbio foi retirada do resfriamento, aclimatada a  $32^\circ\text{C}$  em sala de temperatura controlada e ativada com uma solução de nutrientes para AME e BMP (CHERNICHARO, 2007) com 50% de concentração, durante 15 dias, até atingir uma produção de biogás constante. Esse inóculo apresenta 94,39 g/Kg de ST e 85,28g/Kg de sólidos voláteis totais (SVT).

Para a incubação, o inóculo foi induzido à fase endógena por um período de 3 dias, até sua produção de biogás se tornar irrisória e a maior parte do substrato presente no inóculo ter sido consumida. Em seguida, o recipiente contendo o inóculo foi deixado em repouso por 1 hora para que o excesso de fase líquida fosse concentrado na camada superficial e então removido, e após isso procederam as análises de caracterização.

### **3.3. Esgoto sintético**

A solução de esgoto sintético é composta por (por L de água destilada): 7 mg de NaCl, 4 mg de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2 mg de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,005 mg de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 112 mg de  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 250 mg de  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ , 160 mg de peptona de caseína, 110 mg de extrato de carne, 30 mg de ureia e 1100 mg de  $\text{NaHCO}_3$  (Frutos et al., 2016). Esta composição corresponde a concentrações  $0,5 \text{ gO}_2/\text{L}$  de DQO,  $212,1 \pm 42,6 \text{ mg L}^{-1}$  de carbono orgânico total (TOC) dissolvido,  $178,8 \pm 16,0 \text{ mg L}^{-1}$  de carbono inorgânico total (IC) dissolvido,  $40,0 \pm 4,7 \text{ mg L}^{-1}$  de nitrogênio total (TN) e  $4,7 \pm 4,3 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{N-NH}_4^+$ , respectivamente. O uso de solução sintética se deve às limitações do uso de esgoto bruto devido à presença de COVID 19 no início dos testes, e a escolha foi mantida de forma a garantir a homogeneidade do substrato utilizado.

### **3.4. Pré tratamento e temperatura de digestão.**

A temperatura de pré-tratamento térmico de  $55,5 \pm 0,3^\circ\text{C}$  foi definida de acordo com a faixa ótima ( $55$  a  $100^\circ\text{C}$ ) (SCARCELLI et al., 2020) e conduzido em estufa de temperatura controlada Eletrolab® modelo EL202 com aferições dentro do meio líquido. Os tempos de pré-

tratamento térmico foram definidos de acordo com a faixa de valores (3,8 a 15 horas) citada em outros trabalhos (PASSOS; FERRER, 2014, PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013). A temperatura de digestão anaeróbia de 32°C foi escolhida considerando a faixa de temperatura ideal para os microrganismos hidrolíticos e acidogênicos (25 a 35°C) e metanogênicos (32 a 42°C) (KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, 2019 apud WELLINGER et al. 2013).

### 3.5. Determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME)

A determinação ao AME requer o uso do volume de metano utilizado em determinado período de tempo, e como seus valores são expressos geralmente em  $gDQO.gSV^{-1}.d^{-1}$ , é fundamental conhecer a quantidade de inóculo que foi adicionado ao experimento. Para determinar o AME em termos de DQO, conhecer o coeficiente estequiométrico da oxidação do metano é fundamental (AQUINO et al., 2007) (Equação I).



Pela equação I temos que 2 mols de  $O_2$  equivalem a 1 mol de  $CH_4$ , o que implica que 1 mol de  $CH_4$  corresponde a 64gDQO e 1gDQO corresponde a 0,015621 mols de  $CH_4$ . Conhecendo o volume de gás ocupado nas CNTP (22,7L) e as condições em que o experimento foi conduzido (32°C e 1atm), podemos fazer a correção do volume ocupado por 1 mol de gás metano (Equação II).

$$\left(\frac{P_1V_1}{T_1}\right) = \left(\frac{P_2V_2}{T_2}\right) \rightarrow \frac{1atm \times 22,7L}{273K} = \frac{1atm \times V_2}{305K} \rightarrow V_2 = 25,36L \quad (II)$$

Com base no resultado da equação II, é possível dizer que a 32°C, 1 mol de metano ocupa 25,36L de volume e que os 0,015621 mols de  $CH_4$  que correspondem a 1g de DQO ocupam 0,3961L de volume. Com base nesses dados, é possível calcular o AME com base na equação III a seguir.

$$AME \left( \frac{gDQO}{gSV \times dia} \right) = \frac{\Delta V}{Mi \times \Delta t \times 396,1 \frac{mLCH_4}{gDQO}} \quad (III)$$

Outra forma de determinar o AME do experimento é determinando o coeficiente angular, em  $mgDQO.d^{-1}$ , da curva de metano acumulado em seu ponto de maior inclinação (Figura 4) e conhecendo a quantidade de inóculo adicionada.

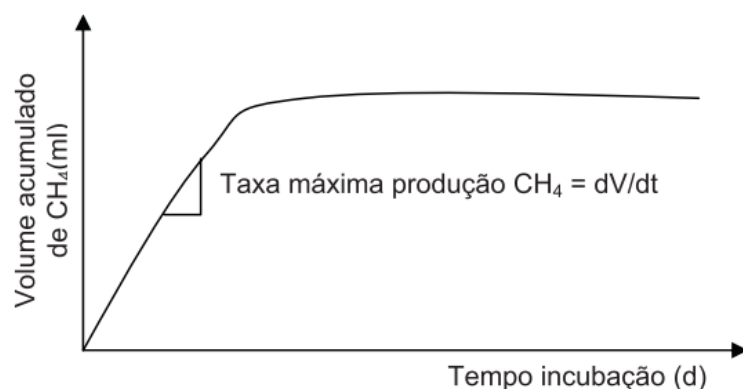


Figura 4: Determinação gráfica da taxa máxima de produção de metano.

### 3.6. Potencial Bioquímico de Metano (*Biochemical Methane Potential - BMP*)

Os testes BMP foram feitos nas instalações do Laboratório de Tecnologias e Tratamento de Efluentes da Agroindústria (LabE) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), de acordo com a metodologia descrita por Aquino et al. (2007), em triplicata, em frascos de vidro âmbar com 500 ml de capacidade e 80% de volume útil, lacrados com septo de borracha e friso de alumínio, fase gasosa purgada, por um período de 5 minutos, com uma mistura de nitrogênio e gás carbônico (70% - 30%, respectivamente). O gás metano produzido foi medido pelo método de deslocamento de líquido com o uso de uma solução (NaOH) 18% conforme recomendado por Aquino et al. (2007). A Tabela 1 apresenta os parâmetros de cada condição testada nos testes BMP 1, BMP 2 e BMP 3.

Tabela 1: Parâmetros das condições testadas nos testes BMP 1, BMP 2 e BMP 3.

Teste	Condição	Inóculo (gSV)	S/I	Codigestão (% de microalgas)	PT a 55°C (h)	Duração (d)
BMP 1	ES	0.5	1	0%	0	45
	MA sem PT	1	1	100%	0	45
	MA com PT	1	1	100%	4	45
	ES + MA sem PT	1	1	50%	0	45
	ES + MA com PT	1	1	50%	4	45
BMP 2	MA sem PT	1.5	1	100%	0	42
	MA com PT	1.5	1	100%	4	42
	ES	1.5	1	0%	0	42
	ES + MA sem PT	1.5	1	50%	0	42
	ES + MA com PT	1.5	1	50%	4	42
BMP 3	25% MA sem PT	1.5	1	25%	0	38
	50% MA sem PT	1.5	1	50%	0	38
	75% MA sem PT	1.5	1	75%	0	38
	25% MA com PT	1.5	1	25%	7	38
	50% MA com PT	1.5	1	50%	7	38

\*ES: Esgoto sintético; MA: Microalgas; PT: Pré-tratamento térmico.

### 3.6.1. *BMP 1*

O BMP 1 teve duração de 45 dias e comparou a produção de gás metano com o uso de diferentes substratos (microalgas e esgoto sintético), de pré-tratamento térmico e de codigestão de substratos (Tabela 1). Nas condições de codigestão foi avaliada a relação microalgas/sgoto sintético de 1:1 gDQO:gDQO, enquanto a relação substrato/inóculo foi mantida como 1:1 em todas as condições, com uma concentração de 1 gSV.L<sup>-1</sup> por frasco, de acordo com a faixa utilizada (0,5 a 4,0 gSV de substrato/gSV de inóculo) em PASSOS, GARCÍA e FERRER (2013), com exceção das replicatas de esgoto sintético, que tiveram uma concentração de inóculo e substrato de 0,5 gSV.L<sup>-1</sup> e 0,5 gSV.L<sup>-1</sup>, respectivamente, para aproximar a concentração do esgoto sintético da comumente encontrada em esgotos sanitários convencionais que é de 100 mgDQO.L<sup>-1</sup> a 300 mgDQO.L<sup>-1</sup> (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2019).

### 3.6.2. *BMP 2*

O BMP 2 teve duração de 42 dias e comparou a produção de gás metano com o uso de diferentes substratos (microalgas e esgoto sintético), de pré tratamento térmico e de codigestão de substratos (Tabela 1) assim como no teste BMP 1, com a alteração da concentração de inóculo utilizada para 1,5gSV.L<sup>-1</sup> para reduzir problemas com perdas de gás na medição de metano por deslocamento e aproximar o valor do recomendado por ROCHA et al.(2001) de 2 gSV/L para testes sem agitação. Nas condições de codigestão foi mantida a relação microalgas/sgoto sintético de 1:1 gDQO:gDQO, enquanto a relação substrato/inóculo foi mantida como 1gDQO:2gSV em todas as condições de acordo com a faixa utilizada (0,5 a 4,0 gSV de substrato/gSV de inóculo) em (PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013).

