

## **II-150 - TRATAMENTO BIOLÓGICO ANAERÓBIO DE BIOMASSA RESIDUAL DE MICROALGA VISANDO A PRODUÇÃO DE METANO**

**Nathalia Oliveira dos Santos<sup>(1)</sup>**

Licenciada em Ciências Biológicas pela UFRJ. Mestranda em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos pela Escola de Química (UFRJ).

**Suzana Moraes de Oliveira**

Técnica do Laboratório de Tecnologia Ambiental (UFRJ). Graduanda em Gestão Ambiental pela Universidade Estácio de Sá.

**Larissa de Carvalho Alves**

Engenheira Civil. Doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, UFRJ. Professor Associado da Universidade Estácio de Sá.

**Magali Christe Cammarota**

Engenheira Química. D.Sc. em Bioquímica (UFRJ). Professor Associado do Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química/UFRJ.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Av. Athos da Silveira Ramos, nº 149, Centro de Tecnologia - Laboratório de Tecnologia Ambiental (LTA), Bloco E, sala 115 - Cidade Universitária - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 21941-909 - Brasil - Tel: +55 (21) 2562-7624 - e-mail: oliveira\_nathalia@yahoo.com.br

### **RESUMO**

Diversas tipologias industriais são responsáveis pela emissão de grandes quantidades de CO<sub>2</sub> na atmosfera. Uma novidade que vem sendo investigada para mitigar este problema ambiental vem a ser o sequestro de CO<sub>2</sub> em cultivos de microalgas para produção de biodiesel. Nestes cultivos ocorre o descarte de uma biomassa excedente que pode ser utilizada no tratamento anaeróbio, visando à diminuição do descarte de matéria orgânica nos corpos hídricos e a produção de metano para viabilizar a produção de biodiesel por microalgas. A biomassa de microalgas pode ser digerida anaerobiamente, uma vez que em sua composição celular estão presentes quantidades significativas de carboidratos, que podem servir de fonte de carbono na produção de metano. Entretanto, este e outros constituintes intracelulares não estão prontamente disponíveis para o consórcio microbiano, dificultando sua assimilação e degradação no processo de digestão anaeróbia. Assim, o objetivo deste trabalho consistiu em estudar a biodegradabilidade anaeróbia de biomassa residual de microalgas antes e após etapas preliminares de hidrólise térmica e química. Para otimizar a etapa de hidrólise, foi realizado um planejamento experimental fatorial 2<sup>3</sup> com ponto central, sendo avaliadas diferentes temperaturas (50, 100, 150°C), concentrações de DQO particulada (1500, 3000, 4500 mg/L) e concentrações de ácido sulfúrico (0; 0,5; 1,0% v/v), mantendo-se um tempo de 2h e tendo como variável resposta o aumento da DQO solúvel. Melhores resultados foram atingidos quando se combinou altas temperaturas e porcentagens de ácido. Três condições de hidrólise foram selecionadas para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia: 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 150°C; 4500 mg DQO/L, 1,0% ácido e 100°C; 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 100°C. Ao contrário do esperado, a condição Controle apresentou maior volume de biogás (34,2 mL) e percentual de metano (69%) que as condições com hidrólise (4,9 – 20,0 mL, 8-20%). No entanto, a taxa inicial de produção de biogás foi maior nos experimentos com biomassa hidrolisada (10-17 mL/d) que no Controle (6 mL/d), indicando que a hidrólise disponibiliza uma quantidade maior de substrato para assimilação pelos micro-organismos (DQOs de 1034 e 541 mg/L) que no Controle (DQOs de 303 mg/L). Condições mais brandas de hidrólise, assim como outros tipos de hidrólise, devem ser investigadas a fim de se obter o melhor método de pré-tratamento para a biomassa de microalgas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biomassa de microalgas, Tratamento térmico e químico, Digestão anaeróbia, Produção de metano.

