



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA – UEPB
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – CCT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
– PPGCTA

TESE

**SOLUBILIZAÇÃO DE MATERIAL CARBONÁCEO E
NUTRIENTES DE LODO AERÓBIO ATRAVÉS DO PRÉ-
TRATAMENTO QUÍMICO**

Doutorando: TALES ABREU TAVARES DE SOUSA
Orientador: Prof. Dr. Wilton Silva Lopes
Coorientador: Prof. Dr. Jules Bernardus van Lier

CAMPINA GRANDE-PB
FEVEREIRO DE 2019

TALES ABREU TAVARES DE SOUSA

**SOLUBILIZAÇÃO DE MATERIAL CARBONÁCEO E NUTRIENTES
DE LODO AERÓBIO ATRAVÉS DO PRÉ-TRATAMENTO QUÍMICO**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Sanitária e Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Wilton Silva Lopes
Coorientador: Prof. Dr. Jules Bernardus van Lier

Campina Grande – PB
Fevereiro de 2019

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S725s Sousa, Tales Abreu Tavares de.
Solubilização de material carbonáceo e nutrientes de lodo aeróbio através do pré-tratamento químico [manuscrito] / Tales Abreu Tavares de Sousa. - 2019.
169 p. : il. colorido.
Digitado.
Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia , 2019.
"Orientação : Prof. Dr. Wilton Silva Lopes , Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - CCT."
"Coorientação: Prof. Dr. Jules Bernardus Van Lier , Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa"
1. Lodo ativado. 2. Tratamento de lodo. 3. Solubilização enzimática. 4. Digestão anaeróbia. 5. Hidrólise química. I.
Título

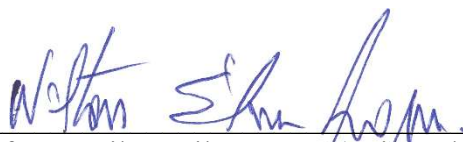
21. ed. CDD 628.38

TALES ABREU TAVARES DE SOUSA

**SOLUBILIZAÇÃO DE MATERIAL CARBONÁCEO E NUTRIENTES
DE LODO AERÓBIO ATRAVÉS DO PRÉ-TRATAMENTO QUÍMICO**

Defesa de Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, em Campina Grande-PB no dia 22 de Fevereiro de 2019.

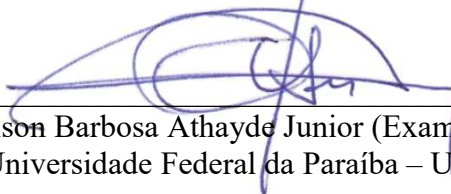
BANCA EXAMINADORA:



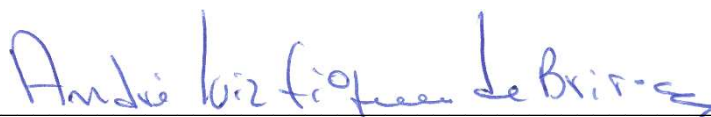
Prof. Dr. Wilton Silva Lopes (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB



Prof. Dr. Armando Borges de Castilhos Junior (Examinador externo)
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC



Prof. Dr. Gilson Barbosa Athayde Junior (Examinador externo)
Universidade Federal da Paraíba – UFPB



Prof. Dr. André Luiz Fiquene de Brito (Examinador externo)
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG



Prof. Dr. Valderi Duarte Leite (Examinador interno)
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB



Prof.^a Dr.^a Beatriz Susana Ovruski de Ceballos (Examinador interno)
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

**Campina Grande – PB
Fevereiro de 2019**

*Dedico este trabalho a **Deus** e a toda minha **família**, por todo o amor, carinho, amizade, compreensão, apoio, paciência e cuidado durante essa jornada. E em especial aos meus **pais**, maiores mestres, amigos e professores que tive.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da vida e por Sua infinita misericórdia em proporcionar chuva aos justos e injustos e fazer o sol brilhar para os bons e os maus. Por me amar e sempre me abençoar com saúde, família, amigos, professores, entre outras bênçãos.

Agradeço aos meus pais, José Tavares e Maria Auxiliadora, meus exemplos de honestidade, ética, família e seres humanos. Além de serem meus alicerces essenciais na edificação de minha vida, proporcionaram-me sempre amor incondicional, um grande investimento em meus estudos, educação e formação como pessoa. Agradeço aos meus irmãos, Tiago, meu cúmplice de berço, e Milena, aquela irmã parceira, que sempre zelou pelos irmãos mais novos e, como se ela não fosse o bastante, me proporcionou duas sobrinhas (Maíra e Amanda) que despertam o meu melhor, o meu mais gostoso sorriso e me dão a certeza de que quero ser pai.

Agradeço aos meus tios e tias que sempre foram extensão da minha casa e muitas vezes fizeram papel de pais, representando verdadeiros ninhos que, independente dos meus vôos, sempre foram meus abrigos. Em especial, minhas tias que denotam colo de mãe. Bem como os primos e primas, que muitas vezes confundi como irmãos, sendo meus pontos de força.

Agradeço a Larissa, minha noiva, futura esposa e eterna namorada. Que tem se dedicado e composto minha felicidade ao longo da nossa história. Ajudou-me além de suas próprias limitações, no dia a dia de minha vida e até mesmo no laboratório.

Agradeço aos meus avôs sanguíneos (*in memoriam*), que foram à base de formação dos meus pais. E aos meus avôs de criação, os vizinhos Seu Euclides e Dona Guia, que se fizeram presentes em cada momento de minha vida, como meus avós de coração.

Aos meus professores, aos tantos que tive nessa minha vida acadêmica, aos mestres da família CERC, da escola técnica Redentorista e da UEPB, que se fizeram amigos inesquecíveis, marcados com carinho cativado em uma sala de aula, no dia a dia e, em especial, dona Socorro. Aos meus amigos e colegas que me explicaram no silêncio o significado da palavra amizade em meu dicionário da vida, além do companheirismo, da cumplicidade, do amor... Agradeço a cada pessoa que de alguma forma me influenciou, seja inconscientemente ou intencionalmente, nos bons frutos que venho colhendo.

Agradeço aos meus orientadores, os professores Wilton Silva Lopes, Jules B. van Lier e Merle de Kreuk, com quem muito aprendi e criei vínculo afetivo. Em especial ao professor Wilton que tem sido meu orientador desde meu tempo de iniciação científica, já são 8 anos me dando oportunidade de desenvolvimento e aprendizado. Aqui o homenagem como um de meus principais co-autores de minha vida acadêmica.

Cada um escolhido por sua relevância na comunidade acadêmica, meus sinceros agradecimentos aos professores, que com muito carinho atenderam o pedido de comporem a banca examinadora nos disponibilizando um pouco de seu precioso tempo. Aos professores Armando Borges de Castilhos Junior e Gilson Barbosa Athayde Junior, examinadores externos que se deslocaram para contribuírem em meu crescimento profissional. Ao professor Valderi Duarte Leite e à professora Beatriz Susana Ovruski de Ceballos, como examinadores

internos, com quem tive maior proximidade e foram presentes em minha vida acadêmica, pela orientação e paciência.

Aos amigos e colegas de laboratório, com quem tive o privilégio de trabalhar, seja da EXTRABES ou da TU-Delft. Em especial Wanderley, Catarina, Victor, Armand e Mohammed, sempre se propuseram a ajudar.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (PPGCTA), aos professores que o compõe, a UEPB, a TUDelft, a CAPES, CNPq e a FINEP, que proporcionam aos inúmeros alunos o conhecimento do mundo da ciência, da pesquisa e do desenvolvimento.

À todos vocês, meu sincero OBRIGADO!

“Se enxerguei mais longe, foi porque me apoiei sobre os ombros de gigantes”.
(Isaac Newton)

RESUMO

A solubilização química é uma tecnologia de tratamento de lodo, sem ação física, que reúne variadas técnicas que tem em comum a adição de uma espécie, orgânica ou inorgânica, capaz de degradar os agregados microbianos, estruturados e protegidos pelas substâncias poliméricas extracelulares (SPE), através da despolimerização. Essa ação implica diretamente no rompimento da estrutura polimérica provocando a lise celular. O que reduz a massa intraflocular e aumenta a fração dos produtos microbianos solubilizados no meio. Nesta pesquisa foram investigadas três diferentes estratégias de solubilização química: 1) ácida e alcalina, utilizando NaOH e HCl no ajustar o pH para 2, 10, 11 e 12 unidades, e neutralizado após o processo de solubilização; 2) enzimática, que consistiu na utilização de enzimas hidrolíticas, tais como protease e lipase; e 3) solubilização através de resina de troca catiônica do tipo Dowex[®] Marathon[™] C na forma sódica (Na⁺), uma técnica que visa desestruturar as substâncias poliméricas alterando suas cargas elétricas, o que perturba a capacidade de atração e repulsão dos constituintes do meio. Para as três estratégias foram investigados seus efeitos no lodo, influência das concentrações das espécies químicas, pH, limitação da atividade, tempo de reação e a concentração dos sólidos. Cada técnica possui fatores bem particulares, como aumento da salinidade, suas propriedades puramente biológicas, a ruptura flocular por protonação e/ou desprotonação. Assim, o processo de despolimerização foi confirmado utilizando parâmetros físico-químicos como COD, DQO, fósforo, NTK, sólidos totais (ST), proteínas e carboidratos. A liberação dos produtos microbianos na fração solúvel também foi confirmada pelos testes biológicos que também obtiveram aumento significativo. Entre todos esses parâmetros adotados, os ensaios de DQO associados à respirometria, bem como as análises de proteínas e carboidratos são os que melhor viabilizam uma comparação entre os métodos. Porém, é importante constar que a investigação quanto as concentrações de ST (5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹, 15 mg.L⁻¹, 20 mg.L⁻¹, 25 mg.L⁻¹ e 30 mg.L⁻¹) relativas às dosagens das espécies químicas possibilitaram uma conclusão inédita, remotamente discutido dentre os artigos na área, no entanto é importante que as indústrias de tratamento tenham conhecimento que podem aumentar as concentrações de sólidos mantendo as mesmas dosagens químicas. A eficiência da solubilização alcalina foi 456% para DQO filtrada (DQO_f) e 858% para DQO utilizada (DQO_u), enquanto que a enzimática foi 174% DQO_f e 874% DQO_u, e utilizando resina foi 63% DQO_f e 134% DQO_u. O aumento da fração solúvel recalcitrante foi registrado para todos, a espécie química orgânica apresentou superioridade no aumento da fração metabolizada nos testes biológicos. No entanto, o aumento da concentração de proteínas na fração solúvel proporcionou uma eficiência de 3991%, 75% e 236%, para a solubilização alcalina, enzimática e catiônica, respectivamente. No que concerne a carboidratos, a eficiência foi de 1716%, 90% e 283%, respectivamente para alcalino, enzimático e catiônico. Apesar de notável superioridade alcalina, a enzimática registrou menor fração recalcitrante remanescente, porém necessitou de ser combinado com outro tratamento para melhorar sua eficiência. A utilização da resina foi discreta, muito embora o aumento de sua concentração possibilita superioridade, porém seu elevado custo inviabiliza essa tecnologia.

Palavras-chave: solubilização de lodo ativado; hidrólise química; pré-tratamento alcalino; solubilização enzimática; resina de troca catiônica; Dowex.

ABSTRACT

Chemical solubilization is a non-physical sludge treatment technology which combines several techniques that have in common the addition of an organic or inorganic species able to degrade the microbial aggregates, structured and protected by extracellular polymeric substances (EPS), through depolymerization. This action directly implies the polymeric structure disruption causing cell lysis. It reduces the inner floc mass and increases the fraction of microbial products solubilized. In this research three different strategies of chemical solubilization were investigated: 1) acid and alkaline, using NaOH and HCl the pH was adjusted to 2, 10, 11 and 12 units, and neutralized after the solubilization process; 2) enzymatic with hydrolytic enzymes such as protease and lipase; and 3) solubilization by Dowex® Marathon™ C cation exchange resin in sodium form (Na⁺), a technique aimed at de-structuring the polymeric substances by changing their electrical charges, it disturbs the attractiveness and repulsion of the flocs constituents. For the three strategies were investigated its effects on the sludge, influence of chemical species concentrations, pH, activity limitation, reaction time and total solids (TS) concentration. Each technique has very particular factors, such as increase in salinity, its purely biological properties, flocculation by protonation and/or deprotonation. Thus, the depolymerization process was confirmed using physico-chemical parameters such as dissolved organic carbon, COD, phosphorus, NTK, TS, proteins and carbohydrates. The microbial products release in the soluble fraction was also confirmed by biological tests with a significant increase of metabolized fraction. Among these parameters, the COD tests associated with respirometry, as well as the analyzes of proteins and carbohydrates, are the ones that best make possible a comparison between the methods. However, it is important to notice that the investigation of TS concentrations (5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹, 15 mg.L⁻¹, 20 mg.L⁻¹, 25 mg.L⁻¹ e 30 mg.L⁻¹), relative to the chemical species dosages, enabled an unpublished conclusion, remotely discussed among the articles in the area, however it is important that the treatment plants are aware that they can increase the concentrations of solids while maintaining the same chemical dosages. The alkaline solubilization efficiency was 456% for filtered COD (DQOf) and 858% for COD used (DQOu), while the enzymatic was 174% DQOf and 874% DQOu, and using resin was 63% DQOf and 134% DQOu. The increase in the recalcitrant soluble fraction was registered for all, the organic chemical species presented superiority in the increase of the fraction metabolized in the biological tests. However, the increase in protein concentration in the soluble fraction gave an efficiency of 3991%, 75% and 236%, for alkaline, enzymatic and cationic solubilization, respectively. Regarding carbohydrates, the efficiency was 1716%, 90% and 283%, respectively for alkaline, enzymatic and cationic. Despite the remarkable alkaline superiority, the enzyme registered a smaller remaining recalcitrant fraction, but it needed to be combined with another treatment to improve its efficiency. The use of the resin was discrete, although the increase of its concentration allows superiority, but its high cost makes this technology unfeasible.

Key-words: sludge pre-treatment; activated sludge solubilization; chemical solubilization; chemical hydrolysis, pH variation, enzymatic solubilization, cationic resin.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO III – Solubilização ácida e alcalina de lodo ativado

Figura 3.1. Respirograma de um dos testes biológicos realizado nesse trabalho, as amostras foram o lodo bruto e o pós-tratado.....	94
Figura 3.2. Influência do pH no comportamento da concentração de carbono orgânico dissolvido em função do tempo.....	98
Figura 3.3. Concentração de sólidos dissolvidos antes e depois da adição de álcali e seu comportamento em função do tempo.....	99
Figura 3.4. Concentração de proteínas e carboidratos antes e após a adição de álcalis e seu comportamento em função do tempo.....	100
Figura 3.5. Concentração total de fósforo e linha de tendência de NTK, antes e depois da adição de álcali e seu comportamento ao longo do tempo.....	101
Figura 3.6. Em dois tempos de reação a influência da concentração de sólidos é apresentada para a) COD; b) NTK, c) fósforo total (P); d) sólidos dissolvidos e suas frações volátil e fixa.....	103
Figura 3.7. A influência da concentração de sólidos em dois tempos de reação diferentes para a) carboidratos; e b) proteína.....	105
Figura 3.8. Curva de produção de biogás em função do tempo (dias), para lodo bruto e tratado.....	106

CAPÍTULO IV – Solubilização enzimática de lodo ativado

Figura 4.1. Respirograma de um dos testes biológicos realizado nesse trabalho.....	123
Figura 4.2. Perfil de 12 horas de sólidos e fração para a adição de protease (a) e para adição de lipase (b).....	125
Figura 4.3. Concentrações das frações de sólidos conforme condição de tratamento.....	127
Figura 4.4. Concentrações de a) proteínas e b) carboidratos.....	129
Figura 4.5. Concentrações de fósforo conforme condição de tratamento.....	131
Figura 4.6. Concentrações de fósforo na fração solúvel conforme condições de tratamento.....	132
Figura 4.7. DQO filtrada (DQO_f) e matéria orgânica metabolizada representada pela DQO utilizada (DQO_u) obtido através do teste respirométrico.....	133
Figura 4.8. Curva de produção de biogás em função do tempo (dias)	135
Figura 4.9. Concentrações das frações de sólidos solubilizados pelo processo enzimático para condição controle e aquecido à 95 °C.....	137
Figura 4.10. Efeito da solubilização enzimática expressa em mg de enzima por mg de SSV.....	138

CAPÍTULO V – Solubilização de lodo aeróbio utilizando resina catiônica DOWEX

Figura 5.1. Perfis das concentrações de proteínas (a) e carboidratos (b) em função do tempo de contato.....	153
Figura 5.2. Variação do pH em função do tempo conforme cada concentração de resina dosada.....	154
Figura 5.3. Variação da condutividade em função do tempo conforme cada concentração de resina dosada.....	155
Figura 5.4. Concentrações de DQO e sólidos dissolvidos antes e depois da solubilização.....	157

CAPÍTULO VI – Considerações finais e conclusões

Figura 6.1. Eficiência do aumento da DQO filtrada e utilizada para as três técnicas investigadas.....	164
Figura 6.2. Eficiência de liberação de proteínas e carboidratos no meio solúvel.....	165

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III – Solubilização ácida e alcalina de lodo ativado

Tabela 3.1. Dosagens de NaOH e HCl necessárias para o processo de solubilização ácida e alcalina.....	91
Tabela 3.2. Variação dos sólidos totais e sua respectiva dosagem de NaOH e HCl.....	92
Tabela 3.3. A caracterização antes e após o pré-tratamento alcalino e ácido.....	96
Tabela 3.4. Matéria orgânica metabolizada do lodo bruto e pré-tratado durante o teste respirométrico...	105

CAPÍTULO IV – Solubilização enzimática de lodo ativado

Tabela 4.1. Exposição das 24 condições trabalhadas.....	121
Tabela 4.2. Resultados correspondentes às amostras sem ação da temperatura.....	126
Tabela 4.3. Eficiências da redução na concentração de SSV por condições investigadas.....	128
Tabela 4.4. Resultados correspondentes às amostras com processo gelo/degelo (-30 °C).....	145
Tabela 4.5. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 50°C.....	145
Tabela 4.6. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 65°C.....	146
Tabela 4.7. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 80°C.....	146
Tabela 4.8. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 95°C.....	146

CAPÍTULO V – Solubilização de lodo aeróbio utilizando resina catiônica DOWEX

Tabela 5.1. Concentrações na fração solúvel e suas respectivas eficiências de liberação.....	156
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
ANA	Agencia Nacional de Águas
APHA	American Public Health Association
B	Boro
Ca	Cálcio
CAGEPA	Companhia de Água e Esgotos da Paraíba
CaOH ₂	Hidróxido de Cálcio
CH ₂ O	Metanal
CH ₄	Metano
Cl	Cloro
Co	Cobalto
CO ₂	Dióxido de Carbono
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Cu	Cobre
DA	Digestão Anaeróbia
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
EXTRABES	Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários
Fe	Ferro
H ⁺	Íon Hidrogênio
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
H ₃ PO ₄	Ácido Fosfórico
HCl	Ácido Clorídrico
HNO ₂	Ácido Nitroso

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
KOH	Hidróxido de Potássio
LA	Lodo Ativado
Mg	Magnésio
MgOH ₂	Hidróxido de Magnésio
Mn	Manganês
Mo	Molibdênio
Na ⁺	Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NBR	Norma Brasileira
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
NPOC	Carbono orgânico não purgável
OD	Oxigênio Dissolvido
P-PO ₄ ⁻³	Fosfato solúvel
PB	Paraíba
pH	Potencial Hidrogeniônico
PBM	Potencial de biometanização
PMS	Produtos Microbianos Solúvel
POA	Processos oxidativos avançados
S	Enxofre
SABESP	Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
Si	Silício
SDF	Sólidos Dissolvidos Fixos
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
SDV	Sólidos Dissolvidos Voláteis
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
STF	Sólidos Totais Fixos
STV	Sólidos Totais Voláteis
SPE	Substâncias Poliméricas Extracelulares

TCO	Taxa de Consumo de Oxigênio
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TPAD	Thermal Phased Anaerobic Digestion
TRC	Tempo de Retenção Celular
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
Zn	Zinco

Sumário

CAPÍTULO I – Introdução e estrutura da Tese	18
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Proposta	21
1.2. Limitação	21
1.3. Hipótese	22
1.4. Objetivo	24
1.5. Estrutura da Tese	25
2. REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO II – Revisão de literatura	31
1. INTRODUÇÃO	32
1.1. Composição do lodo ativado	35
1.2. Pré-Tratamentos do lodo	40
1.3. Digestão Anaeróbia	62
2. CONCLUSÃO	65
3. REFERÊNCIAS	66
CAPÍTULO III – Solubilização ácida e alcalina de lodo aeróbio	87
1. INTRODUÇÃO	88
2. MATERIAL E MÉTODOS	89
2.1. Lodo	89
2.2. Parâmetros Analíticos	89
2.3. Procedimentos operacionais	89
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	96
Etapa I - Efeitos do pré-tratamento químico (ácido e alcalino) na solubilização do lodo ...	96
Etapa II - Influência das diferentes concentrações de álcali e seu respectivo tempo de reação	98

Etapa III - Influência da concentração de sólidos totais na solubilização química do lodo....	103
Etapa IV – Aumento da biodegradabilidade.....	106
4. CONCLUSÕES	109
5. REFERÊNCIAS.....	110
CAPÍTULO IV – Solubilização enzimática de lodo aeróbio	118
1. INTRODUÇÃO	119
2. MATERIAL E MÉTODOS	120
2.1. Lodo e enzimas	120
2.2. Procedimento experimental	121
2.3. Parâmetros analíticos.....	122
2.4. Teste do aumento de biodegradabilidade	123
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	127
3.1. Solubilização enzimática e sua limitação	127
3.2. Aumento da biodegradabilidade.....	134
3.3. Concentração dos ST (relação enzima substrato).....	138
4. CONCLUSÕES	141
5. REFERÊNCIAS.....	142
APÊNDICE DO CAPÍTULO IV	147
CAPÍTULO V – Solubilização de lodo aeróbio utilizando resina catiônica DOWEX	149
1. INTRODUÇÃO	150
2. MATERIAL E MÉTODOS	151
2.1. Lodo e resina.....	151
2.2. Procedimento experimental	151
2.3. Parâmetros analíticos.....	152
2.4. Teste respirométrico, do aumento de biodegradabilidade	153

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	155
Etapa I – Definição da proporção resina/sólidos, e seu respectivo tempo de contato ..	155
Etapa II – Efeitos da solubilização.....	159
4. CONCLUSÕES	162
5. REFERÊNCIAS.....	163
CAPÍTULO VI – Considerações finais e conclusões.....	165
1. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	166
2. CONCLUSÕES	168
3. RECOMENDAÇÕES	169

CAPÍTULO I

Introdução e estrutura da Tese

1. INTRODUÇÃO

O processo de tratamento por lodo ativado foi desenvolvido há pouco mais de um século e tem como princípio de funcionamento o cultivo de biomassa suspensa ativa em tanque de aeração, que promove a floculação para posterior sedimentação. Uma complexa bioquímica compõe seu processo, no qual reações simultâneas, químicas e biológicas, ocorrem na transformação, conversão e transmissão de matéria e energia. De fato, nos sistemas aeróbios a degradação biológica do material carbonáceo oxidado e convertido em CO₂ representa cerca de 40 a 50%. Assim, aproximadamente 50 a 60% do carbono orgânico é incorporado à biomassa microbiana, que se constitui no lodo excedente do sistema. Logo, a degradação biológica aeróbia pode ser considerada uma transferência de massa da matéria orgânica da fase líquida para a sólida.

Uma tecnologia de tratamento de esgotos difundida mundialmente, o processo de lodo ativado é amplamente aplicado entre países desenvolvidos, é reportada por vários autores como a tecnologia que mais trata águas residuárias no mundo (DU et al., 2018). Nos países em desenvolvimento latino-americanos, Noyola et al. (2012), constataram que apesar do processo de lodo ativado ser a segunda tecnologia mais aplicada, é responsável pela maior fração em vazão tratada acumulada (m³/s), 58% do total da América Latina.

As estações de tratamento de esgotos (ETEs) devem ser encaradas como indústrias que tratam sua matéria prima, esgoto bruto, para obter água tratada. Dentre essas indústrias, as que operam aerobiamente produzem uma maior quantidade de lodo excedente como um agravante do processo, um resíduo indesejado que é natural ao sistema de tratamento. Além disso, o lodo excedente do decantador secundário, que não retorna ao tanque de aeração, é somado ao lodo primário, gerando o resíduo das indústrias de tratamento de esgoto por processo aeróbio de lodo ativado.

O lodo de excesso é um material rico em matéria orgânica e nutrientes de difícil degradação que deve ser adequadamente tratado e destinado (ANDREOLI et al., 2007). A elevada produção de lodo é atualmente uma séria desvantagem do processo de lodo ativado. Apesar do lodo gerado representar menos de 2% do volume de esgoto tratado, essa pequena fração de resíduo é de difícil degradabilidade (METCALF & EDDY, 2004), e seu manuseio e descarte correspondem por até 50% dos custos totais de operação das ETEs (NEYENS et al.,

2004; JORDÃO; PESSÔA, 2011), embora haja quem afirme valores superiores a 50% (APPELS et al., 2008). A gestão do excesso de lodo ativado tem sido um dos problemas mais difíceis e dispendiosos no campo sanitário (METCALF & EDDY, 2004). Bougrier et al., (2008) afirmam que o lodo representa hoje o principal resíduo sólido das estações de tratamento biológico de efluentes e enfatizam que sua produção tem aumentado enquanto que as vias de eliminação estão mais reduzidas.

É necessário constar que as perspectivas futuras indicam crescimento no volume de esgoto a ser tratado, conseqüentemente maior volume do lodo será produzido pelas estações de tratamento (ANDREOLI et al., 2007). Por outro lado, diante das exigências regulamentadoras cada vez mais rígidas, entende-se que é inevitável o aumento da cobertura de esgotamento sanitário e do número de estações de tratamento devido ao natural crescimento populacional que reflete no aumento da geração de lodo. A nível de Brasil, essa preocupação é bem atual, além do crescimento populacional nacional apresentado pelo IBGE, há uma expectativa de universalização do saneamento que é embasado na expansão das redes coletoras com o intuito de atender toda a população, coletando e tratando todo e qualquer esgoto sanitário gerado, registrado pelo Atlas Esgotos, fornecido pela Agência Nacional de Águas (ANA, 2017). O mesmo reporta que atualmente o Brasil trata apenas 43,45% dos esgotos gerados pela população urbana, e somente 61,65% do total gerado chegam a ser coletados. Na região nordeste, essa realidade se agrava, pois somente 32,25% recebem algum tipo de tratamento e apenas 43,36% do total chega a ser coletado.

Logo, é iminente a necessidade de desenvolver e otimizar tanto os processos de tratamento do lodo de excesso, quanto adequar a destinação final do lodo residual atendendo a legislação vigente (CONAMA n° 430/357, 2011/2005). Investimentos em tecnologias e pesquisas na redução do volume gerado e no tratamento do lodo estão em expansão, nacionalmente e mundialmente. Alternativas de manejo, agregação de valor comercial ao resíduo, reaproveitamento de subprodutos, utilização como material de cobertura de aterros, dentre outros, tem direcionado inúmeras pesquisas (CAMPO et al., 2018; SUN et al., 2018; WEI et al., 2018; ZAHEDI et al., 2018) e, no Brasil, apesar de menor incidência de publicações, não tem sido diferente (SABESP, 2014; ROSA et al., 2015).

1.1. Proposta

Embora o excesso de lodo ativado seja um resíduo oneroso para as estações de tratamento, ele é rico em subprodutos, composto predominantemente por material biodegradável, a exemplo das proteínas e substâncias húmicas com biomassa bacteriana, carboidratos e DNA (METCALF & EDDY, 2004; GONZALEZ et al., 2018). Tais compostos biodegradáveis são fonte de subprodutos renováveis. Portanto, a recuperação desses subprodutos é uma interessante alternativa econômica e sustentável que viabiliza a agregação de valor econômico aos resíduos. Por sua vez, o valor agregado por meio da recuperação dos subprodutos permite considerar o lodo de excesso como uma fonte de recursos renováveis, a exemplo da bioenergia, fonte externa de carbono, nutrientes e água. O material carbonáceo pode ser destinado à remoção biológica de fósforo, ao processo de desnitrificação e à digestão anaeróbia com sua respectiva produção de metano, visto como fonte renovável de bioenergia, enquanto que os nutrientes, a exemplo da estruvita que pode ser precipitada, são subprodutos que podem ser reaproveitados na agricultura como fertilizantes, e na fertirrigação, se associados à recuperação de água. Por fim, a água recuperada tem possibilidade de reutilização urbana, além das aplicações agrícolas.

1.2. Limitação

No entanto, a recuperação dos subprodutos já citados é limitada devido esses compostos estarem combinados em uma estrutura organizada de agregados microbianos, que no caso do lodo se encontram na forma de flocos biológicos. Os agregados microbianos com alto teor de material polimérico e consequente densidade elevada dificultam o aproveitamento dos recursos renováveis desejados. Esses agregados microbianos são mantidos estruturados por substâncias poliméricas extracelulares (SPE), o que tornam as comunidades microbianas fortes e a sua biodegradabilidade diminui (STUCKEY; MCCARTY, 1984). As SPE é um importante constituinte da matriz do floco de lodo, atuando como material de ligação para manter a estabilidade mecânica dos agregados microbianos, contribuindo para a formação e resistência dos flocos, bem como representando a maior fração orgânica do lodo ativado (SPONZA, 2003; WILÉN et al., 2003; SHENG et al., 2006; WANG et al., 2014). De fato, as SPE são uma estrutura complexa que protegem os microrganismos agregados no floco de lodo contra lise e desidratação celular, dificultando a biodegradação (ELEFSINIOTIS et al.,

1994; FERRER et al., 2006; SHENG et al., 2010; TIAN et al., 2014) e, portanto, sua desintegração prévia é necessária para tornar solúveis seus subprodutos.