### 3.6.3. *BMP 3*

O BMP 3 teve duração de 38 dias e testou diferentes relações de codigestão de microalgas e esgoto sintético para investigar sua influência na produção de metano (Tabela 1). O teste foi montado com uma concentração de 1,5 gSV.L<sup>-1</sup> por frasco, com uma relação substrato/inóculo de 0,5 gDQO/gSVT de acordo com a faixa utilizada (0,5 a 4,0 gSV de substrato/gSV de inóculo) em (PASSOS; GARCÍA; FERRER, 2013).

### 3.7. *Contínuos Stirred Tank Reactor (CSTR)*

Os testes com CSTR foram feitos nas instalações do Laboratório de Tecnologias e Tratamento de Efluentes da Agroindústria (LabE) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), conduzidos em dois reatores de acrílico cilíndricos, de 7cm de raio e 23cm de altura, com 3,5L de volume total e 3L de volume útil, sob agitação constante a 150 rpm com barras magnéticas e mesa agitadora. O teste foi feito em duplicata e inoculado com 6 gSV.L<sup>-1</sup>, similar à concentração de 6,3gSVT.L<sup>-1</sup> utilizada por SCARCELLI et al. (2021).

#### 3.7.1. *Monitoramento e análises*

Os parâmetros temperatura e pH foram monitorados continuamente por pHmetros Hanna® HI 2002-02 com medições a cada meia hora, e extração de dados e recalibração semanal dos equipamentos. Amostras foram retiradas semanalmente para análise de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total (NT), Ácidos Graxos Voláteis (AGV) e Carbono Orgânico Total (TOC), com as análises feitas variando de acordo com o experimento. A DQO foi feita segundo metodologia descrita em APHA, (1998), o NT foi feito pelo método fotométrico com o kit de Nitrogênio (total) Spectroquant® de 10-150m.L<sup>-1</sup> N, o teste de AGV foi feito pelo método de esterificação com conjunto de reagentes para ácidos voláteis de 27-2800 mg/L de ácido acético da Hach, enquanto o TOC foi feito no equipamento Analisador de Carbono Total Vario TOC Cube® pelo princípio de pós-combustão do forno de temperatura de 850°C-1200°C.

#### 3.7.2. *CSTR*

Com base nos resultados dos testes BMP, que mostraram grande influência da codigestão no rendimento de metano, mas indicaram pouca influência do pré-tratamento térmico e da variação da concentração de microalgas na codigestão, a primeira batelada com os reatores de mistura completa digeriu anaerobiamente, em duplicata, microalgas em codigestão com esgoto sintético em uma relação de 1gDQO:1gDQO, uma relação substrato/inóculo de 0,5gDQO/gSV e um tempo de detenção hidráulico (TDH) de 63 dias. Foram feitas coletas semanais para as análises de DQO total, AGV total, TOC dissolvido e NT dissolvido. Devido às diferentes características dos substratos e seus tempos de decantação (o lodo anaeróbio granular decanta rápido, as microalgas moderadamente rápido e o esgoto sintético permanece misturado ao digestato), foi desenvolvida uma metodologia para evitar a coleta de lodo enquanto a mistura dos substratos e do digestato permanece o mais inalterada possível: após desligada a agitação da fase líquida, a coleta é feita em exatamente 30 segundos, tempo

suficiente para o lodo decantar mas as microalgas continuarem em suspensão, na metade da altura do reator, com os primeiros 5ml descartados para evitar contaminação da amostra com o líquido estagnado no ducto de coleta.

### **3.8. Estatística**

As diferenças significativas entre as médias das condições foram verificadas pelo teste ANOVA, com pós teste de Tukey para comparar e agrupar as médias, no software *Minitab Statistical Software 21.2*<sup>®</sup>.

Para comparar os resultados testes BMP , foi feita a análise de experimento de superfície de resposta no *Minitab Statistical Software 21.2*<sup>®</sup>, com o uso da concentração de inóculo (gSV/L), da relação de codigestão microalgas/esgoto sintético (M/E) e tempo de pré-tratamento (PT) como variáveis contínuas e os valores de BMP e AME como resposta. A superfície de resposta permitiu a visualização dos fatores que mais influenciaram na alteração das respostas e a influência de cada um.

Todas as condições adicionadas na superfície de resposta tiveram removidas as influências apresentadas pela condição controle, e as condições digerindo apenas esgoto sintético também foram excluídas, de forma a não distorcer os ajustes envolvendo o pré-tratamento térmico.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Testes BMP

A Tabela 2 apresenta os resultados de AME e BMP de todas as condições testadas.

Tabela 2: Resultados de AME (Atividade Metanogênica Específica) e BMP (Biochemical Methane Potential ou Potencial Bioquímico de Metano) dos testes BMP 1, BMP 2 e BMP 3.

Teste	Condição*	BMP	AME
		(mgDQO.gSVT-1)	(mgDQO.l-1.gSVT-1.d-1)
BMP 1	ES	920.99±70.98	93.54±33.21
	MA sem PT	799.86±121.31	33.45±3.57
	MA com PT	762.78±91.89	42.13±8.44
	ES + MA, sem PT	909.49±75.92	74.95±12.5
	ES + MA, com PT	775.11±40.66	85.11±0.13
BMP 2	MA sem PT	442.24±58.98	31.49±5.19
	MA com PT	424.98±50.96	42.38±0.92
	ES	925.53	76.72
	ES + MA, sem PT	884.61±68.32	45.52±7.24
	ES + MA, com PT	774.87±193.15	69.85±5.69
BMP 3	25% MA sem PT	933.26±218.97	57.85±11.58
	50% MA sem PT	862.37±121.76	40.73±5.62
	75% MA sem PT	1024.15±98.98	50.57±6.54
	25% MA com PT	786.57±96.48	55.1±20.64
	50% MA com PT	689.8±230.06	54.92±6.64
	75% MA com PT	1009.46±25.32	58.9±10.91

\*ES: Esgoto sintético; MA: Microalgas; PT: Pré-tratamento térmico.

#### 4.1.1. Teste BMP 1

A Tabela 3 apresenta os resultados estatísticos das médias de cada condição em relação ao resultado de BMP. A partir desse resultado é possível verificar que, com as relações S/I (1), relações de codigestão M/E (50%) e inóculo (0,5 e 1 gSV/L), não houve diferença estatística significativa entre as condições.

Tabela 3: Informações de Agrupamento por BMP do teste BMP 1 usando ANOVA e Método de Tukey como Post Hoc com 95% de Confiança.

Condição	Média	Agrupamento
ES	921,00	A
MA sem PT	799,90	A
MA com PT	762,80	A
ES + MA, sem PT	909,50	A
ES + MA, com PT	775,10	A

A Tabela 4 apresenta o resultado do teste ANOVA com pós teste de Tukey aplicados para comparar as médias de cada condição em relação ao resultado de AME. A partir desse resultado é possível verificar que ambas as condições com codigestão entre microalgas e esgoto sintético apresentaram resultados estatisticamente iguais entre si, assim como as condições com monodigestão, indicando pouca influência do pré-tratamento térmico das microalgas, e estatisticamente diferentes das condições sem o uso de codigestão, indicando que a adição desse substrato incrementou a taxa máxima de produção de metano.

Tabela 4: Informações de Agrupamento por AME do teste BMP 1 usando ANOVA e Método de Tukey como Post Hoc com 95% de Confiança.

Condição	Média	Agrupamento		
ES + MA com PT	85.12	A		
ES + MA sem PT	74.96	A	B	
ES	46.80		B	C
MA com PT	42.14			C
MA sem PT	33.45			C

O Gráfico 1 apresenta o consumo de DQO de substrato mensurado através do cálculo de CH<sub>4</sub> produzido. É possível verificar que as condições ES, ES + MA com PT e ES + MA sem PT apresentaram uma produção inicial rápida, tendo a inclinação da reta de produção de metano mais acentuada antes dos 10 dias de experimento, enquanto as condições MA sem PT e MA com PT tiveram uma fase *lag* e começaram a apresentar uma produção de metano expressiva a partir de 13 dias de experimento, indicando a necessidade de adaptação do lodo ao consórcio de microalgas utilizado, enquanto a adição do esgoto sintético eliminou essa particularidade na interação do inóculo com o substrato.