### **INTRODUÇÃO**

Atualmente, existem diversas técnicas eficientes para o sequestro de carbono da atmosfera. Algumas fazem uso de produtos químicos como soda cáustica (STOLAROFF, 2008), enquanto outras utilizam o CO<sub>2</sub> para a geração de biomassa, empregando a capacidade natural de vegetais e algas de metabolizar CO<sub>2</sub> e transformá-lo

em fonte de energia para seu crescimento (STEWART e HESSAMI, 2004). Além da capacidade de absorção de CO<sub>2</sub>, muitas espécies de algas são conhecidas por seu alto potencial em acumular lipídios que, após um processo de extração, são utilizados na produção de biocombustíveis, acarretando baixo impacto ambiental (SCOTT et al., 2010).

Os processos que utilizam microalgas apresentam elevada taxa de reprodução celular sob condições ótimas, gerando um excesso de biomassa, que precisa ser tratado antes de descartado no ambiente, pois seu acúmulo em corpos hídricos pode ocasionar fenômenos de eutrofização (HERZOG, 2001).

Assim, uma forma de se evitar o descarte direto da biomassa residual no ambiente seria o seu aproveitamento para geração de energia na forma de metano, através da digestão anaeróbia (COSTA & MORAIS, 2011). Entretanto, a digestão anaeróbia de biomassa de microalgas é difícil e lenta, pois as mesmas se apresentam na forma insolúvel e são envoltas por membrana celular de difícil biodegradabilidade, sendo necessária uma etapa de pré-hidrólise para facilitar a biodegradação (UZIEL, 1978; SANCHEZ e TRAVIESO, 1993).

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Biomassa de microalgas.** A biomassa empregada no estudo foi uma suspensão de microalgas, do gênero *Isochrysis*, oriunda de cultivo em escala de bancada para captura de CO<sub>2</sub>. Esta foi caracterizada através da determinação dos seguintes parâmetros: pH, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO<sub>5</sub>), Óleos e Graxas (O&G), Sólidos, Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio Total e Fósforo Solúvel, empregando-se procedimentos descritos no Standard Methods (APHA, 2005). Após a caracterização, a biomassa de microalgas foi armazenada a 4°C. No momento de sua utilização esta biomassa era suspensa em água destilada a fim de se obter a concentração desejada de DQO particulada (DQOp) ou insolúvel, calculada dos valores de DQO total e solúvel (após filtração em membrana de 0,45 µm).

**Lodo anaeróbio.** O lodo anaeróbio empregado como inóculo nos ensaios de biodegradabilidade foi oriundo de um reator UASB (*upflow anaerobic sludge blanket*) em operação em indústria de abate de aves. Este lodo se apresentava na forma granular (diâmetro médio de 0,5 mm) e estava adaptado a 30°C. Este foi caracterizado em termos de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV = 15.330 mg/L) e armazenado a 4°C até sua utilização.

**Ensaio preliminares de hidrólise.** Estudos preliminares de hidrólise foram conduzidos com uma suspensão de microalgas com DQO particulada de 3000 mg/L, temperaturas de 60°C e 150°C (0% e 0,5% de ácido, respectivamente) e tempos de reação de 2 e 4h, sendo o efeito da hidrólise da biomassa avaliado através do aumento da DQO solúvel (DQOs).

**Planejamento experimental.** Mediante a possibilidade de interação entre as variáveis analisadas e no intuito de investigar qual a melhor condição de hidrólise ácida e térmica combinadas, foi realizado um planejamento experimental fatorial de ordem 2<sup>3</sup>, com ponto central, de acordo com a Tabela 1. O tempo de hidrólise foi mantido em 2 h, conforme resultados dos testes preliminares. Os resultados obtidos foram analisados com o programa Statistica 7.0 (StatSoft).

A temperatura de 50°C foi mantida através de um banho de aquecimento com controle de temperatura, enquanto as temperaturas de 100°C e 150°C foram mantidas com o auxílio de um digestor de DQO Hach. O ácido utilizado foi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de grau p.a.