Essa predominância da fração dos flocos que é de difícil biodegradabilidade finda caracterizando-os como majoritariamente recalcitrantes. Um material mais complexo ao processo biológico, que quando de possível biodegradação, demanda um maior tempo de detenção nos reatores impossibilitando o tratamento e a recuperação dos subprodutos. Devido a complexidade do lodo determinar a eficácia do processo biológico, essa fração classificada como de difícil biodegradabilidade limita a aplicabilidade do processo biológico como tratamento (RUFFINO et al., 2016), então, tecnologias de tratamento mais complexas são necessárias.

1.3. Hipótese

A solubilização do lodo é uma alternativa de pré-tratamento que tem como ação intrínseca o aumento da taxa de solubilização, o que tende a aumentar a fração solúvel. O pré-tratamento tem como objetivo romper a estrutura do floco do lodo e promover a lise das células microbianas e seus exopolímeros (CARRÈRE et al., 2010) por solubilização forçada. Esse aumento da biodisponibilidade advinda da solubilização do lodo é indicado como sendo o resultado da desintegração flocular, em que a elevação na taxa de solubilização é proporcionada pelo rompimento do material polimérico e das paredes celulares e as membranas (KIM et al., 2003). Assim, é fácil compreender que a fração de difícil biodegradabilidade, quando previamente tratada, alcança sua máxima solubilização aumentando a fração solúvel do lodo, permitindo que haja maior biodisponibilidade de nutrientes e material carbonáceo, recursos almejados para qualquer possível processo biológico subsequente.

Sabendo disso, a engenharia sanitária tem desenvolvido diferentes estratégias para melhorar a redução de lodo e sua biodisponibilidade como fonte renovável de subprodutos. Entre essas estratégias operacionais de solubilização do lodo, é possível encontrar muitos artigos com diferentes tecnologias de pré-tratamento, tais como físico, químico, térmico, biológico ou suas combinações, sempre com o objetivo de melhorar a solubilidade dos biosólidos do lodo (MASON et al., 1986; KOPP et al., 1997; NEYENS; BAEYENS, 2003a; NEYENS; BAEYENS, 2003b; SCHIEDER et al., 2000; TIEHM et al., 2001; BARJENBRUCH; KOPFLOW, 2003; KIM et al., 2003; VALO et al., 2004; BOUGRIER et

al., 2006; LIANG et al., 2006; RATSAK; VERKUIJLEN, 2006; CHEN et al., 2007; APPELS et al., 2008; FENG et al., 2009; XU et al., 2010; JAZIRI et al., 2012; LIU et al., 2012; TIAN et al., 2014; ABELLEIRA-PEREIRA et al., 2015; MASPOLIM et al., 2015; PILLI et al., 2015; RUFFINO et al., 2015; SUN et al., 2015; ODNELL et al., 2016; DE VALK et al., 2016; ZHOU et al., 2017; CAMPO et al., 2018; SUN et al., 2018; WEI et al., 2018).

A liberação de matéria orgânica intraflocular significa a diminuição da elevada massa molecular, levando a uma biodisponibilidade devido ao deslocamento de proteínas extracelulares, polissacarídeos e enzimas das camadas internas dos flocos de lodo para as camadas externas (CHU et al., 2002; YU et al., 2008; VAXELAIRE et al., 2008; ERDEN et al., 2010) causando lise celular. Portanto, a solubilização prévia é projetada para aumentar a fração de lodo facilmente biodegradável e reduzir a de difícil biodegradabilidade. Assim, transformando matéria orgânica particulada em matéria orgânica solúvel, o que torna facilmente assimilável pela biomassa durante subsequente tratamento biológico. Por exemplo, esses compostos internos liberados podem ser potencialmente usados na digestão anaeróbia, levando a um aumento na produção de metano (ELLIOT et al., 2007; ZAHEDI et al., 2016). Por sinal, a digestão anaeróbia é cada vez mais aplicada para o tratamento do lodo, pois além da potencial geração de energia renovável intrínseca ao processo, a anaerobiose realiza a estabilização do lodo, bem como uma considerável redução de seu volume (PARK et al., 2012).

Logo, o presente trabalho levanta a hipótese de liberação do material intraflocular na fração solúvel através de tecnologias químicas de solubilização, o que visa reduzir a predominante fração de difícil biodegradabilidade do lodo residual. Hipótese I – SOLUBILIZAÇÃO ÁCIDA E ALCALINA DE LODO ATIVADO: foi proposto o tratamento por condições extremas de pH (alcalina e ácida) objetivando o aumento da fração solúvel; Hipótese II – SOLUBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA DE LODO ATIVADO: foi proposto a utilização de enzimas hidrolíticas, protease e lipase, para solubilização do lodo no intuito de aumentar a fração solúvel biodisponível; Hipótese III – SOLUBILIZAÇÃO QUÍMICA UTILIZANDO DOWEX: foi proposto utilizar uma resina de troca catiônica que desestrutura o floco enfraquecendo as ligações catiônicas, o que fragiliza os agregados microbianos aumentando a biodisponibilidade do meio.

1.4. Objetivo

Solubilizar a predominante fração de difícil biodegradabilidade do lodo aeróbio por meio de tecnologia química. Assim, transformando matéria orgânica particulada em matéria orgânica solúvel, o que torna facilmente assimilável pela biomassa durante subsequente tratamento biológico.

1.4.1. Objetivos Específicos

- Investigar o efeito do pré-tratamento químico por variação do pH na solubilização do lodo;
- Avaliar a influência da concentração da espécie química e seu respectivo pH alcançado, bem como o ganho relativo ao tempo de reação e a concentração dos sólidos no lodo;
- Investigar o efeito do pré-tratamento enzimático na solubilização do lodo;
- Verificar a necessidade de um catalisador da reação enzimática para o desenvolvimento do pré-tratamento;
- Conhecer a capacidade da resina *DOWEX* como agente solubilizante, bem como seu ganho real no processo de tratamento de lodo aeróbio;
- Analisar, comparativamente, o aumento da biodisponibilidade após as solubilizações químicas;
- Avaliar o real aumento da solubilização em processos biológicos subsequentes, aeróbio e anaeróbio.

1.5. Estrutura da Tese

Para melhor entendimento do trabalho a tese foi dividida em capítulos, a seguir são apresentados os 6 capítulos individualmente. Para cada hipótese proposta foi planejado um artigo, assim, os capítulos respectivos a cada hipótese são estruturados como um artigo, capítulo 3, 4 e 5.

- Capítulo 1, **Introdução**: Esse capítulo se refere à ideia central da tese, apresenta sua relevância, hipóteses propostas e objetivos vislumbrados.
- Capítulo 2, **Revisão de Literatura**: Nesse capítulo é apresentado uma síntese do arcabouço científico estudado acompanhando a literatura internacional atualizada e proporcionando a propositura científica do trabalho.
- Capítulo 3, **Pré-tratamento químico, tendo NaOH e HCl como solubilizantes**: Este capítulo é referente ao primeiro artigo gerado no trabalho de tese, investigando a primeira hipótese proposta para o pré-tratamento químico do lodo. Discute sobre a solubilização química por variação do pH do lodo. É um dos poucos trabalhos que investigou a concentração dos sólidos totais do lodo em relação à dosagem química do alcali e do ácido. Utiliza a respirometria e o teste de BMP na investigação e quantificação do ganho no processo de solubilização.
- Capítulo 4, **Pré-tratamento enzimático**: Este capítulo corresponde ao segundo artigo, que foi desenvolvido mantendo a solubilização química como ideia. O processo enzimático utiliza enzimas hidrolíticas para solubilização do lodo. A limitação da ação enzimática é um dos principais pontos averiguados nesse capítulo, e utilizou o teste respirométrico na avaliação da biodegradabilidade e da degradação flocular.
- Capítulo 5, **Pré-tratamento por troca catiônica utilizando a resina Dowex**: Este corresponde ao terceiro e último artigo, foi desenvolvido utilizando as propriedades químicas do próprio floco como ferramenta de solubilização estimulada por um agente químico de troca catiônica.
- Capítulo 6, **Considerações finais**: É uma síntese das conclusões dos trabalhos apresentada em uma breve discussão.

2. REFERÊNCIAS

- ABELLEIRA-PEREIRA, J.M.; PÉREZ-ELVIRA, S.I.; SÁNCHEZ-ONETO, J.; DE LA CRUZ, R.; PORTELA, J.R.; NEBOT, E. Enhancement of methane production in mesophilic anaerobic digestion of secondary sewage sludge by advanced thermal hydrolysis pretreatment. **Water Research**. v. 71, p. 330-340, 2015.
- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Sludge treatment and disposal**. 1. ed. Londres: IWA Publishing, v. 6, p. 244, 2007.
- APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGRÈVE, J.; DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Prog. Energy Combust. Sci.** v. 34, p. 755–781, 2008.
- BARJENBRUCH, M.; KOPFLOW, O. Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge. **Advances in Environmental Research**. v. 7, p. 715-720, 2003.
- BOUGRIER, C.; ALBASI, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. **Chem. Eng. Process. Process Intensif.** v. 45, p. 711–718, 2006.
- BOUGRIER, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chem. Eng. J.** 139, p. 236–244, 2008.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas** / Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, Brasília, Atlas de saneamento, p. 92, 2017.
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº. 357**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, DF, 2005.
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº. 430**, de 13 e maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Brasília, DF, 2011.
- CAMPO, G.; CERUTTI, A.; ZANETTI, M.; SCIBILIA, G.; LORENZI, E.; RUFFINO, B. Enhancement of waste activated sludge (WAS) anaerobic digestion by means of pre- and intermediate treatments. Technical and economic analysis at a full-scale WWTP. **Journal of Environmental Management**. v. 216, p. 372-382, 2018.
- CARRÈRE, H.; DUMAS, C.; BATTIMELLI, A.; BATSTONE, D. J.; DELGENÈS, J. P.; STEYER, J. P.; FERRER, I. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. **J Hazard Mater**. v. 183, p. 1–15, 2010.

CHEN, Y.; JIANG, S.; YUAN, H.; ZHOU, Q.; GU, G. Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs. **Water Res.** v. 41, p. 683–9, 2007.

CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V.; YOU, C. S.; Tay, J. H. ‘Weak’ ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids. **Water Res.** v. 36, p. 2681–2688, 2002.

DE VALK, S.; KHADEM, A. F.; FOREMAN, C. M.; VAN LIER J. B.; DE KREUK, M. K. Physical and biochemical changes in sludge upon *Tubifex tubifex* predation. **Environmental Technology.** v. 8, n. 12, p. 1524-1538, 2016.

DU, X.; WANG, J.; JEGATHEESAN, V.; SHI, G. Parameter estimation of activated sludge process based on an improved cuckoo search algorithm. **Bioresour Technol.** v. 249, p. 447-456, 2018.

ELEFSINIOTIS, P.; OLDHAM, W.K. Substrate degradation patterns in acid phase anaerobic digestion of municipal primary sludge. **Environmental Technology.** v.15, p. 741–751, 1994.

ELLIOTT, A.; MAHNOOD, T. Pretreatment technologies for advancing anaerobic digestion of pulp and paper biotreatment residues. **Water Research.** v. 41, p. 4273-4286, 2007.

ERDEN, G.; DEMIR, O.; FILIBELI, A. Disintegration of biological sludge: Effect of ozone oxidation and ultrasonic treatment on aerobic digestibility, **Bioresour Technol.** v. 101, p. 8093–8098, 2010.

FENG, L.; WANG, H.; CHEN, Y.; WANG, Q. Effect of solids retention time and temperature on waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under alkaline conditions in continuous-flow reactors. **Bioresour Technol.** v. 100, p. 44-49, 2009.

FERRER, I.; CLIMENT, M.; BAEZA, M. M.; ARTOLA, A.; VAZQUEZ, F.; FONT, X. Effect of sludge pre-treatment on thermophilic anaerobic digestion. In: Proceedings of the IWA Specialized Conference on Sustainable Sludge Management: State-of-the-art. Moscow: Challenges and Perspectives, 2006, p. 29-31.

GONZALEZ, A.; HENDRIKS, A. T. W. M.; VAN LIER, J. B.; DE KREUK, M. Pre-treatments to enhance the biodegradability of waste activated sludge: elucidating the rate limiting step. **Biotechnology Advances.** v. 36, p. 1434-1469, 2018.

JAZIRI, K., CASELLAS, M., DAGOT, C. Comparing the effects of three pre-treatment disintegration techniques on aerobic sludge digestion: biodegradability enhancement and microbial community monitoring by PCR-DGGE. **Environ. Technol.** v. 33, p. 1435–44, 2012.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos.** In: ABES, 6ª ed. p. 1050, Rio de Janeiro – RJ, 2011.

- KIM, J.; PARK, C.; KIM, T.; LEE, M.; KIM, S.; LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **J. Biosci. Bioeng.** v. 95, p. 271–275, 2003.
- KOPP, J.; MULLER, J.; DICHTL, N.; SCHWEDES, J. Anaerobic digestion and dewatering characteristics of mechanically disintegrated excess sludge. **Water Science Technology**, v. 36, p.129–136, 1997.
- LIANG, P.; HUANG, X.; QIAN, Y. Excess sludge reduction in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*. **Biochem. Eng. J.**, v. 28, p. 117–122, 2006.
- LIU, W. Z.; HUANG, S.; ZHOU, A. J.; ZHOU, G. Y.; REN, N. Q.; WANG, A. J.; ZHUANG, G. Q. Hydrogen generation in microbial electrolysis cell feeding with fermentation liquid of waste activated sludge. **Int. J. Hydrogen Energy**. v. 37, n. 18, p. 13859–13864, 2012.
- MASON, C.; HAMER, G.; BRYERS, J. The death and lysis of microorganisms in environmental processes, **FEMS Microbiol. Lett.** v. 39, p. 373–401, 1986.
- MASPOLIM, Y.; ZHOU, Y.; GUO, C.; XIAO, K.; NG, W. J. Comparison of single-stage and two-phase anaerobic sludge digestion systems – Performance and microbial community dynamics. **Chemosphere**. v. 140, p. 54–62, 2015.
- NEYENS, E., BAEYENS, J. A review of classic Fenton’s peroxidation as an advanced oxidation technique. **J. Hazard. Mater.** v. 98, p. 33–50, 2003a.
- NEYENS, E., BAEYENS, J., DEWIL, R., DE HEYDER, B. Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. **J. Hazard. Mater.** v. 106, p. 83–92, 2004.
- NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of thermal sludge pre-treatment processes to improve dewaterability, **J. Hazard. Mater.** v. 98, n. 1–3, p. 51–67, 2003b.
- NOYOLA, A.; PADILLA-RIVERA, A.; MORGAN-SAGASTUME, J.M.; GÜERECAL.P.; HERNÁNDEZ-PADILLA F. (2012) Typology of municipal wastewater treatment technologies in Latin America. **Clean Soil Air Water**. v.40, n. 9, p. 926–932, 2012.
- ODNELL, A.; RECKTENWALD, M. STENSÉN, K.; JONSSON, B. H.; KARLSSON, M. Activity, life time and effect of hydrolytic enzymes for enhanced biogas production from sludge anaerobic digestion. **Water Research**, v. 103. p. 462-471, 2016.
- PARK, N. D.; HELLE, S. S.; THRING, R. W. Combined alkaline and ultrasound pre-treatment of thickened pulp mill waste activated sludge for improved anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**. v. 46, p. 750–756, 2012.
- PILLI, S.; YAN, S.; TYAGI, R. D. et al. Thermal pretreatment of sewage sludge to enhance anaerobic digestion: a review. **Crit Rev Environ Sci Technol**. v. 45, p. 669–702., 2015.

- RATSAK, C. H.; VERKUIJLEN, J. Sludge reduction by predatory activity of aquatic oligochaetes in wastewater treatment plants: science or fiction? A review. **Hydrobiologia**. v. 564, p. 197–211, 2006.
- ROSA, A. P.; CHERNICHARO, C. A. L.; DE MELO, G. C. B. Contribuição para o aproveitamento energético do lodo de ETEs em processos térmicos. **Revista DAE**. v. 63, p. 55-62, 2015.
- RUFFINO, B.; CAMPO, G.; CERUTTI, A.; ZANETTI, M.; LORENZI, E.; SCIBILIA, G.; GENON, G. Preliminary technical and economic analysis of alkali and low temperature thermo-alkali pretreatments for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Waste Biomass Valorization** v. 7, p. 667–675, 2016.
- RUFFINO, B.; CAMPO, G.; GENON, G.; LORENZI, E.; NOVARINO, D.; SCIBILIA, G.; ZANETTI, M. Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge in a wastewater treatment plant by means of mechanical and thermal pre-treatments: Performance, energy and economical assessment. *Bioresour. Technol.* v. 175, p. 298–308, 2015.
- SABESP, Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. **Relatório de Sustentabilidade**. São Paulo, p. 92, 2014.
- SCHIEDER, D., SCHNEIDER, R., BISCHOF, F., Thermal hydrolysis (TDH) as a pretreatment method for the digestion of organic waste, **Water Science and Technology**, v. 41 (3), p. 181-187, 2000.
- SHENG, G. P.; YU, H. Q. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using 3-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. **Water Res.** v. 40, p.1233–1239, 2006.
- SHENG, G. P.; YU, H.Q.; LI, X. Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: **A review. Biotechnology Advances**. n. 28, p. 882-894, 2010.
- SPONZA, D. T. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions, **Enzyme Microbial Technology**. v. 32 p. 375–385, 2003.
- STUCKEY, D. C.; MCCARTY, P. L. The effect of thermal pretreatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. **Water Res.** v. 18, p. 1343–1353, 1984.
- SUN, F.; XIAO, K.; ZHU, W.; WITHANAGE, N.; ZHOU, Y. Enhanced sludge solubilization and dewaterability by synergistic effects of nitrite and freezing. **Water Research**. v. 130, p. 208-214, 2018.
- TCHOBANOGLOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D. METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: treatment and reuse**. 4 ed. New York, McGraw-Hill International edition, 2004.

TIAN, X.; WANG, C.; TRZCINSKI, A. P.; LIN, L.; NG, W. J. Insights on the solubilization products after combined alkaline and ultrasonic pre-treatment of sewage sludge. **Journal of Environmental Sciences**. v. 29, p. 97-105, 2014.

TIEHM, A.; NICKEL, K.; ZELHORN, M.; NEIS, U. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. **Water Res.** v. 35, p. 2003–2009, 2001.

VALO, A.; CARRÈRE, H.; DELGENÈS, J. P. Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** v. 79, p. 1197–1203, 2004.

VAXELAIRE, S.; GONZE, E.; MERLIN, G.; GONTHIER, Y. Reduction by sonication of excess sludge production in a conventional activated sludge system: Continuous flow and lab-scale reactor. **Environ. Technol.** v. 29, p. 1307- 1320, 2008.

WANG, Q.; JIANG, G.; YE, L.; YUAN, Z. Enhancing methane production from waste activated sludge using combined free nitrous acid and heat pre-treatment. **Water Res.** v. 63, p. 71–80, 2014.

WEI, W.; WANG, Q.; ZHANG, L.; LALOO, A.; DUAN, H.; BATSTONE, D. J.; YUAN, Z. Free nitrous acid pre-treatment of waste activated sludge enhances volatile solids destruction and improves sludge dewaterability in continuous anaerobic digestion. **Water Research**. v. 130, p. 13-19, 2018.

WILÉN, B. M.; JIN, B.; LANT, P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. **Water Res.** 37, 2127–2139, 2003.

YU, G. H.; HE, P. J.; SHAO, L. M.; ZHU, Y. S. Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasonic pre-treatment. **Water Res.** v. 42, p. 1925–1934, 2008.

ZAHEDI, S., ICARAN, P., YUAN, Z., PIJUAN, M. Assessment of free nitrous acid pre-treatment on a mixture of primary sludge and waste activated sludge: Effect of exposure time and concentration. **Bioresource Technology**. v. 216, p. 870–875, 2016.

ZAHEDI, S.; ROMERO-GÜIZA, M.; ICARAN, P.; YUAN, Z.; PIJUAN, M. Optimization of free nitrous acid pre-treatment on waste activated sludge. **Bioresource Technology**. v. 252, p. 216-220, 2018.

ZHOU, A; ZHANG, J; VARRONE, C; WEN, K; WANG, G; LIU, W; WANG, A; YUE, X. Process assessment associated to microbial community response provides insight on possible mechanism of waste activated sludge digestion under typical chemical pretreatments. **Energy**. p. 1-11, 2017.

CAPÍTULO II

Revisão de literatura

1. INTRODUÇÃO

As estações de tratamento de esgoto (ETEs) são projetadas para reduzir a carga poluidora dos efluentes, sejam eles domésticos ou industrial. O processo de tratamento pode ser físico, químico, biológico ou combinado. Em geral, o processo tem como base a separação da massa líquida da sólida. A fase líquida, após tratamento adequado, deve retornar com boa qualidade aos corpos hídricos receptores sem maiores onerações às ETEs. No entanto, o fator complicante são os sólidos resultantes do processo de tratamento que demandam elevado investimento de recursos. As ETEs devem atender às diretrizes regulamentadoras de sua região que preconizam os parâmetros a serem utilizados e as metas a serem atingidas. No Brasil, o tratamento e disposição final, tanto na fase líquida quanto da sólida, devem estar em acordo com a legislação vigente – *Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), Ministério do Meio Ambiente, que altera parcialmente e complementa a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.*

Em nível mundial, a principal tecnologia de tratamento adotada nas ETEs é o sistema biológico, no qual, a matéria orgânica do esgoto tratado biologicamente possui uma qualidade dinâmica, devido aos compostos orgânicos susceptíveis à atividade microbiana serem quantitativamente ilimitados. E é por esta atividade que o tratamento consiste na transformação da matéria orgânica complexa em produtos finais mineralizados, a exemplo do metano e dióxido de carbono (METCALF & EDDY, 2004), energia e lodo. O lodo é uma mistura complexa heterogênea composta por excesso de umidade, matéria orgânica não digerida, material inorgânico e microrganismos (KUGLARZ et al., 2013). As características quali-quantitativas do lodo são dependentes de sua origem e do processo de tratamento que foi adotado, podendo ter uma variação substancial em sua composição (BETTIOL et al. 1989; METCALF & EDDY, 2004; GONZALEZ et al., 2018).

Dentre as possíveis configurações para o processo de tratamento biológico, o processo de lodo ativado convencional é atualmente o mais aplicado (NOYOLA et al., 2012, CHERNICHARO et al., 2015). Nos sistemas aeróbios ocorre cerca de 40 a 50% de degradação biológica dos afluentes, com a consequente conversão em CO₂. A outra fração do carbono orgânico resulta na incorporação de matéria orgânica na biomassa microbiana (cerca de 50 a 60%), que no lodo ativado convencional vem a se constituir no lodo de excesso do sistema, e sua elevada produção é uma séria desvantagem do processo. Esse lodo é biomassa

microbiana, também denominado de biossólidos, um resíduo indesejado do processo de tratamento por lodo ativado que é rico em matéria orgânica e nutrientes, capaz de desencadear um alto custo de tratamento e disposição final (ANDREOLI et al., 2007). Apesar do lodo gerado representar menos de 2% do volume de esgoto tratado, seu tratamento e descarte corresponde por até 50% dos custos totais de operação das estações (KROISS, 2004; NEYENS et al., 2004; JORDÃO; PESSÔA, 2011; PILLI et al., 2011), e há estudos considerando valores superiores a 50% (APPELS et al., 2008). Bougrier et al., (2008) afirmam que o lodo representa hoje o principal resíduo sólido das estações de tratamento biológica de efluentes e enfatizam que sua produção tem aumentado enquanto que as vias de eliminação estão mais reduzidas. As ETEs são indústrias que tratam sua matéria prima, esgotos, para obter água tratada. O lodo de excesso, que vem do decantador secundário, e o lodo primário são produtos secundários do processo de lodo ativado convencional. Logo, o lodo excedente que não retorna ao tanque de aeração é somado ao lodo primário produzindo o resíduo das indústrias de tratamento de esgoto por processo aeróbio de lodo ativado.

A preocupação com esse resíduo tende a aumentar, as perspectivas futuras indicam crescimento no volume de esgoto a ser tratado, conseqüentemente maior volume do lodo será produzido pelas estações de tratamento (ANDREOLI et al., 2007). Além do mais, diante das exigências regulamentadoras cada vez mais rígidas, entende-se que é inevitável o aumento da cobertura de esgotamento sanitário e do número de estações de tratamento devido ao natural crescimento populacional que reflete no aumento da geração de lodo. Especificamente no Brasil, um país em desenvolvimento, essa preocupação é bem atual, além do crescimento populacional nacional estimado em 223 milhões de brasileiros até 2030 (IBGE), há uma expectativa de universalização do saneamento que é embasado na expansão das redes coletoras com o intuito de atender toda a população, coletando e tratando todo e qualquer esgoto sanitário gerado, registrado pelo Atlas Esgotos, fornecido pela Agência Nacional de Águas (ANA, 2017). O mesmo reporta que atualmente o Brasil, apesar da zona urbana nacional produzir cerca de 9098 toneladas de $\text{DBO} \cdot \text{dia}^{-1}$, apenas 61,65% (5590 $\text{tDBO} \cdot \text{dia}^{-1}$) é coletado, e somente 70,39% (3935 $\text{tDBO} \cdot \text{dia}^{-1}$) do coletado recebe algum tipo de tratamento. No nordeste essa realidade é pior, pois somente 43,36% (956 $\text{tDBO} \cdot \text{dia}^{-1}$) chega a ser coletado, e apenas 74,37% (711 $\text{tDBO} \cdot \text{dia}^{-1}$) do coletado recebe algum tipo de tratamento.

O potencial energético armazenado no lodo é uma fonte renovável de bioenergia acumulada que bioquimicamente pode ser liberada na forma de metano (SONESSON et al., 2000; NIELSEN et al., 2009; CARRÈRE et al., 2010; BAEK et al., 2014; ZHOU et al., 2015). A digestão anaeróbia é uma tecnologia cada vez mais aplicada para o tratamento desse lodo residual indesejado. Além de ser capaz de reduzir consideravelmente o montante residual remanescente, em torno de 30-40% dos componentes orgânicos da biomassa (SONESSON et al., 2000; EDELMANN et al., 2005; CARRÈRE et al., 2010; ESPOSITO et al., 2012). Essa metodologia de tratamento é conhecida por converter maior parte do material orgânico biodegradável em combustível fóssil (cerca de 70 a 95%, conforme tratamento adotado) (CHERNICHARO et al., 2001). A aplicação dessa tecnologia visa reduzir os custos com sua eliminação e, além das vantagens de redução do volume de lodo e o biogás produzido ter considerável fração de metano a digestão anaeróbia requer uma baixa demanda de energia, estabilização, desinfecção (PARK et al., 2012), além de ser uma combinação da anaerobiose ao processo de tratamento aeróbio.

O potencial energético do biogás foi bem apresentado por Tezel et al. (2011), que estimou, à temperatura e pressão padrão, a produção de metano a partir do lodo de esgoto em $0,5 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$ de sólidos voláteis, ou $0,35 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$ de demanda química de oxigênio (DQO). E complementou que o biogás, que tem 55-70% de metano e 30-45% de dióxido de carbono, tem um potencial energético armazenado de $6,0\text{-}6,5 \text{ kWh} \cdot \text{m}^{-3}$, o que equivale a $0,60\text{-}0,65 \text{ L}$ de óleo por m^{-3} . No entanto, a eficiência da digestão biológica pode ser inibida por efeitos tóxicos aos microrganismos ou limitada por compostos orgânicos de cadeias de maior complexidade que são de difícil biodegradabilidade, um processo mais lento que requer tempo de retenção superior ao tempo de um reator anaeróbio projetado para produção de biogás. A complexidade do lodo residual limita a eficácia do processo biológico, e dependendo da fração dos compostos orgânicos de maior complexidade, o processo terá maior ou menor eficiência de tratamento (RUFFINO et al., 2016), produzindo um volume de biogás, elementar para a produção de bioenergia, que será inversamente proporcional ao volume de material recalcitrante. Por exemplo, há trabalhos que tratando o lodo secundário provenientes de ETEs que tratam esgoto doméstico, apresentaram cerca de 30-35% dos sólidos orgânicos como biodegradável anaerobiamente por reator mesófilo com elevado tempo de retenção de sólidos (TRS), 20-25 dias (HIRAOKA et al., 1985; RUFFINO et al., 2015; VALO et al., 2004).

1.1. Composição do lodo ativado

O lodo de excesso é um subproduto de lodo ativado convencional, que como dito antes, seu tratamento e disposição final é de elevada significância econômica para as ETEs. Para se tratar esse lodo excedente eficientemente é importante conhecer sua composição, que pode variar conforme fatores intervenientes, a exemplo da densidade populacional, perfil de saúde da comunidade, tipo de urbanização, hábitos sanitários, condições ambientais, estação do ano e tipo de tratamento aplicado (PROSAB, 1999). Canales et al. (1994) foram mais específicos, discutiram os distintos mecanismos de interação intervenientes a produção de lodo: biodegradabilidade da matéria orgânica afluenta, a carga orgânica e dos nutrientes, a degradação das células microbianas por metabolismo endógeno ou lise celular, e Liang et al. (2006) acrescentaram a ingestão de bactérias por predadores naturais ao meio.

A presença de produtos finais mineralizados, bem como matéria orgânica rica em proteína, carboidratos, nitrogênio, cálcio, dentre outros; é de comum conhecimento. Mas é interessante notar que a metodologia adotada para determinação dos componentes pode influenciar os resultados (WILÉN et al., 2003; COMTE et al., 2006; BOURVEN et al., 2012). O trabalho de revisão de Gonzalez et al. (2018) apresenta um interessante acervo de estudos que se concentraram na composição do lodo residual em termos de DQO, proteínas, carboidratos, ácidos húmicos e DNA, bem como a concentração de células, biomassa ativa e substâncias húmicas. Ainda no mesmo trabalho foi identificado, entre os artigos estudados, uma variação na composição do lodo residual em termos de % de sólidos voláteis (SV) e determinou faixas possíveis: 10-24% de biomassa bacteriana; 7-19% de carboidratos; 25-62% de proteínas; 7-29% de substâncias húmicas; e <3,5% de DNA. Esse trabalho possibilita concluir que existe uma predominância de proteínas e substâncias húmicas com biomassa bacteriana e carboidratos.