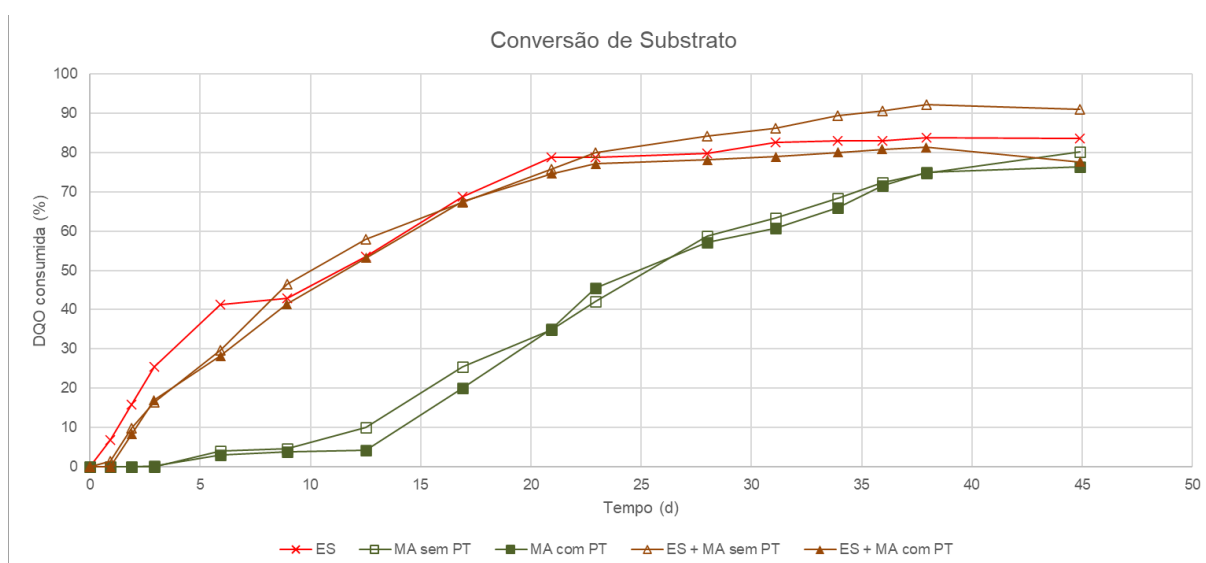


Gráfico 1: DQO de metano produzida por cada condição no teste BMP 1.

A Tabela 5 apresenta os períodos nos quais as médias de AME apresentaram resultados mais elevados. Comparando esses resultados com o Gráfico 1, é possível verificar que a fase de adaptação das condições MA com PT e MA sem PT levou a menores valores de AME na fase inicial se comparado com as outras condições, tendo valores mais elevados para a codigestão antes dos primeiros 10 dias, enquanto aquelas sem a codigestão só alcançaram o AME máximo após a metade da duração do experimento.

Tabela 5: Períodos (em dias) com maior média de AME no teste BMP 1.

Condição	Replicatas		
	1	2	3
ES		0-10	0-10
MA sem PT	20-30	20-30	20-30
MA com PT	20-30	20-30	20-30
ES + MA, sem PT	0-10	0-10	0-10
ES + MA, com PT		0-10	0-10

#### 4.1.2. Teste BMP 2

A Tabela 6 apresenta os resultados do teste ANOVA com pós teste de Tukey aplicados para comparar as médias de BMP entre as condições. Através dos resultados é possível verificar que as condições com codigestão apresentaram médias significativamente iguais ao esgoto sintético, condição que apresentou o maior resultado de BMP, e que não apresentaram diferença entre si, indicando pouca influência do pré-tratamento térmico a 55°C e por 4h na produção de metano. Essa conclusão também pode ser obtida ao observar as condições com apenas microalgas como substrato, que apresentaram médias estatisticamente iguais entre si.

Tabela 6: Informações de Agrupamento por BMP do teste BMP 2 usando ANOVA e Método de Tukey como Post Hoc com 95% de Confiança.

Condição	Média	Agrupamento
ES	925,53	A
ES + MA sem PT	884,61	A
ES + MA com PT	774,87	A
MA sem PT	442,24	B
MA com PT	424,98	B

A Tabela 7 apresenta os resultados do teste ANOVA com pós teste de Tukey aplicados para comparar as médias de AME das condições. As condições ES e ES + MA com PT apresentaram igualdade estatística entre suas médias de AME, enquanto a condição ES + MA sem PT foi agrupada com as condições MA sem PT e MA com PT, indicando uma possível influência positiva no pré-tratamento térmico a 55°C por 4h para codigestão de microalgas com esgoto sintético. As condições MA sem PT e MA com PT não apresentaram diferença

significativa entre suas médias, assim como ocorrido no teste BMP 1, indicando que o pré-tratamento térmico não é efetivo para o aumento da taxa de produção de metano na digestão de microalgas como substrato único.

Tabela 7: Informações de Agrupamento por AME do teste BMP 2 usando ANOVA e Método de Tukey como Post Hoc com 95% de Confiança.

Condição	Média	Agrupamento
ES	182,67	A
ES + MA, com PT	166,31	A
ES + MA, sem PT	108,40	B
MA sem PT	100,93	B
MA com PT	74,99	B

No Gráfico 2 é possível identificar um período inicial de produção muito baixa para todas as condições, indicando que todas as condições necessitaram de um período de adaptação ao substrato, resultado diferente do obtido no BMP 1, no qual as condições com esgoto sintético e codigestão de substratos não necessitaram dessa adaptação inicial, o que indica que o aumento da concentração de inóculo utilizado na incubação dos testes (de 1gSVT/L no BMP 1 para 1,5 gSVT/L no BMP 2) e a manutenção da relação S/I pode ter levado à uma reação inibitória por parte de compostos presentes nos substratos.

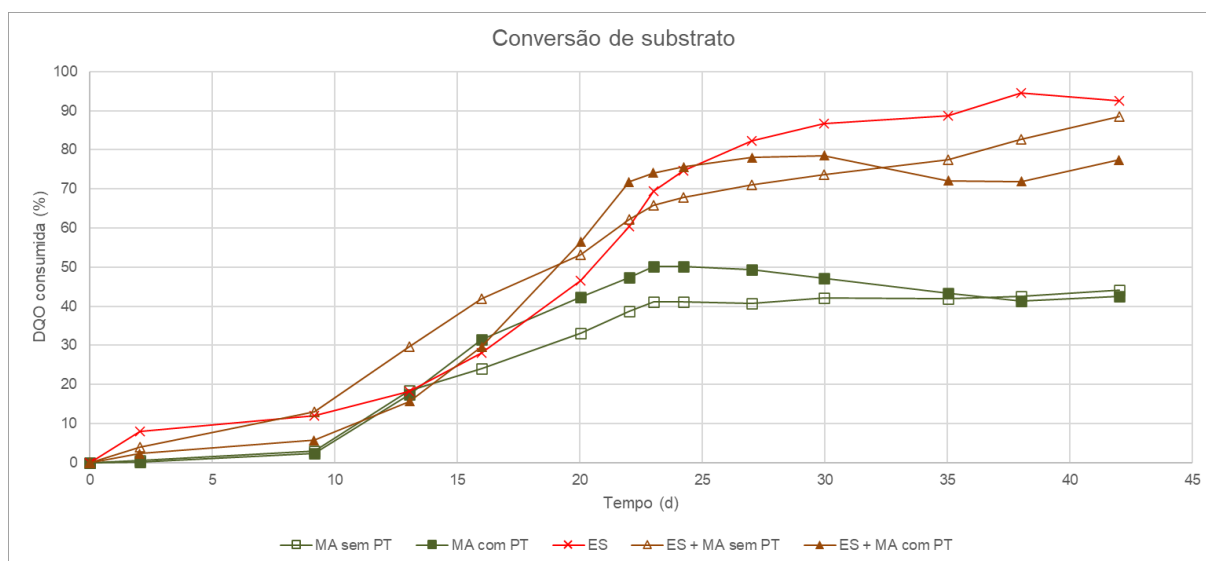


Gráfico 2: DQO de metano produzida por cada condição no teste BMP 2.

A Tabela 8 apresenta os períodos nos quais as médias de AME apresentaram resultados mais elevados. É possível notar que nenhuma das condições estudadas apresentou os maiores valores de AME antes dos 10 primeiros dias de experimento, ao contrário do experimento BMP 1, reforçando que todas as condições necessitaram de um período de adaptação do inóculo ao substrato. As replicatas de MA sem PT e MA com PT apresentaram seus maiores valores de AME entre o décimo e vigésimo dia de experimento, enquanto o ES, ES+MA sem PT e ES+MA

com PT apresentaram seus valores, na maioria das replicatas, entre o vigésimo e o trigésimo dia.

As replicatas da condição controle (Branco) foram consideradas na Tabela 8 devido à uma produção de metano incomum no final do experimento, chegando a totalizar 449 mgDQO/L. Todas as replicatas da condição do branco apresentaram as maiores taxas de AME nos últimos 10 dias de experimento, indicando a influência de auto degradação do inóculo em condições de privação de alimento e uma possível interferência nos resultados da fase final no teste BMP 2, gerando uma subestimativa da produção de metano das condições com substrato na fase final dos experimentos.

Tabela 8: Períodos (em dias) com maior média de AME no teste BMP 2.

Condição	Replicatas		
	1	2	3
MA sem PT	10-20	10-20	
MA com PT	10-20	10-20	10-20
ES			20-30
Branco	30-40	30-40	30-40
ES + MA, sem PT	20-30	10-20	20-30
ES + MA, com PT	20-30	20-30	

#### 4.1.3. Teste BMP 3

A Tabela 7 apresenta os resultados do teste ANOVA com pós teste de Tukey aplicados para comparar as médias de BMP e AME das condições do teste BMP 3. É possível notar que não foi identificada nenhuma diferença estatisticamente significativa tanto para BMP quanto para AME.

Tabela 9 Informações de Agrupamento por BMP e AME do teste BMP 3 usando ANOVA e Método de Tukey como Post Hoc com 95% de Confiança.

