



III-005 - RECUPERAÇÃO DO BIOPOLÍMERO POLIHIDROXIALCANOATO (PHA) ATRAVÉS DA VALORIZAÇÃO DO LODO DE ESGOTO UTILIZANDO A TECNOLOGIA DE LODO GRANULAR AERÓBIO ALGAL-BACTERIANO

Ana Katarina Vitória Sampaio do Nascimento⁽¹⁾

Discente em Engenharia Química pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Elissandra Cheu Pereira do Nascimento⁽²⁾

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Maria de Lourdes Florencio dos Santos⁽³⁾

Professora Doutora do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Mario Takayuki Kato⁽⁴⁾

Professor Doutor do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Bruna Scandolaro Magnus⁽⁵⁾

Professora Doutora do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Endereço⁽¹⁾: Av. da Arquitetura, s/n - Cidade Universitária - Recife - Pernambuco - CEP: 50740-550 - Brasil - Tel: +55 (81) (81) 2126-8200 - e-mail: anakatarina.nascimento@ufpe.br

RESUMO

A recuperação de Polihidroxialcanoatos (PHA) em sistemas de lodo granular aeróbio algal-bacteriano (LGA-AB) é um processo importante para aproveitar o potencial desses polímeros intracelulares que podem ser usados em várias aplicações, incluindo a produção de bioplásticos. A partir disso, o presente estudo tem o propósito de avaliar o processo de recuperação do PHA em um sistema de lodo biológico cultivado em um fotobiorreator em bateladas sequenciais (FRBS). Nisso, empregou-se um fotobiorreator em escala laboratorial do tipo RBS com volume útil de 4 L e troca volumétrica de 50 %, que se encontra instalado no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA). Os resultados apontaram uma granulação rápida da biomassa aeróbia no 22º dia de experimento. O sistema apresentou eficiências média de remoção de matéria orgânica de 85,7%, nitrogênio amoniacal de 76,9% e fósforo de 15%. A recuperação do Polihidroxialcanoatos (PHA) no fotobiorreator teve média de 20 mgPHB/gSST. Durante o experimento, a recuperação de PHA teve apresentada queda a partir do 42º dia. A diminuição pode estar relacionada ao processo de liberação de fósforo no sistema para o meio que fornecem parte da energia para essas reações para a produção do composto.

PALAVRAS-CHAVE: Polihidroxialcanoatos (PHA); Lodo Granular Aeróbio (LGA); Bioplásticos; Fotobiorreator; Recuperação.

INTRODUÇÃO

O aumento dos padrões de consumo e da demanda industrial, aliados à insuficiente regeneração ecológica, tem resultado uma instabilidade no meio ambiente (Bocken, 2015). Diante desse desafio, a urgência de pesquisas voltadas para o desenvolvimento sustentável intensifica-se, buscando a ampliação de meios de produção que propiciem o crescimento econômico de maneira concomitante à preservação dos aspectos sociais e ambientais. Nesse contexto, destaca-se a bioeconomia circular como uma estratégia crucial para enfrentar os principais desafios relacionados à valorização de resíduos orgânicos.

A maioria das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) foi originalmente concebida para a remoção de matéria orgânica e nutrientes dos efluentes. No entanto, a bioeconomia propõe uma abordagem inovadora para a recuperação de recursos hídricos, energéticos e de nutrientes a partir das ETES. Assim, as ETES passam a ser vistas como potenciais biorrefinarias, capazes de produzir diversos produtos, como águas residuárias tratadas e subprodutos de alto valor agregado, utilizando os microrganismos (biomassa) presentes no tratamento (Guimarães, 2017).



Diante desse cenário, a tecnologia LGA-AB destaca-se como uma opção atraente para o tratamento de águas residuárias, proporcionando alta e simultânea remoção de nutrientes e recuperação de produtos de valor agregado a baixo custo em um único tanque, transformando o modelo operacional linear das ETES no conceito de economia circular.

Além disso, diante das preocupações da sociedade e do poder público sobre o acúmulo de plásticos no meio ambiente e seu impacto ambiental, a recuperação de bioprodutos, como o Polihidroxialcanoato (PHA), a partir da biomassa granular obtida do lodo de esgoto, tem sido objeto de estudo para aplicações comerciais, incluindo bioplásticos utilizados na produção de biocombustíveis, tintas e produtos biomédicos (Schambeck *et al.*, 2020; Rollemberg *et al.*, 2020; Meng *et al.*, 2020; Mannina *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020).