Feng et al. (2009), utilizaram o resíduo concentrado de tanque de sedimentação secundária de uma estação de tratamento por lodo ativado municipal em Xangai, China, a 4 °C durante 24 h e as suas principais características foram as seguintes: pH 6,5, sólidos suspensos totais (SST) 12121 mg.L⁻¹, sólidos voláteis (SV) 8289 mg.L⁻¹, a demanda química de oxigênio solúvel (DQOs) 135 mg.L⁻¹, a demanda total de oxigênio químico (DQO) 12035 mg.L⁻¹, 7% de carboidratos, 40 % de proteína, 0,4% de lipídios e óleo, carboidratos solúveis 23 mgDQO.L⁻¹.

Já Sampaio (2013), apresentando um estudo realizado com nove estações de tratamento de esgotos no Brasil, reportou que nos biossólidos produzidos nas estações, a matéria orgânica representa entre 41-71 % em base seca, enquanto que nitrogênio, fósforo e potássio variaram entre 2,25-5,53 %, 0,6-3,7 % e 0,01-0,39, respectivamente. Um lodo de esgoto típico apresenta em torno de 40% de matéria orgânica, 4% de nitrogênio, 2% de fósforo e os demais macro (Mg, S e Ca) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Zn, Mo, Cl, Co, Si, Mn e Na) (METCALF & EDDY, 2004).

O lodo aeróbio é biomassa viva, composta principalmente por bactérias geradas durante a remoção biológica da matéria orgânica do esgoto. A presença de compostos como proteínas, DNA e carboidratos enfatiza que esse é um resíduo potencialmente biodegradável aerobiamente ou anaerobiamente, o que permite considerar a escolha da digestão anaeróbia uma solução extremamente viável. No entanto, a combinação desses constituintes em uma estrutura organizada, como são os agregados microbianos, dificulta sua biodegradabilidade (STUCKEY; MCCARTY, 1984). E de fato, em sistemas biológicos de tratamento de água residual, a maioria dos microrganismos estão presentes na forma de agregados microbianos, a exemplo dos flocos de lodo, biofilmes e grânulos. E assim as células se tornam de difícil degradação para a biodigestão anaeróbia por apresentar uma natureza recalcitrante (FOLADORI et al., 2015; WETT et al., 2010).

No caso do lodo ativado, esses agregados microbianos se desenvolvem na forma de flocos, com crescimento de bactérias produtoras de exopolímeros, sendo o gênero zoogléa abundante, dentre outros organismos como protozoários, que sedimentam no meio devido a sua densidade. O lodo ativo no tanque de aeração é mantido em concentração suficiente pela recirculação de flocos previamente formados. O floco é um aglomerado de bactérias, substâncias húmicas, nutrientes, proteínas, carboidratos, dentre outros constituintes em menor concentração, estruturados pelo material polimérico produzido pelas próprias bactérias.

O lodo resultante do tratamento biológico das águas residuárias é formado por duas estruturas dinâmicas que se separam em: produtos microbianos solúveis (PMS) e substâncias poliméricas extracelulares (SPE). O PMS é a fração dissolvida, solúvel, que são os produtos microbianos liberados em grandes quantidades no meio líquido (WANG et al., 2014). O PMS compreende um conjunto de compostos orgânicos que estão fracamente ligados as células ou dissolvidos em solução e podem incluir ácidos húmicos, polissacarídeos,

proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, ácidos orgânicos, enzimas extracelulares, componentes estruturais de células e produtos do metabolismo microbiano. Já o SPE é a formação de uma vasta estrutura de macromoléculas orgânicas abundante em água, essas substâncias desempenham papéis importantes na agregação celular, adsorção de nutrientes, formação de biofilmes ligação com metais (SHENG et al., 2010). Uma vez que a matriz do SPE for fortemente ligada, sua interrupção requer a aplicação de recursos para sua solubilização.

Outro fator que é importante mencionar é a presença de substâncias húmicas, além de que as próprias substâncias húmicas já são difíceis ou impossíveis de degradar anaerobiamente (NIELSEN et al., 1997; PINNEKAMP, 1989; TIAN et al., 2015a; ZAHMATKESH et al., 2016), essas substâncias afetam a atividade enzimática imobilizando enzimas, o que diminui a eficiência da biodegradabilidade, da digestão anaeróbia (AZMAN et al., 2015a, 2015b; FERNANDES et al., 2015; FRØLUND et al., 1995; WETZEL, 1991). Por exemplo, componentes como as proteínas podem ser aprisionados por pelas substâncias húmicas, formando conjuntos moleculares e tornando as proteínas menos suscetíveis à degradação microbiana (AZMAN et al., 2015b; TAN et al., 2008; WANG et al., 2015).

1.1.1. *Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE)*

Sempre presentes em agregados microbianos, as substâncias poliméricas extracelulares, são uma mistura complexa de polímeros, geralmente contendo compostos de elevada massa molecular, e de grupos funcionais eletricamente carregados que possuem propriedades de adsorção e de ligação (WANG et al., 2015). Essas substâncias poliméricas extracelulares tem uma predominante representatividade dentre os componentes dos flocos de lodos ativados, biofilmes ou grânulos microbianos, sua concentração é diretamente proporcional a concentração dos sólidos (GOODWIN; FORSTER, 1985; LIU; FANG, 2003) intervindo no processo de floculação (SOBECK; HIGGINS, 2002), decantação e desidratação de lodo ativado (JORAND et al., 1998; NEYENS et al., 2004).

O SPE e as células microbianas dentro dos flocos de estrutura reticular formam uma rede polimérica, com poros e canais, e são capazes de adsorverem os nutrientes, os minerais e metais pesados (BROWN; LESTER, 1982; GULNAZ et al., 2005) sendo possível considera-los meios ricos em nutrientes. Além de que sua natural propriedade de ligação, consequência da presença de compostos eletricamente carregados, o SPE proporciona novas

ligações para outras partículas ou moléculas atraídas eletricamente, incluindo metais (DECHO, 1990). Além disso, as SPE se ligam às células através de interações complexas formando uma vasta estrutura de ligação abundante em água que protege as células de desidratação (WINGENDER et al., 1999), e contra substâncias tóxicas (SUTHERLAND, 2001). E, em caso de falta de nutrientes o SPE pode fornecer carbono, nutrientes e servir como fonte de energia (SUTHERLAND, 2001, ZHANG; BISHOP, 2003).

O rompimento, lise, celular pode ser induzido por métodos químicos, físicos, mecânicos ou biológicos (LIU; TAY, 2001; AYOL et al. 2008), são muitos os métodos propostos para a extração de SPE (LIU; FANG 2003). É possível extrair até mesmo por centrifugação, mas no intuito de aumentar a quantidade de SPE por floco, além de otimizar, a maioria dos pesquisadores tratam o lodo por vários meios físicos e/ou químicos. As extrações físicas típicas são por ultrassons, ultracentrifugação e aquecimento, enquanto que extrações químicas típicas incluem o uso de reagentes alcalinos, EDTA e soluções aldeídicas. Dentre estes possíveis métodos, Odegaard (2004) considera que o tratamento térmico permite uma significativa redução do lodo de excesso produzido.

As condições do ambiente são determinantes para a seleção dos microrganismos, fatores como o pH e a temperatura tem uma importante influência no desenvolvimento e sobrevivência. No geral, o ótimo crescimento de um específico microrganismo ocorre dentro de um intervalo relativamente estreito de temperatura e pH, classificando-os entre psicrófilos (0-20 °C), mesófilos (10-50 °C), termófilos (35-75 °C) e os hipertermófilos ($\geq 70-110$ °C), apesar desses organismos serem capazes de sobreviverem a condições bem extremas fora dessas faixas, os mesmos tem sua faixa ótima de desenvolvimento (12-18 °C, 25-40 °C e 55-65 °C, respectivamente). Goodwin e Forster (1985) avaliaram o efeito da variação da temperatura na extração de SPE, a proteína foi o principal componente apesar de sua concentração ser bastante variável, concluiu-se que a escolha de uma temperatura à qual o SPE é extraído determina o equilíbrio dos polímeros resultantes, os dois componentes que parecem ser mais afetados são as frações lipídicas e proteicas.

1.1.2. Composição das SPE

As SPE já foram observadas e confirmadas em agregados microbianos como lodo ativado, culturas puras, lodo granulado e biofilmes. É interessante notar que as SPE têm uma significativa influência nas propriedades físico-químicas, inclusive estruturais, na carga

superficial, floculação, em suas propriedades de sedimentação, propriedades de desidratação e capacidade de adsorção (SHENG et al., 2010). Porém, as SPE no processo de anaerobiose dificultam a quebra celular, lise bacteriana e ruptura dos flocos, por apresentarem estrutura recalcitrante (FOLADORI et al., 2015; WETT et al., 2010).

As frações que compõem as SPE são variáveis, atribuída a distintos fatores intervenientes, como meio de cultura, fase de crescimento, parâmetro de processo, tipo de biorreator adotado, método de extração aplicada e ferramenta analítica utilizada (NIELSEN; JAHN, 1999). Sponza (2003) confirma que a composição das SPE depende do tipo de esgoto tratado e das condições de operação da estação de tratamento. Wingender et al., (1999), extraíndo as SPE de diferentes agregados microbianos, as descreve como resultado da secreção bacteriana ativa, lise celular, paredes e membranas celulares, e moléculas vindas nos efluentes, uma composição heterogênea.

O SPE consiste essencialmente de uma variedade de substâncias orgânicas: hidratos de carbono e proteínas como principais constituintes e substâncias húmicas, ácidos urónico e nucleicos em menor quantidades (FRØLUND et al., 1995; FRØLUND et al., 1996; NIELSEN et al., 1996; DIGNAC et al., 1998; CESCUTTI et al., 1999; COMTE et al., 2007). Geralmente os carboidratos e as proteínas são seus principais constituintes, no entanto, no lodo de excesso há, de certeza, presença de substâncias húmicas no SPE, representando cerca de 20% do total (FRØLUND et al., 1995, 1996). Lipídios, ácidos e alguns componentes inorgânicos também são comumente encontrados (FRØLUND et al., 1996; DIGNAC et al., 1998; D'ABZAC et al., 2010a, b). A adsorção de metais pesados pelo SPE em lodo ativado também foi documentada em estudos anteriores (LI et al., 2011; SHENG et al., 2013). Os níveis e composição dos nutrientes no meio têm um efeito significativo sobre a produção e composição do SPE (SHENG et al. 2010).

As SPE se distinguem entre duas possíveis classificações, como fracamente ligados aos flocos (chamado de "solúveis") ou fortemente ligados aos flocos (chamado de "ligado") (HIGGINS; NOVAK, 1997). Goodwin e Forster (1985) dizem que em resumo, a natureza das superfícies desses flocos de lodo (SPE), tem como principais componentes de polímero as proteínas, carboidratos e lipídios: que o polissacarídeo composto de açúcares neutros e ácidos; e que a natureza química da superfície influencia a carga global de superfície e, por sua vez, o comportamento de assentamento do lodo. O tipo de substrato que alimenta o

sistema tem um efeito substancial sobre as comunidades microbianas nos lodos e, o metabolismo microbiano, influenciando a produção de SPE (SHENG et al. 2010). Li e Yang (2007) demonstram usando glicose e acetato, que o lodo alimentado com glicose resulta em uma produção de SPE maior do que o alimentado com acetato, o que é claramente explicável devido a glicose ser mais energético e rapidamente assimilado e metabolizado. Liu et al. (2015) confirmam a presença de hidratos de carbono, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios nas SPE, além de demonstrar que suas concentrações podem alterar conforme a carga orgânica aplicada.

1.2. Pré-Tratamentos do lodo

Para as reações metabólicas das bactérias heterotróficas é necessário a transferência de massa da matéria orgânica poluente. No entanto, através das membranas celulares os processos de transporte ativos específicos ocorrem, apenas os substratos monoméricos e poucos oligoméricos são capazes de serem transportados através da membrana bacteriana (CADORET et al., 2002). Estes compostos de baixa massa molecular são, por sua vez, metabolizados pelas células e utilizados como fonte de energia e carbono.

A exemplo da digestão anaeróbia como tratamento de lodo, os materiais complexos devem ser solubilizados e convertidos em substâncias simples, para que nas fases subsequentes (acidogênese, acetogênese e metanogênese) sejam transformados pela microbiota em material carbonáceo na forma mais oxidada (CO_2) e na forma mais reduzida (CH_4). O processo de despolimerização (quebra polimérica) de substratos com alto teor de material polimérico (realidade dos agregados microbianos) é o primeiro passo para a mineralização de matéria orgânica do lodo ativado, além de ser o limitante da anaerobiose (FRØLUND et al., 1995; GESSESSE et al., 2003; HIGUCHI et al., 2005; WHITELEY et al., 2002). Ciente dessa natureza recalcitrante dos agregados microbianos que dificultam o tratamento via digestão anaeróbia (FOLADORI et al., 2015; WETT et al., 2010), surge a necessidade de superar este fator limitante. No intuito de diminuir a fração recalcitrante, aumentando a fração solúvel do lodo residual, o pré-tratamento assume um papel de pré-requisito necessário que melhorará o desempenho da digestão anaeróbia (ZHOU et al., 2017), ou outro qualquer processo biológico. O interesse em aumentar a eficiência do processo de anaerobiose, tanto em sua redução volumétrica quanto na geração de bioenergia, tem liderado

altos investimentos científicos e incrementado o número e a variedade de artigos que trabalham com o pré-tratamento do lodo secundário.

O tratamento prévio objetiva a ruptura dos flocos e a lise das células microbianas (CARRÈRE et al., 2010) induzidas por solubilização forçada (LIU; TAY, 2001; AYOL, et al., 2008). Tais rupturas liberam compostos intracelulares na fase líquida tornando-se mais acessíveis durante as etapas seguintes da digestão anaeróbia (MATA-ALVAREZ et al., 2000). O pré-tratamento pode além de diminuir o montante remanescente, incrementar a produção de biogás. Atualmente, a solubilização desse material tem sido alcançada por diferentes estratégias: métodos físicos, químicos, biológicos, térmicos ou suas combinações (MASON et al., 1986; TIEHM et al., 2001; BOUGRIER et al., 2006; LIANG et al., 2006; RATAK; VERKUIJLEN, 2006; FENG et al., 2009; JAZIRI et al., 2012; MASPOLIM et al., 2015; PILLI et al., 2015; RUFFINO et al., 2015; SUN et al., 2015; ODNELL et al., 2016; DE VALK et al., 2016; ZHOU et al., 2017). No entanto, o grau de solubilização do lodo depende mais do tipo de tratamento aplicado do que da energia demandada (SALSABIL et al., 2010), corroborado por Cella et al. (2015) que concluíram que as características intrínsecas aos métodos de pré-tratamento são provavelmente mais importantes do que o consumo de energia.

1.2.1. Pré-tratamento Térmico

É importante frisar que apesar da ação térmica ser um tratamento físico, a tecnologia de pré-tratamento térmico foi aprofundada adotando sua classificação independente. A aplicação de um efeito térmico como pré-tratamento do lodo é uma tecnologia de solubilização que consiste na perturbação do meio através da alteração da temperatura. A aplicação do efeito térmico pode ser por aquecimento ou congelamento, porém ambos consistem em propiciar um meio adverso capaz de quebrar e desagregar as comunidades microbianas, ou até mesmo as células. A condição adversa proporcionada pela variação térmica do lodo acelera a lise celular e a ruptura flocular, o que pode aumentar a biodisponibilidade dos substratos orgânicos para processos biológicos como a metanogênese, acelerando e facilitando a produção de metano (LI; NOIKE, 1992). Foladori et al. (2010) descrevem como natural ao pré-tratamento térmico de lodo efeitos como: degradação na estrutura do lodo, desagregação dos flocos biológicos, elevado nível de solubilização do lodo, lise de células bacterianas, liberação de constituintes intracelulares e água. Apesar dos autores

tratarem em seu texto apenas do aquecimento como tratamento térmico, esses efeitos também foram reportados pelo tratamento por resfriamento, processo gelo/degelo.

1.2.1.1. Pré-tratamento térmico (Aquecimento)

O pré-tratamento térmico via processo de aquecimento é de fato o mais aplicado e mais conhecida metodologia de solubilização térmica. Metodologia de pré-tratamento caracterizada por elevar a concentração de compostos orgânicos dissolvidos, e reduzir consideravelmente a viscosidade do lodo (FOLADORI et al., 2010). Essas características são decorrentes da capacidade intrínseca ao aquecimento de desidratar o lodo. Por sua vez, essa metodologia tem duas possíveis variantes que é o tempo de exposição térmica e a temperatura trabalhada, apesar que em elevadas temperaturas o tempo exerce pouca influência (NEYENS; BAEYENS, 2003b). A respeito da temperatura de trabalho para solubilização, é possível classificar duas principais faixas de temperatura (FOLADORI et al., 2010; AUDREY et al., 2011; GONZALEZ et al., 2018): os processos que ocorrem abaixo de 100 °C e sob pressão normal, classificados como tratamento térmico à temperatura moderada ou à baixa temperatura; e os processos que ocorrem acima de 100 °C, em que um reator de pressão se faz necessário, esses são classificados como alta temperatura.

O pré-tratamento térmico à baixa temperatura se limita a uma temperatura aplicada, entre 55 e 100 °C, durante um tempo determinado que pode variar de minutos a horas (GONZALEZ et al., 2018). Sua principal ação é a desintegração das membranas celulares e uma solubilização limitada dos compostos orgânicos (NAZARI et al., 2016). Essa técnica é diferente da digestão anaeróbica de fases térmicas (thermal phased anaerobic digestion – TPAD) em que tempos mais curtos, na faixa de horas, são aplicadas.

Já o pré-tratamento térmico através da aplicação de altas temperaturas desintegra as células do lodo (é opcional a associação com alta pressão), Appels et al., (2010) afirmam que a maioria dos trabalhos na área são desenvolvidos com altas temperaturas (>100 °C). Na literatura, várias temperaturas, variando entre 60 e 270 °C têm sido estudadas, assim como distintos tempos de detenção são associados (GOODWIN; FORSTER, 1985; KIM et al., 2003; VALO et al., 2004; FERRER et al., 2006; CLIMENT et al., 2007; BOUGRIER et al., 2007; JEONG et al., 2007; PHOTHILANGKA et al., 2008; NGES; LIU 2009; AUDREY et al., 2011).

1.2.1.1.1. Pré-tratamento térmico à baixa temperatura (<100 °C)

A aplicação de um pré-tratamento térmico à baixa temperatura (<100 °C) é um método que comparado a outros é potencialmente econômico, capaz de incrementar a taxa de biodegradabilidade do lodo e com isso aumenta-se a produção de biogás, tanto para lodo primário quanto para o secundário (CLIMENT et al., 2007; AUDREY et al., 2011). Autores avaliaram a redução do lodo por tratamento térmico focando principalmente as condições de operação e os parâmetros físico-químicos do processo obtendo bons resultados (CARRÈRE et al., 2008; BOUGRIER et al., 2008; FENG et al., 2009; AUDREY et al., 2011). Sua aplicação ao lodo, em trabalhos desenvolvidos na faixa de 50-95 °C, obtiveram desfloculação indicada pela redução no tamanho das partículas (LAURENT et al., 2009a; PROROT et al., 2011), bem como um aumento da desidratação (NEYENS; BAEYENS, 2003b), e as taxas de solubilização aumentaram em temperaturas que variam de 60 a 70 °C (LIAO et al.; 2016; PROROT et al., 2011). O que corrobora com Vavilin et al. (2008) que afirmaram para material orgânico particulado, como o lodo ativado, a diminuição do tamanho das partículas resulta em maiores taxas de hidrólise na DA. No entanto, Prorot et al. (2011), operando em 95 °C durante 20 minutos classificam não significativo o impacto na produção de metano, mesmo ocorrendo solubilização da matéria orgânica e lise celular.

Audrey et al., (2011) discutem que o tratamento térmico, na amplitude de temperatura de 50-95 °C, apenas desestrutura parcialmente os flocos do lodo, liberando componentes orgânicos, inclusive materiais intracelulares. Referente às análises da estrutura flocular, os resultados do mesmo estudo, demonstraram que temperatura inferior a 100 °C apenas induziu uma desfloculação da macro-estrutura dos flocos, mas não quebrou o suficiente para produzir uma ruptura total de flocos, não sendo suficiente para aumentar a biodegradabilidade intrínseca do lodo ativado. Com tudo, no que concerne a lise celular, mais de 95% da biomassa bacteriana em lodo ativado consiste de bactérias Gram-negativas (FORSTER et al., 2002), que são mais sensíveis ao calor do que as Gram-positivas (SALTON; HORNE, 1951). Por sua vez, já foi observado que a partir de 20 minutos de tratamento em 50 °C, uma fração das células sofre lise celular e esta aumenta proporcionalmente com a temperatura, testado até 95 °C (PROROT et al., 2011). Já Salton e Horne (1951) indicam que entre 70 e 100 °C, a partir de 5 minutos ocorre visualmente a ruptura celular, e que diferentes gêneros bacterianos são rompidos em diferentes temperaturas.

Isso indica que é de se esperar o aumento da solubilização consequente ao pré-tratamento térmico (APPELS et al., 2010; DONG et al., 2015).

Uma explicação para os diferentes resultados dentre distintos artigos pode ser a relação entre o tempo de tratamento e a temperatura aplicada (HIRAOKA et al., 1985; APPELS et al., 2010; J. KIM et al., 2013), que exercem influência direta. Appels et al. (2010) mostram produção semelhante de metano a 80 °C aplicado durante 60 minutos, quando comparado com um tratamento a 90 °C durante 15 minutos. O que deixa claro que a seleção adequada de ambos os parâmetros é fundamental para análise da biodegradabilidade, metanização ou aplicação real. Mas, para o tratamento por baixas temperaturas, mesmo concordando que ambos os parâmetros são de importante influência, o tempo de tratamento é indicado como dominante (APPELS et al., 2010).

A proteção das proteínas contra a desnaturação e degradação é identificada pelo agrupamento do ácido húmico com a proteína, esse conjunto limita a biodegradação do lodo, e esclarece por que as proteínas não são degradadas completamente no pré-tratamento, mesmo com temperaturas adotadas em torno de 90 °C (APPELS et al., 2010). E, interessante, a fração de substâncias húmicas solúveis permaneceu constante no lodo tratado entre 25 a 120 °C (LAURENT et al., 2009b; ZHEN et al., 2012), o que indica que os ácidos húmicos não são afetados a baixa temperatura. Logo, a concentração de ácidos graxos voláteis (AGVs) é um risco capaz de afetar a DA.

E tratando a baixas temperaturas, a reação amino-carbonila (reação de Maillard/escurecimento) é outro potencial fator adverso que surge durante o pré-tratamento térmico do lodo. Os produtos resultantes da reação de Maillard são refratários, de difícil degradação, diminuem a digestibilidade e inibem a atividade das enzimas proteolíticas e glicolíticas (SMITH; FRIEDMAN, 1984; FRIEDMAN, 1996), que geralmente são nocivos para células (SZWERGOLD, 2013).

1.2.1.1.2. Pré-tratamento térmico >100 °C

O pré-tratamento térmico realizado a elevada temperatura (>100 °C) foi originalmente desenvolvido para esterilizar o lodo. Normalmente, nessa metodologia a temperatura elevada está associada a uma brusca queda de pressão, o que melhora tanto a solubilização (DONOSO-BRAVO et al., 2011) quanto a produção de metano (SAPKAITE et

al., 2017). É um processo já aplicado em escala real, descrito em detalhes por Pilli et al. (2014). Seus principais fatores intervenientes são: temperatura e pressão, tempo de aplicação e a variação brusca da pressão. Em estudos tem sido demonstrado que a temperatura de tratamento é um fator com mais influência na solubilização do que a duração do tratamento, e quanto mais elevado for a temperatura, mais eficiente será o tratamento (LI; NOIKE, 1992; VALO et al., 2004; XIAO; LIU, 2006). No entanto, as temperaturas superiores a 180 °C conduzem à produção de compostos orgânicos solúveis recalcitrantes, reduzindo a biodegradabilidade (WILSON; NOVAK, 2009). Bougrier et al. (2008) observou 150 °C como um limitante divisor, abaixo da qual a temperatura piorou a desidratação, embora acima dela tenha melhorado.

Para discutir a hidrólise térmica (>100 °C) é interessante destacar que de 95 a 170 °C a produção de biogás para a fração solúvel foi maior do que para a fração particulada, no entanto o aumento na biodegradabilidade foi causado pela transferência de matéria orgânica da fração particulada para a solúvel, mas não ocorreu aumento na biodegradabilidade de cada fração (BOUGRIER et al., 2008). Já trabalhando com temperatura acima de 190 °C, a biodegradabilidade diminui, quando comparado com temperaturas mais baixas, e pode até ser menor que o próprio controle (MOTTET et al., 2009; STUCKEY; MCCARTY, 1984). E sobre os tamanhos de partículas, trabalhando entre 100 a 120 °C reduzem seu tamanho (GAO et al., 2013; LAURENT et al., 2009b), mas entre 170 e 190 °C o tamanho das partículas aumentaram, quando comparados com a amostra controle (não tratada), o que foi explicado por Bougrier et al. (2006) como um resultado da criação de ligações químicas.

A degradação dos açúcares começa acima de 170 °C, que é o ponto de fusão dos açúcares, nele ocorre sua caramelização, a formação de ácidos orgânicos, aldeídos e cetonas. Porém, esse processo não envolve as proteínas, não podendo ser confundido com a reação de Maillard (VACLAVIK; CHRISTIAN, 2008). No entanto, a solubilização dos carboidratos é um efeito consequente da solubilização térmica (WILSON; NOVAK, 2009). Em contraste com o pré-tratamento a baixa temperatura, a solubilização relativa de polissacarídeos (entre 130 e 220 °C) foi reportada como maior que a das proteínas (WILSON; NOVAK, 2009). Sobre às proteínas, uma vez que a concentração de amônia foi aumentada até nove vezes em relação ao controle, é de se esperar uma desnaturação protéica, e sua degradação foi relatada em torno de 190 – 220 °C, (WILSON; NOVAK, 2009).

De fato, tem sido difundido que a produção máxima de metano é encontrada em temperaturas entre 170-190 °C (BOUGRIER et al., 2008, 2007b; PINNEKAMP, 1989; STUCKEY; MCCARTY, 1984), apesar da solubilização da DQO continuar aumentando (MOTTET et al., 2009). Da mesma forma, Bougrier et al. (2007b) e Pinnekamp (1989) pré-trataram a 190 e 220°C, respectivamente, e a biodegradabilidade máxima foi encontrada abaixo dessas temperaturas, em contraste com a destruição de sólidos voláteis, que aumentou proporcionalmente à temperatura.

1.2.1.2. Pré-tratamento Térmico (Processo Gelo/Degelo)

Além da variação térmica direcionada ao aquecimento do lodo também há o pré-tratamento por resfriamento com temperatura negativa, via processo gelo/degelo. O processo de tratamento gelo/degelo consiste na lise celular através do congelamento do lodo por um período de horas, seguido do descongelamento. O efeito danoso do processo de congelamento, quando em 0 °C, tem início com a formação de cristais de gelo no meio extracelular que resulta em um deslocamento do material particulado aglomerando-o, o que ocasiona o aumento da concentração do soluto na fração extracelular causando pressão osmótica que leva à desidratação e encolhimento das células, e conforme o período de congelamento aumenta, ou a temperatura diminui (entre -2 e -10 °C), o conteúdo intracelular também congela e se expande devido à formação interna de gelo, que incide um dano físico às células provocando lise celular (THOMASHOW, 1998; WANG et al., 2001; VACLAVIK; CHRISTIAN, 2008).

A maioria dos artigos na área abordam a desidratação, e seus efeitos subsequentes, resultante do processo gelo/degelo. Artigos relatam uma redução do tamanho das partículas dos flocos de lodo e uma melhor sedimentabilidade, indicando compactação dos flocos de lodo devido ao processo de congelamento (HU et al., 2011). No entanto, outros estudos apontam um efeito de compressão do material particulado devido a formação do gelo, produzindo partículas maiores que tendem a manter-se após o descongelamento (GAO, 2011; WANG et al., 2001). Porém, o aumento da fração solúvel foi reportado como diretamente proporcional ao tempo de congelamento, o que sugere que para uma solubilização significativa há a necessidade de tempo de retenção mais longo (HU et al., 2011).

Os parâmetros operacionais como a temperatura, taxa de congelamento e o tempo de pré-tratamento são relevantes e afetam o processo de desidratação (HU et al., 2011;

VESILIND; MARTEL, 1990; WANG et al., 2001). A aplicação de baixas taxas de congelamento e baixas temperaturas foram reportadas como melhores na desidratação (HU et al., 2011; VESILIND; MARTEL, 1990). Bem como a repetição de vários ciclos do processo gelo/degelo também contribuem para desintegração (VACLAVIK; CHRISTIAN, 2008). Wang et al. (2001) observaram maior solubilização no caso de congelamento a -10 e -20 °C, quando comparados com o congelamento a -80 °C, que foi relacionado com uma maior ruptura celular pois sob congelamento de -80 °C, o processo de congelamento é tão rápido que algumas bactérias sobreviveram, a eluição de algumas proteínas e carboidratos foram evitada. A hipótese de Montusiewicz et al. (2010) sobre essa sobrevivência celular a -80 °C foi à presença dos componentes crioprotetores (ex.: proteínas e gorduras, glicerol) que os protegem dos efeitos de congelamento, o que corrobora com Wang et al. (2001). É interessante que mesmo com a ocorrência da desnaturação proteica resultante do congelamento a atividade enzimática não é interrompida completamente (VACLAVIK; CHRISTIAN, 2008).

O número de trabalhos encontrados que objetivaram com essa metodologia uma maior produção de biogás foram limitados, mas quando abordaram relataram um crescimento no volume produzido (JAN et al., 2008; MONTUSIEWICZ et al., 2010). O processo gelo/degelo oficialmente obtém uma redução significativa na fração de células sobreviventes (DIAK; ÖRMECI, 2016; WANG et al., 2001). Porém, apesar de correlacionar-se a uma melhor taxa de solubilização, fatores como a ruptura celular ou maior volume de biogás produzido, os autores não informam sobre o efeito desse processo na taxa de solubilização.