Condição	Agrupamento para BMP	Agrupamento para AME
25% MA sem PT	A	A
50% MA sem PT	A	A
75% MA sem PT	A	A
25% MA com PT	A	A
50% MA com PT	A	A
75% MA com PT	A	A

O Gráfico 3 apresenta as curvas de produção de metano das condições e condiz com o apresentado na Tabela 9, não apresentando grandes diferenças finais de conversão nem formatos de curvas excessivamente diferentes. É possível notar que até o sétimo dia, todas as condições passaram por uma fase de baixa produção adaptação dos microrganismos do inóculo

para o substrato. Após o período inicial de baixa produção, todas as curvas apresentaram uma produção de metano constante com o decorrer dos dias, comportamento esse similar ao apresentado pelas codigestões no teste BMP 2.

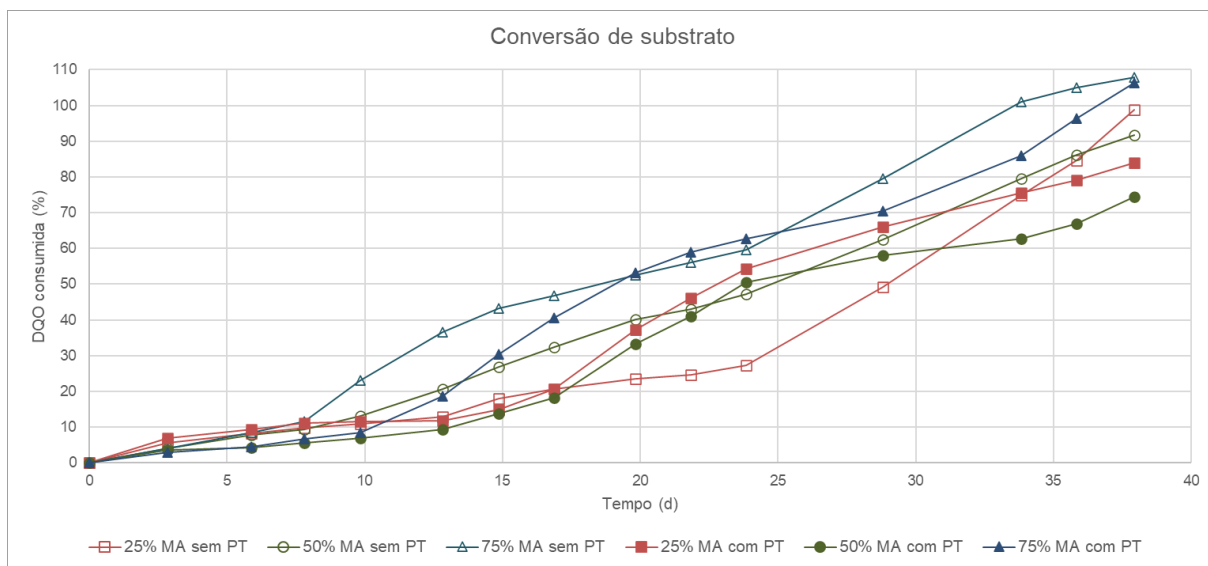


Gráfico 3: DQO de metano produzida por cada condição produzida no teste BMP 3.

A Tabela 10 apresenta os períodos nos quais as médias de AME apresentaram resultado mais elevados. É possível notar 75% das replicatas codigerindo microalgas sem pré-tratamento térmico apresentaram período com maior média de AME entre o trigésimo e o quadragésimo dias de experimento, enquanto aproximadamente 44% das condições codigerindo microalgas com o pré-tratamento térmico apresentaram o período de maior AME entre o vigésimo e o trigésimo dias, seguido por aproximadamente 33% entre o décimo e vigésimo dia e apenas 22% entre o trigésimo e quadragésimo dia, o que implica que o pré-tratamento térmico também foi capaz de antecipar o período de maior produção de metano.

Tabela 10: Períodos (em dias) com maior média de AME no teste BMP 3.

Condição	Replicatas		
	1	2	3
25% MA sem PT		30-40	30-40
50% MA sem PT	10-20	30-40	30-40
75% MA sem PT	30-40	10-20	30-40
25% MA com PT	20-30	30-40	20-30
50% MA com PT	20-30	10-20	20-30
75% MA com PT	10-20	10-20	30-40

## 4.2. Rendimento de metano

O rendimento de metano é representado pelo resultado BMP. Os BMPs das condições com mono digestão de microalgas ( $799.86 \pm 121.31$  e  $762.78 \pm 91.89$  mgDQO.gSV<sup>-1</sup>, sem e com PT para BMP 1;  $442.24 \pm 58.98$  e  $424.98 \pm 50.96$  mgDQO.SV<sup>-1</sup>, sem e com PT para BMP 2) e foram considerados elevados se comparados com os encontrados por PASSOS et al. (2016), que utilizou um consórcio predominantemente composto por *Chlorella sp.* pré-tratada a 80°C por 2h, atingindo um rendimento de 314,16 mgDQO.gSVT<sup>-1</sup>. Ainda nesse mesmo estudo, o resultado para a monodigestão de microalgas atingiu um total de 194,51 mgDQO.gSV<sup>-1</sup>, valor mais de 2 vezes inferior ao do teste BMP 2 ( $442.24 \pm 41.7$  mgDQO.gSV<sup>-1</sup>) e mais de 4 vezes inferior ao do teste BMP 1 ( $799.86 \pm 99.05$  mgDQO.gSV<sup>-1</sup>). A parede celular da *Chlorella sp.* é composta por duas camadas, uma delas com uma bainha trilaminar composta por esporopolenina, um material muito resistente, e a segunda composta por manose e um polissacarídeo similar à quitina (KIM et al., 2016), o que torna difícil sua degradação anaeróbia e pode explicar a diferença nos resultados. A *Scenedesmus sp.* se mostra mais facilmente biodegradável, entretanto: GRESES et al. (2017) atingiu um valor de BMP de 603,74 gDQO/gSVT, sendo esse mais próximo dos valores de monodigestão com PT obtidos no teste BMP 1 e BMP 2.

A digestão de esgoto sintético foi, tanto para o teste BMP 1 quanto para o teste BMP 2 ( $920.99 \pm 50.19$  e  $925.53$  mgDQO.gSV<sup>-1</sup>, respectivamente), a condição com os valores de BMP mais elevados. Isso pode ser explicado pela relação C/N do esgoto sintético (12,5:1) ser mais próxima da faixa ideal da digestão anaeróbia que a do consórcio de microalgas utilizado (563,4:1), que varia entre 20:1 e 30:1 (RAJLAKSHMI et al., 2023). No teste BMP 1 essa adição não apresentou aumento significativo no rendimento de metano, enquanto no BMP 2 foi verificada a semelhança estatística entre as condições com codigestão e a diferença estatística delas com as condições de monodigestão, com um incremento de 100% entre as condições sem PT e de 82% entre as condições com PT. SOLÉ-BUNDÓ et al. (2019) obteve um incremento de 65% ao codigerir microalgas com lodo de esgoto primário, enquanto ZHEN et al. (2016) obteve um acréscimo de 4,99 vezes ao adicionar resíduos alimentares a um consórcio de microalgas composto por *Chlorella sp.* e *Scenedesmus sp.* Variar as correlações de codigestão, entretanto, não gerou incrementos estatisticamente significativos para o aumento do rendimento de metano, resultado idêntico ao encontrado por SOLÉ-BUNDÓ et al. (2018) ao variar a codigestão nas mesmas proporções M/E (100%, 75%, 50% e 25%) entre um consórcio de microalgas composto por *Chlorella*, *Stigeoclonium* e diatomáceas.

### 4.3. AME

Os valores de AME obtidos nos testes BMP 1 e BMP 2 foram inferiores aos obtidos por WANG et al. (2016) ao digerir *Chlorella sp.* com e sem pré-tratamento térmico (79,80 e 64,83 mgDQO.gSV<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, respectivamente) utilizando o modelo *First Order*. O teste BMP 1 teve resultados 89% e 93% inferiores para a monodigestão com e sem pré-tratamento térmico, enquanto o teste BMP 2 teve valores 88% e 105% inferiores. Resultado similar se dá comparando com resultados obtidos por OLSSON et al. (2014), que investigou a digestão de microalgas sem pré-tratamento (64,84 mgDQO.gSV<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>), lodo de esgoto (79,80 mgDQO.gSV<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>) e codigestão entre esses dois substratos (82,29 mgDQO.gSV<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>).

A codigestão foi o principal fator a influenciar os resultados de AME dos testes BMP. Tanto os testes BMP 1 e BMP 2 apresentaram uma média de AME nas condições de codigestão superiores às médias de AME das condições de monodigestão. No teste BMP 1, houve um acréscimo de 124% e 102% para as condições sem e com pré-tratamento térmico, enquanto no BMP 2 esse acréscimo foi de 44% e 64%, respectivamente.

Apesar do pré-tratamento térmico não ter apresentado influência nenhuma nos valores de AME do teste BMP 1, ele causou um acréscimo estatisticamente significativo de 53% na condição de codigestão do teste BMP 2 (108.4±17.24 para 166.31±13.56 mgDQO.l.gSVT<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>). Esse resultado é justificável, já que outros autores concluíram que o pré-tratamento térmico não foi capaz de romper a parede celular das microalgas, mas foi capaz de causar danos e enfraquecê-las (OMETTO et al., 2014; PASSOS et al., 2014), o que auxilia no processo de hidrólise e propicia maiores taxas de conversão. Com relação ao aumento de 50% na concentração de inóculo do teste BMP 1 para o teste BMP 2, não foi encontrada diferença significativa entre os valores de AME, o que implica que concentrações maiores de inóculo podem ser adicionadas sem afetar a velocidade do processo.

