

II-571 – AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO APLICADO A UMA BIOMASSA COMPOSTA POR CIANOBACTÉRIAS E MICROALGAS, VISANDO A PRODUÇÃO DE METANO

Larissa Ribeiro Martins⁽¹⁾

Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Mestre e doutoranda em Engenharia Civil, área de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Carlos Murilo de Melo Filho⁽²⁾

Engenheiro Agrícola e Ambiental pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Mestrando em Engenharia Civil, área de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos pela UFPE.

Sávia Gavazza⁽³⁾

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Doutorado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-USP). Professora Associada da UFPE. Pós-doutorado na Universidade de Cornell (EUA) e Universidade de Toronto (Canadá).

Mario Takayuki Kato⁽⁴⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Mestrado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela EESC-USP. Doutorado em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Universidade de Wageningen (Holanda). Professor Titular da UFPE.

Lourdinha Florencio⁽⁵⁾

Engenheira Civil pela UFPE. Mestrado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela EESC-USP. Doutorado em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Universidade de Wageningen (Holanda). Professora Titular da UFPE

Endereço⁽¹⁾: Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE. Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n. Cidade Universitária. CEP: 50740-530. Recife PE. E-mail: larissarm.bio@gmail.com ; flor@ufpe.com

RESUMO

O esgotamento das reservas de combustíveis fósseis tem motivado pesquisas intensivas sobre a produção de biocombustíveis usando fontes alternativas. Os métodos atuais utilizados para a produção de biodiesel, através de micro-organismos fotossintéticos, produzem em torno de 60-70% de resíduos. Diante dessa estimativa, evidencia-se a necessidade de uma alternativa de descarte dos resíduos gerados. A digestão anaeróbia é uma tecnologia promissora para a gestão desse resíduo, permitindo o tratamento e disposição final adequado, ao mesmo tempo em que gera energia na forma de metano. Ao contrário da produção do biodiesel, onde somente uma pequena fração da célula (lipídios) é utilizada, com a aplicação da digestão anaeróbia também é possível produzir metano através de todas as macromoléculas (proteínas, lipídios e carboidratos). No entanto, técnicas de pré-tratamento podem ser necessárias anteriores ao processo. Neste sentido, na presente pesquisa foi avaliada a influência do pré-tratamento hidrotérmico sobre a produtividade de metano de uma biomassa mista composta por cianobactérias e microalgas. Com essa finalidade, a biomassa foi pré-tratada a temperaturas de 100, 110 e 120 °C durante 10, 20 e 30 minutos, antes do teste de potencial bioquímico de metano (BMP), em reatores em batelada. Os resultados obtidos mostraram que o maior teor de solubilização da biomassa (17%) foi obtido a uma temperatura de 120 °C com tempo de exposição de 30 minutos. A produção de metano para a biomassa *in natura* (controle) e pré-tratada, não apresentou diferença significativa, com valores de 190,45 mL CH₄/g DQO e 174,65 mL CH₄/g DQO, respectivamente. A biodegradabilidade anaeróbia da biomassa *in natura*, composta por 98% de cianobactérias, apresentou resultados promissores, sem a necessidade de qualquer pré-tratamento antes da digestão.

PALAVRAS-CHAVE: Pré-tratamento, Digestão anaeróbia, Solubilização.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por energia, os altos custos de produção e transporte do petróleo e os impactos ambientais negativos causados pela queima de combustíveis fósseis (BRENNAN, *et al.*, 2010) tem motivado a produção de biocombustíveis. Uma abordagem promissora é o uso de micro-organismos fotossintéticos como matéria-prima. Esses micro-organismos são capazes de produzir grandes quantidades de biomassa, que pode

ser convertida em diferentes subprodutos, como biodiesel, bioetanol ou biogás (IEA, 2010). Estudos desenvolvidos até o momento permitem concluir que a biomassa de cianobactérias e de microalgas é um tipo de substrato considerado como fonte potencial de matéria orgânica para fins energéticos (MENDEZ, *et al.*, 2015; SINGH *et al.*, 2016; IEA, 2017).