Portanto, o presente estudo tem como objetivo principal investigar o potencial de recuperação do biopolímero PHA, a partir do lodo biológico de esgoto cultivado em reatores em bateladas sequenciais (RBS) em escala bancada. Essa pesquisa busca contribuir para práticas mais sustentáveis no tratamento de efluentes, promovendo a produção de produtos de valor agregado e alinhando-se aos princípios da economia circular.

OBJETIVOS

Investigar o potencial de recuperação do biopolímero PHA a partir do lodo biológico de esgoto cultivado em reatores do tipo RBS em escala bancada fim de dar suporte a valorização desse resíduo dentro do conceito de economia circular.

METODOLOGIA

Neste tópico, serão apresentados os procedimentos utilizados durante todo o período experimental de pesquisa com o fotobiorreator e consórcio algal-bacteriano.

SISTEMA OPERACIONAL

Para o desenvolvimento experimental, utilizou-se um fotobiorreator de escala laboratorial do tipo FRBS, com volume útil de 4 L e troca volumétrica de 50%. O experimento foi conduzido a temperatura ambiente (30 ± 2 °C). O FRBS foi operado sob regime de bateladas sequenciais. O tempo operacional do FRBS foi definido em ciclos de 6 horas, divididos da seguinte forma: alimentação anaeróbia ascendente (60 min), reação aeróbia (264-282 min), reação anóxica (15 min), sedimentação (20-2 min) e descarte (1 min). Relacionada as condições aplicadas ao FRBS temos que o tempo de detenção hidráulica (TDH) foi de 12 horas, a velocidade ascensional do ar de 0,5 cm/s, a relação C:N de 8:1 e a iluminação artificial de 140 ± 20 $\mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$ numa condição de fotoperíodo de 12h/12h (on:off).

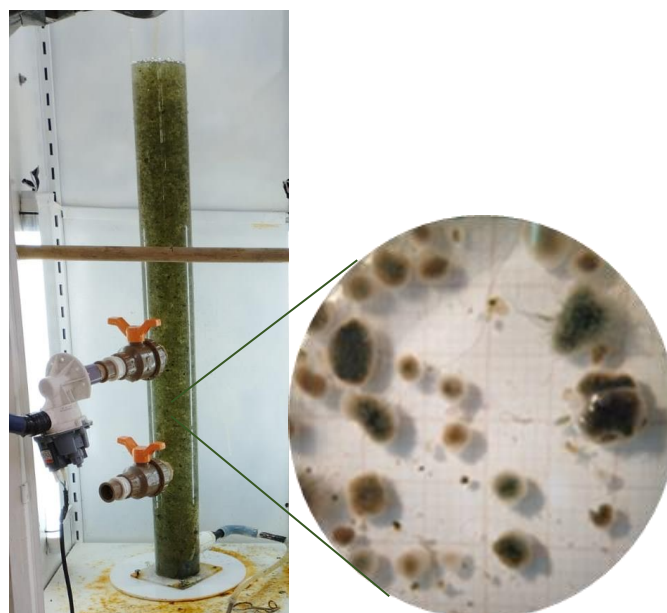


Figura 1: Esquema do aparato experimental FRBS

INÓCULO MICROBIANO E AFLUENTE

O FRBS foi inoculado com uma mistura de biomassa oriunda de lodos ativados e microalgas. A biomassa de lodos ativados foi coletada em um tanque de aeração da ETE do grupo Petrópolis, localizada na região metropolitana de Recife, Pernambuco. As microalgas foram cultivadas em uma lagoa de alta taxa em escala piloto instalada na unidade experimental da ETE – Mangueira (Recife, PE). A estratégia utilizada para o crescimento das microalgas foi feita utilizando iluminação artificial.

O afluente sintético, que simula esgoto doméstico neste trabalho, apresentou concentração inicial de DQO de 358,7 mg/L no início operacional. A composição do afluente sintético, apresentado na tabela abaixo, foi formulado no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA-UFPE) com base em estudos do grupo de pesquisa e na solução de micronutrientes abordada por Huang *et al.* (2015).