### 4.4. Superfícies de resposta

#### 4.4.1. Superfície de resposta BMP

A equação IV apresenta a modelagem da superfície de resposta do BMP dos experimentos em forma de equação única, e o sumário desse modelo é apresentado na O ajuste do modelo teve um coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) de 52,16%, indicando uma correlação



moderada entre a variação dos dados previstos pelo modelo e a variação total encontrada na amostra.

Tabela 11.

### Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

$$\begin{aligned} \text{BMP} = & -255 + 609 \text{ Inóculo (gSV/l)} + 2910 \text{ Codigestão M/E} - 99,6 \text{ PT (h)} \\ & - 1376 \text{ Codigestão M/E} \cdot \text{Codigestão M/E} + 15,60 \text{ PT (h)} \cdot \text{PT (h)} \\ & - 1097 \text{ Inóculo (gSV/l)} \cdot \text{Codigestão M/E} - 34,4 \text{ Inóculo (gSV/l)} \cdot \text{PT (h)} \\ & + 66,2 \text{ Codigestão M/E} \cdot \text{PT (h)} \end{aligned}$$

(IV)

O ajuste do modelo teve um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 52,16%, indicando uma correlação moderada entre a variação dos dados previstos pelo modelo e a variação total encontrada na amostra.

Tabela 11: Sumário do modelo gerado durante a Análise de Superfície de Resposta de BMP

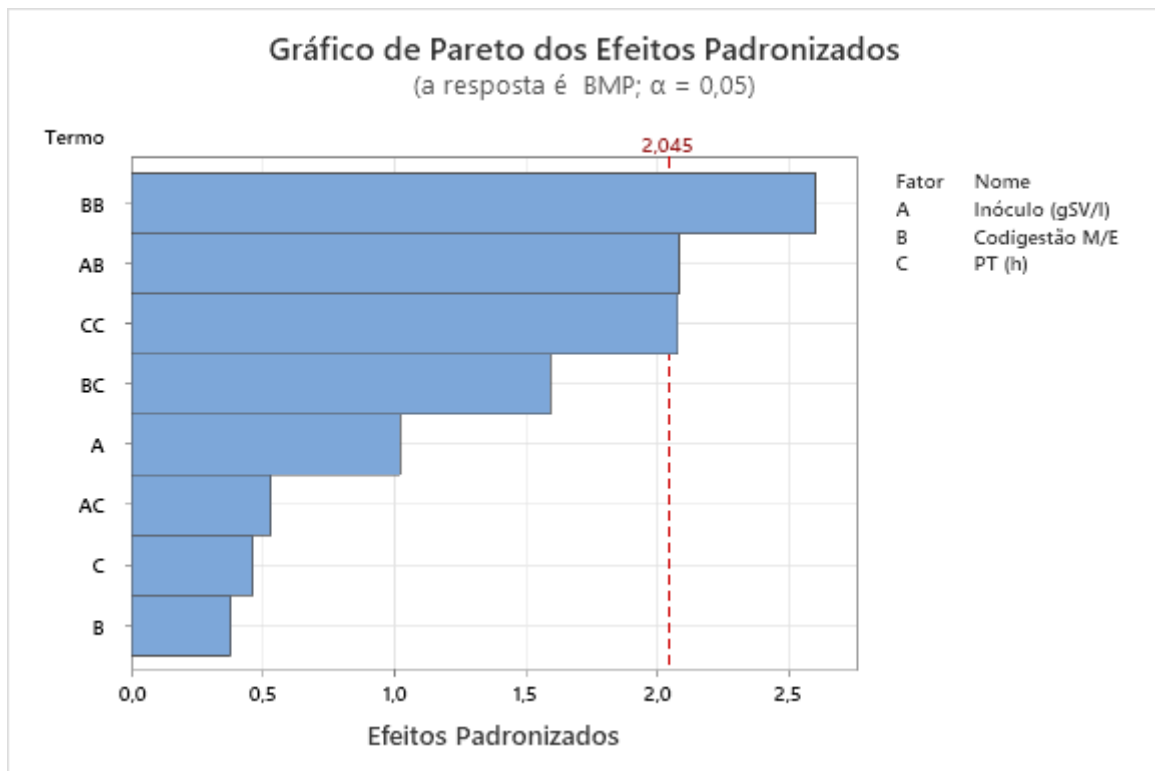
S	R2	R2(aj)	PRESQ	R2(pred)	AICc	BIC
154,454	52,16%	38,96%	1115372	22,87%	508,75	516,98

A Tabela 12 apresenta os resultados da análise de variância dos dados do modelo construído. É possível notar que, apesar de o fator Codigestão M/E apresentar a maior contribuição na variação do modelo entre os fatores lineares (15,64%), o seu *p*-valor correlacionado (0,708) está acima da significância adotada para o teste (0,05), o que indica que essa não é uma associação estatisticamente significativa e que, conseqüentemente, a variação de um único fator não provoca considerável variação linear no valor de BMP nas condições avaliadas nos testes. A codigestão M/E e o PT apresentam, entretanto, uma leve associação com a variação de forma quadrática do sistema, contribuindo com, respectivamente, 12,8% e 7,44% (*p*-valores de 0,014 e 0,046, respectivamente), enquanto as interações entre 2 fatores apresentam uma contribuição de 15,04% (*p*-valor de 0,24). O elevado valor de erro de 47,04% indica que o modelo apresentou variação não explicada por falta de ajuste aos dados inseridos (24,43%) e por fatores não incluídos entre os termos utilizados para a modelagem (23,41%).

Tabela 12: Análise de variância do modelo gerado pela Análise de Superfície de Resposta para BMP.

Fonte	GL	SQ	Seq	Contribuição	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F
Modelo	8	754272		52,16%	754272	94284	3,95
Linear	3	274375		18,97%	42723	14241	0,60
Inóculo (gSV/l)	1	4704		0,33%	25018	25018	1,05
Codigestão M/E	1	226131		15,64%	3423	3423	0,14
PT (h)	1	43540		3,01%	5099	5099	0,21
Quadrado	2	282280		19,52%	362147	181074	7,59
Codigestão M/E*Codigestão M/E	1	174690		12,08%	161713	161713	6,78
PT (h)*PT (h)	1	107590		7,44%	103278	103278	4,33
Interação com 2 Fatores	3	197617		13,67%	197617	65872	2,76
Inóculo (gSV/l)*Codigestão M/E	1	124778		8,63%	103697	103697	4,35
Inóculo (gSV/l)*PT (h)	1	12090		0,84%	6738	6738	0,28
Codigestão M/E*PT (h)	1	60749		4,20%	60749	60749	2,55
Erro	29	691826		47,84%	691826	23856	
Falta de ajuste	4	353300		24,43%	353300	88325	6,52
Erro puro	25	338526		23,41%	338526	13541	*
Total	37	1446098		100,00%			

Fonte	Valor-P
Modelo	0,003
Linear	0,622
Inóculo (gSV/l)	0,314
Codigestão M/E	0,708
PT (h)	0,647
Quadrado	0,002
Codigestão M/E*Codigestão M/E	0,014
PT (h)*PT (h)	0,046
Interação com 2 Fatores	0,060
Inóculo (gSV/l)*Codigestão M/E	0,046
Inóculo (gSV/l)*PT (h)	0,599
Codigestão M/E*PT (h)	0,121
Erro	
Falta de ajuste	0,001
Erro puro	*
Total	



Nota: Fatores – parâmetros estudados nos testes BMP; Termo –componentes da equação gerada pelo modelo de Análise de Superfície de Resposta.

Gráfico 4: Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados indicando quais elementos do modelo para BMP explicaram maior contribuição para a variância total.

#### 4.4.2. Otimização BMP

A Tabela 13 apresenta os resultados da otimização do modelo de superfície de resposta para maximização do valor de BMP. A condição ideal indicada apresenta a concentração de inóculo de 1gSVT/L, relação de codigestão M/E de 0,82 e tempo de pré-tratamento térmico de 7h para a obtenção de um valor de BMP de 1123 gDQO.gSVT<sup>-1</sup>. A adoção de uma concentração de inóculo inferior à que foi utilizada nos testes BMP 2 e BMP 3 indica que, com o TDH de 40 dias, o consórcio de microrganismos é capaz de tratar adequadamente a concentração de substrato adicionada, gerando a possibilidade de aumento da carga orgânica aplicada sem a perda de eficiência no tratamento.

Tabela 13: Predição de resposta do modelo de otimização do valor de BMP.

Variável	Configuração
Inóculo (gSV/l)	1
Codigestão M/E	0,825758
PT (h)	7

EP do			
Resposta	Ajuste	Ajustado	IC de 95% IP de 95%
BMP	1123	202	(711; 1535) (604; 1643)

O Gráfico 5 apresenta as curvas de otimização de cada fator utilizado na construção da superfície de resposta para BMP. O inóculo apresenta uma influência linearmente negativa com o aumento do valor de BMP, enquanto a codigestão e o PT apresentam relações não lineares com o aumento do valor de BMP. A relação de codigestão, apesar dos resultados do teste BMP 3 e de outros autores (SCARCELLI et al., 2020; SOLÉ-BUNDÓ et al., 2018), apresentar essa leve correlação linear é um indicativo de ajuste inadequado do modelo com relação a esse fator.