No processo de produção de biocombustíveis a partir micro-organismos fotossintéticos, além do biodiesel, e da glicerina formada como subproduto, grandes quantidades de resíduos sólidos de biomassa são produzidos após a extração do conteúdo lipídico. Estes resíduos podem ser utilizados como fertilizantes, como fontes de proteínas na dieta de ruminantes e alimentos para peixes (EHIMEN *et al.*, 2011), ou ainda para a produção de maltodextrina, complemento alimentar e agente ligante na indústria farmacêutica (LAM *et al.*, 2014). Entretanto, quando essas opções não forem viáveis, a biomassa precisa ser eliminada. Além disso, devido à alta demanda de nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo para o cultivo, o descarte dessa biomassa residual e o efluente de sua produção podem causar impactos ambientais e econômicos negativos, sendo dessa forma, a recuperação dessa biomassa e nutrientes altamente desejável para a sustentabilidade da produção de biodiesel (WARD *et al.*, 2014; CHOWDHURY e FRANCHETTI, 2017). Dessa forma, a incorporação do processo de digestão anaeróbia na produção de biocombustíveis a partir de resíduos de cianobactérias e microalgas parece oferecer uma alternativa para eliminar alguns dos custos gerais, podendo aumentar o rendimento de produção e favorecer o processo de conversão da biomassa ao biodiesel.

Sob outra perspectiva, a digestão anaeróbia é reconhecida por uma eficiência energética muito mais elevada em comparação com a produção de biocombustíveis descrita anteriormente (KLASSEN, *et al.*, 2016; JANKOWSKA *et al.*, 2017). Ao contrário da produção de biodiesel, não é necessário a extração de lipídios, todas as macromoléculas (proteínas, lipídios e carboidratos) são utilizadas durante o processo e o principal produto gerado é o metano. Dessa forma, tanto a biomassa *in natura* como os resíduos provenientes da produção de biocombustíveis podem ser utilizados como substrato para o processo de digestão anaeróbia. Entretanto, o rendimento da produção de metano através de micro-organismos fotossintéticos é dependente das características das espécies utilizadas como substrato. Essa produção é muitas vezes limitada pela sua composição macromolecular, contendo biopolímeros capazes de resistir à degradação bacteriana, sendo necessária a aplicação de pré-tratamentos para promover a lise da parede celular e a solubilização da biomassa antes de submeter à digestão anaeróbia (WARD *et al.*, 2014).

Os tipos de pré-tratamentos descritos na literatura, tais como, os térmicos, mecânicos, químicos e biológicos (PASSOS *et al.*, 2014), podem ser comparados com os processos de extração dos lipídios para produção de biodiesel, visto que também incluem esses tipos de pré-tratamentos no processo de extração. Desta forma, a extração de lipídeos pode ser considerada como um pré-tratamento (ALZATE *et al.*, 2014; NEVES *et al.*, 2016). Em alguns métodos térmicos e mecânicos a energia consumida no pré-tratamento não é compensada pelo ganho de metano (PASSOS *et al.*, 2014), enquanto que pré-tratamentos biológicos, apesar do rendimento de metano não ser tão elevado como em pré-tratamentos físicos, ainda é promissor devido à baixa necessidade de energia (PASSOS *et al.*, 2016).

Nesse contexto, a presente pesquisa objetivou determinar a influência do pré-tratamento hidrotérmico sobre a produtividade de metano de uma biomassa mista composta por cianobactérias e microalgas. Para esse propósito, foi realizado o teste do potencial bioquímico de metano (BMP) após análise do efeito de diferentes temperaturas e tempos, sob o grau de solubilização da biomassa.

MATERIAIS E MÉTODOS

O inóculo granular utilizado como consórcio microbiano foi proveniente de um reator anaeróbio de circulação interna (IC) operando em uma indústria de cervejaria. A caracterização do inóculo consistiu na quantificação de sólidos totais (ST) e de sólidos totais voláteis (STV). Para definir a capacidade máxima de produção de metano pelo inóculo foi realizado o teste de atividade metanogênica específica (AME), descrito por Aquino *et al.* (2007).