Tabela 1: Composição do afluente sintético

COMPOSTO	FÓRMULA MOLECULAR	CONCENTRAÇÃO (mg/L)
Bicarbonato de sódio	NaHCO ₃	12,5
Cloreto de Amônio	NH ₄ Cl	8,50
Fosfato Monopotássico	KH ₂ PO ₄	0,85
Cloreto de Cálcio	CaCl ₂	0,08
Sulfato de Magnésio	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,08
Sulfato de Ferro	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,04
Glicose Anidra	C ₆ H ₁₂ O ₄	24,5

MONITORAMENTO DO SISTEMA

Para o acompanhamento da biomassa granular foram efetuadas as análises do índice volumétrico de lodo (IVL) e microscopia. O tamanho dos grânulos foi acompanhado conforme a metodologia proposta por Bin *et al.*, (2011), que determina a classe granulométrica da biomassa. A partir disso, a granulometria será avaliada através de um conjunto de 6 peneiras de aberturas 0,2 mm, 0,4 mm, 0,6 mm, 1,0 mm, 2,0 mm e 2,8 mm.



Para avaliar os fatores relacionados à recuperação de subprodutos foram realizadas análises físico-químicas com uma frequência de duas vezes semanais, conforme metodologias propostas pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21th Ed* (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros físico-químicos monitorados

PARÂMETROS	MÉTODO DE ANÁLISE/REFERÊNCIA	Unidade
DQO	<i>Standard Methods</i> , Colorimétrico	mg/L
Nitrogênio amoniacal	<i>Standard Methods</i> , Destilação/Titulométrico	mg/L
Fósforo total	<i>Standard Methods</i> , Colorimétrico	mg/L
Série de sólidos	<i>Standard Methods</i> , Gravimétrico	g/L

QUANTIFICAÇÃO DO POLIHIDROXIALCANOATO (PHA)

A análise de PHA foi realizada utilizando metodologia delineada por Comeau *et al.* (1988) e Oehmen *et al.* (2005) que consiste em três etapas principais: (1) liofilização da biomassa coletada, (2) conversão dos PHAs em metil-ésteres em meio ácido e (3) detecção por cromatografia gasosa. Para a amostragem, foram coletados 100 mL de licor misto no final da fase de alimentação anaeróbia, centrifugados a 3000 rpm durante 5 minutos e liofilizado. Para a conversão dos PHAs a éster-metílico, 30 mg de lodo liofilizado foram adicionados a tubos de vidro de penicilina de 10 mL hermeticamente fechados. Cada amostra de lodo foi combinada com 2 mL de uma solução acidificada de metanol (10% ácido sulfúrico), contendo ácido benzoico como padrão interno e 2 mL de clorofórmio. As amostras foram digeridas a 100°C durante 3 h 30 min.

Após a digestão e o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, foi adicionado 2 mL de água com resistividade de 18 MΩ.cm (Milli-Q®) às amostras para eliminar partículas. As amostras foram homogeneizadas em agitador vortex por 5 minutos a fim de separar as fases inorgânica e orgânica (localizada no fundo do tubo) que foi extraída para análise em cromatógrafo gasoso Agilent 7890 A.

RESULTADOS OBTIDOS

Os grânulos aeróbios cultivados em um sistema de esgoto sintético habitualmente levam de 2 a 4 semanas para se formarem e de 1 a 2 meses para alcançar o estado estacionário em reatores de escala bancada (Liu *et al.*, 2010). O desenvolvimento da biomassa no FRBS foi acompanhado ao decorrer de 160 dias de experimento por meio de análises físico-químicas e de microscopia óptica que possibilitaram o acompanhamento da formação dos grânulos e a presença da comunidade microbiana.

O desenvolvimento dos grânulos na biomassa em estudo pode ser observado por meio da Figura 2. Durante as primeiras semanas do experimento, não foi possível constatar a presença de grânulos no sistema. A partir do 22° dia, foram identificados grânulos no fotobiorreator. Assim, os agregados microbianos foram se tornando maiores e mais densos ao longo de todo experimento, resultando na formação de grânulos aeróbios com diâmetros com dimensões milimétricas.