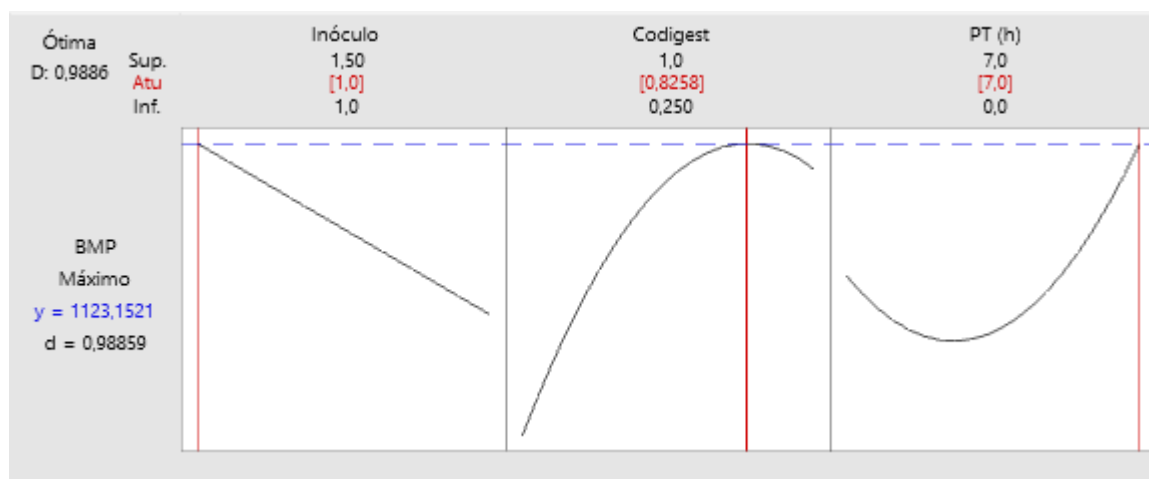


Gráfico 5: Gráficos de curva de otimização de fatores individuais para Inóculo, Codigestão e PT, para BMP

#### 4.4.3. Superfície de resposta AME

A equação V apresenta a modelagem da superfície de resposta do AME dos experimentos em forma de equação única, e o sumário desse modelo é apresentado na Tabela 14. O ajuste do modelo teve um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 69,70%, indicando uma correlação moderada entre a variação dos dados previstos pelo modelo e a variação total encontrada na amostra.

#### Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

$$\begin{aligned} \text{AME} = & 195,8 - 101,2 \text{ Inóculo (gSV/l)} - 110,7 \text{ Codigestão M/E} + 1,46 \text{ PT (h)} \\ & - 49,0 \text{ Codigestão M/E} \cdot \text{Codigestão M/E} - 0,714 \text{ PT (h)} \cdot \text{PT (h)} \\ & + 97,8 \text{ Inóculo (gSV/l)} \cdot \text{Codigestão M/E} + 2,78 \text{ Inóculo (gSV/l)} \cdot \text{PT (h)} \\ & + 1,22 \text{ Codigestão M/E} \cdot \text{PT (h)} \end{aligned}$$

(V)

Tabela 14: Sumário do modelo gerado durante a Análise de Superfície de Resposta de AME.

S	R2	R2(aj)	PRESQ	R2(pred)	AICc	BIC
10,0878	69,70%	61,34%	5227,43	46,32%	301,38	309,60

A Tabela 15 apresenta os resultados da análise de variância dos dados do modelo construído. É possível notar que o fator Codigestão M/E apresentou grande influência na

variação linear dos resultados de AME, contribuindo com 34,07% de toda a variação identificada no modelo e com um p-valor inferior a 0,001, o que comprova a significância dessa associação. As variações quadráticas não apresentam resultados estatisticamente significativos, enquanto as interações entre fatores apresentaram uma fonte de variação leve (9,87%) na interação entre a relação de codigestão e concentração de inóculo, com p-valor de 0,008. O erro de 30,30% indica que o modelo teve variações decorrentes de falta de ajustes do modelo aos dados inseridos (8,30%) e variações que não puderam ser explicadas pelos fatores utilizados para a criação do modelo (22,01%), mas ressaltando que o erro por falta de ajuste teve um p-valor maior que 0,05 (0,081), o que indica que essa variação não é uma associação estatisticamente significativa.

Tabela 15: Análise de variância do modelo gerado pela Análise de Superfície de Resposta para AME.

Fonte	GL	SQ	Seq Contribuição	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F
Modelo	8	6787,52	69,70%	6787,52	848,44	8,34
Linear	3	4149,12	42,60%	2905,29	968,43	9,52
Inóculo (gSV/l)	1	286,64	2,94%	599,52	599,52	5,89
Codigestão M/E	1	3317,79	34,07%	2734,02	2734,02	26,87
PT (h)	1	544,68	5,59%	38,88	38,88	0,38
Quadrado	2	1618,62	16,62%	331,41	165,70	1,63
Codigestão M/E*Codigestão M/E	1	1079,51	11,08%	205,29	205,29	2,02
PT (h)*PT (h)	1	539,12	5,54%	216,26	216,26	2,13
Interação com 2 Fatores	3	1019,77	10,47%	1019,77	339,92	3,34
Inóculo (gSV/l)*Codigestão M/E	1	960,87	9,87%	823,65	823,65	8,09
Inóculo (gSV/l)*PT (h)	1	38,18	0,39%	44,14	44,14	0,43
Codigestão M/E*PT (h)	1	20,72	0,21%	20,72	20,72	0,20
Erro	29	2951,13	30,30%	2951,13	101,76	
Falta de ajuste	4	807,93	8,30%	807,93	201,98	2,36
Erro puro	25	2143,20	22,01%	2143,20	85,73	*
Total	37	9738,65	100,00%			

Fonte	Valor-P
Modelo	0,000
Linear	0,000
Inóculo (gSV/l)	0,022
Codigestão M/E	0,000
PT (h)	0,541
Quadrado	0,214
Codigestão M/E*Codigestão M/E	0,166
PT (h)*PT (h)	0,156
Interação com 2 Fatores	0,033
Inóculo (gSV/l)*Codigestão M/E	0,008
Inóculo (gSV/l)*PT (h)	0,515
Codigestão M/E*PT (h)	0,655
Erro	
Falta de ajuste	0,081
Erro puro	*
Total	



Nota: Fatores – parâmetros estudados nos testes BMP; Termo –componentes da equação gerada pelo modelo de Análise de Superfície de Resposta.

Gráfico 6: Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados indicando quais elementos do modelo para AME explicaram maior contribuição para a variância total.

#### 4.4.4. Otimização AME

A Tabela 16 apresenta os resultados da otimização do modelo de superfície de resposta para maximização do valor de AME. A condição ideal indicada apresenta a concentração de inóculo de  $1,0\text{gSV.L}^{-1}$ , relação de Codigestão M/E de 0,25 e tempo de pré-tratamento térmico de 3,18h para a obtenção de um valor de AME de  $95,49\text{ gDQO.gSVT}^{-1}.\text{d}^{-1}$ .

Tabela 16: Predição de resposta do modelo de otimização do valor de AME.

Variável	Configuração
Inóculo (gSV/l)	1
Codigestão M/E	0,25
PT (h)	3,18182

	EP do		
	Resposta Ajuste	Ajustado	IC de 95%
AME	95,49	9,73	(75,60; 115,39)
			(66,83; 124,16)

A adoção de uma concentração de inóculo menor pode ser explicada pela redução dos valores de BMP identificados nas condições de monodigestão de microalgas entre os testes BMP 1 e BMP 2. A relação de codigestão de 0,25 indica que esse consórcio de microrganismos encontrou dificuldade na degradação do consórcio de microalgas, mesmo com a aplicação de PT. O tempo de pré-tratamento inferior a 4h indica que a não adoção de seu valor máximo

(Gráfico 7) pode decorrer da ação inibitória por algum composto. De fato, resultados similares foram encontrados ao digerir anaerobiamente microalgas após pré-tratamento térmico a 75° por 10h, onde a condição pré-tratada apresentou valores mais elevados de amônia que a condição sem pré-tratamento (0.8 g N-NH<sub>4</sub>/L vs. 0.7 g N-NH<sub>4</sub>/L), sugerindo alta solubilização de proteínas (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2018).