A aplicação real do processo gelo/degelo é um tanto inviável, tendo em vista que a projeção de reator para congelamento artificial demandaria não só alto consumo de energia mas também grande volume para armazenamento do lodo. No entanto esse tratamento já foi apresentado com sucesso em sistemas naturais que se aproveitaram do clima regional e das estações do ano (HELLSTRÖM, 1997; KINNUNEN et al., 2014; VESILIND; MARTEL, 1990), a não demanda de energia para congelamento em períodos de inverno, e descongelamento em períodos mais quentes, associado a um esperado aumento na produção de metano, apresentam um balanço energético bastante positivo. Porém, além dessa tecnologia se restringir a limitadas regiões de frio intenso durante específica estação do ano, ela depende de um fator adverso incontrolável que pode variar a cada ano.

1.2.2. Pré-tratamento Físico

O pré-tratamento físico tem como base a ação física para perturbar os agregados microbianos ao ponto de provocar sua ruptura. É uma metodologia com três possíveis vertentes, seja por ultrassom, micro-ondas ou mecânico, o objetivo sempre é romper o SPE, bem como a parede celular, solubilizando o lodo para a digestão anaeróbia. O ultrassom, através de ondas sonoras, tem sido relatado como eficiente na ruptura do floco, extraindo o SPE (YU et al., 2007). O que não se difere da aplicação de micro-ondas que são responsáveis pela excitação molecular expressa em emissão de calor, obtendo maior solubilização relativa de proteínas em comparação com carboidratos (ESKICIOGLU et al., 2007c; UMA RANI et al., 2013). No que concerne a ação mecânica, essa garante o rompimento dos flocos por colisão/trituração, o que tem sido reportado como eficiente na redução do tamanho de partícula (FANG et al., 2015).

1.2.2.1. Pré-tratamento ultrassom

A aplicação do pré-tratamento por ultrassom foi relatada por alguns autores (KHANAL et al., 2007; YU et al., 2008) como eficiente na melhora da digestibilidade aeróbia do lodo. Esse pré-tratamento ocasiona um processo de cavitação, uma perturbação no meio líquido que resulta na formação, crescimento e implosão de bolhas (CHATEL, 2016). É interessante frisarmos que essa metodologia depende das condições ambientais e dos parâmetros operacionais (DELMAS et al., 2014). De acordo com os parâmetros de operação selecionados, o colapso súbito das bolhas cria forças de cisalhamento e/ou formação de radicais hidroxila.

Para equacionar o desempenho do pré-tratamento por ultrassom é considerado parâmetros como a frequência, densidade ultra-sônica, temperatura e concentração dos sólidos voláteis. No entanto, tratando lodo, a energia específica aplicada, volume da amostra, tempo de aplicação e a concentração de sólidos são parâmetros essenciais a serem equacionados. Como uma técnica de dispersão de agregados (FOLADORI et al., 2007; JORAND et al., 1995), a exemplo do lodo, o rompimento ou dano da parede celular bacteriana é um efeito intrínseco a esse pré-tratamento (JORAND et al., 1995), o que permite se esperar a redução do tamanho de partícula. Logo, essa metodologia por ultrassom é eficiente na ruptura do floco, extraindo o SPE (YU et al., 2007) e tornando a matéria orgânica mais acessível para o ataque enzimático (JORAND et al., 1995; VAVILIN et al., 2008), o que aumenta a atividade

enzimática de distintas enzimas, além de liberar proteínas, carboidratos e enzimas da matriz extracelular do lodo para o meio solúvel, o que resulta em melhor biodegradabilidade do lodo (YU et al., 2008) e um consequente aumento na taxa de hidrólise (BRAGUGLIA et al., 2012; KIANMEHR et al., 2013; ZORBA; SANIN, 2013). É interessante observar que para ultrassom aplicado controlando a temperatura, o tamanho de partícula diminuiu à medida que a dosagem de energia específica aumenta (FENG et al., 2009), mas é importante frisar que é necessária uma análise para considerar o efeito da temperatura distinguindo os efeitos térmicos e ultra-sônicos na extensão da biodegradabilidade.

No que concerne a proteínas e carboidratos, ainda não é claro se o pré-tratamento ultra-sônico é capaz de quebrar essas moléculas, bem como seu efeito nas substâncias húmicas. Porém, uma breve revisão bibliográfica permite identificar que o pré-tratamento com ultrassom, para condições controladas e não controladas, obtém melhor solubilização de proteínas quando comparada aos carboidratos (JAZIRI et al., 2012; TIAN et al., 2015b; BRAGUGLIA et al., 2015), resultado que coincide com o pré-tratamento térmico (>100 °C). Enquanto que Cella et al. (2015), pré-tratando por ultrassom com temperatura controlada, observou um leve aumento na concentração de AGV.

1.2.2.2. Pré-tratamento por micro-ondas

O pré-tratamento físico através de micro-ondas baseia-se na perturbação do meio por ondas eletromagnéticas de alta frequência (cerca de 2,45 GHz) que alteram o campo eletromagnético, aumentando o nível de excitação das moléculas ao ponto e gerar calor. Essa metodologia de pré-tratamento por micro-ondas tem o aumento da temperatura como o parâmetro mais relevante ao tratamento (HOSSEINI KOUAIE; ESKICIOGLU, 2016; MEHDIZADEH et al., 2013), o que se assemelha ao pré-tratamento térmico convencional (transferência de calor por convecção). Outros fatores intervenientes, também importantes para esse modelo de tratamento, é a taxa de aquecimento, de aumento da temperatura (HOSSEINI KOUAIE; ESKICIOGLU, 2016) e a concentração de sólidos no lodo, pois afeta a absorção das micro-ondas (ESKICIOGLU et al., 2007b).

A aplicação de micro-ondas no tratamento de lodo foi reportada como eficiente na redução do tamanho das partículas (KENNEDY et al., 2007; YI et al., 2014), o que novamente se assemelha ao pré-tratamento térmico por baixas temperaturas. É interessante que a biodegradabilidade sofre aumento proporcional à temperatura, tanto no que concerne a

baixas temperaturas (65-85 °C) (KENNEDY et al., 2007), quanto a faixa de alta temperatura 110-175 °C (TORECI et al., 2011, 2010). Muitos estudos indicam o aumento na ruptura celular usando micro-ondas em comparação com o aquecimento convencional na mesma temperatura final, a diferença sendo potencialmente explicada pelo efeito atérmico (ESKICIOGLU et al., 2007c; HONG et al., 2006, 2004; KAKITA et al., 1995). Cella et al. (2015), tratando lodo municipal por micro-ondas, reporta que o maior nível de destruição microbiana ocorreu em 2,62 kJ.gST⁻¹ (com 9 minutos de aplicação e a uma temperatura de 80 °C) o que reduziu a relação microbiana vivos/mortos significativamente de 3 para 0,25, de amostra controle para pré-tratado.

Essa relação com o aquecimento consequente ao efeito físico das micro-ondas possibilita questionamentos de qual fator é predominante na hidrólise. Apesar de ter sido relatado uma melhor capacidade de desidratação em temperaturas abaixo de 96 °C (COELHO et al., 2011; ESKICIOGLU et al., 2007b; WANG; LI, 2016), quando comparado aos resultados de pré-tratamento térmico a baixa temperatura, a reação de Maillard foi a provável explicação de Eskicioglu et al. (2007a) pelo decréscimo dos açúcares redutores no sobrenadante após 96 °C, já que inicialmente obteve um aumento a 50 e 75 °C.

De fato, conclui-se que a aplicação dessa técnica de micro-ondas enfrenta fortes fatores limitantes, o ganho proporcionado pelo pré-tratamento de micro-ondas é alcançável com a hidrólise térmica a baixas temperaturas que demanda menor custo de operação para ser realizado. Além da inibição da DA após o pré-tratamento, que apesar de ser por um curto prazo ainda requer maiores investigações (ESKICIOGLU et al., 2007b; TORECI et al., 2011).

1.2.2.3. Pré-tratamento Mecânico

O pré-tratamento mecânico se baseia na intervenção por ação mecânica, é necessária uma ação externa para interferir fisicamente no floco de lodo. A aplicação dessa metodologia pode ser por moagem/trituração, homogeneização ou cavitação hidrodinâmica. Uma elevação da temperatura pode ser um efeito consequente ao pré-tratamento mecânico, no entanto, essa elevação térmica é inferior ao requerido para causar mudanças físico-químicas significativas nas características do lodo, conforme discutido na seção de pré-tratamento térmico a baixas temperaturas (<100 °C). O pré-tratamento mecânico é uma tecnologia com resultados efetivos na redução do tamanho de partícula, pois o mesmo rompe o floco fisicamente, o que deve aumentar na solubilização dos flocos.

A moagem/trituração do lodo é realizada por um mecanismo de ruptura floccular, provocada por trituradores que quebram o SPE fisicamente com os dentes da moenda/trituradores. Jung et al. (2001) observaram que a frequência de colisão/rotação entre os trituradores se correlaciona com a taxa de solubilização do lodo. Estudo posterior ratificou que esse modelo de pré-tratamento aumentou a solubilização da DQO proporcionalmente à entrada de energia (LAJAPATHI RAI et al., 2008), e relataram ainda que há redução do tamanho de partícula associado a ruptura celular.

Já a técnica de homogeneização, aplicada no pré-tratamento de lodo, tem o número de ciclos de homogeneização como um fator de menor relevância (ZHANG et al., 2012). A homogeneização é um método conhecido e desenvolvido no ramo alimentício que consiste na ruptura celular. Durante a homogeneização, o lodo é pressurizado até 30 MPa a 150 MPa por 3-30 minutos, após o qual a amostra é acelerada para aumentar o impacto de colisão. Os efeitos do gradiente de pressão, cavitação e cisalhamento estão presentes (ZHANG et al., 2012), dentre os quais a pressão é o fator mais significativo para o aumento da solubilização de DQO (LI et al., 2014; WAHIDUNNABI; ESKICIOGLU, 2014; ZHANG et al., 2012). E a respeito do tamanho de partícula, tratando lodo ativado, foi relatado como sendo 3 a 4 vezes menor (FANG et al., 2015).

Sobre a cavitação hidrodinâmica, é um tratamento mecânico que pode ser realizado não somente por ação ultra-sônica, mas também com tubos de Venturi ou placas com orifício(s) redutor(es) de fluxo que ocasionarão o mesmo efeito Venturi (KUMAR; PANDIT, 1999; LEE; HAN, 2013). A agitação do meio, provocada pelas bolhas resultantes do processo de cavitação ocasionam desintegração do lodo (HIROOKA et al., 2009), tendo como fatores intervenientes à eficiência da solubilização, representada em DQO, o ângulo de inclinação e o número de constrições de venturi (KIM et al., 2008).

1.2.3. Pré-tratamento Químico

De fato, o valor do pH no meio influencia diretamente na concentração de íons H^+ , o que desestabiliza o ponto isoelétrico, ou seja, o ponto de equivalência entre as cargas positivas e negativas da molécula (neutralidade). Quanto menor o pH maior será a concentração de íons H^+ em solução, conseqüentemente maior a prevalência da forma positivamente carregada. Em contrapartida, quanto maior o valor de pH, menor será a quantidade de íons H^+ em solução, havendo prevalência da forma negativamente carregada.

Assim, o pré-tratamento químico também tem sido estudado (MASSE et al., 2001; BOUGRIER et al., 2005; WAWRZYNCZYK et al., 2008). Compreende-se que um dos fatores são os agentes de ligação catiônica que são perturbados, o que interfere na adsorção de enzimas à matriz do lodo, liberando enzimas no meio solúvel e conseqüentemente aumentando a atividade enzimática. Esta categoria de pré-tratamento também é subdividida, podendo ser um tratamento alcalino, ácido e/ou processos avançados de oxidação que tem como ponto comum a utilização de radicais para decompor a matéria orgânica.

1.2.3.1. Pré-tratamento Alcalino

O pré-tratamento alcalino consiste no aumento do pH da matriz do lodo usando uma solução alcalina, como NaOH ou Ca(OH)₂, dentre outras. As propriedades físico-químicas das substâncias poliméricas extracelulares (SPE) dependem de seus grupos funcionais serem desprotonados ou protonados (WANG et al. 2012), a exemplo dos grupos carboxílicos ou sulfatos (pKa ≈ 4) e grupos amina (pKa 7.0–9.0). Assim, o SPE tem suas propriedades de superfície e cargas eletrostáticas, bem como sua estrutura, modificadas por consequência da variação do pH (WANG et al., 2012). No caso das proteínas, por exemplo, tem sua solubilidade dependente de vários fatores, dentre quais destaca-se a presença das cargas elétricas moléculares. A existência de uma carga positiva ou negativa determinará a interação com o meio aquoso, além de estabelecer um estado de repulsão entre as próprias moléculas de proteína, aumentando a interação com o solvente e, conseqüentemente, favorecendo uma solubilidade. Logo, o aumento do pH conseqüente do pré-tratamento alcalino, incide diretamente na estrutura da matriz do lodo, desestabilizando-a.

No ponto isoelétrico existe um equilíbrio entre o número de cargas positivas e negativas, o que gera uma situação em que as forças de repulsão entre as moléculas de proteína e as forças de interação com o solvente são mínimas. Assim, as proteínas vão formando aglomerados que, cada vez maiores, se tornam resistentes e tendem a precipitar. No entanto, o pré-tratamento alcalino dissocia grupos ácidos no SPE, o que causa repulsão eletrostática entre o SPE carregado negativamente e aumenta sua solubilização. A repulsão é principalmente devido à ionização dos grupos carboxila e amina das proteínas (LIAO et al., 2002). É importante destacar que a solubilidade protéica varia de proteína para proteína. Valores extremos de pH causam a desnaturação da proteína e a liberação de conteúdo

intracelular consequente da saponificação da camada lipídica da membrana celular (VACLAVIK; CHRISTIAN, 2008).

Apesar da solubilização da matéria orgânica ter sido relatada como baixa em pH inferior à 10, uma melhor solubilização foi identificada como diretamente proporcional ao aumento do pH (CHANG et al., 2011; VALO et al., 2004; XIAO et al., 2015). No entanto, o pH 13 pode ser classificado como limite, devido a uma melhora inexpressiva, quando comparado à solubilização consequente do pH 12 (CHANG et al., 2011). Autores esclarecem que o reagente adotado, e seu respectivo tipo de reagente, são fatores intervenientes a desidratabilidade e solubilização em termos de DQO (LI et al., 2008; RAJAN et al., 1988). O estudo de Kim et al. (2003) ratifica essa ideia, trabalhando em pH (12) controlado com NaOH, KOH, $Mg(OH)_2$ e $Ca(OH)_2$, os valores de solubilização de DQO foram 39,8%, 36,6%, 10,8% e 15,3%, respectivamente. Sobre a produção de biogás, Shao et al. (2012) relatam que em pH 10 a produção foi maior, no entanto a menor produção em pH 12. Além disso, Valo et al. (2004) descobriram que a produção de biogás foi obtida em pH 12 (sem pós-neutralização), que era a mesma do controle. Resultado que indica que o pré-tratamento em pH alto não obteve êxito na digestibilidade do lodo.

A respeito dos carboidratos e proteínas, o tratamento alcalino tem sido relatado como eficiente na solubilização do material protéico (BROWN; LESTER, 1980; DOĞAN; SANIN, 2009; SHAO et al., 2012), chegando a uma parcial degradação (WANG et al., 2012). No entanto, Su et al. (2013) apresentaram resultados insignificantes da hidrólise de carboidratos, trabalhando em pH 10 e com aplicação de $Ca(OH)_2$.

Com relação ao tamanho de partícula, seu tamanho médio tem sido relatado como menor após o tratamento alcalino (DOĞAN; SANIN, 2009; KIM et al., 2003; XIAO et al., 2015). No que concerne à ruptura celular, trabalhando na faixa de pH de 8,0-12,5, XIAO et al. (2015) identificam que a maioria dos danos à parede celular ocorre em pH 10,00-12,50, enquanto que os danos à membrana celular ocorrem em pH 9,00-12,50. Sobre a possível aplicação desse sistema de pré-tratamento, seu agravante é a demanda de capital com soluções básicas e ácidas para efetivamente solubilizar o lodo e neutralizar em seguida.

1.2.3.2. Pré-tratamento ácido

O pré-tratamento ácido se baseia na acidificação do meio, variando o pH entre 0 e 6, o que desestabiliza a neutralidade do meio e consequentemente o ponto isoelétrico. A

acidificação é realizada através da dosagem de reagentes químicos, sendo os comumente utilizados: HCl, H₂SO₄, H₃PO₄ e HNO₂. WANG et al. (2012) deixa claro que no SPE, quando em pH mais baixo, há protonação dos grupos funcionais resultando em estruturas mais compactas e de maior densidade, isso devido à hidrofobicidade e ligações de hidrogênio intramoleculares. É interessante lembrar que a formação flocular (floculação) apresenta maior eficiência perto do ponto isoelétrico, na neutralidade (LIAO et al., 2002; WANG et al., 2012). Devido ao baixo pH os íons de hidrogênio reagem com alguns dos grupos carboxila ionizados formando grupos ácidos não dissociados, logo a presença de grupos de ácido carboxílico não ionizada será maior. Em relação às proteínas, seu ponto isoelétrico difere para cada uma delas e depende da proporção de grupos carboxila ionizados livres para grupos amino ionizados livres (VACLAVIK; CHRISTIAN, 2008). De fato há estudos comparando a liberação de carboidratos e proteínas em condição alcalina (NaOH) e ácida (H₂SO₄), apesar da melhor eficiência ter sido em meio alcalino, a condição ácida também tem indicado aumento significativo (GUO et al., 2014). Trabalhando com HCl, Devlin et al. (2011) acidificaram suas amostras e monitoraram o comportamento das concentrações de proteína, carboidrato e DQO conforme a reduzia o pH, em seu estudo a variação das concentrações foram evidentes para todos os três parâmetros, e apesar do gradativo aumento das concentrações conforme acidificava a maior concentração para os três parâmetros foi de fato em pH 1. A dosagem de ácido para pré-tratar o lodo é capaz de elevar a taxa de biodegradabilidade (DEVLIN et al., 2011; WANG et al., 2014), bem como sua extensão (DEVLIN et al., 2011).

A saponificação da parede celular também pode ocorrer sob valores de pH ácido (CHARTON, 1975). Em seu estudo Guo et al. (2014) trabalhando com ácido sulfúrico (H₂SO₄), metanal (CH₂O) e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA); apresentaram um aumento no número células danificadas, apesar de relatarem distintos valores de pH (0,98 ± 0,04; 7,41 ± 0,06; 7,36 ± 0,04, respectivamente). No entanto, Pijuan et al. (2012) relatam que enquanto a amostra controle apresentou 80% de células viáveis, apenas 20% foi quantificado viável ainda em pH 6, trabalhando com ácido nitroso (HNO₂). Esses diferentes resultados obtidos com distintos reagentes sugerem que a seleção das espécies químicas a se trabalhar também tem um papel fundamental.

No que concerne à agregação microbiana, a protonação do meio, quando em baixo pH, atribui as SPE carga positiva que inibe a agregação, o que deve implicar em uma redução

do tamanho de partícula. Guo et al. (2014), dosando H_2SO_4 obtiveram pH de 0,98 e registraram redução de quase 40% no tamanho médio particular, de 159,62 para 97,18 μm . No entanto, no mesmo estudo, trabalhando com CH_2O e EDTA os pHs se mantiveram neutros (7,41 e 7,36 respectivamente), no entanto o tamanho médio das partículas aumentou 12% (de 159,62 para 179,33 μm) para CH_2O e diminuiu 20% (de 159,62 para 128 μm) para o EDTA. Resultado que mais uma vez ratifica a importância da escolha das espécies químicas.

A inviabilidade do pré-tratamento ácido é semelhante ao alcalino, para efetivamente solubilizar o lodo. No caso do ácido sua maior eficiência de tratamento tem sido característico em níveis de $pH \leq 2$ (DEVLIN et al., 2011; SAHINKAYA, 2015). Porém, para se alcançar esse valor de pH a demanda de ácido a ser dosada é consideravelmente elevada, bem como o volume da solução alcalina para retornar ao pH neutro também é elevada. E como agravante, os reatores à pré-tratar acidamente esse lodo necessitam suportar condições extremas.

1.2.3.3. Pré-tratamento por processos avançados de oxidação

Processo oxidativo avançado (POA) é comumente definido como processo de oxidação em que radicais de hidroxila são gerados para atuar como agentes oxidantes químicos e, devido à alta reatividade desses radicais, podem reagir com uma grande variedade de compostos orgânicos. Sua capacidade intrínseca de mineralizar poluentes é um atrativo a sua aplicação no tratamento de resíduos como o lodo de excesso (XU et al., 2010). Um interessante ponto do POA é que, geralmente, há a geração de espécies transientes que se envolvem no processo. Como exemplo dessas espécies transientes está o radical hidroxila ($OH\bullet$), que apesar de sua baixa seletividade é um dos radicais livres mais reativos com forte poder oxidante. De fato, os agentes oxidantes foram reportados como hábeis na redução do tamanho de partícula do lodo (DEMIR; FILIBELI, 2012). A aplicação da oxidação foi reportada um agente de inativação dos microrganismos já que 50% foram observados nessa condição (CHU et al., 2008).

Para o processo de oxidação existe uma gama de possíveis oxidantes, no entanto os mais utilizados são o ozônio, fenton e o peróxido de hidrogênio. O ozônio solubiliza compostos orgânicos de elevada massa molecular em produtos de menor massa, como ácidos carboxílicos, ácidos hidrofílicos, carboidratos, aminoácidos e AGV (BOUGRIER et al., 2007a, 2006; SALSABIL et al., 2010). No entanto, a formação de compostos ácidos, no pré-

tratamento por ozonização, tem sido correlacionada com uma diminuição do pH em torno de 1 ou até 2 unidades (BOUGRIER et al., 2006; CHU et al., 2008; TIAN et al., 2015b). O ozônio primeiro reage com a fração solúvel do lodo e só depois oxida a fração particulada (Yang *et al.*, 2013). Bougrier et al. (2006) relatam em seu estudo de solubilização por ozonização que a biodegradabilidade da fração particulada do lodo foi pouco modificada, esse resultado corrobora com CESBRON et al. (2003) que observaram que conforme o material intracelular se tornava disponível, essa fração solúvel consumia o ozônio.

A utilização do reagente Fenton ($\text{Fe}^{++}/\text{H}_2\text{O}_4$) como agente oxidante é outra proposta para o POA. A reação do Fenton leva à formação de radicais hidroxila através da redução do peróxido de hidrogênio por metais de transição (tipicamente ferro), funcionando como catalisadores (KOHANSKI et al., 2007). As reações de Fenton dependem das concentrações de ferro e de peróxido de hidrogênio, bem como do pH da solução (ERDEN; FILIBELI, 2011; SAHINKAYA, 2015). Para o pré-tratamento de lodo, uso do Fenton é aplicado principalmente em valores de pH de 2 ou 3 (BAO et al., 2015; GONG et al., 2015), pois em valores de $\text{pH} \geq 4$, o íon férrico precipita e perde sua atividade catalítica (W. ZHANG et al., 2015). Neyens e Baeyens (2003a) explicam que o tratamento de lodo usando Fenton possui claras vantagens devido a sua capacidade de formação de radical hidroxila, por operar em pH baixo tornando-o semelhante ao pré-tratamento ácido e uma desidratação melhorada devido à coagulação pela adição de ferro.

A aplicação isolada do H_2O_2 oxida os compostos orgânicos em CO_2 e água (ESKICIOGLU et al., 2008) sem deixar subprodutos prejudiciais nem perturbar o pH do lodo (JUNG et al., 2014), em contraste com a ozonização e o Fenton. Além disso, o ácido peracético, uma mistura de ácido acético, ácido peracético e peróxido de hidrogênio com um potencial de oxidação de +1,81 V, também foi encontrado como um possível oxidante (APPELS et al., 2011).

Os POAs tem como principal vantagem sua capacidade de mineralização, uma capacidade intrínseca de reduzir o volume de sólidos final. No entanto, quando se visa a disponibilidade de matéria orgânica solúvel para incrementar a produção de biogás, essa notória capacidade de mineralização se torna uma clara desvantagem por converter carbono orgânico em CO_2 (DÉLÉRIS et al., 2000). Essa menor produção de biogás em doses mais altas poderia ser devida a) condições inibitórias (permaneceu o excesso de ozônio para inibir a

digestão); b) uso de inóculo não aclimatado; c) mineralização de compostos orgânicos biodegradáveis; ed) formação de compostos refratários (BOUGRIER et al., 2006; LIU et al., 2015; SILVESTRE et al., 2015). Açúcares e ácidos húmicos apresentaram a maior redução na concentração durante o pré-tratamento oxidativo (ESKICIOGLU et al., 2008). Os POAs apresentam capacidade de oxidação das substâncias de maior complexidade (por exemplo, mineralização de substâncias húmicas), ou para o tratamento do lodo já digerido que contém maior fração recalcitrante, substâncias de difícil degradação (KOBAYASHI et al., 2009).

A inviabilidade da aplicação do POA resulta dos elevados custos de operação. 50% da demanda de energia durante a ozonização é usada para a produção de oxigênio puro como elemento de entrada (MÜLLER et al., 2004), um consumo que onera mais as ETEs. O Fenton contém complexos de hidróxido de ferro, logo, o tratamento de lodo limita as alternativas de uso do lodo digerido no estágio de disposição final (SAHINKAYA, 2015). Além de que, a reação de Fenton requer mais que H_2O_2 , demanda também outros reagentes para acidificar e neutralizar o pH do do lodo. Diante disso, o uso de peróxido de hidrogênio ou ácido peracético são menos onerosos por demandarem apenas a energia necessária para sua produção.

1.2.3.4. Pré-tratamento Enzinático

A solubilização enzimática também é uma alternativa para o pré-tratamento do lodo. De fato, essa tecnologia é a tentativa do homem de, imitando a natureza, otimizar os processos. Toda e qualquer ação biológica demanda naturalmente a ação enzimática, assim é interessante primeiro compreender a enzima para só depois discutir sobre o tratamento enzimático. A capacidade de solubilização das enzimas também foram estudadas como um meio de extração do SPE de flocos de lodo (SESAY et al., 2006). No entanto, quando comparado ao tradicional método por resina de permuta catiónica, a extração enzimática do SPE foi caracterizada por baixa lise celular, resultando em uma subestimativa do teor de polímero, mas eficaz, exigindo apenas algumas horas (SESAY et al., 2006).

1.2.3.4.1. Compreendendo a enzima

As enzimas são proteínas sintetizadas pelas células vivas que catalisam (aceleram) as reações termodinamicamente possíveis de modo que a velocidade da reação e temperatura são compatíveis com o metabolismo, processo bioquímico essencial para a manutenção da

célula. As enzimas são uma estrutura complexa, com alta especificidade em sua função catalítica, o que decorre de sua natureza proteica. Apesar disso, as enzimas não alteram a constante de equilíbrio ou o ΔG da reação, mas são capazes de propiciar tanto o ambiente de reação para um mecanismo particular como a capacidade de reconhecer um grupo limitado de substrato. E sendo proteínas, as enzimas perderão suas propriedades catalíticas se submetidas a agentes adversos como o excesso de calor, ácidos ou bases fortes, solventes orgânicos ou outros materiais que as desnaturem.

A região da proteína enzimática que participa diretamente na conversão do substrato em produto é denominada de sítio ativo. O fato de que cada enzima catalisa apenas uma reação ou um grupo de reações estreitamente correlacionadas, como exemplo das quinases, faz com que uma demanda de milhares de enzimas seja necessária para a especificidade ser compensada. De tal modo que a velocidade da conversão de um determinado volume de substrato em produto é dependente diretamente da concentração do catalisador, a enzima. O que garante que quanto maior for a concentração da enzima no meio menor será o tempo de conversão. No entanto, uma reação catalisada por uma quantidade enzimática constante será difásica quando o volume do substrato for variável, decorrente ao aumento da concentração do substrato, a velocidade de reação aumenta tendendo a uma cinética de primeira ordem, porém quando o sítio ativo começa a saturar, a cinética de primeira ordem da vez a segunda fase regida pela cinética de ordem zero. Relação apresentada pela equação de Michaelis-Menten (Eq.: 2.1).

$$v = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{K_m + [S]} \quad (\text{Eq.: 2.1})$$

Sendo v a velocidade de reação observada, $V_{m\acute{a}x}$ a velocidade máxima na concentração de saturação do substrato, K_m a constante de Michaelis e $[S]$ a concentração do substrato.

1.2.3.4.2. A enzima no pré-tratamento de lodo

A atividade enzimática está presente naturalmente tanto no próprio processo de lodo ativado quanto na digestão anaeróbia, onde bactérias e arqueias quebram matéria orgânica com a ajuda de enzimas. Devido à sua natureza catalítica, as enzimas solubilizam moléculas complexas, mas em temperatura e pH específico, e sem a produção de resíduos perigosos, em comparação com os métodos de pré-tratamento químico ou físico

(PARAWIRA, 2012). As enzimas hidrolíticas, incluindo protease, amilase e lipase, são produzidas por uma variedade de flora mista (GUO; XU, 2011). A exemplo, as bactérias no lodo ativado que degradam matéria orgânica complexa (substratos poliméricos) em intermediários de baixa massa molecular pela ação de hidrolases extracelulares (NYBROE et al., 1992). As enzimas podem ser intracelulares (endoenzimas) ou extracelulares (exoenzimas), se localizando dentro ou fora dos organismos.