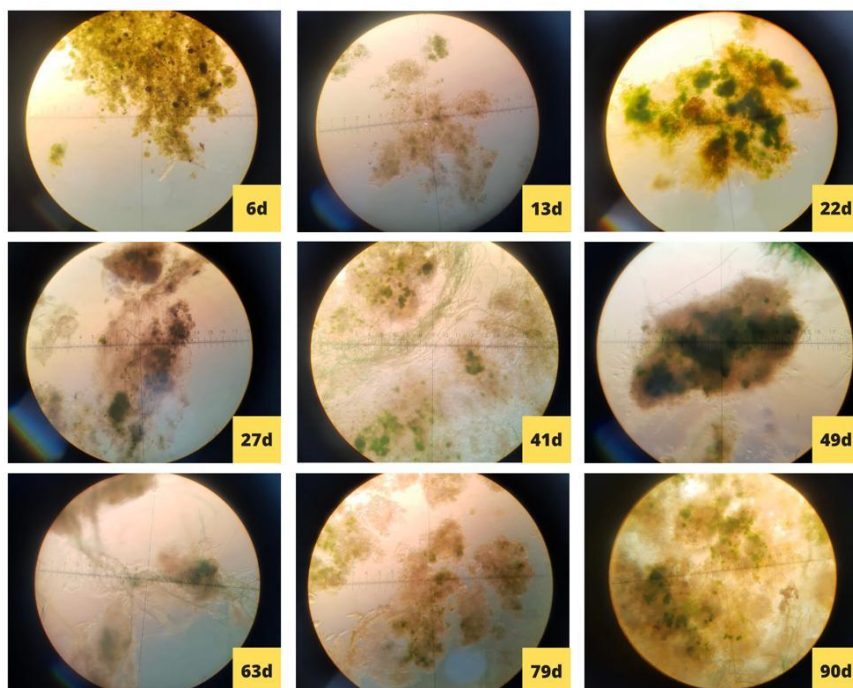


Figura 2: Desenvolvimento da biomassa granular ao longo de 90 dias utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x

Durante o experimento, o sistema alcançou grânulos de tamanho de 0,2 mm a 2,8 mm. A concentração de sólidos suspensos voláteis do licor misto (SSVLM) durante o experimento de 1,54 g/L.

O FRBS apresentou resultados positivos com relação a eficiência de tratamento de efluentes, representados em termos de matéria orgânica e nutrientes (nitrogênio e fósforo). A concentração média de DQO no afluente sintético, responsável por alimentar o sistema, foi de $295,6 \pm 195,7$ mg/L e no efluente $45,26 \pm 21,14$ mg/L. Em relação à eficiência de remoção no sistema, o fotobiorreator demonstrou eficiência significativa na remoção de matéria orgânica, nitrogênio amoniacal e fósforo total com uma remoção média de $85,7 \pm 9,3\%$, $76,9 \pm 19,3\%$ e $15 \pm 23,7\%$, respectivamente (Figura 3).