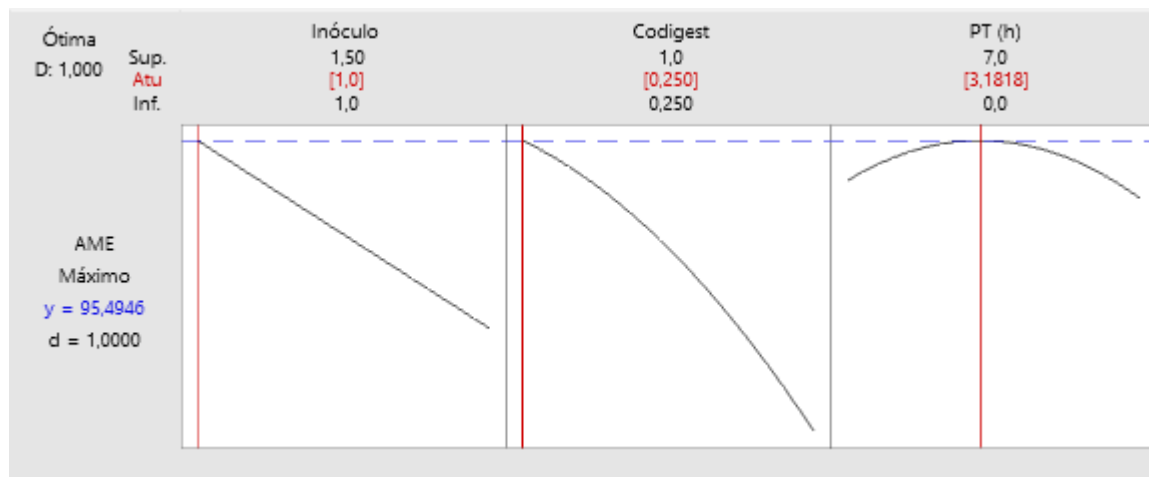


Gráfico 7: Gráficos de curva de otimização de fatores individuais para Inóculo, Codigestão e PT para AME.

#### 4.5. Reator CSTR

O pH não foi controlado em nenhum dos biorreatores e apresentou um incremento em ambos de acordo com o avanço do experimento, tendo valores iniciais para R1 e R2 de 7,06±0,08 e 7,05±0,07, respectivamente, e valores finais de 8,11±0,06 e 7,94±0,00, respectivamente, terminando o período de experimento com valores levemente acima da faixa considerada ideal para a atividade das arqueas metanogênicas (6,7 a 7,5), que são extremamente sensíveis à faixa de pH (KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, 2019). A temperatura média dos reatores foi 33,50±1,79 °C para R1 e 33,24±1,53 °C para R2, mas apresentou um leve acréscimo durante a duração dos experimentos em ambos os reatores, com valores iniciais de 31,78±0,47°C e 31,73±0,45°C para R1 e R2, respectivamente, e valores finais de 36,58±0,40°C e 36,90±0,17°C, o que implica que mesmo sob condições controladas, as variações sazonais causaram uma variação estatisticamente significativa.

Tabela 17: Parâmetros e resultados do teste CSTR.

Parâmetro	R1	R2
pH inicial	7,06±0,08	7,05±0,07
pH final	8,11±0,06	7,94±0,00
DQO inicial (mg/L)	8447.8±313.78	8447.8±313.78
DQO final (mg/L)	2342.4±107.39	3530.93±369.68
Remoção de DQO (%)	72.27	58.2
NT inicial (mgN/L)	133.75	133.75

NT final (mgN/L)	302.5	676
Relação C/N inicial	63.16	63.16
Relação C/N final	7.74	5.22
Ácidos voláteis inicial (mg/L)	596	596
Ácidos voláteis final (mg/L)	548	1162
TC inicial (mg/L)	2927	2927
TC final (mg/L)	1626	1692
Remoção TC (%)	44.45	42.19
TOC inicial (mg/L)	1409.80	1409.80
TOC final (mg/L)	324.75	394.80
Remoção TOC (%)	76.96	72.00

A remoção de DQO calculada através das análises inicial e final do experimento indicam uma remoção de 72,3% para R1 e 58,2 % para R2. Esses valores são, entretanto, relativos à degradação tanto do substrato quanto do próprio lodo anaeróbico, visto que os valores ultrapassam a concentração de DQO de substrato adicionada aos reatores ( $3,00 \text{ gDQO.L}^{-1}$ ). De fato, os testes BMP 1, BMP 2 e BMP 3 apresentaram comportamento semelhante de auto degradação do lodo nas condições controle, sendo esse efeito visível após os 40 dias nos testes BMP 1 e 3, e após os 30 dias no teste BMP 2. Os resultados de TC reforçam essa teoria, visto que seu valor inicial de 2927,00 mg/L para R1 e R2 e sua remoção de 44,5% para R1 e 42,2% para R2 (1301mg/L e 1235 mg/L, respectivamente) indicam que a redução de DQO foi principalmente devido à remoção de material não solúvel.

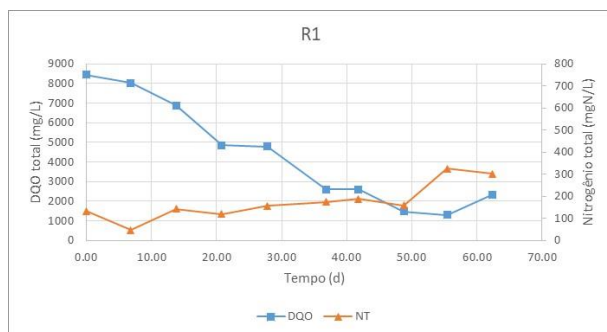


Gráfico 8: Curvas de DQO e NT para R1 no teste CSTR 1.

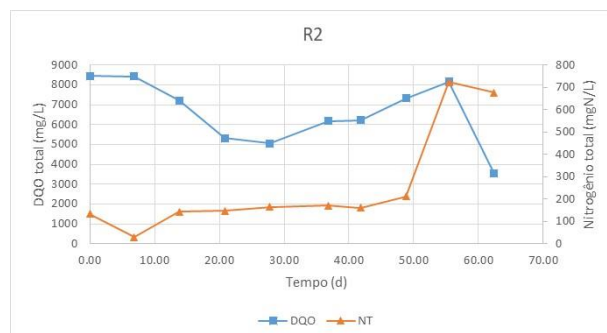


Gráfico 9: Curvas de DQO e NT para R2 no teste CSTR 1.



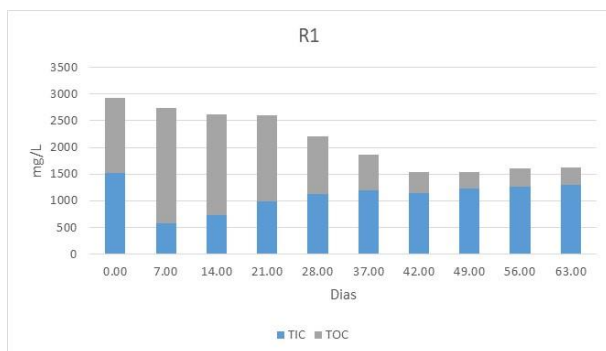


Gráfico 10: Variação de TC, TOC e TIC para R1 no teste CSTR 1.

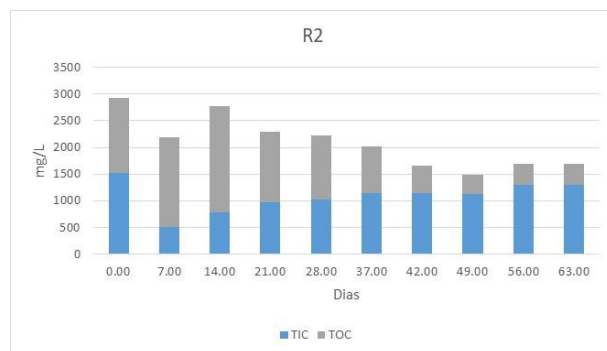


Gráfico 11: Variação de TC, TOC e TIC para R2 no teste CSTR 1.

O Gráfico 9 também demonstra um comportamento particular observado apenas no R2, que é o aumento de DQO total e NT dissolvido no meio devido à desintegração da estrutura flocular do lodo, alterando os valores medidos nas análises devido à inadequação da metodologia de coleta para inóculos com baixa sedimentabilidade. A remoção de TOC de 76,96% para R1 e 72,00% para R2 dá suporte a essa teoria de ter havido majoritariamente desagregação física e não solubilização do inóculo no R2. Os Gráfico 8 e Gráfico 9 apresentam as curvas de degradação de matéria orgânica e variação dos compostos nitrogenados dissolvidos na amostra e indicam que, com o decorrer do tempo de experimento, a concentração de nitrogênio apresentou um aumento de 202% para R1 e 505% para R2, levando a relação C/N inicial de 63,16:1 em ambos os reatores para 7,74:1 no R1 e 5,22:1 no R2, .

## 5. CONCLUSÃO

Essa dissertação mostra a possibilidade de digerir quantidades consideráveis de microalgas e liberar seus nutrientes no meio líquido com a adição de esgoto sintético como substrato durante a codigestão. Seu uso possibilitou incrementar tanto a quantidade de matéria orgânica que o inóculo foi capaz de digerir quanto a taxa máxima, gerando a possibilidade de tornar o processo mais eficiente e rápido no futuro, entretanto sua concentração na mistura não influencia nos resultados. O uso de pré-tratamento térmico não foi eficiente em aumentar o rendimento nem a taxa máxima, mas foi eficaz em facilitar o processo e promover a taxa máxima com menos tempo de experimento necessário. Como produto final, o processo foi capaz de gerar um digestato com baixa relação C/N, com ótimo potencial para uso na agricultura.