Uma análise detalhada do lodo apresentará exoenzimas (como lipases, glucosidases, proteases, etc.) naturais ao meio (FRØLUND et al., 1995; NYBROE et al., 1992) que resultam do metabolismo celular. As exoenzimas em uma amostra de lodo podem estar ligadas à superfície celular (ectoenzimas) ou diluídas de forma livre no meio líquido (exoenzimas), ou adsorvidas na matriz de lodo, dentro das SPE (FRØLUND et al., 1995; VAVILIN et al., 1996; CADORET et al., 2002; BURGESS; PLETSCHE, 2008). Usando a técnica de hibridação fluorescente in situ (BAUMAN et al., 1980; AMANN; FUCHS, 2008), Higuchi et al. (2005) apontam a alfa-amilase ligada às células como o principal responsável pela hidrólise do lodo digerido. O que corrobora com estudos anteriores que reportaram como principal responsável pela hidrólise as enzimas ligadas as células bacterianas ou ao SPE (FRØLUND et al., 1995; GOEL et al., 1998). Guellil et al. (2001) explicaram que foi identificada, principalmente no SPE, a atividade proteolítica dos flocos de LA, no entanto a atividade glicolítica foi associada à fração orgânica coloidal das águas residuais. Por fim, Whiteley et al. (2002) demonstraram que as atividades enzimáticas, tanto da protease quanto da fosfatase, estavam predominantemente associadas ao material orgânico particulado do lodo primário de esgoto.

O curioso é que ao contrário das ectoenzimas, as exoenzimas não apresentam atividade lítica relevante (BURGESS; PLETSCHE, 2008). Para aumentar o ciclo lítico no meio a proposta de KAVITHA et al. (2014) é liberar as enzimas intracelulares através da ruptura da membrana celular, no entanto, Müller (2001) explica que as enzimas livres são propensas à autodegradação antes do início da hidrólise do lodo.

Existem duas formas de pré-tratamento enzimático: adição ativa de soluções enzimáticas, que segundo Parmar et al. (2001) torna o pré-tratamento economicamente inviável; ou por bioaugmentação. Este último método promove a produção de enzima endógena (ou microorganismos produtores de enzimas) (S. YU et al., 2013). Recentemente,

surfactantes que podem ser biologicamente produzidos por muitos microrganismos diferentes, como ramnolipídeos, têm sido usados em métodos de pré-tratamentos (HE et al., 2016; KAVITHA et al., 2016, 2014; ZHOU et al., 2013). Segundo Zhou et al. (2013), os ramnolipídios aumentam a solubilidade dos compostos e estimulam as SPE a liberar células aderidas em sua superfície. Também observaram um aumento na atividade da enzima hidrolítica, e postularam que os ramnolipídeos impediam a imobilização de enzimas naturalmente presentes no lodo ou liberavam as enzimas aprisionadas dentro da matriz de flocos.

A elevada e crescente concentração de substrato, para concentrações constante de enzimas, resulta em uma cinética de velocidade de reação tendendo a ordem zero, assumindo um estado estacionário. O inverso, no entanto, potencializa o tratamento uma vez que o aumento de enzimas para um montante constante de substrato acelera o processo hidrolítico. Assim, defendendo que o aumento na disponibilidade de enzimas estimule uma maior velocidade de reação, acredita-se que a diminuição da fração recalcitrante por solubilização enzimática seja possível. O aumento da disponibilidade enzimática é relacionado à uma eficiente liberação da fração orgânica do lodo (BURGESS; PLETSCHE, 2008). De fato, os benefícios da adição de enzimas ao pré-tratamento de resíduos são relatados por distintos autores (AYOL, 2005; AYOL; DENTEL, 2005; LEAL et al., 2006; ROMAN et al., 2006; LEE et al., 2009). A lise celular refere-se à destruição de células microbianas catalisadas por enzimas hidrolíticas, principalmente protease (GUO; XU, 2011). Um aumento na eficiência da lise melhorará o processo de solubilização do lodo, portanto, otimizando o sistema de tratamento de lodo ativado.

A hidrólise, o primeiro passo para quebrar grandes moléculas, é o principal agente que promove o processo de desfloculação e oxidação do lodo. O auxílio das hidrolases melhoram sua eficiência biológica. De fato, as proteases e as glicosidases foram evidenciadas por desempenharem um papel fundamental na degradação biológica do lodo (BURGESS; PLETSCHE, 2008).

Wawrzynczyk et al. (2007; 2008), combinando o pré-tratamento químico ao enzimático, usou agentes de ligação catiônica para melhorar a solubilização do lodo. Quando comparado ao uso combinado do agente de ligação e a enzima, suas aplicações separadamente foram limitadas. A estrutura do floco estabilizada foi rompida devido ao agente de ligação, o

que resultou na exposição do material orgânico, antes inacessível, ao meio solúvel sofrendo solubilização enzimática (WAWRZYNCZYK et al., 2007). Kim e Sim (2004) trabalharam com ozônio para solubilizar o lodo residual, e em seguida determinaram a melhor concentração de ozônio para combinar com a melhor concentração de enzimas.

A aplicação do tratamento térmico, aquecendo ao ponto de romper o floco, tem sido usado para reduzir o volume de lodo. Yan et al. (2008), pré-tratando o lodo termicamente, investigou a relação entre a eficiência de redução do lodo e a resposta biológica. Em seu estudo, as bactérias secretoras de protease emergiram logo após o tratamento térmico, com um aumento da atividade enzimática após uma hora. A lise microbiana, induzida pelo tratamento térmico, foi correlacionada com o natural aumento na atividade da protease (YAN et al., 2008).

O pré-tratamento biológico estudado por de Valk et al. (2017a) usou vermes aquáticos para predação do lodo residual. Na pesquisa foi analisada a atividade de cinco enzimas hidrolíticas diferentes. Dentre as enzimas estudadas, a atividade proteolítica apresentou a menor redução quando na presença dos vermes. Da atividade proteolítica final, 73% foi atribuída aos vermes e 27% às bactérias intestinais excretadas por eles (DE VALK et al., 2017a).

A capacidade hidrolítica das enzimas também foram estudadas como um meio de extração do SPE de flocos de lodo (SESAY et al., 2006). No entanto, quando comparado ao tradicional método por resina de permuta catiónica, a extração enzimática do SPE foi caracterizada por baixa lise celular, resultando em uma subestimativa do teor de polímero, mas eficaz, exigindo apenas algumas horas (SESAY et al., 2006).

1.2.4. Pré-tratamento Biológico

A solubilização biológica ocorre por complexas reações bioquímicas, nas quais simultâneas reações químicas e biológicas ocorrem no processo de solubilização. A ação enzimática é parte essencial dessa bioquímica como catalizadores dos processos, sejam elas intracelular ou exocelular. As tecnologias de desintegração biológica incluem uma ampla gama de processos aeróbios e anaeróbios (CARRÈRE et al., 2010) e tem sido aplicada para reduzir o volume e o peso do lodo (WEEMAES; VERSTRAETE, 1998). As tecnologias de desintegração de lodo resultam em menores tempos de degradação e maiores graus de degradação durante a digestão aeróbia ou anaeróbia.

O pré-tratamento biológico estudado por de Valk et al. (2017a) usou vermes aquáticos para predação do lodo residual e nessa pesquisa analisaram a atividade de cinco distintas enzimas hidrolíticas. Dentre as espécies enzimáticas investigadas, a atividade proteolítica apresentou a menor redução na presença dos vermes. Da atividade proteolítica final, 73% foi atribuída aos vermes e 27% às bactérias intestinais excretadas por eles (DE VALK et al., 2017a). Estudando a comunidade microbiana associada à predação vermíca do lodo, de Valk et al. (2017b) identificaram que as estruturas das comunidades microbianas excretadas nas fezes dos vermes são semelhantes às comunidades de substratos ricos em proteínas. Assim concluíram que consequente a remoção específica de proteína do meio, a predação de lodo por vermes aquáticos resulta em uma maior taxa de redução do lodo (DE VALK et al., 2017b).

1.3. Digestão Anaeróbia

Atualmente, a digestão anaeróbia é uma tecnologia aplicada no tratamento do lodo de excesso das ETEs. É um método de tratamento capaz de reduzir os custos associados à sua eliminação, devido não somente a sua capacidade de agregar valor econômico ao resíduo por recuperação de subprodutos, como ácidos graxos voláteis (AGV) (ZHANG et al., 2009; CHEN et al., 2014; ZHANG et al., 2015; CHEN et al., 2017; KURUTI et al., 2017) e bioenergia (HARTMANN et al., 2004; EDELMANN et al., 2005; CARRÈRE et al., 2010; ZHOU et al., 2017), mas também por ser capaz de reduzir consideravelmente o volume final do lodo remanescente.

O processo de biodegradação anaeróbia metanogênica é composto por uma série de reações biológicas mediadas por uma vasta gama de microrganismos. O atual conhecimento científico a este respeito permitiu definir uma configuração teórica do processo em quatro etapas denominadas de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (BATSTONE et al., 2002; NELSON et al., 2011; ARIUNBAATAR et al., 2014). Distintos autores consideram a solubilização o fator limitante da digestão anaeróbia (PARMAR et al., 2001; TIEHM et al., 2001; APPELS et al., 2008; VAVILIN et al., 2008; MASPOLIM et al., 2016), principalmente quando se discute sobre destinação final, já que o espessamento do lodo geralmente resulta em uma pior sedimentabilidade e desidratabilidade.

A primeira fase da digestão anaeróbia, a hidrólise, é responsável por solubilizar os compostos orgânicos de elevada massa molecular, possibilitando a assimilação bacteriana.

Madigan et al. (2003) esclarece que o material particulado e dissolvido necessita ser reduzido a dimensões menores que 1 nm, uma vez que as proteínas porinas, presentes na membrana externa das bactérias Gram-negativas, formam canais de aproximadamente 1 nm que permitem a entrada e saída de substâncias hidrofílicas pequenas. Sendo assim, a hidrólise é reportada como etapa essencial limitante para aumentar a biodisponibilidade para as etapas seguintes (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). No entanto, sua aplicabilidade é frequentemente limitada pela fração recalcitrante e/ou de difícil biodegradabilidade devido as SPE, já que a complexidade do lodo residual determina a eficácia do processo biológico (RUFFINO et al., 2016).

Tratando lodo, a anaerobiose é reportada como capaz de reduzir o montante total de biosólidos (média de 40%), converter bioquimicamente a energia acumulada em biogás (55-70% CH₄), além de estabilizar o lodo, proporcionar melhor desidratabilidade, inativar e reduzir agentes patogênicos (CLIMENT et al., 2007). E para a engenharia sanitária, a digestão anaeróbia do lodo excedente se transforma em uma tecnologia de tratamento controlada de sumo interesse capaz de mitigar o oneroso custo de operação da ETEs (APPELS et al., 2008).

1.3.1. Avaliação do ganho metanogênico com o pré-tratamento

Em relação aos métodos de digestão anaeróbia a produção de metano depende de algumas variáveis como a temperatura, tempo de retenção do lodo, da relação inóculo e substrato, potencial de biometanização e taxa de hidrólise (CHEN; HASHIMOTO, 1980; ANGELIDAKI et al., 2009; WANG et al., 2013; HOLLIGER et al., 2016). Em reator mesofílico, com elevado tempo de retenção de sólidos, 20-25 dias, tratando lodo ativado de ETEs que tratam esgoto doméstico, aproximadamente 30-35% dos sólidos orgânicos são biodegradados anaerobiamente (HIRAOKA et al., 1985; VALO et al., 2004; RUFFINO et al., 2015). Mas é interessante notar que a contribuição para crescimento bacteriano e remoção de DQO foi reportada como 5-10% do material orgânico degradado (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004). Essa fração de DQO deve ser somada a fração metanizada para se calcular toda a parte biodegradada no processo.

A solubilização de DQO é comumente utilizada como parâmetro para avaliar a eficácia do pré-tratamento (NEUMANN et al., 2016). De fato, em certas condições de pré-tratamento, alguns estudos documentaram que existe uma relação entre a solubilização da DQO e a biodegradabilidade (BOUGRIER et al., 2008; UMA RANI et al., 2012). No entanto,

em outros casos, a maior solubilização de DQO não resultou em uma maior produção de biogás, mas às vezes na mesma produção de biogás, ou mesmo menor, (DHAR et al., 2012; HAUG et al., 1978; D.-H. KIM et al., 2013; J. KIM et al., 2013; NAZARI et al., 2016; SAPKAITE et al., 2017). Uma vez que a solubilização de DQO não é, aparentemente, um parâmetro preciso para prever a eficácia da produção subsequente de biogás (SAPKAITE et al., 2017), até agora, o método de digestão anaeróbia é a única ferramenta útil e precisa para avaliar o efeito de pré-tratamentos sobre a biodegradabilidade anaeróbia do lodo. Quanto aos métodos de digestão anaeróbia, a quantidade de metano produzida depende, dentre outras variáveis, da temperatura, tempo de retenção do lodo, razão inóculo-substrato, potencial biológico de metano (BMP) e taxa de hidrólise (ANGELIDAKI et al., 2009; CHEN; HASHIMOTO, 1980; HOLLIGER et al., 2016; WANG et al., 2013). Muitos artigos, no entanto, usam diferentes tempos de digestão, o que dificulta a comparação de dados; outros relatam a produção de biogás ou metano sem divulgar DQO ou sólidos voláteis (SV) do lodo, tornando o cálculo da biodegradabilidade desajeitado. Além disso, ao fornecer apenas informações sobre a extensão da biodegradabilidade, não está claro se um pré-tratamento tem efeito apenas na BMP, ou na constante da taxa de hidrólise, ou em ambas. Para poder realizar com precisão a comparação entre distintos estudos na literatura, o BMP e a taxa de hidrólise devem ser relatados (em vez de mostrar apenas a mudança multi-interpretável na produção de biogás).

2. CONCLUSÃO

O pré-tratamento do lodo é possível de ser desenvolvido por diferentes técnicas, e cada uma dessas tem suas vantagens e desvantagens intrínsecos ao próprio método. Assim, com base na literatura, a melhor alternativa para pré-tratamento depende diretamente dos objetivos almejados e dos recursos disponíveis. Por exemplo, analisando melhor desidratação e maior produção de biogás, os melhores resultados foram reportados pelo tratamento térmico ($> 100\text{ }^{\circ}\text{C}$) e micro-ondas. No entanto, essas duas tecnologias demandam elevado custo com energia elétrica, o que onera o processo. Por outro lado, a melhor remoção orgânica foi identificada pelo tratamento térmico e alcalino, enquanto que o adensamento mais barato foi resultante da predação vérmica.

É interessante pontuar que maiores estudos necessitam ser desenvolvido para melhor conhecer fatores intrínsecos aos processos, a exemplo das alterações, mudança estruturais dos diferentes componentes do lodo demandam maior atenção. A degradação celular resultante de cada método algo ainda inédito, que assim como as sucessivas reações químicas desencadeadas por variações do meio, como a temperatura que possibilita a reação Maillard. As interações químicas, ligações iônicas e catiônicas do floco de lodo, que são contantes e corresponsáveis pela capacidade do floco de agregação e de degradação, necessitam ser mais aprofundada, assim também as técnicas de pré-tratamento químico para comparando-as classifica-las.

3. REFERÊNCIAS

- AMANN, R. AND FUCHS, B. M. Single-Cell Identification in Microbial Communities by Improved Fluorescence in Situ Hybridization Techniques. **Nature Reviews Microbiology**. v 6, p. 339-348, 2008. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1888>
- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Sludge treatment and disposal**. 1. ed. Londres: IWA Publishing. v. 6, p. 244, 2007.
- ANGELIDAKI, I., SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.** v. 3, p. 117–129, 2004.
- ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J. B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. **Water Sci. Technol.** v. 59, p. 927–934, 2009.
- APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGRÈVE, J.; DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**. v. 34, p. 755-781, 2008.
- APPELS, L.; DEGRÈVE, J.; VAN DER BRUGGEN, B.; VAN IMPE, J.; DEWIL, R. Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation, heavy metal release and anaerobic digestion. **Bioresour. Technol.** v. 101, p. 5743–5748, 2010.
- APPELS, L.; VAN ASSCHE, A.; WILLEMS, K.; DEGRÈVE, J.; VAN IMPE, J.; DEWIL, R. Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Bioresour. Technol.** v. 102, p. 4124–4130, 2011.
- AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A.L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 10, p. 152-161, 2005.
- ARIUNBAATAR, J.; PANICO, A.; ESPOSITO, G.; PIROZZI, F.; LENS, P. N. Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. **Appl. Energy**. v. 123. p. 143–156, 2014.
- AUDREY, P.; JULIEN, L.; CHRISTOPHE, D.; PATRICK, L. Sludge disintegration during heat treatment at low temperature: A better understanding of involved mechanisms with a multiparametric approach. **Biochemical Engineering Journal**. v. 54, p. 178-184, 2011.
- AYOL, A.; FILIBELI, A.; SIR, D.; KUZYAKA, E. Aerobic and anaerobic bioprocessing of activated sludge: floc disintegration by enzymes. **J. Environ. Sci. Health A: Toxic. Hazard. Subst. Environ. Eng.** v. 43, p. 1528–1535, 2008.
- AZMAN, S.; KHADEM, A. F.; VAN LIER, J. B.; ZEEMAN, G.; PLUGGE, C. M. Presence and role of anaerobic hydrolytic microbes in conversion of lignocellulosic biomass for biogas production presence and role of anaerobic hydrolytic microbes in conversion of

lignocellulosic biomass for biogas production. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.** v. 45, p. 2523–2564, 2015a.

AZMAN, S.; KHADEM, A. F.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B. Mitigation of humic acid inhibition in anaerobic digestion of cellulose by addition of various salts. **Bioengineering.** v. 2, n. 2, p. 54–65, 2015b.

BAEK, G.; KIM, J.; LEE, C. Influence of ferric oxyhydroxide addition on biomethanation of waste activated sludge in a continuous reactor. **Bioresour. Technol.** v. 166, p. 596–601, 2014.

BAO, H.; JIANG, L.; CHEN, C.; YANG, C.; HE, Z.; FENG, Y.; CAI, W.; LIU, W.; WANG, A. Combination of ultrasound and Fenton treatment for improving the hydrolysis and acidification of waste activated sludge. **RSC Adv.** v. 5, p. 48468–48473, 2015.

BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIDAKI, I.; KALYUZHNYI, S. V.; PAVLOSTATHIS, S. G.; ROZZI, A.; SANDERS, W. T. M.; SIEGRIST, H.; VAVILIN, V. A. The IWA anaerobic digestion model No. 1 (ADM1). **Water Sci. Technol.** v. 45, n. 10, p. 65–73, 2002.

BAUMAN, J. G. J.; WIEGANT, J.; BORST, P.; VAN DUIJN, P. A new method for fluorescence microscopical localization of specific DNA sequences by in situ hybridization of fluorochrome-labelled RNA. **Experimental Cell Research,** v. 128 (2), p. 485-490, 1980. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(80\)90087-7](https://doi.org/10.1016/0014-4827(80)90087-7)

BETTIOL, W.; CARVALHO, P. C. T.; FRANCO, B. J. D. C. **Utilização do lodo de esgoto como fertilizante.** O Solo, Piracicaba. v. 75, n. 1, p. 44-54, 1989.

BOUGRIER, C.; ALBASI, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. **Chem. Eng. Process. Process Intensif.** v. 45, p. 711–718, 2006.

BOUGRIER, C.; BATTIMELLI, A.; DELGENES, J. P.; CARRERE, H. Combined ozone pretreatment and anaerobic digestion for the reduction of biological sludge production in wastewater treatment. **Ozone Sci. Eng.** v. 29, p. 201–206, 2007a.

BOUGRIER, C.; CARRERE, H.; DELGENES, J. P. Solubilization of waste-activated sludge by ultrasonic treatment. **Chem. Eng. J.** v. 106, p. 163–169, 2005.

BOUGRIER, C.; DELGENES, J. P.; CARRERE, H. Impacts of thermal pre-treatments on the semi-continuous anaerobic digestion of waste activated sludge. **Biochem. Eng. J.** v. 34, p. 20–27, 2007b.

BOUGRIER, C.; DELGENE'S, J.P.; CARRERE H. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal.** v. 139, p. 236–244, 2008.

BOURVEN, I., COSTA, G., GUIBAUD, G. Qualitative characterization of the protein fraction of exopolymeric substances (EPS) extracted with EDTA from sludge. **Bioresour. Technol.** v. 104, p. 486–496, 2012.

BRAGUGLIA, C. M.; GIANICO, A.; GALLIPOLI, A.; MININNI, G. The impact of sludge pre-treatments on mesophilic and thermophilic anaerobic digestion efficiency: Role of the organic load. **Chem. Eng. J.** v. 270, p. 362–371, 2015.

BRAGUGLIA, C. M.; GIANICO, A.; MININNI, G. Comparison between ozone and ultrasound disintegration on sludge anaerobic digestion. **J. Environ. Manage.** v. 95, p. S139–S143, 2012.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas** / Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, Brasília, Atlas de saneamento, p. 92, 2017.

BROWN, M. J.; LESTER, J. N. Comparison of bacterial extracellular polymer extraction methods comparison of bacterial extracellular polymer extraction methods. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 40, p. 179–185, 1980.

BROWN, M. J.; LESTER, J. N. Role of bacterial extracellular polymers in metal uptake in pure bacterial culture and activated sludge: effect of metal concentration. **Water Research.** v. 16, p. 1539-1548, 1982.

BURGESS, J. E.; PLETSCHKE, B. I. Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: A mini-review. **Water SA.** v. 34, p. 343–350, 2008.

CADORET, A.; CONRAD, A.; BLOCK, J.-C. Availability of low and high molecular weight substrates to extracellular enzymes in whole and dispersed activated sludges. **Enzyme Microb. Technol.** v. 31 n. 1–2, p. 179–186, 2002.

CANALES, A.; PAREILLEUX, A.; ROLS, J.; GOMA, G.; HUYARD, A. Decreased sludge production strategy for domestic wastewater treatment. **Water Sci. Technol.** v. 30 p. 97–106, 1994.

CARRÈRE H, DUMAS C, BATTIMELLI A, BATSTONE DJ, DELGENÈS JP, STEYER JP, FERRER I. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. **J Hazard Mater.** v. 183, p. 1–15, 2010.

CARRÈRE, H.; BOUGRIER, C.; CASTETS, D.; DELGENÈS, J. Impact of initial biodegradability on sludge anaerobic digestion enhancement by thermal pretreatment. **J. Environ. Sci. Health A: Toxic. Hazard. Subst. Environ. Eng.** v. 43, p. 1551–1555, 2008.

CELLA, M. A.; AKGUL, D.; ESKICIOGLU, C. Assessment of microbial viability in municipal sludge following ultrasound and microwave pretreatments and resulting impacts on the efficiency of anaerobic sludge digestion. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** p. 1–14, 2015.

- CESBRON, D.; DÉLÉRIS, S.; DEBELLEFONTAINE, H.; ROUSTAN, M.; PAUL, E. Study of competition for ozone between soluble and particulate matter during activated sludge ozonation. **Chem. Eng. Res. Des.** v. 81, p. 1165–1170, 2003.
- CESCUTTI, P.; TOFFUNIN, R.; POLLESELLO, P.; SUTHERLAND, J. W. Structural determination of the acidic exopolysaccharide produced by a *Pseudomonas sp.* Strain 1.15. **Carbohydr. Res.** v. 315 p. 159-168, 1999.
- CHANG, C. J.; TYAGI, V. K.; LO, S. L. Effects of microwave and alkali induced pretreatment on sludge solubilization and subsequent aerobic digestion. **Bioresour. Technol.** v. 102, p. 7633–7640, 2011.
- CHARTON, M. Steric effects. I. Esterification and acid-catalyzed hydrolysis of esters. **J. Am. Chem. Soc.** v. 97, p. 1552–1556, 1975.
- CHATEL, G. **Sonochemistry: New opportunities for green chemistry.** World Scientific Publishing Europe, London, 2016.
- CHEN, H.; CHEN, Y.; ZHENG, X.; LI, X.; LUO, J. How does the entering of copper nanoparticles into biological wastewater treatment system affect sludge treatment for VFA production. **Water Research.** v. 63, p.125-134, 2014.
- CHEN, Y. R.; HASHIMOTO, A. G. Substrate Utilization Kinetic Model for Biological Treatment Processes. **Biotechnol. Bioeng.** v. 22, p.2081–2095, 1980.
- CHEN, Y.; JIANG, X.; XIAO, K.; SHEN, N.; ZENG, R.J.; ZHOU, Y. Enhanced volatile fatty acids (VFAs) production in a thermophilic fermenter with stepwise pH increase e Investigation on dissolved organic matter transformation and microbial community shift. **Water Research.** v. 112, p.261-268, 2017.
- CHERNICHARO, C. A. L.; VAN LIER, J. B.; NOYOLA, A.; RIBEIRO T. B. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. **Rev Environ Sci Biotechnol.** v. 4, p. 649–679, 2015.
- CHERNICHARO, C. A. L.; HAANDEL, A. C. V.; CYBIS, L. F. ; FORESTI, Eugenio. Introdução. In: Carlos Augusto de Lemos Chernicharo. (Org.). Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. 1ed.Belo Horizonte: FINEP. v. 1, p. 19-34, 2001.
- CHU, L. B.; YAN, S. T.; XING, X. H.; YU, A. F.; SUN, X. L.; JURCIK, B. Enhanced sludge solubilization by microbubble ozonation. **Chemosphere.** v. 72, p. 205–212, 2008.
- CLIMENT, M.; FERRER, I.; BAEZA, M.; ARTOLA, A.; VAZQUEZ, F.; FONT, X. Effects of thermal and mechanical pretreatments of secondary sludge on biogas production under thermophilic conditions. **Chem. Eng. J.**, v. 133, p. 335–342, 2007.
- COELHO, N. M. G.; DROSTE, R. L.; KENNEDY, K. J. Evaluation of continuous mesophilic, thermophilic and temperature phased anaerobic digestion of microwaved activated sludge. **Water Res.** v. 45, p. 2822–34, 2011.

COMTE, S.; GUIBAUD, G.; BAUDU, M. Effect of extraction method on EPS from activated sludge: An HOSEC investigation. **Journal of Hazardous Materials**. v. 140, p. 129-137, 2007.

COMTE, S.; GUIBAUD, G.; BAUDU, M. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and EPS complexation properties: Part I. Comparison of the efficiency of eight EPS extraction methods. **Enzyme Microb. Technol.** v. 38, p. 237–245, 2006.

D'ABZAC, P.; BORDAS, F.; JOUSSEIN, E.; VAN HULLEBUSCH, E.; LENS, P. N. L.; GUIBAUD, G. Characterization of the mineral fraction associated to extracellular polymeric substances (EPS) in anaerobic granular sludge. **Environ Sci Technol.** v. 44, p. 412–418, 2010a.

D'ABZAC, P.; BORDAS, F.; VAN HULLEBUSCH, E.; LENS, P. N. L.; GUIBAUD, G. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from anaerobic granular sludges: comparison of chemical and physical extraction protocols. **Appl Microbiol Biotechnol.** v. 85, p. 1589–1599, 2010b.

DE VALK, S., FENG, C., KHADEM, A.F., VAN LIER, J.B., DE KREUK, M.K. Elucidating the microbial community associated with the protein preference of sludge-degrading worms. **Environmental Technology**, 2017b.

DE VALK, S., KHADEM, A.F., VAN LIER, J.B., DE KREUK, M.K. Unravelling the protein preference of aquatic worms during waste activated sludge degradation. **Environmental Technology**, 2017a.

DE VALK, S.; KHADEM, A. F.; FOREMAN, C. M.; VAN LIER J. B.; DE KREUK, M. K. Physical and biochemical changes in sludge upon *Tubifex tubifex* predation. **Environmental Technology**. v. 38, n. 12, p. 1524-1538, 2016.

DECHO, A. W., 1990. Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes. **Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.** v. 28, p. 73-153, 1990.

DÉLÉRIS, S.; PAUL, E.; AUDIC, J. M.; ROUSTAN, M.; DEBELLEFONTAINE, H. Effect of Ozonation on Activated Sludge Solubilization and Mineralization. **Ozone Sci. Eng.** v. 22, p. 473–486, 2000.

DELMAS, H.; LE, N. T.; BARTHE, L.; JULCOUR-LEBIGUE, C. Optimization of hydrostatic pressure at varied sonication conditions - power density, intensity, very low frequency - for isothermal ultrasonic sludge treatment. **Ultrason. Sonochem.** v. 25, p. 51–59, 2014.

DEMIR, O.; FILIBELI, A. Fate of return activated sludge after ozonation: An optimization study for sludge disintegration. **Environ. Technol.** v. 33, p. 1869–78, 2012.

- DEVLIN, D. C.; ESTEVES, S. R. R.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge. **Bioresour. Technol.** v. 102, p. 4076–4082, 2011.
- DHAR, B. R.; NAKHLA, G.; RAY, M. B. Techno-economic evaluation of ultrasound and thermal pretreatments for enhanced anaerobic digestion of municipal waste activated sludge. **Waste Manag.** v. 32, p. 542–549, 2012.
- DIK, J.; ÖRMECI, B. Individual and combined effects of freeze-thaw and ferrate (VI) oxidation for the treatment and dewatering of wastewater sludges. **Clean soil, air, water.** v. 227, p. 1–16, 2016.
- DIGNAC, M. F.; URBAIN, V.; RYBACKI, D.; BRUCHET, A.; SNIDARO, D.; SCRIBE, P. Chemical description of extracellular polymers: implication on activated sludge floc structure. **Water Sci. Technol.** v. 38, p. 45–53, 1998.
- DOĞAN, I.; SANIN, F. D. Alkaline solubilization and microwave irradiation as a combined sludge disintegration and minimization method. **Water Res.** v. 43, p. 2139–2148, 2009.
- DONG, B.; GAO, P.; ZHANG, D.; CHEN, Y.; DAI, L.; DAI, X. A new process to improve short-chain fatty acids and bio-methane generation from waste activated sludge. **J. Environ. Sci.** 2015.
- DONOSO-BRAVO, A.; PÉREZ-ELVIRA, S.; AYMERICH, E.; FDZ-POLANCO, F. Assessment of the influence of thermal pre-treatment time on the macromolecular composition and anaerobic biodegradability of sewage sludge. **Bioresour. Technol.** v. 102, p. 660–666, 2011.
- EDELMANN, W.; BAIER, U.; ENGELI, H. Environmental aspects of the anaerobic digestion of the OFMSW and agricultural wastes. **Water Sci Technol.** v. 52, p. 553–559, 2005.
- ERDEN, G.; FILIBELI, A. Effects of Fenton pre-treatment on waste activated sludge properties. **Clean soil, air, water.** v. 39, p. 626–632, 2011.
- ESKICIOGLU, C.; DROSTE, R. L.; KENNEDY, K. J. Performance of anaerobic waste activated sludge digesters after microwave pretreatment. **Water Environ. Res.** v. 79, p. 2265–2273, 2007a.
- ESKICIOGLU, C.; KENNEDY, K. J.; DROSTE, R. L. Enhancement of batch waste activated sludge digestion by microwave pretreatment. **Water Environ. Res.** v. 79, p. 2304–2317, 2007b.
- ESKICIOGLU, C.; PROROT, A.; MARIN, J.; DROSTE, R. L.; KENNEDY, K. J. Synergetic pretreatment of sewage sludge by microwave irradiation in presence of H₂O₂ for enhanced anaerobic digestion. **Water Res.** v. 42, p. 4674–4682, 2008.