**Tabela 1: Níveis das variáveis empregadas no planejamento fatorial.**

Variável	Níveis		
	-1	0	+1
DQO particulada (mg/L)	1500	3000	4500
Temperatura (°C)	50	100	150
Ácido (% v/v)	0	0,5	1,0

*Ensaio de biodegradabilidade anaeróbia.* Os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia foram conduzidos em triplicata em sala climatizada a 30°C por até 12 dias, utilizando-se frascos tipo penicilina de 100 mL com 10 mL de *headspace*, vedados com batoques de borracha e selos de alumínio (Figura 1). O lodo inoculado respeitou a relação DQO inicial:SSV do lodo de 1:1. O pH dos efluentes foi ajustado para  $7,0 \pm 0,3$  antes da mistura com o lodo. Não houve necessidade de suplementação de fósforo e nitrogênio, considerando-se uma relação DQO:N:P 350:5:1. O volume de biogás foi quantificado através do deslocamento do êmbolo de seringas plásticas graduadas conectadas aos frascos. Aliquotas para determinação da DQO inicial foram tomadas antes do contato com o lodo anaeróbio. A DQO final foi determinada no último dia do ensaio de biodegradabilidade, após recolhimento do biogás para análise por cromatografia gasosa. Durante o período de análise, o volume de biogás formado foi monitorado diariamente e sua fração de metano foi quantificada por cromatografia gasosa, com o auxílio de um detector de condutividade térmica (TCD), em equipamento Shimadzu, modelo GC – 17A.



**Figura 1: Ensaio de biodegradabilidade anaeróbia em andamento.**

## RESULTADOS

Os resultados da caracterização físico-química da biomassa de microalgas são apresentados na Tabela 2.

A salinidade do meio de cultura empregado no cultivo das microalgas justifica a elevada concentração de sólidos fixos, que pode prejudicar a biodegradação anaeróbia. Por questões de economia de recursos e redução de custos, a biomassa a ser descartada deve ser concentrada para reaproveitamento do meio de cultivo, reduzindo a salinidade na biomassa descartada. Além disso, para que sejam feitas as análises de DQO para o acompanhamento da eficiência da etapa de hidrólise, a biomassa foi ressuspensa em água destilada, o que reduziu ainda mais o efeito da salinidade.

A elevada razão DQO/DBO<sub>5</sub> provém da elevada quantidade de matéria orgânica na forma particulada e denota a necessidade de uma etapa de hidrólise. A elevada concentração de O&G pode ser atribuída aos lipídios presentes na biomassa, mas também à clorofila extraída pelo hexano, interferente no método de extração em Soxhlet empregado.

**Tabela 2: Caracterização da biomassa de microalgas.**

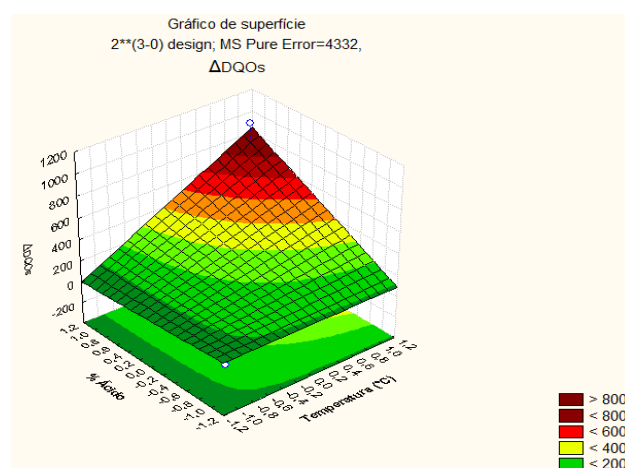
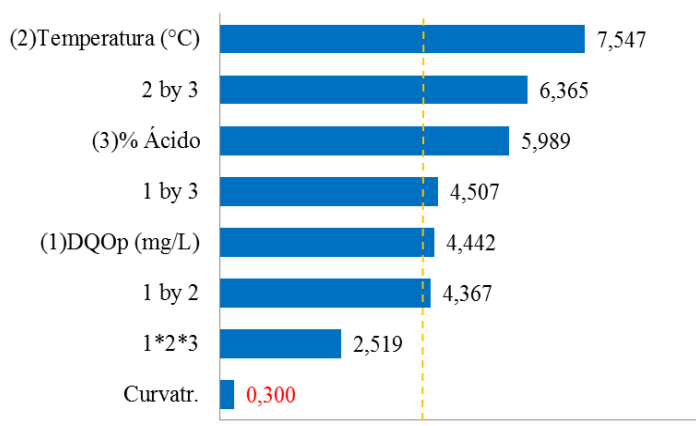
Variáveis	Valores
pH	7,4
Sólidos Totais (mg/L)	45133
Sólidos Totais Voláteis (mg/L)	11112
Sólidos Totais Fixos (mg/L)	34011
DQO Total (mg/L)	3564
DQO Solúvel (mg/L)	620
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	686
DQO total/DBO <sub>5</sub>	5,2
Nitrogênio Total (mg/L)	205
Carbono Inorgânico (mg/L)	147
Carbono Orgânico Total (mg/L)	890,1
Fósforo Solúvel (mg/L)	2,6
O&G (mg/L)	2533