## **6. PERSPECTIVAS FUTURAS**

- Utilizar outros substratos abundantes em ETEs, como lodo aeróbio e lodo anaeróbio, como co-substratos para aumentar os efeitos positivos da codigestão no processo de digestão anaeróbia.
- Verificar a viabilidade do projeto em termos sanitários com o uso de esgoto bruto.
- Fazer análise mais detalhada do digestato gerado em função dos nutrientes e suas formas presentes.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Atlas Esgoto: Despoluição das Bacias**

**Hidrográficas**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ana.gov.br>>.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Atlas Esgotos - Despoluição de bacias**

**hidrográficas**. Brasília: ANA, 2017.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th. ed. [s.l.]

American Public Health Association, 1998. v. 20

AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em Lodos Anaeróbios. v. 12, p. 192–201, 2007.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA A DIFUSÃO DE ADUBOS. **CÂMARA TEMÁTICA DE INSUMOS AGROPECUÁRIOS 85ª REUNIÃO FERTILIZANTES (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA A DIFUSÃO DE ADUBOS)**. Brasília: [s.n.]. Disponível em:

<[www.anda.org.br](http://www.anda.org.br)>.

BARBOT, Y. N.; AL-GHAILI, H.; BENZ, R. A review on the valorization of macroalgal wastes for biomethane production. **Marine Drugs**, v. 14, n. 6, 2016.

CABEZA, C.; VAN LIER, J. B.; VAN DER STEEN, P. Effects of thermal and enzymatic pre-treatments on the solubilisation of extracellular polymeric substances (EPS) and subsequent anaerobic digestion of microalgae-bacterial biomass. **Algal Research**, v. 72, p. 103130, 1 maio 2023.

CAPORGNO, M. P. et al. Effect of pre-treatments on the production of biofuels from *Phaeodactylum tricornutum*. **Journal of Environmental Management**, v. 177, p. 240–246, 15 jul. 2016.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Reatores Anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG, 2007. v. 12

CHERNICHARO, C. A. L. Post-treatment options for the anaerobic treatment of domestic wastewater. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 73–92, 2006.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources**. [s.l.] Wiley, 2008.

DONOSO-BRAVO, A. et al. Addressing the synergy determination in anaerobic co-digestion and the inoculum activity impact on BMP test. **Water Science and Technology**, v. 80, n. 2, p. 387–396, 15 jul. 2019.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual de Saneamento**. [s.l.] Funasa, 2019.

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403–415, 1 jun. 2016.

GRESES, S. et al. Microbial community characterization during anaerobic digestion of *Scenedesmus* spp. under mesophilic and thermophilic conditions. **Algal Research**, v. 27, p. 121–130, 1 nov. 2017.

HAGOS, K. et al. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, n. March 2016, p. 1485–1496, set. 2017.

IFA. **Public Summary Medium-Term Fertilizer Outlook 2023-2027**. IFA, , jun. 2023.

KENDIR, E.; UGURLU, A. A comprehensive review on pretreatment of microalgae for biogas production. **International Journal of Energy Research**, v. 42, n. 12, p. 3711–3731, 10 out. 2018.

KHALEKUZZAMAN, M. et al. Substituting microalgae with fecal sludge for biohythane production enhancement and cost saving through two-stage anaerobic digestion. **Journal of Cleaner Production**, v. 427, p. 139352, 15 nov. 2023.

KIM, D. Y. et al. Cell-wall disruption and lipid/astaxanthin extraction from microalgae: *Chlorella* and *Haematococcus*. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 300–310, 1 jan. 2016.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. DO. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Concórdia, SP: Airton Kunz, Ricardo Luis Radis Steinmetz, André Cestonaro do Amaral (editores Técnicos), 2019.

MOHD UDAIYAPPAN, A. F. et al. A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 20, p. 8–21, 1 dez. 2017.

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

- OLSSON, J. et al. Co-digestion of cultivated microalgae and sewage sludge from municipal waste water treatment. **Bioresource Technology**, v. 171, n. 1, p. 203–210, 1 nov. 2014.
- OMETTO, F. et al. Impacts of microalgae pre-treatments for improved anaerobic digestion: Thermal treatment, thermal hydrolysis, ultrasound and enzymatic hydrolysis. **Water Research**, v. 65, p. 350–361, 15 nov. 2014.
- PASSOS, F. et al. Long-term anaerobic digestion of microalgae grown in HRAP for wastewater treatment. Effect of microwave pretreatment. **Water Research**, v. 49, p. 351–359, 1 fev. 2014.
- PASSOS, F. et al. Reuse of microalgae grown in full-scale wastewater treatment ponds: Thermochemical pretreatment and biogas production. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 305–312, 1 jun. 2016.
- PASSOS, F.; FERRER, I. Microalgae Conversion to Biogas: Thermal Pretreatment Contribution on Net Energy Production. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 12, p. 7171–7178, 17 jun. 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.
- RAJLAKSHMI et al. Co-digestion processes of waste: Status and perspective. **Bio-Based Materials and Waste for Energy Generation and Resource Management: Present and Emerging Waste Management Practices: Volume 5 of Advanced Zero Waste Tools**, p. 207–241, 1 jan. 2023.
- ROCHA, M. A. G. ET AL. **Avaliação e comparação entre a atividade metanogênica específica de esgotos doméstico e industrial**. João Pessoa: [s.n.].
- SCARCELLI, P. G. et al. Evaluation of biomethanization during co-digestion of thermally pretreated microalgae and waste activated sludge, and estimation of its kinetic parameters. **Science of the Total Environment**, v. 706, 1 mar. 2020.
- SCARCELLI, P. G. et al. Integration of algae-based sewage treatment with anaerobic digestion of the bacterial-algal biomass and biogas upgrading. **Bioresource technology**, v. 340, p. 125552, 1 nov. 2021.
- SIROHI, R. et al. Strategies and advances in the pretreatment of microalgal biomass. **Journal of Biotechnology**, v. 341, p. 63–75, 20 nov. 2021.

- SOARES, R. B.; MARTINS, M. F.; GONÇALVES, R. F. A conceptual scenario for the use of microalgae biomass for microgeneration in wastewater treatment plants. **Journal of Environmental Management**, v. 252, p. 109639, 15 dez. 2019.
- SOLÉ-BUNDÓ, M. et al. Assessing the agricultural reuse of the digestate from microalgae anaerobic digestion and co-digestion with sewage sludge. **Science of The Total Environment**, v. 586, p. 1–9, maio 2017.
- SOLÉ-BUNDÓ, M. et al. Strategies to optimize microalgae conversion to biogas: Co-digestion, pretreatment and hydraulic retention time. **Molecules**, v. 23, n. 9, 21 ago. 2018.
- SOLÉ-BUNDÓ, M. et al. Co-digestion of microalgae and primary sludge: Effect on biogas production and microcontaminants removal. **Science of The Total Environment**, v. 660, p. 974–981, 10 abr. 2019.
- VASSALLE, L. et al. Upflow anaerobic sludge blanket in microalgae-based sewage treatment: Co-digestion for improving biogas production. **Bioresource Technology**, v. 300, 1 mar. 2020.
- WANG, M. et al. Anaerobic Co-digestion of Swine Manure and Microalgae *Chlorella* sp.: Experimental Studies and Energy Analysis. **BioEnergy Research**, v. 9, n. 4, p. 1204–1215, 2016.
- WARD, A. J.; LEWIS, D. M.; GREEN, F. B. Anaerobic digestion of algae biomass: A review. **Algal Research**, v. 5, n. 1, p. 204–214, 2014.
- WILSON, C. A. et al. Anaerobic Digestion of Raw and Thermally Hydrolyzed Wastewater Solids Under Various Operational Conditions. **Water Environment Research**, v. 83, n. 9, p. 815–825, 2011.
- XUE, Y. et al. Effects of thermal hydrolysis on organic matter solubilization and anaerobic digestion of high solid sludge. **Chemical Engineering Journal**, v. 264, p. 174–180, 2015.
- ZHEN, G. et al. Anaerobic co-digestion on improving methane production from mixed microalgae (*Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp.) and food waste: Kinetic modeling and synergistic impact evaluation. **Chemical Engineering Journal**, v. 299, p. 332–341, 1 set. 2016a.
- ZHEN, G. et al. Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application

and future perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 69, n. March 2016, p. 559–577, 2017.



**ANEXO A - TESTES SIMULTÂNEOS DE TUKEY PARA DIFERENÇAS DE  
MÉDIAS DE BMP E AME NO TESTE BMP 1.**

Diferença de Níveis	Valor-p para BMP	Valor - P para AME
ES + MA com PT - ES	0.523	0,971
ES + MA sem PT - ES	1.000	0,618
MA com PT - ES	0.375	0,024
MA sem PT - ES	0.602	0,010
ES + MA sem PT - ES + MA com PT	0.515	0,926
MA com PT - ES + MA com PT	1.000	0,058
MA sem PT - ES + MA com PT	0.998	0,023
MA com PT - ES + MA sem PT	0.345	0,113
MA sem PT - ES + MA sem PT	0.592	0,040
MA sem PT - MA com PT	0.984	0,936

Nível de confiança individual = 99.14%

**ANEXO B - TESTES SIMULTÂNEOS DE TUKEY PARA DIFERENÇAS DE  
MÉDIAS DE BMP E AME NO TESTE BMP 2.**

Diferença de Níveis	Valor - P para BMP	Valor - P para AME
ES + MA com PT - ES	0.711	0.817
ES + MA sem PT - ES	0.995	0.012
MA com PT - ES	0.022	0.008
MA sem PT - ES	0.034	0.002
ES + MA sem PT - ES + MA com PT	0.726	0.013
MA com PT - ES + MA com PT	0.039	0.007
MA sem PT - ES + MA com PT	0.069	0.002
MA com PT - ES + MA sem PT	0.006	0.941
MA sem PT - ES + MA sem PT	0.013	0.128
MA sem PT - MA com PT	1.000	0.272