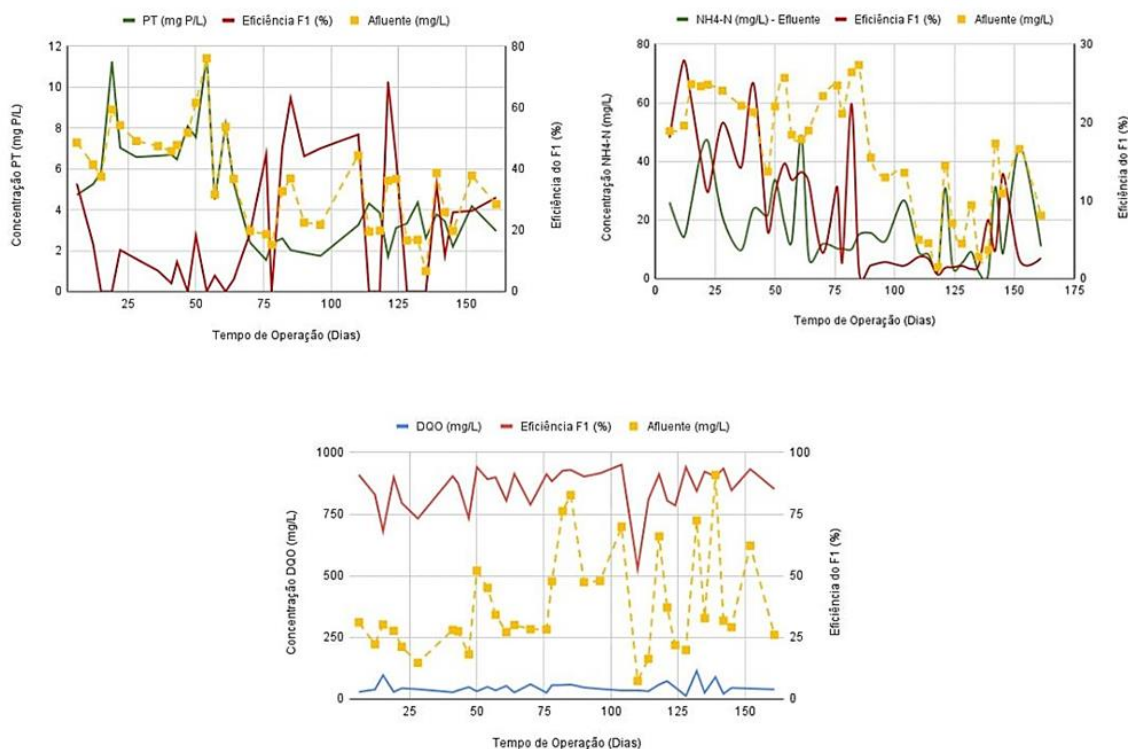


Figura 3: Eficiência de remoção de nutrientes (fósforo e nitrogênio) e matéria orgânica

A figura 4 apresenta a recuperação de PHB no FRBS durante um ciclo típico operacional (6 horas). É possível identificar o acúmulo e consumo do fósforo ao longo do ciclo. Inicialmente, em sua fase anaeróbia, o crescente fornecimento de alimento favorece o acúmulo de PHB intracelular. Entretanto, quando o fornecimento de carbono é cessado, há um consumo evidenciado pela queda na reação aeróbia. Em geral, o sistema apresentou conteúdos de PHB máximos e mínimos de 21,08 e 11,24 mgPHB/gSST, respectivamente.

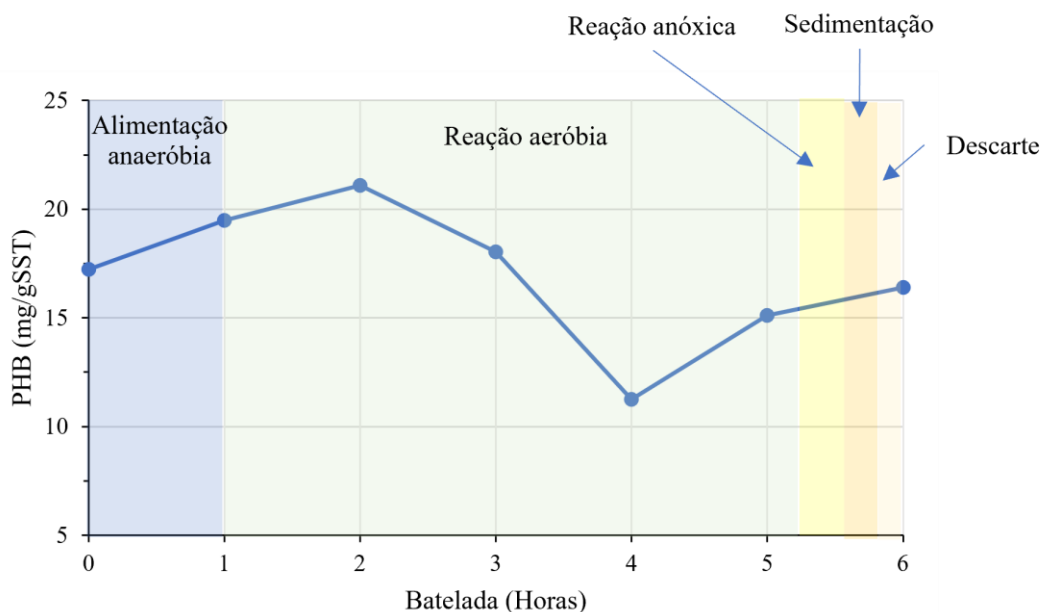


Figura 4: Recuperação de PHB no fotobiorreator.