A biomassa utilizada como substrato foi uma cultura mista composta por diferentes espécies dos principais grupos fitoplantônicos: cianobactérias (*planktothrix* sp., *merismopedia* sp.), *Chlorophyta* (*chlorella* sp., *desmodesmus* sp., *scenedesmus* sp., *monoraphidium* sp.), *Euglenophyta* (*trachelomonas* sp. e *phacus* sp.) e *Bacillariophyta* (diatomáceas). A biomassa foi caracterizada por meio das seguintes análises pH, DQO (total e solúvel), sólidos totais (ST), sólidos totais voláteis (STV), nitrogênio total Kjeldahl (NTK), proteínas, lipídeos

e carboidratos. Todos os procedimentos analíticos seguiram o *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

Para avaliar o efeito do pré-tratamento hidrotérmico sobre a biomassa foi realizado um planejamento fatorial 2² em triplicada, com quintuplicata no ponto central. As temperaturas e tempos de exposição testados (temperatura de 100, 110 e 120 °C durante 10, 20 e 30 minutos) foram baseados no trabalho realizado por Passos e Ferrer (2015). O pré-tratamento hidrotérmico da biomassa foi realizado com o auxílio de um autoclave vertical (marca Phoenix, modelo av.) em frascos de vidro com volume total de 250 mL, utilizando 100 mL da biomassa concentrada.

O grau de solubilização (%) foi calculado conforme a Equação (1), onde a DQOs corresponde a DQO solúvel após o pré-tratamento, a DQOs₍₀₎ corresponde a DQO solúvel na biomassa *in natura* e a DQOt corresponde a DQO total da biomassa *in natura* (ALZATE *et al.*, 2012).

$$S (\%) = (DQOs - DQOs_0)/(DQOt - DQOs_0) \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Os testes em batelada utilizados para determinar o potencial bioquímico de metano foram realizados com a biomassa *in natura* (controle) e biomassa pré-tratada. Para quantificar a produção de metano pela respiração endógena um reator foi preparado apenas com o inóculo. Os testes foram conduzidos em frascos reatores de 500 mL, com um headspace de 10%, em triplicata e incubados em sala termostatizada (30±2°C). O volume de metano produzido foi medido, diariamente, a partir do deslocamento de uma solução de NaOH (3% m/v) de uma garrafa de soro invertida de 1000 mL, conectada ao reator através de mangueira cristal transparente. O volume deslocado de NaOH, corresponde ao CH₄ produzido (mL), foi medido por gravimetria.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

INÓCULO E SUBSTRATO

A caracterização do inóculo consistiu na quantificação do teor de sólidos totais (55 g ST/L) e sólidos totais voláteis (48 g STV/L) presentes na amostra. A atividade metanogênica deste lodo foi de 0,189 g DQO-CH₄/ g STV.d.. A suspensão da biomassa concentrada, utilizada como substrato, apresentou uma composição média de 6210 mg/L de sólidos totais (ST) e 5180 mg/L de sólidos totais voláteis (STV), 788 mg/L de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) e pH de 5,7. A composição macromolecular foi de 46,88% de proteínas, 29% de lipídios e 24,12% de carboidratos. A DQO total e solúvel foi 8741 mg/L e 316 mg/L, respectivamente. Foi caracterizado um conteúdo orgânico de 83% de STV/ST, a maioria em forma particulada, como indicado pela DQO solúvel (somente 3,61% da DQO total), evidenciando a necessidade de técnicas de pré-tratamento para a desintegração da parede celular das cianobactérias e microalgas, de forma a potencializar a digestão anaeróbia deste substrato.

PRÉ-TRATAMENTO E SOLUBILIZAÇÃO DA BIOMASSA

As variáveis aplicadas e o grau de solubilização (%) resultante do pré-tratamento hidrotérmico estão apresentadas na Tabela 1. Esse tipo de pré-tratamento é executado a temperaturas mais elevadas do que 100 °C, com liberação gradual de pressão ao término da sua aplicação (PASSOS *et al.*, 2014). Os resultados obtidos apresentaram percentuais de solubilização da DQO particulada de 9 a 17%, evidenciando que as variáveis estudadas têm influência sobre a solubilização da biomassa. Os tratamentos H2 (120°C por 10 min) e H5 (110°C por 20 min) resultaram no mesmo percentual de solubilização (13%) evidenciando que a mesma foi proporcional à temperatura e ao tempo.