ESKICIOGLU, C.; TERZIAN, N.; KENNEDY, K. J.; DROSTE, R. L.; HAMODA, M. Athermal microwave effects for enhancing digestibility of waste activated sludge. **Water Res.** v. 41, p. 2457–2466, 2007c.

ESPOSITO, G.; FRUNZO, L.; GIARDANO, A.; LIOTTA, F.; PANICO, A.; PIROZZI, F. Anaerobic codigestion of organic wastes, Review Paper. **Rev Environ Sci Biotechnol.** v. 11, p. 235–341, 2012.

FANG, W.; ZHANG, P.; YE, J.; WU, Y.; ZHANG, H.; LIU, J.; ZHU, Y.; ZENG, G. Physicochemical properties of sewage sludge disintegrated with high pressure homogenization. **Int. Biodeterior. Biodegradation.** v. 102, p. 126–130, 2015.

FENG, L.; WANG, H.; CHEN, Y.; WANG, Q. Effect of solids retention time and temperature on waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under alkaline conditions in continuous-flow reactors. **Bioresource Technology.** v. 100, p. 44–49, 2009.

FENG, X.; LEI, H.; DENG, J.; YU, Q.; LI, H. Physical and chemical characteristics of waste activated sludge treated ultrasonically. **Chem. Eng. Process. Process Intensif.** v. 48, p. 187–194, 2009.

FERNANDES, T. V.; VAN LIER, J. B.; ZEEMAN, G. Humic acid-like and fulvic acid-like inhibition on the hydrolysis of cellulose and tributyrin. **Bioenergy Res.** v. 8, p. 821–831, 2015.

FERRER, I.; CLIMENT, M.; BAEZA, M. M.; ARTOLA, A.; VAZQUEZ, F.; FONT, X. **Effect of sludge pre-treatment on thermophilic anaerobic digestion.** In: Proceedings of the IWA Specialized Conference on Sustainable Sludge Management: State-of-the-art. Challenges and Perspectives, Moscow, p. 29–31, 2006.

FOLADORI, P.; BRUNI, L.; TAMBURINI, S.; ZIGLIO, G. Direct quantification of bacterial biomass in influent, effluent and activated sludge of wastewater treatment plants by using flow cytometry. **Water Res.** v. 44, p. 3807–3818, 2010.

FOLADORI, P.; LAURA, B.; GIANNI, A.; GIULIANO, Z. Effects of sonication on bacteria viability in wastewater treatment plants evaluated by flow cytometry—Fecal indicators, wastewater and activated sludge. **Water Res.** v. 41, p. 235–243 2007.

FOLADORI, P.; VELHO, V. F.; COSTA, R. H. R.; BRUNI, L.; QUARANTA, A.; ANDREOTTOLA, G. Concerning the role of cell lysis-cryptic growth in anaerobic side-stream reactors: The single-cell analysis of viable, dead and lysed bacteria. **Water Res.** v. 74, p. 132–142, 2015.

FORSTER, S.; SNAPE, J. R.; LAPPIN-SCOTT, H. M.; PORTER, J. Simultaneous fluorescent gram staining and activity assessment of activated sludge bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 68, p. 4772–4779, 2002.

FRIEDMAN, M. Food browning and its prevention: An overview. **J. Agric. Food Chem.** v. 44, p. 631–653, 1996.

FRØLUND, B.; GRIEBE, T.; NIELSEN, P. H. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 43, p. 755–761, 1995.

FRØLUND, B.; PALMGREN, R.; KEIDING, K.; NIELSEN, P.H. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. **Water Res.**, 30 (8), 1749-1758, 1996.

GAO, W. Freezing as a combined wastewater sludge pretreatment and conditioning method. **Desalination.** v. 268, p.170–173, 2011.

GAO, Z.; ZHANG, C.; SU, H.; TAN, T. Live steam-pretreatment and anaerobic digestion of waste activated sludge. **Environ. Eng. Sci.** v. 30, p. 546–554, 2013.

GESSESSE, A.; DUEHOLM, T.; PETERSEN, S. B.; NIELSEN, P. H. Lipase and protease extraction from activated sludge. **Water Res.** v. 37, p. 3652-3657, 2003.

GOEL, R.; MINO, T.; SATOH, H.; MATSUO, T. Enzyme activities under anaerobic and aerobic conditions in activated sludge sequencing batch reactor. **Water Res.** v. 32, n. 7, p. 2081-2088, 1998.

GONG, C.; JIANG, J.; LI, D.; TIAN, S. Ultrasonic application to boost hydroxyl radical formation during Fenton oxidation and release organic matter from sludge. **Sci. Rep.** v. 5, p. 11419, 2015.

GONZALEZ, A.; HENDRIKS, A. T. W. M.; VAN LIER, J. B.; DE KREUK, M. Pre-treatments to enhance the biodegradability of waste activated sludge: elucidating the rate limiting step. **Biotechnology Advances.** v. 36, p. 1434-1469, 2018.

GOODWIN, L. A. S.; FORSTER, C. F. A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to settlement characteristics, **Water Research.** v. 19, p. 527-533, 1985.

GUELLIL, A.; BOUALAM, M.; QUIQUAMPOIX, H.; GINESTET, P.; AUDIC, J. M.; BLOCK, J. C. Hydrolysis of wastewater colloidal organic matter by extracellular enzymes extracted from activated sludge flocs. **Water Sci. Technol.** v. 43, n. 6, p. 33-40, 2001.

GULNAZ, O.; SAYGIDEGER, S; KUSVURAN, E. Study of Cu (II) biosorption by dried activated sludge: effect of physico-chemical environment and kinetics study. **J. Hazard. Mater.** v. 120, p. 193-200, 2005.

GUO, J. S.; XU, Y. F. **Review of Enzymatic Sludge Hydrolysis.** Bioremediation & Biodegradation, ed. 2, 2011.

GUO, X.; LIU, J.; XIAO, B. Evaluation of the damage of cell wall and cell membrane for various extracellular polymeric substance extractions of activated sludge. **J. Biotechnol.** v. 188, p. 130–135, 2014.

- HARTMANN, H.; MOLLER, H. B.; AHRING, B. K. Efficiency of the anaerobic treatment of the organic fraction of municipal solid waste: collection and pretreatment. **Waste Manage Res.** v. 22, p. 35–41, 2004.
- HAUG, R. T.; STUCKEY, D. C.; GOSSETT, J. M.; MCCARTY, P. L. Effect of thermal pretreatment on digestibility and dewaterability of organic sludges. **J. Water Pollut. Control Fed.** v. 50, p. 73–85, 1978.
- HE, Z.-W.; YANG, C.-X.; WANG, L.; GUO, Z.-C.; WANG, A.-J.; LIU, W.-Z. Feasibility of short-term fermentation for short-chain fatty acids production from waste activated sludge at initial pH10: Role and significance of rhamnolipid. **Chem. Eng. J.** v. 290, p. 125–135, 2016.
- HELLSTRÖM, D. Natural sludge dewatering. II: Thawing-drying process in full-scale sludge freezing ditches. **J. Cold Reg. Eng.** v. 11, p. 15–29, 1997.
- HIGGINS, M. J.; NOVAK, J. T. Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation. **J. Environmental Eng. Am. Soc. Civil Eng.** v. 123, p. 479–485, 1997.
- HIGUCHI, Y.; OHASHI, A.; IMACHI, H.; HARADA, H. Hydrolytic activity of alpha-amylase in anaerobic digested sludge. **Water Sci. Technol.** v. 52, n.1-2, p. 259-266, 2005.
- HIRAOKA, M.; TAKEDA, N.; SAKAI, S.; YASUDA, A. Highly efficient anaerobic digestion with thermal pretreatment. **Water Sci. Technol.** v. 17, p. 529–539, 1985.
- HIROOKA, K.; ASANO, R.; YOKOYAMA, A.; OKAZAKI, M.; SAKAMOTO, A.; NAKAI, Y. Reduction in excess sludge production in a dairy wastewater treatment plant via nozzle-cavitation treatment: Case study of an on-farm wastewater treatment plant. **Bioresour. Technol.** v. 100, p. 3161–3166, 2009.
- HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; BOUGRIER, C.; BUFFIERE, P.; CARBALLA, M.; DE WILDE, V.; EBERTSEDER, F.; FERNANDEZ, B.; FICARA, E.; FOTIDIS, I.; FRIGON, J.-C.; DE LACLOS, H. F.; GHASIMI, D. S. M.; HACK, G.; HARTEL, M.; HEERENKLAGE, J.; HORVATH, I. S.; JENICEK, P.; KOCH, K.; KRAUTWALD, J.; LIZASOAIN, J.; LIU, J.; MOSBERGER, L.; NISTOR, M.; OECHSNER, H.; OLIVEIRA, J. V.; PATERSON, M.; PAUSS, A.; POMMIER, S.; PORQUEDDU, I.; RAPOSO, F.; RIBEIRO, T.; RUSCH PFUND, F.; STROMBERG, S.; TORRIJOS, M.; VAN EEKERT, M.; VAN LIER, J.; WEDWITSCHKA, H.; WIERINCK, I. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Sci. Technol.** p. 1–9, 2016.
- HONG, S. M.; PARK, J. K.; LEE, Y. O. Mechanisms of microwave irradiation involved in the destruction of fecal coliforms from biosolids. **Water Res.** v. 38, p. 1615–1625, 2004.
- HONG, S. M.; PARK, J. K.; TEERADEJ, N.; LEE, Y. O.; CHO, Y. K.; PARK, C. H. Pretreatment of sludge with microwaves for pathogen destruction and improved anaerobic digestion performance. **Water Environ. Res.** v. 78, p. 76–83, 2006.

HOSSEINI KOUPAIE, E.; ESKICIOGLU, C. Conventional heating vs. microwave sludge pretreatment comparison under identical heating/cooling profiles for thermophilic advanced anaerobic digestion. **Waste Manag.** 2016.

HU, K.; JIANG, J. Q.; ZHAO, Q. L.; LEE, D. J.; WANG, K.; QIU, W. Conditioning of wastewater sludge using freezing and thawing: Role of curing. **Water Res.** v. 45, p. 5969–5976, 2011.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010), Pesquisa Nacional de Saneamento Básico. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/>. Acesso em: 08 de agosto de 2014, 2010.

JAN, T. W.; ADAV, S. S.; LEE, D. J.; WU, R. M.; SU, A.; TAY, J. H. Hydrogen fermentation and methane production from sludge with pretreatments. **Energy and Fuels.** v. 22, p. 98–102, 2008.

JAZIRI, K.; CASELLAS, M.; DAGOT, C. Comparing the effects of three pre-treatment disintegration techniques on aerobic sludge digestion: biodegradability enhancement and microbial community monitoring by PCR-DGGE. **Environ. Technol.** v. 33, p. 1435–44, 2012.

JEONG, T. Y.; CHA, G. C.; CHOI, S. S.; JEON, C. Evaluation of methane production by the thermal pretreatment of waste activated sludge in an anaerobic digester. **J. Ind. Chem. Eng.** v. 13, p. 856-863, 2007.

JORAND, F.; BOUÉ-BIGNE, F.; BLOCK, J. C.; URBAIN, V. Hydrophobic/hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances. **Water Science Technology.** v. 37, p. 307–315, 1998.

JORAND, F.; ZARTARIAN, F.; THOMAS, F.; BLOCK, J. C.; BOTTERO, J. Y.; VILLEMIN, G.; URBAIN, V.; MANEM, J. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs. **Water Res.** v. 29, 1639–1647, 1995.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos.** ABES, 6ª ed. p. 1050, Rio de Janeiro – RJ, 2011.

JUNG, H.; KIM, J.; LEE, S.; LEE, C. Effect of mild-temperature H₂O₂ oxidation on solubilization and anaerobic digestion of waste activated sludge. **Environ. Technol.** v. 35, p. 1702–9, 2014.

JUNG, J.; XING, X. H.; MATSUMOTO, K. Kinetic analysis of disruption of excess activated sludge by Dyno Mill and characteristics of protein release for recovery of useful materials. **Biochem. Eng. J.** v. 8, p. 1–7, 2001.

KAKITA, Y.; KASHIGE, N.; MURATA, K.; KUROIWA, A.; FUNATSU, M.; WATANABE, K. Inactivation microwave of lactobacillus bacteriophage irradiation PL-1 by microwave irradiation. **Microbiol. Immunol.** v. 39, p. 571–576, 1995.

- KAVITHA, S.; JAYASHREE, C.; ADISH KUMAR, S.; YEOM, I. T.; RAJESH BANU, J. The enhancement of anaerobic biodegradability of waste activated sludge by surfactant mediated biological pretreatment. **Bioresour. Technol.** v. 168, p. 159–166, 2014.
- KAVITHA, S.; STELLA, P. B. C.; KALIAPPAN, S.; YEOM, I. T.; BANU, J. R. Enhancement of anaerobic degradation of sludge biomass through surfactant-assisted bacterial hydrolysis. **Process Saf. Environ. Prot.** v. 99, p. 207–215, 2016.
- KENNEDY, K. J.; THIBAUT, G.; DROSTE, R. L. Microwave enhanced digestion of aerobic SBR sludge. **Water SA.** v. 33, p. 261–270, 2007.
- KHANAL, S. K.; GREWELL, D.; SUNG, S.; VAN LEEUWEN, J. Ultrasound applications in wastewater sludge pretreatment: A review. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.** v. 37, p. 277–313, 2007.
- KIANMEHR, P.; PARKER, W.; SETO, P. Assessment of waste-activated-sludge pretreatment by ultrasound and applicability of biodegradability indicators. **J. Environ. Eng.** v. 139, p. 545–553, 2013.
- KIM, D.-H.; CHO, S. K.; LEE, M. K.; KIM, M. S. Increased solubilization of excess sludge does not always result in enhanced anaerobic digestion efficiency. **Bioresour. Technol.** v. 143, p. 660–664, 2013.
- KIM, H. J.; NGUYEN, D. X.; BAE, J. H. The performance of the sludge pretreatment system with venturi tubes. **Water Sci. Technol.** v. 57, p. 131–137, 2008.
- KIM, J.; KIM, W.; LEE, C. Absolute dominance of hydrogenotrophic methanogens in full-scale anaerobic sewage sludge digesters. **Journal of Environmental Sciences.** v. 25, n. 11, p. 2272–2280, 2013.
- KIM, J.; PARK, C.; KIM, T.; LEE, M.; KIM, S.; LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **J Biosci Bioeng.** v. 95, p. 271–5, 2003.
- KIM, J.; YU, Y.; LEE, C. Thermo-alkaline pretreatment of waste activated sludge at low-temperatures: Effects on sludge disintegration, methane production, and methanogen community structure. **Bioresour. Technol.** v. 144, p. 194–201, 2013.
- KINNUNEN, V.; CRAGGS, R.; RINTALA, J. Influence of temperature and pretreatments on the anaerobic digestion of wastewater grown microalgae in a laboratory-scale accumulating-volume reactor. **Water Res.** v. 57, p. 247–257, 2014.
- KOBAYASHI, T.; LI, Y. Y.; HARADA, H.; YASUI, H.; NOIKE, T.. Upgrading of the anaerobic digestion of waste activated sludge by combining temperature-phased anaerobic digestion and intermediate ozonation. **Water Sci. Technol.** v. 59, p. 185–193, 2009.
- KOHANSKI, M. A.; DWYER, D. J.; HAYETE, B.; LAWRENCE, C. A.; COLLINS, J. J. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. **Cell.** v. 130, p. 797–810, 2007.

- KROISS, H. What is the potential for utilizing the resources in sludge? **Water Sci. Technol.** v. 49, p. 1–10, 2004.
- KUGLARZ, M.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I. Microwave and thermal pretreatment as methods for increasing the biogas potential of secondary sludge from municipal wastewater treatment plants. **Bioresource Technology.** v.134, p. 290-297, 2013.
- KUMAR, P. S.; PANDIT, A. B. Modeling Hydrodynamic Cavitation. **Chem. Eng. Technol.** v. 22, p. 1017–1027, 1999.
- KURUTI, K.; NAKKASUNCHI, S.; BEGUM, S.; JUNTUPALLY, S.; ARELLI, V.; ANUPOJU, G. R. Rapid generation of volatile fatty acids (VFA) through anaerobic acidification of livestock organic waste at low hydraulic residence time (HRT). **Bioresource Technology.** v. 238, p. 188–193, 2017.
- LAJAPATHI RAI, C.; MUELLER, J.; STRUENKMANN, G.; GANGADHAR RAO, P. Microbial growth reduction in sewage sludge by stirred ball mill disintegration and estimation by respirometry. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** v. 83, p. 269–278, 2008.
- LAURENT, J., PIERRA, M., CASELLAS, M., DAGOT, C. Fate of cadmium in activated sludge after changing its physico-chemical properties by thermal treatment. **Chemosphere.** V. 77, p. 771–777, 2009a. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.08.024
- LAURENT, J., PIERRA, M., CASELLAS, M., PONS, M.N., DAGOT, C. Activated sludge properties after ultrasonic and thermal treatments and their potential influence on dewaterability. **J. Residuals Sci. Technol.** V. 6, p. 19–25, 2009b.
- LEE, I.; HAN, J. I. The effects of waste-activated sludge pretreatment using hydrodynamic cavitation for methane production. **Ultrason. Sonochem.** v. 20, p. 1450–1455, 2013.
- LEE, S. H.; CHUNG, C. W.; YU, Y. J.; RHEE, Y. H. Effect of alkaline protease-producing *Exiguobacterium* sp. YS1 inoculation on the solubilization and bacterial community of waste activated sludge. **Bioresource Technology.** v. 100, p. 4597–4603, 2009.
- LI, H.; JIN, Y.; MAHAR, R.; WANG, Z.; NIE, Y. Effects and model of alkaline waste activated sludge treatment. **Bioresour. Technol.** v. 99, p. 5140–4, 2008.
- LI, J.; LIU, X.; LIU, Y.; RAMSAY, J.; YAO, C. H.; DAI, R. H. The effect of continuous exposure of copper on the properties and extracellular polymeric substances (EPS) of bulking activated sludge. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.** v. 18, p. 1567-1573, 2011.
- LI, X. Y.; YANG, S. F. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge. **Water Res.** v. 41, p. 1022-1030, 2007.
- LI, Y.; HU, Y.; WANG, G.; LAN, W.; LIN, J.; BI, Q.; SHEN, H.; LIANG, S. Screening pretreatment methods for sludge disintegration to selectively reclaim carbon source from surplus activated sludge. **Chem. Eng. J.** v. 255, p. 365–371, 2014.

- LI, Y.Y.; NOIKE, T. Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by thermal pretreatment. **Water Sci. Technol.** v. 26, p. 857–866, 1992.
- LIANG, P.; HUANG, X.; QIAN, Y. Excess sludge reduction in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*. **Biochem. Eng. J.** v. 28, p. 117–122, 2006.
- LIAO, B. Q.; ALLEN, D. G.; LEPPARD, G. G.; DROPPA, I. G.; LISS, S. N. Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs. **J. Colloid Interface Sci.** v. 249, p. 372–80, 2002.
- LIAO, X.; LI, H.; ZHANG, Y.; LIU, C.; CHEN, Q. Accelerated high-solids anaerobic digestion of sewage sludge using low-temperature thermal pretreatment. **Int. Biodeterior. Biodegradation.** v. 106, p. 141–149, 2016.
- LIU, J.; JIA, R.; WANG, Y.; WEI, Y.; ZHANG, J.; WANG, R.; CAI, X. Does residual H₂O₂ result in inhibitory effect on enhanced anaerobic digestion of sludge pretreated by microwave-H₂O₂ pretreatment process? **Environ. Sci. Pollut. Res.** p. 9016–9025, 2015.
- LIU, Y.; FANG, H. Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on flocculation, settling and dewatering of activated sludge. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.** v. 33, p. 237–273, 2003.
- LIU, Y.; TAY, J. Strategy for minimization of excess sludge production from the activated sludge process, **Biotechnol. Adv.** v. 19, p. 97–107, 2001.
- LIU, Y.; TAY, J. Strategy for minimization of excess sludge production from the activated sludge process. **Biotechnol. Adv.** v. 19, p. 97–107, 2001.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock – Biology of microorganisms.** 10^a edição, 2003.
- MASON, C.; HAMER, G.; BRYERS, J. The death and lysis of microorganisms in environmental processes. **FEMS Microbiol. Lett.** v. 39, p. 373–401, 1986.
- MASPOLIM, Y.; GUO, C.; XIAO, K.; ZHOU, Y. Performance and microbial community analysis in alkaline two-stage enhanced anaerobic sludge digestion system. **Biochemical Engineering Journal.** v. 105, p. 296–305, 2016.
- MASPOLIM, Y.; ZHOU, Y.; GUO, C.; XIAO, K.; NG, W. J. The effect of pH on solubilization of organic matter and microbial community structures in sludge fermentation. **Bioresour. Technol.** v. 190, p. 289–298, 2015.
- MATA-ALVAREZ, J.; MACÉ, S.; LLABRÉS, P. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. **Bioresour. Technol.** v. 74, p. 3–16, 2000.
- MEHDIZADEH, S. N.; ESKICIOGLU, C.; BOBOWSKI, J.; JOHNSON, T. Conductive heating and microwave hydrolysis under identical heating profiles for advanced anaerobic digestion of municipal sludge. **Water Res.** v. 47, p. 5040–5051, 2013.

- MONTUSIEWICZ, A.; LEBIOCKA, M.; ROZEJ, A.; ZACHARSKA, E.; PAWŁOWSKI, L. Freezing thawing effects on anaerobic digestion of mixed sewage sludge. **Bioresour. Technol.** v. 101, p. 3466–3473, 2010.
- MOTTET, A.; STEYER, J. P.; DÉLÉRIS, S.; VEDRENNE, F.; CHAUZY, J.; CARRÈRE, H. Kinetics of thermophilic batch anaerobic digestion of thermal hydrolysed waste activated sludge. **Biochem. Eng. J.**v. 46, p.169–175, 2009.
- MÜLLER, J. A. Prospects and problems of sludge pre-treatment processes. **Water Sci. Technol.** v. 44, p. 121–128, 2001.
- MÜLLER, J. A.; WINTER, A. Strükmann, G., 2004. Investigation and assessment of sludge pre-treatment processes. **Water Sci. Technol.** v. 49, p. 97–104, 2004.
- NAZARI, L.; YUAN, Z.; SANTORO, D.; SARATHY, S.; HO, D.; BATSTONE, D.; XU, C. (Charles), Ray, M. B. Low-temperature thermal pre-treatment of municipal wastewater sludge: Process optimization and effects on solubilization and anaerobic degradation. **Water Res.** v. 113, p. 111–123, 2016.
- Nelson, M.C.; Morrison, M.; Yu, Z. A meta-analysis of the microbial diversity observed in anaerobic digesters. **Bioresour. Technol.** v. 102. p. 3730–3739, 2011.
- NEUMANN, P.; PESANTE, S.; VENEGAS, M.; VIDAL, G. Developments in pre-treatment methods to improve anaerobic digestion of sewage sludge. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.** v. 15, p. 173–211, 2016.
- NEYENS, E., BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **J. Hazard. Mater.** v. 98, p. 33–50, 2003a.
- NEYENS, E., BAEYENS, J., DEWIL, R., DE HEYDER, B. Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. **J. Hazard. Mater.** v. 106, p. 83–92, 2004.
- NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of thermal sludge pre-treatment processes to improve dewaterability, **J. Hazard. Mater.** v. 98, n. 1–3, p. 51–67, 2003b.
- NEYENS, E.; BAEYENS, J.; CREEMENS, C. Alkaline thermal sludge hydrolysis. **Journal of Hazardous Materials.** v. B97, p. 295-314, 2003.
- NGES, I. A.; LIU, J. Effects of anaerobic pretreatment on the degradation of dewatered sludge. **Renew. Energy.** v. 34, p. 1795-1800, 2009.
- NIELSEN, H. J. B.; SEADI, T. A. L.; OLESKOWITZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresour. Technol.** v. 100. p. 5478–84, 2009.
- NIELSEN, P. H.; FRØLUND, B.; KEIDING, K. Changes in the composition of extracellular polymeric substances in activated sludge during anaerobic storage. **Appl. Microbiol. Biotechnology.** v. 44, p. 823–830, 1996.

NIELSEN, P. H.; JAHN, A. Extraction of EPS. In: Wingender, J.; Neu, T.R.; Flemming, H. C. **Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. p. 49–72, 1999.

NIELSEN, P.H., JAHN, A., PALMGREN, R. Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms. **Water Sci. Technol.** v. 36, p. 11–19, 1997.

NOYOLA, A.; PADILLA-RIVERA, A.; MORGAN-SAGASTUME, J.M.; GÜERECAL.P.; HERNÁNDEZ-PADILLA F. Typology of municipal wastewater treatment technologies in Latin America. **Clean Soil Air Water.** v.40, n. 9, p. 926–932, 2012.

NYBROE, O.; JÖRGENSEN, P. E.; HENZE, M Enzyme activities in waste water and activated sludge. **Water Res.** v. 26, n. 5, p. 579-584, 1992.

ODEGAARD, H. Sludge minimization technologies—an overview. **Water Sci. Technol.** v. 49, p. 31–40, 2004.

ODNELL, A.; RECKTENWALD, M; STENSÉN, K.; JONSSON, B. H.; KARLSSON, M. Activity, life time and effect of hydrolytic enzymes for enhanced biogas production from sludge anaerobic digestion. **Water Research.** v. 103. p. 462-471, 2016.

PARAWIRA, W.Enzyme research and applications in biotechnological intensification of biogas production. **Crit. Rev. Biotechnol.** v. 32, p. 172–186, 2012.

PARK N. D.; HELLE, S. S.; THRING, R. W. Combined alkaline and ultrasound pre-treatment of thickened pulp mill waste activated sludge for improved anaerobic digestion. **Biomass Bioenerg.** v. 46, p. 750–756, 2012.

PARMAR, N.; SINGH, A.; WARD, O. Enzyme treatment to reduce solids and improve settling of sewage sludge. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** v. 26, p. 383–386, 2001.

PHOTHILANGKA, P.; SCHOEN, M. A.; HUBER, M.; LUCHETTA, P.; WINKLER, T.; WETT, B.; Prediction of thermal hydrolysis pretreatment on anaerobic digestion of waste activated sludge. **Water Sci. Technology.** v. 58, p. 1467-1473, 2008.

PIJUAN, M.; WANG, Q.; YE, L.; YUAN, Z. Improving secondary sludge biodegradability using free nitrous acid treatment. **Bioresour. Technol.** v. 116, p. 92–8, 2012.

PILLI, S.; BHUNIA, P.; YAN, S.; LEBLANC, R. J.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y. Ultrasonic pretreatment of sludge: a review. **Ultrason. Sonochem.** v. 18, p. 1–18, 2011.

PILLI, S.; YAN, S.; TYAGI, R. D. et al. Thermal pretreatment of sewage sludge to enhance anaerobic digestion: a review. **Crit Rev Environ Sci Technol.** v. 45, p. 669–702., 2015.

PILLI, S.; YAN, S.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y. Thermal Pretreatment of Sewage Sludge to Enhance Anaerobic Digestion: A Review. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.** v. 45, p. 669–702, 2014.

PINNEKAMP, J. Effects of thermal pretreatment of sewage sludge on anaerobic digestion. **Water Sci. Technol.** v. 21, p. 97–108, 1989.

PROROT, A.; JULIEN, L.; CHRISTOPHE, D.; PATRICK, L. Sludge disintegration during heat treatment at low temperature: a better understanding of involved mechanisms with a multiparametric approach. **Biochem. Eng. J.** v. 54, p. 178–184, 2011.

PROSAB. **Manual pratico para a compostagem de bio sólidos.** Rio de Janeiro: ABES. 1999. p. 84.

RAJAN, R. V.; LIN, J.-G.; RAY, B. T. Improved anaerobic digestion with low level chemical pretreatment, in: 43 Rd Industrial Waste Conference May 10-12, 1988. **Lewis Publishers,** Purdue University, West Lafayette, Indiana. p. 327–337, 1988.

RATSAK, C. H.; VERKUIJLEN, J. Sludge reduction by predatory activity of aquatic oligochaetes in wastewater treatment plants: science or fiction? A review. **Hydrobiologia.** v. 564, p. 197–211, 2006.

Rombaut, N., Tixier, A.S., Bily, A., Chemat, F., 2014. Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioprod. Biorefining* 8, 530–544. doi:10.1002/bbb.1486

RUFFINO, B.; CAMPO, G.; CERUTTI, A.; ZANETTI, M.; LORENZI, E.; SCIBILIA, G.; GENON, G. Preliminary technical and economic analysis of alkali and low temperature thermo-alkali pretreatments for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Waste Biomass Valorization.** v. 7, p. 667–675, 2016.

RUFFINO, B.; CAMPO, G.; GENON, G.; LORENZI, E.; NOVARINO, D.; SCIBILIA, G.; ZANETTI, M. Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge in a wastewater treatment plant by means of mechanical and thermal pre-treatments: Performance, energy and economical assessment. **Bioresour. Technol.** v. 175, p. 298–308, 2015.

SAHINKAYA, S. Disintegration of municipal waste activated sludge by simultaneous combination of acid and ultrasonic pretreatment. **Process Saf. Environ. Prot.** v. 93, p. 201–205, 2015.

SALSABIL, M. R.; LAURENT, J.; CASELLAS, M.; DAGOT, C. Techno-economic evaluation of thermal treatment, ozonation and sonication for the reduction of wastewater biomass volume before aerobic or anaerobic digestion. **J. Hazard. Mater.** v. 174, p. 323–333, 2010.