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

DESENVOLVIMENTO DA BIOMASSA

Na primeira semana de observação, foi constatada a formação parcial de fotogrânulos no sistema, com mais de 50% dos mesmos apresentando diâmetros superiores a 0,2 mm (Figura 2). No 22º dia de operação, 89,17% da biomassa apresentava diâmetro superior a 0,2 mm, sendo que 47,4% desses grânulos mediam entre 0,4 mm e 0,6 mm, com IVL_{30}/IVL_{10} próximo a 90%. Segundo De Kreuk *et al.* (2005) e Liu *et al.* (2010) temos que a granulação aeróbia ocorre quando o sistema apresenta 80% de grânulos com diâmetros maiores do que 0,2 mm e IVL_{30}/IVL_{10} próximo a 90%, respectivamente, corroborando a afirmação de granulação bem-sucedida do sistema após o 22º dia de experimento.

A concentração inicial de SSVLM no FRBS deve-se aos sólidos presentes no inóculo. Diante desse cenário, no início da operação, a concentração de biomassa foi de cerca de 1,0 g/L (Dia 1). A partir do dia 6 do período operacional, foi detectado SSVLM da biomassa com 1,2 g/L. Foi possível observar o aumento da concentração do SSVLM no 15º dia de operação, com um valor de 1,7 g/L, mesmo o sistema não apresentando presença de grânulos no sistema do fotobiorreator. Durante o experimento foi possível obter a média de SSVLM de 1,54 g/L.

REMOÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES

No início dos testes (6º dia), foi observada uma remoção de DQO de 90,8%. No 15º dia de experimento, obteve-se uma redução no nível de eficiência de remoção, com 68,03%. Com a formação dos grânulos (22º dia), a eficiência do sistema apresentou um aumento para 84,34%. Durante o experimento, o sistema alcançou uma remoção de matéria orgânica média de 85% (Figura 3), sendo observado um resultado semelhante na literatura, como o estudo realizado por Alves (2017), que obteve uma remoção média acima de 80% com as configurações de operação do sistema de forma similar.

Relacionada a remoção de nutrientes, temos que antes da formação dos grânulos, o sistema apresentou uma remoção média de 64,8% de nitrogênio amoniacal. Após a formação dos grânulos aeróbios (22º dia), observou-se um aumento da eficiência de remoção no sistema, alcançando 83,3%. O sistema obteve média de



remoção de nitrogênio amoniacal no sistema de 79 % (Figura 3). Em pesquisa reportada por Guimarães (2017), obteve resultado similar na remoção de nitrogênio amoniacal, com média de 75% de eficiência de remoção.

O sistema alcançou a remoção média de fósforo total abaixo de 15% (Figura 3). Até o 22º dia de operação, uma fase que precede a formação de grânulos no sistema, o reator conseguiu uma média de remoção de apenas 4,4%. É evidente uma acentuada diminuição na eficácia da remoção de fósforo durante o processo de granulação do lodo. A causa potencial desse resultado pode ser a acumulação de fósforo ao longo do processo de tratamento no sistema do fotobiorreator. Isso se justifica, uma vez que os organismos acumuladores de fósforos (PAOs) são organismos de crescimento lento, ou seja, esses organismos levam um período para crescer e se adaptar ao sistema. Por outro lado, é possível observar que o sistema alcançou eficiência de remoção de fósforo próximos a 80% entre os dias 75 e 125.

RECUPERAÇÃO DO PHA

O sistema aplicado no fotobiorreator referente a parte de enchimento, favoreceu de maneira lenta o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios, como organismos acumuladores de fosfato (PAO) por meio da hidrólise da matéria orgânica, e conseqüentemente, influenciou na baixa remoção de fósforo no sistema e na produção do PHA. A produção de PHB no FRBS foi cerca de $17,0 \pm 3,0$ mgPHB/gSST.

A produção do PHA requer energia na forma de ATP e poder redutor com o transportador de elétrons (NAD(P)H). Com isso, a hidrólise do polifosfato armazenado intracelularmente e a liberação de fósforo para o meio fornecem parte da energia para essas reações (IZADI, IZADI e ELDYASTI, 2021). Neste estudo, foi verificado que o consumo e liberação de fosfato para o meio se manteve com valores baixos no FRBS no geral, havendo remoções consideráveis de fósforo apenas entre os dias 75 e 125 provavelmente pelo desenvolvimento de PAOs e GAOs. Notou-se uma recuperação favorável de PHB, apesar da eficiência baixa de remoção de fósforo no sistema conjugado ao processo de formação da biomassa granular.