Tabela 1: Variáveis e níveis codificados do planejamento fatorial 2² para o pré-tratamento hidrotérmico.

TRATAMENTO	TEMPERATURA (°C)	TEMPO (MIN)	SOLUBILIZAÇÃO (%)
H1	100 (-1)	10 (-1)	9
H2	120 (+1)	10 (-1)	13
H3	100 (-1)	30 (+1)	10
H4	120 (+1)	30 (+1)	17
H5	110 (0)	20 (0)	13

Passos *et al.*, (2015) registraram aumento da solubilização de 8 e 13% para o pré-tratamento hidrotérmico (130 °C e 15 min) de uma biomassa de microalgas. Estes resultados, semelhantes aos encontrados no presente estudo, deve-se provavelmente às diferentes espécies contidas na biomassa utilizada, com características que podem dificultar sua solubilização.

Atualmente, os efeitos de pré-tratamentos aplicados a microalgas a baixas temperaturas (60-80 °C) têm sido relatados. Passos *et al.*, (2016) investigaram um pré-tratamento a 80 °C combinado com doses alcalinas e ácidas. Os resultados indicaram que o pré-tratamento contribuiu para a solubilização da biomassa, com um maior rendimento de metano de 82% e 86% para pré-tratamento alcalino e ácido, respectivamente. Enquanto que Kinnunen e Rintala (2016) promoveram uma solubilização de 9-12% ao aplicar pré-tratamento térmico (80 °C, 3 h) a *Chlorella vulgaris* e uma biomassa mista de microalgas.

TESTES DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (BMP)

A condição ótima do pré-tratamento hidrotérmico (120 °C, 30 min) foi posteriormente utilizada nos testes do potencial bioquímico de metano. A produção acumulada de metano para a biomassa *in natura* e a biomassa pré-tratada, durante o período de incubação de 18 dias, é mostrada na figura 1. Ao contrário do esperado a biomassa *in natura* apresentou um volume final de metano superior à biomassa pré-tratada, com valores de 190,45 mL CH₄/g DQO e 174,65 mL CH₄/g DQO, respectivamente.

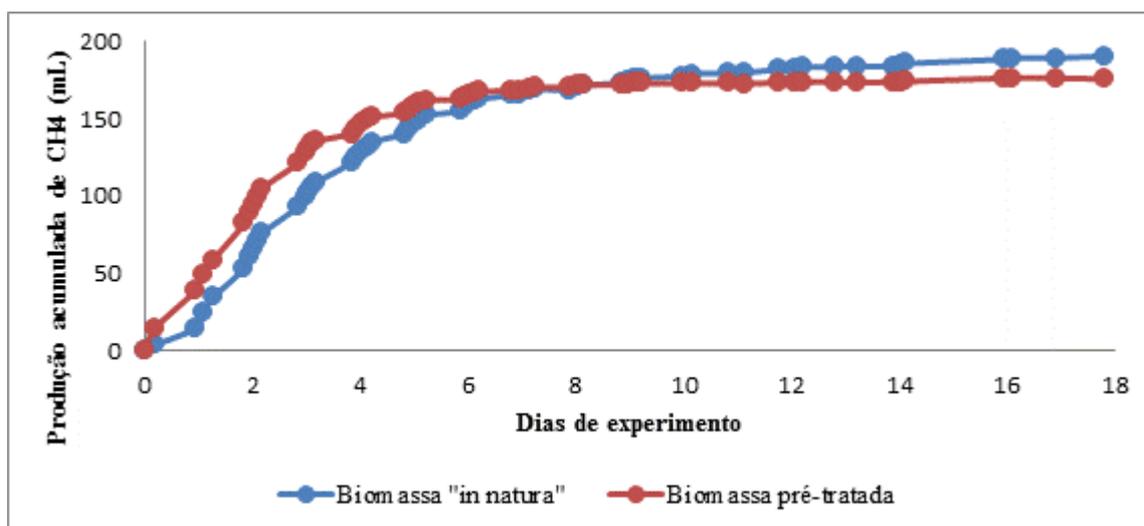


Figura 1: Produção acumulada de CH₄ (mL) da biomassa *in natura* e da biomassa após pré-tratamento hidrotérmico.