Na Tabela 3 podem ser verificados os resultados que levaram à seleção do tempo de hidrólise de 2 h. No tempo de 4h obtiveram-se bons resultados a 60°C, no entanto o ganho em % DQOs não compensaria duplicar o tempo de reação. Para a condição de 150°C houve uma redução da DQOs, o que denota um excesso de tempo empregado para o processo, tornando-o prejudicial.

**Tabela 3: Ensaio preliminar de hidrólise térmica.**

Temperatura (°C)	% Aumento DQOs	
	2 h	4 h
60	47,8	66,7
150	257,8	174,1

Após a realização dos ensaios supracitados, optou-se por realizar um planejamento experimental. A Tabela 4 apresenta a matriz do planejamento experimental e os resultados obtidos em termos de aumento de DQOs, enquanto a Figura 2 apresenta o diagrama de Pareto, com a prioridade de significância de cada fator e suas interações (teste t-student), e o gráfico de superfície de resposta para os fatores de maior interação.



**Figura 2: Diagrama de Pareto (à esquerda) e superfície de resposta (à direita).**

**Tabela 4: Matriz do planejamento experimental e aumento da DQO<sub>s</sub>.**

Ensaios	DQOp (mg/L)	Temperatura (°C)	Ácido (%)	Δ DQOs
1	1500	50	0	32
2	4500	50	0	-57
3	1500	150	0	1
4	4500	150	0	84
5	1500	50	1	-78
6	4500	50	1	18
7	1500	150	1	249
8	4500	150	1	986
9 C	3000	100	0,5	119
10 C	3000	100	0,5	215
11 C	3000	100	0,5	89

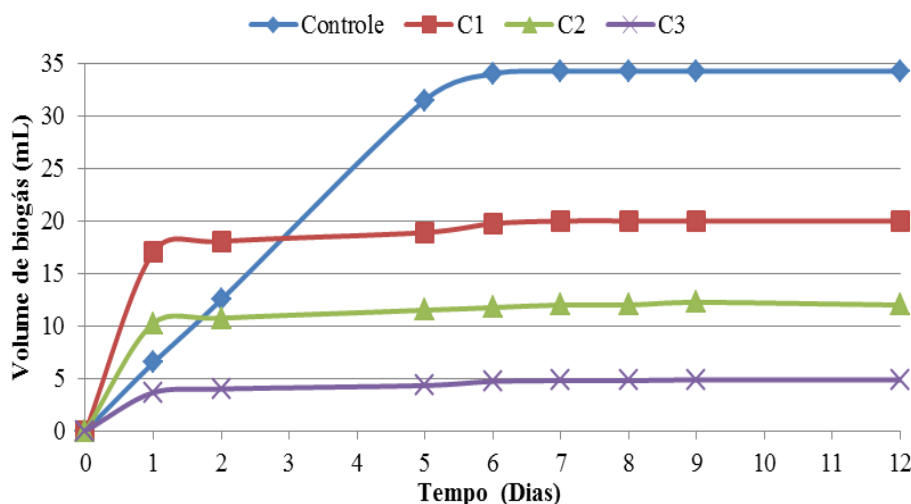
Analisando-se a Figura 2 é possível observar que diversos fatores e interações são estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ). Entretanto, os fatores de maior significância foram a temperatura (2), a interação entre concentração de ácido e temperatura (2\*3) e a concentração de ácido (3).