SALTON, M. R. J.; HORNE, R. W. Studies of the bacterial cell wall. *Biochim. Biophys. Acta.* v. 7, p. 19–42, 1951.

SAMPAIO, A. O. Afinal, queremos ou não viabilizar o uso agrícola do lodo produzido em estações de esgoto sanitário? Uma avaliação crítica da Resolução CONAMA 375. **DAE.** n. 193, p. 16-27, 2013.

- SAPKAITE, I.; BARRADO, E.; FDZ-POLANCO, F.; PÉREZ-ELVIRA, S. I. Optimization of a thermal hydrolysis process for sludge pre-treatment. **J. Environ. Manage.** v. 192, p. 25–30, 2017.
- SESAY, M. L.; ÖZCENGİZ, G.; DILEK SANIN, F. Enzymatic extraction of activated sludge extracellular polymers and implications on bioflocculation. **Water Res.** v. 40, p. 1359–1366, 2006.
- SHAO, L.; WANG, X.; XU, H.; HE, P. Enhanced anaerobic digestion and sludge dewaterability by alkaline pretreatment and its mechanism. **J. Environ. Sci.** v. 24, p. 1731–1738, 2012.
- SHENG, G. P.; YU, H.Q.; LI, X. Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. **Biotechnology Advances.** v. 28, p. 882-894, 2010.
- SHENG, G.P.; XU, J.; LUO, H. W.; LI, W. W.; LI, W. H.; YU, H. Q.; XIE, Z.; WEI, S. Q.; HU, F. C. Thermodynamic analysis on the binding of heavy metals onto extracellular polymeric substances (EPS) of activated sludge. **Water Res.** v. 47, p. 607-614, 2013.
- SILVESTRE, G.; RUIZ, B.; FITER, M.; FERRER, C.; BERLANGA, J. G.; ALONSO, S.; CANUT, A. Ozonation as a pre-treatment for anaerobic digestion of waste-activated sludge: Effect of the ozone doses. **Ozone Sci. Eng.** v. 37, p. 316–322, 2015.
- SMITH, G. A.; FRIEDMAN, M. Effect of carbohydrates and heat on the amino acid composition and chemically available lysine content of casein. **J. Food Sci.** v. 49, p. 817-821, 1984.
- SOBECK, D. AND HIGGINS, M. Examination of three theories for mechanisms of cation-induced bioflocculation. **Water Research.** v. 36, p. 527-538, 2002.
- SONESSON, U.; BJORKLUND, A.; CARLSSON, M.; DALEMO, M. Environmental and economic analysis of management systems for biodegradable waste. **Resour Conserv Recycl.** 28. p. 29–53, 2000.
- SPONZA, D. T. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. **Enzyme Microbial Technology.** v. 32, p. 375–385, 2003.
- STUCKEY, D. C.; MCCARTY, P. L. The effect of thermal pretreatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. **Water Res.** v. 18, p. 1343–1353, 1984.
- SU, G.; HUO, M.; YUAN, Z.; WANG, S.; PENG, Y. Hydrolysis, acidification and dewaterability of waste activated sludge under alkaline conditions: Combined effects of NaOH and Ca(OH)₂. **Bioresour. Technol.** v. 136, p. 237–243, 2013.

- SUN, R.; ZHOU, A.; JIA, J.; LIANG, Q.; LIU, Q.; XING, D.; REN, N. Characterization of methane production and microbial community shifts during waste activated sludge degradation in microbial electrolysis cells. **Bioresource Technology**. v. 175, p. 68-74, 2015.
- SUTHERLAND, I. W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. **Microbiology-SGM**. v. 147, p. 3-9, 2001.
- SZWERGOLD, B. S. Maillard reactions in hyperthermophilic archaea: implications for better understanding of non-enzymatic glycation in biology. **Rejuvenation Res.** v. 16, p. 259-72, 2013.
- TAN, W. F.; KOOPAL, L. K.; WENG, L. P.; VAN RIEMSDIJK, W. H.; NORDE, W. Humic acid protein complexation. **Geochim. Cosmochim. Acta**. v. 72, p. 2090-2099, 2008.
- TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D. METCALF & EDDY. **Wasterwater Engineering: treatment and reuse**. 4 ed. New York, McGraw-Hill International edition, 2004.
- TEZEL, U.; TANDUKAR, M.; PAVLOSTATHIS, S. G. **Anaerobic Biotreatment of Municipal Sewage Sludge**. In: Agathos, S. (Ed.), Environmental Biotechnology and Safety. In: Moo-Young, M. (Editor-in-Chief), Comprehensive Biotechnology, 2nd ed., vol. 6 Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2011.
- THOMASHOW, M. F. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. **Plant Physiol**. v. 118, p. 1-8, 1998.
- TIAN, X.; TRZCINSKI, A. P.; LIN, L. L.; NG, W. J. Impact of ozone assisted ultrasonication pre-treatment on anaerobic digestibility of sewage sludge. **J. Environ. Sci**. v. 33, p. 29-38, 2015a.
- TIAN, X.; WANG, C.; TRZCINSKI, A. P.; LIN, L.; NG, W. J. Interpreting the synergistic effect in combined ultrasonication-ozonation sewage sludge pre-treatment. **Chemosphere**. v. 140, p. 63-71, 2015b.
- TIEHM, A.; NICKEL, K.; ZELLHORN, M.; NEIS, U. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. **Water Res.** v. 35, p. 2003-2009, 2001.
- TORECI, I.; DROSTE, R. L.; KENNEDY, K. J. Mesophilic anaerobic digestion with high-temperature microwave pretreatment and importance of inoculum acclimation. **Water Environ. Res.** v. 83, p. 549-559, 2011.
- TORECI, I.; DROSTE, R. L.; KENNEDY, K. J. Microwave pretreatment for soluble phase mesophilic anaerobic digestion. **Environ. Prog. Sustain. Energy**. v. 29, p. 242-248, 2010.
- UMA RANI, R.; ADISH KUMAR, S.; KALIAPPAN, S.; YEOM, I. T.; RAJESH BANU, J. Low temperature thermo-chemical pretreatment of dairy waste activated sludge for anaerobic digestion process. **Bioresour. Technol.** v. 103, p. 415-424, 2012.

UMA RANI, R.; ADISH KUMAR, S.; KALIAPPAN, S.; YEOM, I.; RAJESH BANU, J. Impacts of microwave pretreatments on the semi-continuous anaerobic digestion of dairy waste activated sludge. **Waste Manag.** 33, 1119–1127, 2013.

VACLAVIK, V.; CHRISTIAN, E. W. **Essentials of Food Science**, 2008.

VALO, A., CARRÈRE, H., DELGENÈS, J. P. Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** v. 79, p. 1197–1203, 2004.

VAVILIN, V. A.; RYTOV, S. V.; LOKSHINA, L. Y. A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter. **Bioresour. Technol.** v. 56, p. 229-237, 1996.

VAVILIN, V.A.; FERNANDEZ, B.; PALATSI, J.; FLOTATS, X. Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. **Waste Manag.** v. 28, p. 939–951, 2008.

VESILIND, B. P. A.; MARTEL, C. J. Freezing of water and wastewater sludges. **J. Environ. Eng.** v. 116, p. 854–862, 1990.

WAHIDUNNABI, A. K.; ESKICIOGLU, C. High pressure homogenization and two-phased anaerobic digestion for enhanced biogas conversion from municipal waste sludge. **Water Res.** 66, 430–446, 2014.

WANG, J.; LI, Y. Synergistic pretreatment of waste activated sludge using CaO₂ in combination with microwave irradiation to enhance methane production during anaerobic digestion. **Appl. Energy.** v. 183, p. 1123–1132, 2016.

WANG, L.-L.; WANG, L.-F.; REN, X.-M.; YE, X.-D.; LI, W.-W.; YUAN, S.-J.; SUN, M.; SHENG, G.-P.; YU, H.-Q.; WANG, X.-K. pH dependence of structure and surface properties of microbial EPS. **Environ. Sci. Technol.** v. 46, p. 737–744, 2012.

WANG, Q.; FUJISAKI, K.; OHSUMI, Y.; OGAWA, H. I. Enhancement of dewaterability of thickened waste activated sludge by freezing and thawing treatment. **J. Env. Sci Heal. A Tox Hazard Subst Env. Eng.** v. 36, p. 1361–1371, 2001.

WANG, Q.; JIANG, G.; YE, L.; YUAN, Z. Enhancing methane production from waste activated sludge using combined free nitrous acid and heat pre-treatment. **Water Res.** v. 63, p. 71–80, 2014.

WANG, Q.; YE, L.; JIANG, G.; JENSEN, P. D.; BATSTONE, D. J.; YUAN, Z. A novel free nitrous acid (FNA)-based technology for enhancing methane production from waste activated sludge. **Environ. Sci. Technol.** v. 47, p. 11897–11904, 2013.

WANG, Z.; CAO, J.; MENG, F. Interactions between protein-like and humic-like components in dissolved organic matter revealed by fluorescence quenching. **Water Res.** v. 68, p. 404–413, 2015.

WAWRZYNCZYK, J.; RECKTENWALD, M.; NORRLÖW, O.; DEY, E. S. Solubilisation of sludge by combined chemical and enzymatic treatment. **African Journal of Biotechnology**.v. 6, n. 17, p. 1994-1999, 2007.

WEEMAES, M.; VERSTRAETE, W. Evaluation of current wet sludge disintegration techniques. **Journal of Chemical Technology Biotechnology**. v. 73, p. 83–92, 1998.

WETT, B.; PHOTHILANGKA, P.; ELADAWY, A. Systematic comparison of mechanical and thermal sludge disintegration technologies. **Waste Manag.** v. 30, p. 1057–1062, 2010.

WETZEL, R. G. **Extracellular enzymatic interactions: storage, redistribution and interspecific communication**, in: *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*. Springer Berlin Heidelberg, p. 6, 1991.

WHITELEY, C. G.; HERON, P.; PLETSCHKE, B.; ROSE, P. D.; TSHIVHUNGE, S.; VAN JAARSVELD, F. P.; WHITTINGTON-JONES, K. The enzymology of sludge solubilisation utilizing sulfate reducing systems. Properties of proteases and phosphatases. **Enzyme Microb. Technol.** v. 31, p. 419-424, 2002.

WILÉN, B. M.; JIN, B.; LANT, P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. **Water Res.** v. 37, p. 2127–2139, 2003.

WILSON, C. A.; NOVAK, J. T. Hydrolysis of macromolecular components of primary and secondary wastewater sludge by thermal hydrolytic pretreatment. **Water Res.** v. 43, p. 4489–4498, 2009.

WINGENDER, J.; NEU, T. R.; FLEMMING, H. C. **Microbial extracellular polymeric substances: Characterization, structure and function**. Springer, Berlin. p. 123, 1999.

XIAO, B.; LIU, C.; LIU, J.; GUO, X. Evaluation of the microbial cell structure damages in alkaline pretreatment of waste activated sludge. **Bioresour. Technol.** v. 196, p. 109–115, 2015.

XIAO, B.; LIU, J. Effects of thermally pretreated temperature on bio-hydrogen production from sewage sludge. **J. Environ. Sci.** 2006.

XU, G.; CHEN, S.; SHI, J.; WANG, S.; ZHU, G. Combination treatment of ultrasound and ozone for improving solubilization and anaerobic biodegradability of waste activated sludge. **J. Hazard. Mater.** v. 180, p. 340–346, 2010.

YI, W. G.; LO, K. V.; MAVINIC, D. S. Effects of microwave, ultrasonic and enzymatic treatment on chemical and physical properties of waste-activated sludge. **J Env. Sci Heal. A Tox Hazard Subst Env. Eng.** v. 49, p. 203–209, 2014.

YU, G.-H.; HE, P.-J.; SHAO, L.-M.; HE, P.-P. Toward understanding the mechanism of improving the production of volatile fatty acids from activated sludge at pH 10.0. **Water Res.**v. 42, n.18, p. 4637–4644, 2008.

YU, S.; ZHANG, G.; LI, J.; ZHAO, Z.; KANG, X. Effect of endogenous hydrolytic enzymes pretreatment on the anaerobic digestion of sludge. **Bioresour. Technol.** v. 146, p. 758–761, 2013.

ZAHMATKESH, M.; SPANJERS, H.; TORAN, M. J.; BLÁNQUEZ, P.; VAN LIER, J. B. Bioremoval of humic acid from water by white rot fungi: exploring the removal mechanisms. **AMB Express.** v. 6, n. 1, 2016.

ZHANG, P.; CHEN, Y.; ZHOU, Q. Waste activated sludge hydrolysis and shortchain fatty acids accumulation under mesophilic and thermophilic conditions: effect of pH. **Water Res.** v. 43, n. 15, p.3735-3742, 2009.

ZHANG, T.; WANG, Q.; YE, L.; BATSTONE, D.; YUAN, Z. Combined free nitrous acid and hydrogen peroxide pre-treatment of waste activated sludge enhances methane production via organic molecule breakdown. **Sci. Rep.** v. 5, p. 16631, 2015.

ZHANG, W.; YANG, P.; YANG, X.; CHEN, Z.; WANG, D. Insights into the respective role of acidification and oxidation for enhancing anaerobic digested sludge dewatering performance with Fenton process. **Bioresour. Technol.** v. 181, p. 247–253, 2015.

ZHANG, X. Q.; BISHOP, P. L. Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances. **Chemosphere.** v. 50, p. 63–69, 2003.

ZHANG, Y.; ZHANG, P.; MA, B.; WU, H.; ZHANG, S.; XU, X. Sewage sludge disintegration by high-pressure homogenization: A sludge disintegration model. **J. Environ. Sci.** v. 24, p. 814–820, 2012.

ZHEN, G.; LU, X.; WANG, B.; ZHAO, Y.; CHAI, X.; NIU, D.; ZHAO, A.; LI, Y.; SONG, Y.; CAO, X. Synergetic pretreatment of waste activated sludge by Fe(II)-activated persulfate oxidation under mild temperature for enhanced dewaterability. **Bioresour. Technol.** v. 124, p. 29–36, 2012.

ZHOU, A.; YANG, C.; GUO, Z.; HOU, Y.; LIU, W.; WANG, A. Volatile fatty acids accumulation and rhamnolipid generation in situ from waste activated sludge fermentation stimulated by external rhamnolipid addition. **Biochem. Eng. J.** v. 77, p. 240–245, 2013.

ZHOU, A.; ZHANG, J.; VARRONE, C.; WEN, K.; WANG, G.; LIU, W.; WANG, A.; YUE, X. Process assessment associated to microbial community response provides insight on possible mechanism of waste activated sludge digestion under typical chemical pretreatments. **Energy.** p. 1-11, 2017.

ZHOU, X.; WANG, Q.; JIANG, G. Enhancing methane production from waste activated sludge using a novel indigenous iron activated peroxidation pre-treatment process. **Bioresour. Technol.** v. 182, p. 267–271, 2015.

ZORBA, G. T.; SANIN, F. D. Disintegration of sludge by sonication and improvement of methane production rates in batch anaerobic digesters. **Clean soil, air, water.** v. 41, p. 396–402, 2013.

CAPÍTULO III

Solubilização ácida e alcalina de lodo aeróbio

1. INTRODUÇÃO

O pré-tratamento químico é um processo de solubilização que tem relação apenas com a dosagem e tipos de espécies químicas. A solubilização química pela variação do pH (alcalino ou ácido) foi relatado como capaz de romper células e flocos, o que foi registrado pela diminuição do tamanho das partículas (LIAO et al., 2002; KIM et al., 2003; DOĞAN; SANIN, 2009; WANG et al., 2012; XIAO et al., 2015). De fato, a concentração de H^+ desestabiliza o ponto isoelétrico da molécula. Assim, a desprotonação ou protonação resultante da variação do pH pode influenciar significativamente as propriedades reológicas, capacidade de ligação de metais e adsorção orgânica, eficiência de extração do material polimérico extracelular e sua floculação (OMOIKE; CHOROVER, 2004; SHENG et al., 2005). Assim, os agentes aglutinadores catiônicos perturbados interrompem a capacidade de adsorção do lodo, liberando o material interno da matriz do floco aumentando a biodisponibilidade (WEEMAES; VERSTRAETE, 1998; NEYENS et al., 2003; RANI et al., 2012), o que indica a redução do tamanho de partícula e aumento da atividade enzimática.

No pré-tratamento alcalino é comum a utilização de álcalis como hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de potássio (KOH), hidróxido de magnésio ($Mg(OH)_2$) e hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$), porém NaOH é o mais frequentemente adotado devido a sua alta taxa de solubilização usando doses relativamente baixas (LIN et al., 1997; TIAN et al., 2014). Por outro lado, para o pré-tratamento ácido são comumente utilizadas espécies químicas como o ácido clorídrico (HCl), o ácido sulfúrico (H_2SO_4), o ácido fosfórico (H_3PO_4) e o ácido nitroso (HNO_2). No entanto, o conhecimento sobre o efeito da variação do pH na estrutura do material polimérico extracelular, e de suas propriedades de superfície e carga eletrostática, ainda são limitados (WANG et al., 2012). Além disso, vários autores discordam sobre o melhor valor de pH para realizar a solubilização, bem como o melhor tempo de reação. Há um escasso número de estudos avaliando a influência da concentração de sólidos totais (ST), o que é uma lacuna na área de pré-tratamento químico. Logo, o objetivo do trabalho foi investigar o pré-tratamento químico para a solubilização do lodo liberando os compostos intrafloculares. Diferentes condições de pré-tratamento foram propostas para identificar os efeitos da: (I) solubilização ácida e alcalina; (II) das diferentes concentrações químicas e seu respectivo tempo de reação; (III) da concentração dos ST; e (IV) o aumento da biodisponibilidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Lodo

O lodo para o procedimento experimental foi produzido em um sistema de lodo ativado, operado em reator em batelada, alimentado com esgoto municipal de Campina Grande - PB (Brasil). O reator e todo o processo estudado foi instalado e operado na EXTRABES (Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgoto Sanitário), laboratório pertencente à Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), no setor de Engenharia Sanitária e Ambiental. O reator em batelada operava com 4 ciclos, enquanto que a aeração e a homogeneização foram realizadas com um dispositivo compressor de ar conectado ao difusor de ar. A idade do lodo foi calculada em 8 dias pela relação entre o volume do reator utilizado e a quantidade lodo de descarte.

2.2. Parâmetros Analíticos

Foram realizadas análises de caracterização físico-química no lodo bruto antes dos ensaios de solubilização e no lodo solubilizado. As amostras de lodo eram centrifugadas à 3.480 rpm por 30 minutos e o sobrenadante filtrado através de papel em fibra de vidro (GF-2, diâmetro 47 mm) com tamanho de poro de 0,45 μm . Os parâmetros Fósforo Total (PT) solúvel, NTK solúvel, Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV) e Sólidos Dissolvidos Fixos (SDF) foram quantificados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Para a análise da concentração de proteínas foi aplicado o método de Lowry modificado por Frølund, Griebe e Nielsen (1995), e para carboidratos foi utilizado o método de Dubois et al., (1956). A determinação de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) foi realizada com analisador de combustão em alta temperatura (COT Multi N/C 3100 Analytic Jena, Germany).

2.3. Procedimentos operacionais

O trabalho foi desenvolvido em quatro etapas, sendo as três primeiras destinadas a identificar a melhor condição de solubilização, enquanto que a última investigou o ganho na biodegradabilidade: Etapa I - Efeitos do pré-tratamento químico (ácido e alcalino) na solubilização do lodo; Etapa II - Influência das diferentes concentrações de álcali e seu

respectivo tempo de reação; Etapa III - Influência da concentração de sólidos totais na solubilização química do lodo; e Etapa IV – Aumento da biodegradabilidade.

Etapa I - Efeitos do pré-tratamento químico (ácido e alcalino) na solubilização do lodo

Na Etapa I foi investigada a influência do pré-tratamento ácido (pH 2) e alcalino (pH 12) na solubilização do lodo. Para isso, a concentração de sólidos totais foi ajustada para 20 g.L⁻¹ de lodo medido em cone Imhoff, de acordo às recomendações de Bi et al. (2014). No pré-tratamento ácido, o pH foi ajustado para 2 unidades com ácido clorídrico (HCl) e, para finalizar o processo de solubilização, o pH foi neutralizado com NaOH. Por outro lado, nos ensaios de pré-tratamento alcalino, o NaOH foi utilizado para aumentar o pH para 12 e HCl para neutralizar o pH. É importante destacar que o HCl foi escolhido por não afetar o desempenho da metanogênese e pelo seu custo mais acessível, enquanto que o NaOH foi selecionado como um álcali altamente eficiente na solubilização de partículas de lodo orgânico quando comparado a outros, como Ca(OH)₂ (CHO et al., 2013).

Para ajustar os valores de pH de cada pré-tratamento (ácido e alcalino) e determinar a quantidade necessária das espécies químicas (HCl e NaOH), suas dosagens foram investigadas. Assim, o medidor de pH, previamente calibrado, foi imerso em um volume de 20 mL da amostra de lodo bruto e gradualmente adicionado 1 M da solução de espécies químicas até que o pH da amostra atingisse o valor esperado. O mesmo procedimento foi realizado para atingir o pH neutro da amostra. As quantidades necessárias para aumentar e diminuir o pH foram calculadas em gramas de espécies químicas (HCl ou NaOH) por grama de sólidos totais (ST) de lodo. As dosagens necessárias de HCl e NaOH para cada pré-tratamento podem ser vistas na Tabela 3.1.

Dois erlenmeyers (250 mL) foram separados, adicionando 0,41 mgHCl.gST⁻¹ em um e 0,25 gNaOH.gTS⁻¹ no outro e, em seguida, foram adicionados 100 mL de lodo ajustando os valores de pH para 2 e 12, respectivamente. As misturas foram mantidas sob agitação a 200 rpm numa mesa agitadora (New Brunswick Scientific, mod. G 33) durante 48 h à temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C. Ao final da agitação, ambas as amostras foram neutralizadas, cada uma com seus respectivos reagentes, NaOH e HCl.

Etapa II - Influência das diferentes concentrações de álcali e seu respectivo tempo de reação

Com base nos resultados da etapa I, na etapa II foi analisada a influência de diferentes concentrações de álcali, investigando o tempo de reação da solubilização. A concentração de sólidos na segunda etapa continuou a mesma, 20 g.L⁻¹. As espécies químicas dosadas para aumentar e neutralizar o pH também foram as mesmas (NaOH e HCl). No entanto, os pH investigados foram 10, 11 e 12, e os tempos de reação foram 0,25h, 0,5h, 1h, 3h, 6h, 9h, 15h, 24h, 36h, 48h, 96h, 144h, 192h, 240h, 384h, 528h e 720h, em temperatura ambiente (25 °C).

Os volumes necessários de HCl e NaOH a serem adicionados para atingir o pH 10 e 11 foram determinados pelo mesmo método aplicado para pH 12 na primeira etapa. Os volumes necessários para aumentar e diminuir o pH foram calculados e estão apresentados na Tabela 3.1. Nesse momento, 51 erlenmeyers foram separados em três grupos de 17 frascos, cada um. Cada grupo corresponde a cada pH investigado (10, 11 e 12) com sua respectiva dosagem (0,05; 0,10 e 0,25 gNaOH/gST). Posteriormente e semelhante à primeira etapa, 100 mL de lodo bruto foram adicionados em cada erlenmeyers e agitados a 200 rpm em uma mesa agitadora (New Brunswick Scientific, mod. G 33) à temperatura ambiente (25 °C) durante os 17 tempos de reação propostos. No final de cada tempo, a amostra de lodo pré-tratado era neutralizada com HCl.

Tabela 3.1. Dosagens de NaOH e HCl necessárias para o processo de solubilização ácida e alcalina.

pH	gNaOH/gST _{lodo}	mgHCl/gST _{lodo}
2	0,11	0,41
10	0,05	0,14
11	0,10	0,27
12	0,25	0,75

Etapa III - Influência da concentração de sólidos totais na solubilização química do lodo

Na terceira etapa, investigou-se a influência da concentração total de sólidos no pré-tratamento alcalino. De acordo com os resultados das etapas anteriores, o pré-tratamento alcalino com melhor nível de solubilização do lodo foi selecionado como o de melhor pH, no qual a etapa III foi realizada com foco na concentração de sólidos. Para melhor comparação, os tempos de reação 24 e 48 horas foram selecionados para esta etapa. O lodo utilizado teve a concentração de ST ajustada para 30 g.L⁻¹. A partir desta concentração utilizou-se água destilada para preparar amostras de lodo de 25 g.L⁻¹, 20 g.L⁻¹, 15 g.L⁻¹, 10 g.L⁻¹ e 5 g.L⁻¹. Na Tabela 3.2 são apresentados os valores gastos de água e de lodo para ajustar cada condição

desta etapa. A dosagem necessária de NaOH e HCl para cada condição também é apresentada na tabela.

Tabela 3.2. Variação dos sólidos totais e sua respectiva dosagem de NaOH e HCl.

ST (g.L ⁻¹)	Lodo (mL)	H ₂ O (mL)	gNaOH.gST _{lodo} ⁻¹	mgHCl.gST _{lodo} ⁻¹
30	100	0	0,38	1,11
25	83	17	0,32	0,94
20	67	33	0,25	0,75
15	50	50	0,19	0,57
10	33	67	0,13	0,38
5	17	83	0,07	0,18

Em 6 erlenmeyers respectivos a cada concentração de sólidos, foram adicionados os álcalis de acordo com a Tabela 3.2. Para preparar a mistura foi seguida a mesma metodologia das etapas anteriores, e agitado a 200 rpm numa mesa agitadora (New Brunswick Scientific, mod. G 33) em temperatura ambiente (25 ° C). O mesmo procedimento foi aplicado para o tempo de reação de 24 horas e para 48 horas. O processo de solubilização foi interrompido pela neutralização do pH com HCl.

Etapa IV – Aumento da biodegradabilidade.

Além dos testes físico-químicos aplicados para avaliar o potencial de solubilização de lodo, é importante que a biodegradabilidade da matéria orgânica liberada seja avaliada. Na última etapa (Etapa IV), o melhoramento da biodegradabilidade foi o foco da investigação. A ideia era investigar o ganho no processo biológico, então, para identificar o ganho real do pré-tratamento o teste respirométrico foi aplicado para a biodegradabilidade aeróbia. Enquanto que para a biodegradabilidade anaeróbia foi adotado o teste de potencial de biometanização (PBM). Portanto, o teste respirométrico e o PBM foram realizados para o lodo bruto e pré-tratado, selecionado como o melhor pelas etapas anteriores.

Teste respirométrico

Para avaliar o potencial de solubilização do lodo foi aplicado o teste respirométrico, o qual quantifica diretamente a biodegradabilidade da matéria orgânica liberada. A proposta do teste é acessível na literatura (VAN HAANDEL; CATUNDA, 1982; SPANJERS; VANROLLEGHEM, 1995; VANROLLEGHEM et al., 1999). O teste permite medir a taxa de consumo de oxigênio (TCO), como taxa de respiração, possibilitando quantificar separadamente a taxa de remoção de matéria orgânica rapidamente e lentamente biodegradável por organismos heterotróficos, além de permitir calcular as frações

catabolizada e anabolizada, durante o metabolismo bacteriano aeróbio (VAN HAANDEL; CATUNDA, 1982; DE SOUSA et al., 2013).

O respirômetro utilizado nessa pesquisa foi o modelo Beluga S32c do tipo aberto e semi-contínuo. O ensaio ocorre em um reator onde uma amostra de lodo ativado era aerada de forma intermitente com dois valores de referência (máximo e mínimo) para o oxigênio dissolvido (OD). Um agitador mecânico mantinha o lodo em suspensão nos períodos de tempo sem aeração. Um sensor de leitura de oxigênio dissolvido YSI (5718) e de temperatura acoplados ao respirômetro coletam os dados sistematicamente. O software controla o sistema de aeração e, quando a concentração de OD alcança o nível de referência inferior, o software calculará a variação da concentração de OD em relação ao tempo (TCO) e o aerador é novamente ativado para uma nova determinação da TCO. Os dados calculados fornecem uma curva conhecida como respirograma. A Figura 3.1 é um exemplo de respirograma obtido nesse trabalho. Os dados de OD e temperatura são armazenados constantemente e a TCO é calculada através de regressão linear expressa na equação 3.1.

$$TCO = \frac{dOD}{dt} = \frac{OD_{máx} - OD_{mín}}{\Delta t} \quad (\text{Eq.: 3.1})$$

TCO: Taxa de Consumo de Oxigênio ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$);

$OD_{máx}$: concentração de oxigênio dissolvido de referência superior ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$);

$OD_{mín}$: concentração de oxigênio dissolvido de referência inferior ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$);

Δt : variação do tempo (h).

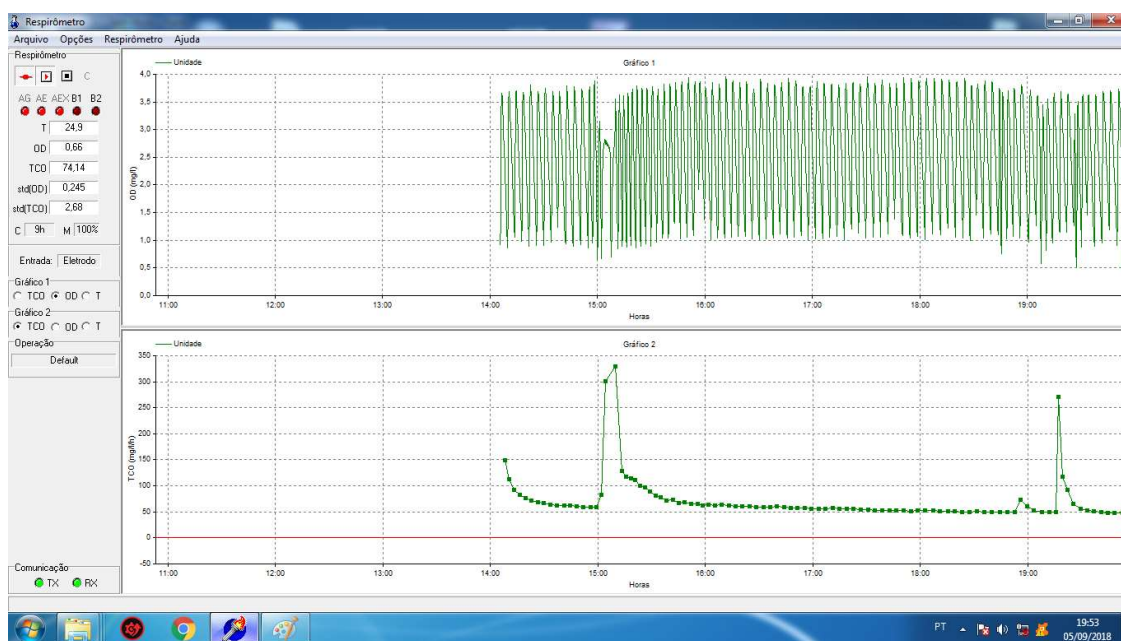


Figura 3.1. Respirograma de um dos testes biológicos realizado nesse trabalho, as amostras foram o lodo bruto e o pós-tratado.