Conforme pode ser observado, houve uma maior taxa inicial de produção de metano para a biomassa pré-tratada, em média 10 mL de CH₄/dia, com a produção permanecendo constante após 8 dias de digestão. Isso deve-se ao fato de que a hidrólise, promovida pelo pré-tratamento, disponibiliza uma maior parcela de substrato para assimilação pelos micro-organismos. Dessa forma, devido ao esgotamento dos substratos hidrolisados houve mais rapidamente a estabilização da produção de metano para essa biomassa.

Na biomassa utilizada, uma cultura mista, diferentes micro-organismos estavam presente, porém as cianobactérias consistiram em aproximadamente 98% da biomassa total. Diante dessa estimativa, pode-se atribuir a produtividade de metano da biomassa *in natura*, à presença de paredes celulares de fácil degradação pelos micro-organismos anaeróbios.

Os resultados expostos corroboram com os encontrados por Mendez *et al.*, (2015), que avaliaram comparativamente a produção de metano por diferentes cianobactérias e a microalga *Chlorella vulgaris*. No estudo, as cianobactérias exibiram acelerada produtividade de metano. No caso de *Borzia trilocularis* e *Anabaena planctonica*, a produção de metano permaneceu constante após 12 dias de digestão, atingindo um máximo de 168 e 187 mL CH₄/g DQO respectivamente.

A definição da biomassa utilizada para a digestão anaeróbia não pode ser independente da classificação dos micro-organismos presentes, visto que existe uma elevada variabilidade na produção de metano entre os diferentes tipos de espécies de cianobactérias e microalgas. As cepas sem parede celular ou com parede à base de proteínas podem se destacar, pois evitam pré-tratamentos, que promovem um alto gasto de energia (MUSSGNUG *et al.*, 2010), com inviabilidade do processo.

CONCLUSÕES

O pré-tratamento hidrotérmico aumentou a solubilização da biomassa de 9-17%. A melhor condição (temperatura de 120 °C, 30 minutos) foi avaliada em testes em batelada para determinação do potencial bioquímico de metano.

A biomassa pré-tratada apresentou uma maior taxa inicial de produção de metano, enquanto que a biomassa *in natura* uma maior taxa final de produção de metano.

Diante da biodegradabilidade da biomassa *in natura*, composta por 98% de cianobactérias, conclui-se que é possível alcançar resultados promissores para esse tipo biomassa, sem a necessidade de qualquer pré-tratamento antes da digestão.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro para realização das pesquisas neste tema aos pesquisadores do LSA-UFPE (projeto PRONEX/NUTREL); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas. À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo apoio ao projeto Rede Nacional de Tratamento de Esgotos Descentralizados (RENTED). À Companhia de Saneamento de Pernambuco (COMPESA) e BRK Ambiental pelo suporte aos trabalhos experimentais e coleta de amostras nas estações de tratamento de esgotos de Rio Formoso e Mangueira Recife.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALZATE, M. E.; MUÑOZ, R.; ROGALLA, F.; FDZ-POLANCO, F.; PÉREZ, S. I. *Biochemical Methane Potential of microalgae biomass after lipid extraction*. *Chemical Engineering Journal*. v. 243, p. 405–410, 2014.
2. ALZATE, M. E.; MUÑOZ, R.; ROGALLA, F.; FDZ-POLANCO, F.; PÉREZ, S. I. *Biochemical methane potential of microalgae: influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment*. *Bioresource Technology*. v. 123, p. 488-494, 2012.
3. APHA, AWWA, WPCF. *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22nd edn., American Public Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington, DC, USA, 2012.
4. AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; MONTEGGIA, L. O. *Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios*. *Engenharia Sanitária Ambiental*. v. 12, p. 192-201, 2007.
5. BLIGH, E. G. AND DYER, W. J. *A rapid method for total lipid extraction and purification*. *Can. J. Biochemistry Physiology*. v. 37, p. 911-917, 1959.
6. BRENNAN, L., & OWENDE, P. *Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. *Renewable Sustainable Energy Reviews*. v. 14, p. 557–577, 2010.
7. CHOWDHURY, R.; FRANCHETTI, M. *Life cycle energy demand from algal biofuel generated from nutrients present in the dairy waste*. *Sustainable production and consumption*. v.9, p. 22-27, 2017.
8. EHIMEN, E. A.; SUN, Z. F.; CARRINGTON, C. G.; BIRCH, E. J.; EATON-RYE, J. *Anaerobic digestion of microalgae residues resulting from the biodiesel production process*. *Applied Energy*. v. 88, p. 3454-3463, 2011.
9. IEA. *State of Technology Review – Algae Bioenergy*. IEA Bioenergy, 2017
10. IEA. *Sustainable Production of Second-Generation Biofuels. Potential and perspectives in major economies and developing countries*. Paris, 2010.