O gráfico de superfície de resposta apresenta o efeito da concentração de ácido e da temperatura no valor da DQOs. Melhores resultados foram atingidos quando se combinou altas temperaturas e altas porcentagens de ácido. Ou seja, verificou-se o aumento da DQOs quando se aumentou a concentração de ácido na maior temperatura (150°C) ou quando se aumentou a temperatura na maior concentração de ácido (1,0% v/v).

Com base nos resultados do planejamento experimental, foram selecionadas para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia da biomassa, juntamente com o Controle (sem hidrólise), três condições de hidrólise que apresentaram os melhores resultados: Condição 1: 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 150°C; Condição 2: 4500 mg DQO/L, 1,0% ácido e 100°C; e Condição 3: 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 100°C, conforme resultados apresentados na Tabela 4.

Visando tornar as condições de hidrólise selecionadas viáveis em uma escala industrial, a seleção das condições foi também associada ao custo operacional. Por isso, foram combinados diferentes valores de temperatura e percentuais de ácido para um valor fixo de DQOp, haja visto que nas condições de DQOp alta apresentadas no planejamento obteve-se melhores resultados.

Sendo assim, realizaram-se ensaios de biodegradabilidade anaeróbia, nas condições citadas na metodologia, com biomassa sem hidrólise (Controle) e com biomassas pré-tratadas nas três condições selecionadas. A Figura 3 apresenta o volume de biogás acumulado durante os ensaios, que duraram um tempo total de 10 dias, até a completa estabilização da produção de biogás.



**Figura 3: Monitoramento da produção de biogás (30°C) no primeiro contato do lodo com a biomassa de microalgas. Controle (biomassa sem hidrólise); C1 (biomassa hidrolisada com 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 150°C); C2 (biomassa hidrolisada com 4500 mg DQO/L, 1,0% ácido e 100°C); C3 (biomassa hidrolisada com 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 100°C).**

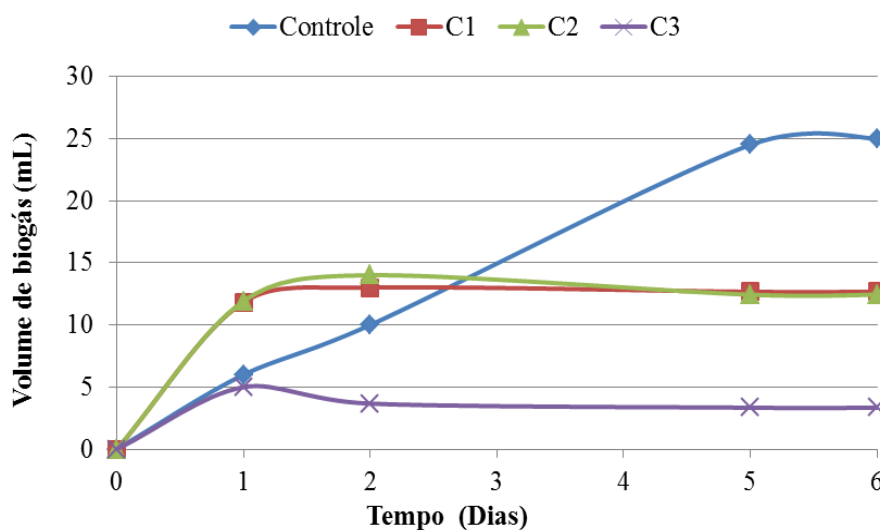
Verificou-se que, ao contrário do esperado, a condição Controle apresentou maior volume de biogás (34,2 mL) e percentual de metano (69%) que as condições com hidrólise (4,9 – 20,0 mL, 8-20%). No entanto, a taxa inicial de produção de biogás foi maior nos experimentos com biomassa hidrolisada para C1 e C2 (10-17 mL/d) que no Controle (6 mL/d), indicando que a hidrólise disponibiliza uma quantidade maior de substrato para assimilação pelos micro-organismos (DQOs de 1034 e 541 mg/L para C1 e C2) que no Controle (DQOs de 303 mg/L). Após a digestão deste material solubilizado, a produção de biogás estabilizou, provavelmente devido a alguma limitação nutricional. Ao se estabilizar o gás produzido, os experimentos foram encerrados e o biogás recolhido e analisado por cromatografia gasosa, a fim de se verificar o percentual de metano presente no biogás, sendo os resultados apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5: Produção de biogás e percentual de metano nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia – primeiro contato do lodo com biomassa de microalgas.**