CONCLUSÕES

O estudo demonstrou o desempenho de um fotobiorreator com configurações operacionais na recuperação de Polihidroxialcanoato (PHA), utilizando a tecnologia LGA-AB tratando efluente sintético. No sistema presente, a formação bem-sucedida de grânulos ocorreu a partir do 22º dia de operação. Ao longo do período da pesquisa, foi possível obter grânulos com tamanhos variando de 0,4 mm a 2 mm. Portanto, podemos afirmar que o desenvolvimento bem-sucedido de fotogrânulos aeróbios foi alcançado com êxito no fotobiorreator em escala laboratorial, durante o tratamento de esgoto doméstico. Além disso, o FRBS apresentou ótima sedimentabilidade (uma média de 86% de IVL_{30}/IVL_{10}).

Ao longo do período experimental, notou-se uma remoção média satisfatória de DQO (85%) e de nitrogênio (79%). Entretanto, a remoção média de fósforo apresentou resultados de 15%.

Em relação à recuperação de PHA, foi possível extrair uma média de 16,94 mgPHB/gSST. Durante as semanas do experimento, observou-se uma constância na recuperação do bioplástico. Essa constância na recuperação de PHA extraído no sistema pode estar relacionada ao processo de formação de grânulos da biomassa aeróbia e a proporção de fósforo, uma vez que a liberação de fósforo ocorreu de maneira insatisfatória para o meio, fornecendo de maneira insuficiente parte da energia para as reações na produção do composto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAO, L. *et al.* Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review. *Carbohydrate polymers*, v. 242, p. 116389, 2020.
2. SCHAMBECK, C. M. *et al.* Biopolymers recovery: dynamics and characterization of alginate-like exopolymers in an aerobic granular sludge system treating municipal wastewater without sludge inoculum. *Journal of environmental management*, v. 263, p. 110394, 2020.



SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO
DE ENGENHARIA SANITÁRIA
E AMBIENTAL



3. ROLLEMBERG, S. L. S. *et al.* Tecnologia de lodo granular aeróbio no tratamento de esgoto doméstico: oportunidades e desafios. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 25, p. 439-449, 2020b.
4. MENG, F. *et al.* Application of aerobic granules-continuous flow reactor for saline wastewater treatment: Granular stability, lipid production and symbiotic relationship between bacteria and algae. *Bioresource technology*, v. 295, p. 122291, 2020.
5. MANNINA, G. *et al.* Recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from wastewater: a review. *Bioresource technology*, v. 297, p. 122478, 2020.
6. HUANG, W. *et al.* Achieving partial nitrification and high lipid production in an algal-bacterial granule system when treating low COD/NH₄-N wastewater. *Chemosphere*, v. 248, p. 126106, 2020.
7. COMEAU, Y.; HALL, K. J.; OLDHAM, W. K. Determination of Poly-beta-Hydroxybutyrate and Poly-beta-Hydroxyvalerate in Activated Sludge by Gas-Liquid Chromatography. *Applied and environmental microbiology*. v54, p 2325-2327. 1988
8. OEHMEN A., KELLER L. B., ZENG R. J., YUAN Z., KELLER, J. Optimisation of poly-β-hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems. *Journal of Chromatography*. 1070:131-136 2005
9. DE KREUK M.K., HEIJNEN J.J., VAN LOOSDRECHT M.C.M. Simultaneous COD, Nitrogen, and Phosphate Removal by Aerobic Granular Sludge. *Biotechnology and Bioengineering*, 90 (6), 761-769, 2005.
10. FELZ, S. *et al.* Extraction of structural extracellular polymeric substances from aerobic granular sludge. *JoVE. Journal of Visualized Experiments*, n. 115, p. e54534, 2016.
11. BOCKEN, Nancy MP. Sustainable venture capital–catalyst for sustainable start-up success? *Journal of Cleaner Production*, v. 108, p. 647-658, 2015.
12. GUIMARÃES, L. B. Caracterização microbiológica do lodo granular na remoção de nutrientes e potencial de recuperação de exopolímeros de efluentes em reatores em bateladas sequenciais. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.
13. ALVES, O. I. M. Aspectos microbiológicos do tratamento de esgotos sanitários em reatores em batelada sequencial com lodo granular. Dissertação. 95p. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2017.