11. JANKOWSKAA, E.; SAHUB, A. K.; OLESKOWICZ-POPIELA, P. *Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. Renewable Sustainable Energy Reviews*. Article in press, 2017.
12. KINNUNEN, V.; RINTALA, J. *The effect of low-temperature pretreatment on the solubilization and biomethane potential of microalgae biomass grown in synthetic and wastewater media. Bioresource Technology*. v. 221, p. 78–84, 2016.
13. KLASSEN, V.; BLIFERNEZ-KLASSEN, O.; WOBBE, L.; SCHLUTER, A.; KRUSE, O.; MUSSGUG, J. H. *Efficiency and biotechnological aspects of biogas production from microalgal substrates. Journal of Biotechnology*. v. 234, p. 7–26, 2016.
14. LAM, M. K.; TAN, I.S.; LEE, K. T. *Utilizing lipid-extracted microalgae biomass residues for maltodextrin production. Chemical Engineering Journal*. v. 235, p. 224–230, 2014.
15. MENDEZ, L.; MAHDY, A.; BALLESTEROS, M.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. *Chlorella vulgaris vs cyanobacterial biomasses: Comparison in terms of biomass productivity and biogas yield. Energy Conversion and Management*. v. 92, p. 137–142, 2015.
16. NEVES, V. T. C.; SALES, E. A.; PERELO, L. W. *Influence of lipid extraction methods as pre-treatment of microalgal biomass for biogas production. Renew. Sust. Energ. Rev.* v. 59, p. 160–165, 2016.
17. PASSOS, F.; FELIX, L.; ROCHA, H.; PEREIRA, J. O.; AQUINO, S. *Reuse of microalgae grown in full-scale wastewater treatment ponds: Thermochemical pretreatment and biogas production. Bioresource Technology*. v. 209, p. 305–312, 2016.
18. PASSOS, F.; FERRER, I. *Influence of hydrothermal pretreatment on microalgal biomass anaerobic digestion and bioenergy production. Water Research*. v. 68, p. 364 e 373, 2015.
19. PASSOS, F.; HOM-DÍAZ, A.; NBLANQUEZ, P.; VICENT, T.; FERRER, I. *Improving biogas production from microalgae by enzymatic pretreatment. Bioresource Technology*. v. 199, p.347–351, 2016.
20. PASSOS, F.; UGGETTI, E.; CARRÈRE, E.; FERRER, I. *Pretreatment of microalgae to improve biogas production: A review. Bioresource Technology*, v. 172, p. 403–412, 2014.
21. SINGH, V.; CHAUDHARY, D. K.; MANI, I.; DHAR, P. K. *Recent advances and challenges of the use of cyanobacteria towards the production of biofuels. Renewable and Sustainable Energy Reviews*. v. 60, p. 1–10, 2016.
22. WARD, A. J.; LEWIS, D.M.; GREEN, F.B. *Anaerobic digestion of algae biomass: A review. Algal Research*, v. 5, p. 204-214, 2014.