	pH inicial	DQOs Inicial	pH final	Volume de biogás (mL)	% CH <sub>4</sub>	Volume de CH <sub>4</sub> (mL)
<b>Controle</b>	7,1	303	7,5	30,8	69,0	21,25
<b>Condição 1</b>	7,0	1034	7,5	19,6	8,0	1,57
<b>Condição 2</b>	7,0	541	7,3	12,0	8,0	0,96
<b>Condição 3</b>	7,0	239	7,2	3,6	20,0	0,72

\*Valores médios de triplicatas.

Nota-se que uma maior produção de metano foi alcançada na condição Controle. Tais resultados sugerem que condições mais brandas de temperatura e ácido possam estar associadas a uma melhor produção de metano. A fim de verificar este resultado, realizou-se um segundo contato do lodo anaeróbio com a suspensão de biomassa de microalgas nas condições mencionadas anteriormente. A Figura 4 apresenta o volume de biogás acumulado durante os dias de ensaio, que teve um tempo total de 6 dias até a estabilização da produção de biogás.



**Figura 4: Monitoramento da produção de biogás (30°C) no segundo contato do lodo com a biomassa de microalgas. Controle (biomassa sem hidrólise); C1 (biomassa hidrolisada com 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 150°C); C2 (biomassa hidrolisada com 4500 mg DQO/L, 1,0% ácido e 100°C); C3 (biomassa hidrolisada com 4500 mg DQO/L, 0,5% ácido e 100°C)..**

Verificou-se que a condição Controle novamente apresentou maior volume de biogás (25,0 mL) comparada às condições com hidrólise (3,3 a 12,7 mL). Entretanto, houve uma diminuição da produção de biogás, em comparação ao volume obtido no primeiro contato. A taxa inicial de produção de biogás foi novamente superior nos experimentos com biomassa hidrolisada para C1 e C2 (12 mL/d) que no Controle (6 mL/d), indicando que a hidrólise disponibiliza uma quantidade maior de substrato para assimilação pelos micro-organismos. Após a digestão deste material solubilizado, a produção de biogás estabilizava, provavelmente devido a alguma limitação nutricional. A Tabela 6 apresenta a composição de metano no biogás produzido nestes ensaios.

**Tabela 6: Produção de biogás e percentual de metano nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia – segundo contato do lodo com biomassa de microalgas.**

	pH inicial	DQOs Inicial	pH final	Volume de biogás (mL)	% CH <sub>4</sub>	Volume de CH <sub>4</sub> (mL)
<b>Controle</b>	7,0	234	7,3	25,0	25,0	6,25
<b>Condição 1</b>	6,9	988	7,2	12,7	4,5	0,57
<b>Condição 2</b>	6,9	570	7,2	12,4	2,0	0,25
<b>Condição 3</b>	7,0	227	7,2	3,3	6,5	0,21

\*Valores médios de triplicatas.

Foi possível constatar que a repetição do contato da suspensão de biomassa de microalgas com o lodo resultou em menor produção de biogás e metano. Este resultado pode estar associado ao acúmulo de compostos inibitórios no lodo, a uma deficiência nutricional ou não adaptação do lodo aos constituintes do meio. Dois problemas muito comuns na adaptação do lodo em sistemas de tratamento anaeróbio são a presença de íons ou compostos tóxicos que inibem a fermentação anaeróbia, e a ausência de certos nutrientes requeridos pelos micro-organismos envolvidos na fermentação anaeróbia. O ajuste de pH com NaHCO<sub>3</sub> após a hidrólise ácida aumenta consideravelmente a concentração de Na<sup>+</sup> no meio reacional. Níveis tóxicos para Na<sup>+</sup> nos sistemas anaeróbios estão em torno de 5000 mg/L (McCARTY et al., 1964; SPEECE, 1996). No entanto, segundo McCARTY et al. (1964), valores ótimos seriam da ordem de 230 mg/L, valores em que uma máxima eficiência pode ser obtida no tratamento anaeróbio. O problema da toxicidade pode ser superado pela remoção ou

queação dos íons ou compostos tóxicos, enquanto o problema de concentrações inadequadas de nutrientes pode ser corrigido através da adição de quantidades suplementares de vários nutrientes.

Mais estudos estão sendo conduzidos no intuito de otimizar a etapa de hidrólise de forma a se obter uma melhor produção de metano. Estão sendo avaliadas a hidrólise térmica/alcalina e a hidrólise térmica/ácida sob condições mais brandas e maiores tempos, assim como melhores condições de suplementação e adaptação do lodo aos constituintes dos hidrolisados de biomassa de microalgas.

## CONCLUSÕES

A caracterização da suspensão de biomassa de microalgas apontou a necessidade de uma etapa de pré-tratamento para disponibilizar as fontes de carbono para a fermentação anaeróbia. No planejamento experimental fatorial para avaliação das condições de hidrólise térmica/ácida, obteve-se uma maior solubilização da matéria orgânica particulada combinando-se maiores temperatura e concentração de ácido.

Nos ensaios de biodegradação conduzidos com biomassa sem hidrólise (Controle) e com hidrólise, obteve-se maior produção de biogás na condição Controle. No entanto, a biomassa após hidrólise apresenta taxas iniciais mais altas de produção de biogás, contribuindo para menores tempos de digestão anaeróbia.

Outros tipos de hidrólise, assim como hidrólises conduzidas com maiores tempos e sob condições mais brandas de temperatura e ácido devem ser investigadas quanto à produção de biogás, de forma de diminuir os custos com reagentes e a inibição do processo anaeróbio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. Standard Methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 21st edition, Washington DC, 2005.
2. CHERNICHARO, C. A. L. Reatores anaeróbios. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. 2ª ed., Editora UFMG, Belo Horizonte, 2007.
3. COSTA, J.A.V; MORAIS, M.G. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. *Bioresource Technology*. 102, pp. 2–9, 2011.
4. HERZOG, H. J. What future for carbon capture and sequestration. *Environ. Sci. Technol.*, v. 35, p. 148-153, 2001.
5. McCARTY, P. L.; KUGELMAN, I. J.; LAWRENCE, A. W. Ion effects in anaerobic digestion. Department of Civil Engineering, Stanford University, Technical Report N°, 33, 1964.
6. SANCHEZ, E. P.; TRAVIESO, L. Anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris* for energy production. *Resour. Conserv. Recycl.* v. 9, p. 127–132, 1993.
7. SCOTT, S. A.; DAVEY, M. P.; DENNIS J. S.; HORST, I.; HOWE, C. J.; LEA-SMITH, D. J.; SMITH, A. J. Biodiesel from algae: challenges and prospects. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 21, p. 277-286, 2010.
8. SPEECE, R. E. Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters. Archae Press, 1<sup>st</sup> edition, Nashville, 1996.
9. STEWART, C.; HESSAMI, M-A. A study of methods of carbon dioxide capture and sequestration—the sustainability of a photosynthetic bioreactor approach. *Energy Conversion and Management*, v. 46, p. 403-420, 2004.
10. STOLAROFF, J. K.; KEITH, D. W.; LOWRY, G. V. Carbon dioxide capture from atmospheric air using sodium hydroxide spray. *Environ. Sci. Technol.* v. 42, p. 2728–2735, 2008.
11. UZIEL, M. Solar energy fixation and conversion with algal bacterial systems. PhD thesis. University of California, Berkeley, CA, USA, 1978. COSTA, E. R. H. Aumento da capacidade de estações de tratamento de água através da seleção de coagulantes e auxiliares de floculação especiais, XVIII CONGRESSO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL 1995. Anais. Salvador BA, 1995.