Para inibir as bactérias autotróficas nitrificantes é necessário a adicionar de allylthiourea (ATU). No entanto, na ausência do ATU pode ser adotado uma idade de lodo reduzida e durante o ensaio testar se há atividade das bactérias autotróficas nitrificantes utilizando cloreto de amônia (NH_4Cl) e nitrito de sódio (NaNO_2).

Teste de potencial de biometanização (PBM)

O teste de produção de biometano (PBM) quantifica o potencial metanogênico de um determinado substrato. A maior solubilização do lodo ativado não é diretamente proporcional ao aumento da produção de metano, fator que limita os testes físico-químicos em quantificar o ganho bioenergético de um pré-tratamento acentua a relevância do teste PBM (HOLLIGER *et al.*, 2016). Este teste foi aplicado para quantificar o potencial de produção bioquímico de metano do lodo bruto e do solubilizado. O potencial de produção corresponde a quanto do substrato atingirá a forma reduzida de metano (CH_4).

O teste de PBM foi realizado seguindo o padrão estabelecido (ANGELIDAKI *et al.*, 2009), através de um sistema automatizado que foi desenvolvido no próprio laboratório. O ensaio é realizado em um reator fechado, projetado para não permitir o vazamento de gás, garantindo estabilidade na pressão interna. O reator deve ser vedado quando o teste inicia e aberto somente no final. Um sensor de pressão acoplado ao reator e conectado a uma placa Arduino é o manômetro digital (MPX5700AP) que registra sistematicamente a pressão interna do reator permitindo gerar um banco de dados contínuo e, assim, é possível representar graficamente o comportamento do aumento de pressão ao longo do tempo. Para o processo de incubação do teste, o volume total de líquido adequado ao reator foi previamente determinado (V_{total}), e a relação aplicada entre o substrato/inóculo foi de 1:2 (com base no SSV). Sabendo a concentração dos sólidos suspensos voláteis do substrato (SSV_S) e do inóculo (SSV_I), seus volumes requeridos, V_S e V_I , respectivamente, são facilmente calculados com as equações 3.2 e 3.3 são aplicadas.

$$V_S + V_I = V_{total} \quad (\text{Eq.: 3.2})$$

$$\frac{V_S \times SSV_S}{V_I \times SSV_I} = 0,5 \quad (\text{Eq.: 3.3})$$

Os resultados do teste de PBM são associados à cromatografia gasosa com detector de condutividade térmica para quantificação e caracterização de amostras de gás. É interessante notar que a base científica do método PBM é a degradação biológica anaeróbia,

portanto, o reator é mantido em incubadora em temperatura controlada (35 °C) e agitação constante até completar o teste, que tem o momento de término determinado quando a produção de gás torna-se insignificante.

O teste é finalizado quando se atinge pressão constante então, para concluir, o banco de dados gerado para representar graficamente o comportamento da pressão ao longo do tempo é salvo na planilha e calculado para convertê-lo na produção de metano ao longo do tempo, utilizando a equação 3.4.

$$PV = nRT$$

(Eq.: 3.4)

- P: Pressão (P);
- V: Volume (m³);
- n: Número de mols da amostra gasosa;
- R: Constante universal dos gases perfeitos;
- T: Temperatura (K).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pré-tratamento do lodo é realizado a fim de liberar o material intraflocular como consequência da ruptura do floco e também para viabilizar a biodegradação das SPE. O material orgânico dissolvido inclui diferentes tipos de compostos orgânicos poliméricos, como carboidratos, proteínas, ácidos orgânicos e alguns outros compostos de difícil biodegradação (ZHANG et al., 2013; MA et al., 2014), que foram confirmados nesse trabalho pelo aumento da fração solúvel. Assim, os resultados que apontam este aumento são apresentados e discutidos passo a passo, de acordo com a metodologia.

Etapa I - Efeitos do pré-tratamento químico (ácido e alcalino) na solubilização do lodo

Para comparar o pré-tratamento químico pelos métodos de solubilização alcalina e ácida, os resultados médios estão apresentados na Tabela 3.3. Ambos os métodos foram identificados como capazes de solubilizar o lodo, no entanto, o alcalino foi ainda mais eficaz do que o ácido. Comparando com o lodo não tratado (bruto), enquanto o COD para tratamento ácido aumentou 1,26 vezes, para o alcalino o aumento foi de 14,92 vezes. Os efeitos limitados da solubilização ácida foram relatados em trabalhos anteriores (SAHINKAYA et al., 2015), como a ausência de lise celular, ocorrendo apenas a quebra do floco do lodo (BI; LI; HU, 2014).

Tabela 3.3. A caracterização antes e após o pré-tratamento alcalino e ácido.

Parâmetros	Lodo bruto	Tratamento ácido (pH 2)	Tratamento alcalino (pH 12)
Carbono Orgânico Dissolvido (mg/L)	18.3	23.1	273.0
Sólidos Dissolvidos Totais (g/L)	0.967	5.710	10.020
Sólidos Dissolvidos Voláteis (g/L)	0.253	2.640	2.720
Sólidos Dissolvidos Fixos (g/L)	0.713	3.070	7.300
NTK (mg/L)	117.6	165.2	283.3
Fósforo Total (mg/L)	3.2	4.4	27.9
Proteína (mg/L)	54.65	178.12	2,620.82
Carboidrato (mg/L)	24.44	86.93	473.38

Por outro lado, a concentração de SDV teve um aumento significativo e similar em ambos os tipos de pré-tratamentos, atingindo 942,2% e 973,85% para tratamento ácido e alcalino, respectivamente. Isso representa 10,42 e 10,74 vezes para SDV enquanto que o SDF teve resultados diferentes em que o tratamento com ácido atingiu 4,3 vezes, em comparação com o lodo bruto, e 10,23 vezes para a solubilização alcalina. Ocorreram aumentos significativos nos SDF que podem ser explicados pela formação de sais a partir da adição de NaOH e HCl (METCALF & EDDY, 2004). No entanto, a queda de sólidos suspensos,

associada ao alto aumento de SDF na solubilização alcalina, aponta para uma liberação de material inorgânico aprisionado na estrutura do floco. Esses resultados estão de acordo com a literatura, que relatam uma diminuição no tamanho das partículas após solubilização alcalina (DOĞAN; SANIN, 2009; KIM et al., 2003; XIAO et al., 2015) e ácido (LIAO et al., 2002; WANG et al., 2012; GUO et al., 2014). Em pH baixo, há protonação do meio que inibe a agregação microbiana (LIAO et al., 2002; WANG et al., 2012). Assim, a ruptura do floco é limitada na solubilização ácida, enquanto que na alcalina, além de quebrar o floco, danifica a membrana celular.

Ratificando o melhor resultado alcalino, as frações solúveis de NTK e de fósforo total tiveram um aumento limitado de 1,40 e 1,38 vezes, respectivamente, para a solubilização ácida. Enquanto que a solubilização alcalina, comparada com o lodo bruto, alcançou 2,41 vezes para a concentração de NTK solúvel e 8,72 vezes para o fósforo total. Tais resultados indicam que uma fração interna do floco foi liberada e as condições alcalinas foram responsáveis por melhores resultados, podendo ser consequentes aos danos celulares. Estes resultados estão em acordo com Guo et al. (2014), que concluíram que a ruptura do SPE foi maior para o processo de solubilização com NaOH. Os danos das paredes celulares e membranas celulares também foram os mais altos.

A quebra de células no lodo favorece a biodisponibilidade de proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (KIM *et al.*, 2010). Assim, o aumento da fração solúvel nas concentrações de proteínas e carboidratos também foi investigado. No tratamento com ácido, as concentrações de proteínas e carboidratos foram 3,26 e 3,56 vezes maiores do que no lodo bruto, o que indica a ocorrência de despolimerização. Em contraste, o tratamento alcalino aumentou as concentrações de proteína em 48 vezes, enquanto as concentrações de carboidratos foram 19,4 vezes maiores do que o lodo bruto, comportamento semelhante ao de Xiao et al. (2015). Comparando estes resultados com a literatura, as dosagens de HCl para pré-tratamento ácido são efetivas na solubilização de DQO quando em baixos valores de pH, entre 1 e 2 (DEVLIN et al., 2011; SAHINKAYA, 2015). Porém, a solubilização de carboidratos e proteínas ainda é limitada 4 e 6 vezes, respectivamente (DEVLIN et al., 2011). Além disso, na solubilização alcalina, os aumentos de carboidratos corroboram com a literatura melhor que a solubilização ácida (GUO et al., 2014). Sobre as proteínas, a liberação de proteínas solúveis no tratamento alcalino foi quase 15 vezes maior que o ácido, o que

também está de acordo com a literatura, incluindo diferentes métodos de tratamento, como o ultrassom (SANHINKAYA et al., 2015).

Todos esses aumentos são consistentes uns com os outros, no entanto, comparando os resultados de ambos os tratamentos, a solubilização alcalina apresentou melhor liberação de subprodutos. Além disso, há pesquisas apontando que, apesar de o pré-tratamento ácido ser capaz de solubilizar a matéria orgânica, o pré-tratamento alcalino é relatado como mais eficaz (CHEN et al., 2007; GUO et al., 2014; MASPOLIM et al., 2015). A solubilização alcalina causa ruptura particularmente severa, e a adição de NaOH provoca uma alteração na composição do polímero em $\text{pH} > 9$, além disso, em altos valores de pH as ligações são quebras (SHENG et al., 2010). Assim, a conclusão da etapa I possibilitou que o método alcalino seja selecionado para as próximas etapas.

Etapa II - Influência das diferentes concentrações de álcali e seu respectivo tempo de reação

Variando o pH de 10, 11 e 12 unidades, objetivou-se selecionar o melhor pH para o processo de solubilização do lodo ativado em relação ao melhor tempo de reação, conforme explicado na metodologia. O pH proposto foi baseado na literatura (VLYSSIDES; KARLIS, 2004; DOĞAN; SANIN, 2009; PARK; HELLE; THRING, 2012; RANI et al., 2012; KAVITCHA et al., 2014), em que o pH menor que 10 unidades não resulta boa solubilidade do lodo.

Na Figura 3.2 o carbono orgânico dissolvido para pH 10, 11 e 12 é mostrado através do tempo, que é expresso em logaritmo. Curiosamente, os melhores resultados do pH 12 já são indicados no primeiro momento aos 15 minutos (0,25 h), e seu melhor comportamento é destacável ao longo do tempo, enquanto que nas outras condições, em pH 10 e 11, não ocorreu aumento significativo de carbono orgânico. Especialmente no pH 10, a pior solubilização foi observada desde os primeiros 15 min até o total de 720 horas, sendo o total acumulado no final de apenas 75,5 mgDOC.L⁻¹. Em pH 11, apesar de nos primeiros minutos os resultados estarem perto do resultado do pH 12, a diferença foi notável ao longo do tempo. Por outro lado, o aumento nas primeiras 9 horas em pH 12 foi de 10,93 vezes, o que representou uma adição de 200 mgDOC.L⁻¹ na fração solúvel. Após as 9 horas, o processo de aumento rápido da concentração desacelerou e, em 720 horas, o total alcançado foi de 322,7 mgCOD.L⁻¹. Um ganho quase da metade do que foi alcançado em 9 h.

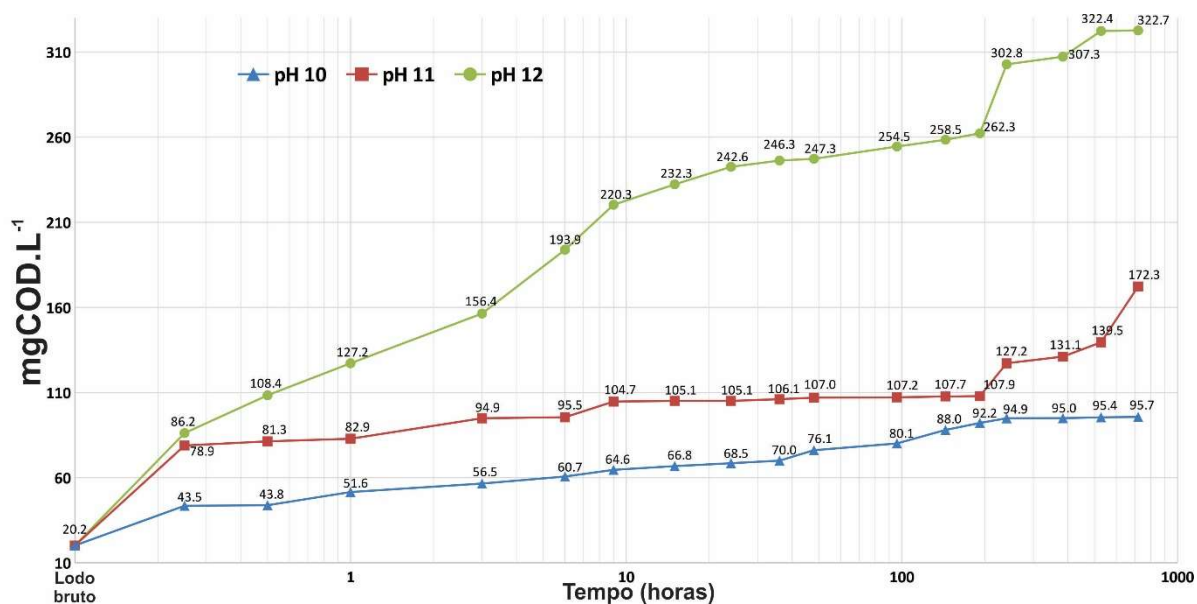


Figura 3.2. Influência do pH no comportamento da concentração de carbono orgânico dissolvido em função do tempo.

Os ensaios de concentração de sólidos dissolvidos (SD) em função do tempo estão resumidos na Figura 3.3. Os aumentos dos SD para as três condições indicaram que a solubilização alcalina aumentou a fração solúvel, o que pode ser correlacionado com a diminuição do tamanho de partícula demonstrada por Guo et al. (2014) concluindo que a ruptura do floco ocorreu no tratamento alcalino. Comparando com os resultados de COD da Figura 3.2, o comportamento da solubilização representado nos resultados dos SD está de acordo, para cada pH investigado. O melhor resultado em pH 12 também foi notável.

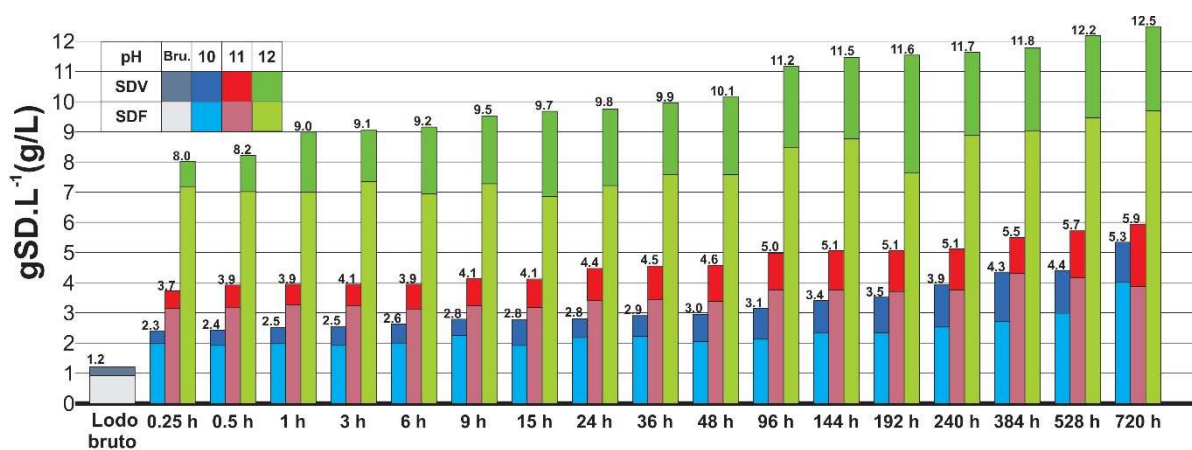


Figura 3.3. Concentração de sólidos dissolvidos antes e depois da adição de álcali e seu comportamento em função do tempo.

Na fração solúvel, os comportamentos para proteínas, carboidratos e fósforo corroboraram com os demais, sólidos e COD. Enquanto o pré-tratamento em pH 10 e 11 mantiveram uma reduzida solubilização, em pH 12, a maior liberação dos subprodutos

internos do floco também foi confirmada, o que é mostrado na Figura 3.4, com ensaio de proteínas e carboidratos, e na Figura 3.5, com ensaios de fósforo e o comportamento de NTK expresso por uma linha de tendência. Para o pré-tratamento em pH 12, em 9 horas as concentrações de proteínas e carboidratos se destacaram 1383 e 293 mg.L⁻¹, respectivamente, representando 15,2 e 24,4 vezes em comparação com o lodo bruto. Assumindo a quantidade liberada após 720 horas como o total, a concentração de proteína em 9 horas é de apenas 37,4%, e a metade foi alcançada pela primeira vez em 36 horas, 52,2%, apesar do tempo de reação ter sido 4 vezes maior. Chen et al. (2007), investigando a solubilização alcalina, relataram os melhores resultados para o maior pH e elevado tempo de reação. Apesar de terem trabalhado com uma máxima de pH 11 e 336 h, o ganho ao longo do tempo com pH elevado está de acordo com os resultados deste trabalho.

É notável que o pH 12 foi mais eficiente para romper os flocos de lodo e liberar o material orgânico intrafloco para a fração dissolvida. Os danos às SPE, paredes e membranas celulares são relatados como a razão para todo esse aumento da fração solúvel (VALO et al., 2004; BI; LI; HU, 2014; XU et al., 2018). A concentração total de fósforo (Fig. 3.5) aumentou imediatamente (0,25 h) no pH 12, no entanto, o pH 10 foi insignificante e em pH 11 os bons resultados apareceram após 528 h. A liberação de fósforo em pH elevado possibilita uma maior recuperação desse nutriente (BI; LI; HU, 2014; XU et al., 2018), em pH 12, o total liberado após 720 h foi de 34,24 mg.L⁻¹.

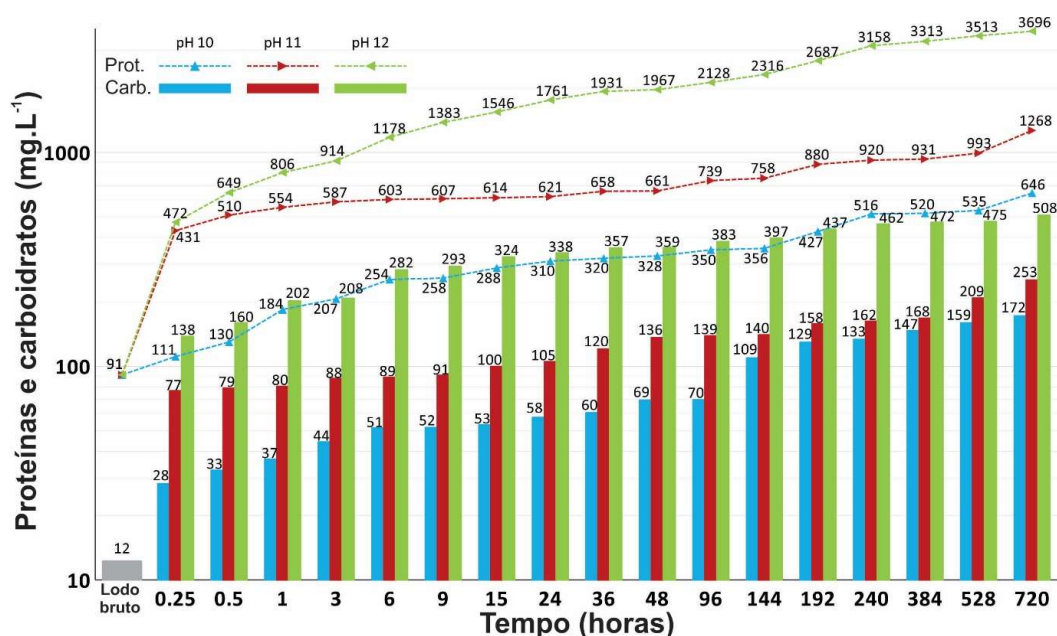


Figura 3.4. Concentração de proteínas e carboidratos antes e após a adição de álcalis e seu comportamento ao longo do tempo.

O tamanho médio de partícula do lodo durante o pré-tratamento alcalino foi relatado com uma diminuição significativa (DOĞAN; SANIN, 2009; KIM et al., 2003; XIAO et al., 2015), que indica a ruptura do floco e a degradação microbiana. Em relação à ruptura celular, Xiao et al. (2015) observaram na solubilização alcalina que a maioria dos danos na parede celular ocorrem em pH 10,00-12,50, e o dano na membrana celular ocorre em pH 9,00-12,50. Além disso, o rompimento da célula microbiana é geralmente acompanhado pelo aumento substancial das concentrações solúveis de fósforo, carbono, proteína e carboidrato (BOUGRIER et al., 2005; ZHAO et al., 2007). Assim, os resultados ao final desta etapa corroboraram com Doğan e Sanin (2009), os quais relataram que o pH 11 não causou dano celular significativo comparado ao pH 12-12,5.

O comportamento da concentração de NTK é mostrado na Figura 3.5 por linha de tendência. De maneira oposta a todos os outros parâmetros, a concentração de NTK foi menor após o tratamento alcalino e diminuiu mais ao longo do tempo de reação, resultados que podem ser explicados pelo processo de stripping. A remoção do gás nitrogênio para a atmosfera é um processo físico que ocorre através da conversão do íon amônio, que é uma função direta da magnitude do pH (LEITE et al., 2018). Assim, uma fração dos compostos orgânicos contendo nitrogênio liberado foi transformada em nitrogênio amoniacal por amonificação. O nitrogênio amoniacal na fase líquida existe na forma iônica (NH_4^+) e na forma molecular ou gasosa (NH_3). Quando ocorre a elevação do pH, o íon amônio e o amoníaco livre tendem a se mover para a formação de gás NH_3 (METCALF & EDDY, 2004). Assim, para magnitudes de pH superiores a 9,26, a tendência natural é que o nitrogênio ionizado seja convertido em gás de amônia, e a um pH de aproximadamente 11 unidades, a forma predominante de nitrogênio é não ionizada (LEITE et al., 2018). Então, quando o nitrogênio interno ao floco for sendo liberado no meio solúvel em $\text{pH} \geq 10$, a conversão para o gás de amônia deve estar acontecendo e, simultaneamente, ocorre a dessorção da amônia e, em seguida, escapa do meio. Essas explicações estão de acordo com a literatura (MA et al., 2012; BI; LI; HU, 2014).

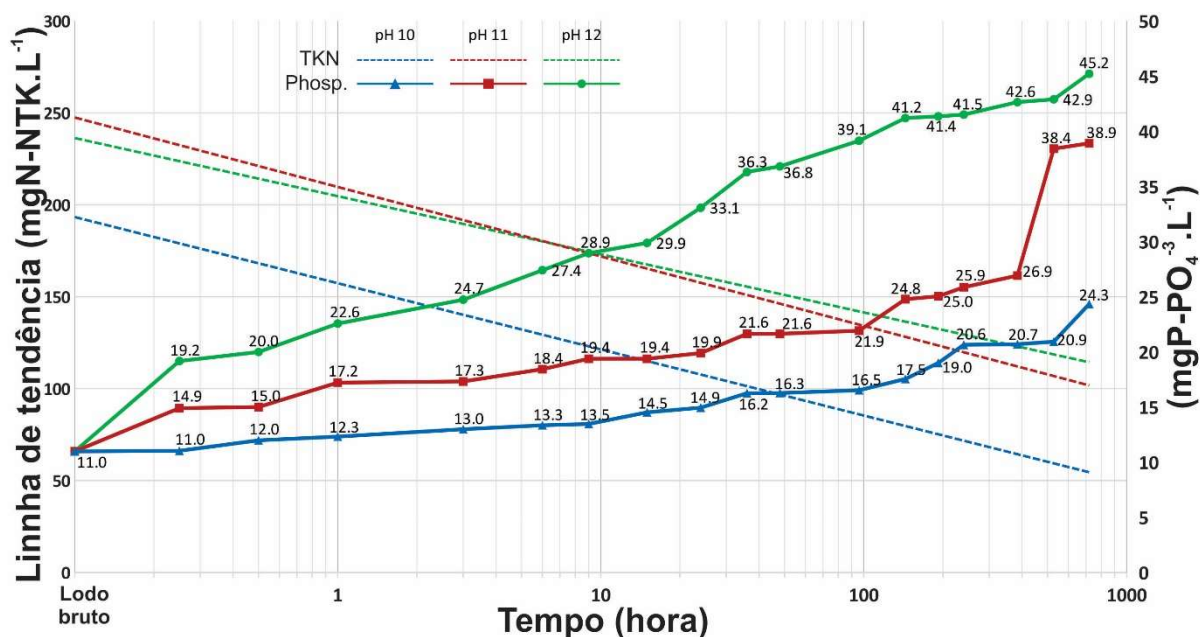


Figura 3.5. Concentração total de fósforo e linha de tendência de NTK, antes e depois da adição de álcali e seu comportamento ao longo do tempo.

Quanto ao tempo de reação alcalina, ocorreu influência importante nos resultados, como visto nas figuras (3.2, 3.3, 3.4 e 3.5), os efeitos de solubilização melhoraram ao longo do tempo para todos os diferentes pHs, apesar das diferentes proporções. Curiosamente, não há uniformidade de critérios entre as pesquisas quanto ao melhor tempo de reação alcalina. Li et al., (2008) relataram que o processo de solubilização alcalina se desenvolve em duas fases, uma fase inicial que é rápida (0,5 h), seguida de uma fase mais lenta. Sheng et al. (2006) propuseram que o floco de lodo possuía uma estrutura de múltiplas camadas com duas regiões evidentes e distintas: uma fortemente ligada, que é mais estável, e outra fracamente ligada, que é mais dispersível. Assim, a estrutura das SPE governa a estabilidade dos agregados microbianos que, no processo de tratamento alcalino, o estágio inicial rapidamente solubiliza a fração dispersível, enquanto o segundo estágio ao longo do tempo danifica a parte estável. A compreensão é que a resistência da associação microbiana reduz ao longo do tempo, o que é consequência o processo de despolimerização, e logo perde a capacidade de sobreviver às condições adversas. Dentre os tempos investigados, 9 horas parece uma das opções viáveis, porém, as proteínas neste momento correspondem a apenas 37% da maior capacidade de liberação alcançada após 720 horas, no entanto, em 48 horas representa 53%. Com base neste cálculo, a quantidade liberada por pré-tratamento alcalino em pH 12, após 48 h do tempo de reação, foi de 247,3 mgCOD.L⁻¹, 10,15 gSD.L⁻¹, 2,57 gSDV.L⁻¹, 7,58 gSDF.L⁻¹, 1967 mg.L⁻¹ de proteína, 359 mg.L⁻¹ de carboidratos e 36,8 mgP_{total}.L⁻¹, o que representa uma fração em

porcentagem do total liberado, após 720 horas, de 76,63%, 81,26%, 92,11%, 78,14%, 53,23%, 70,68% e 81,44%, respectivamente. Portanto, a conclusão desses dois primeiros passos é que o pré-tratamento alcalino é melhor que o ácido, e o pH mais alto é mais efetivo para solubilizar o lodo. Sobre o tempo de reação, fica claro que quando o tempo aumenta a solubilização também aumenta, no entanto, o melhor tempo de reação deve ser determinado conforme o objetivo do pré-tratamento e seu destino posterior. Assim, a aplicação posterior deve ser o responsável por selecionar o melhor tempo e, para ser viável a sua aplicação real, o fator econômico precisa ser analisado.

Etapa III - Influência da concentração de sólidos totais na solubilização química do lodo

Com base nos passos anteriores, o terceiro passo foi desenvolvido em condições alcalinas (pH 12), no entanto, para proporcionar uma melhor discussão, foram estabelecidos dois tempos de reação, 24 e 48 horas, selecionados com base na liberação de proteínas. Além disso, nesta etapa foi investigada a concentração de sólidos, que é outro fator que tem grande influência no desempenho de desintegração do lodo (SAHINKAYA et al., 2015). No entanto, é atípico encontrar artigos discutindo a influência da concentração de sólidos no pré-tratamento alcalino, o que torna este artigo único. Na Figura 3.6 está apresentada a influência de 6 concentrações distintas de sólidos (5, 10, 15, 20, 25, 30 g.L⁻¹) com 24 e 48 horas de tempo de reação, incluindo o lodo bruto sem tratamento alcalino. Os parâmetros medidos foram COD (Fig. 3.6a) NTK (Fig. 3.6b), fósforo total (P) (Fig. 3.6c) e sólidos dissolvidos e suas respectivas frações (Fig. 3.6d).

É importante ressaltar que, em relação a cada um dos parâmetros, a concentração da prova em branco (lodo bruto) aumenta proporcionalmente ao aumento da concentração de sólidos. No entanto, a proporção dos parâmetros para a concentração total de sólidos foi mantida: 0,92 mg DOC.gTS⁻¹, 5,9 mgNTK.gTS⁻¹, 0,16 mgP.gTS⁻¹, 48,33 mgSD.gTS⁻¹, 12,67 mg SVD.gTS⁻¹ e 35,67 mg SFD.gTS⁻¹.

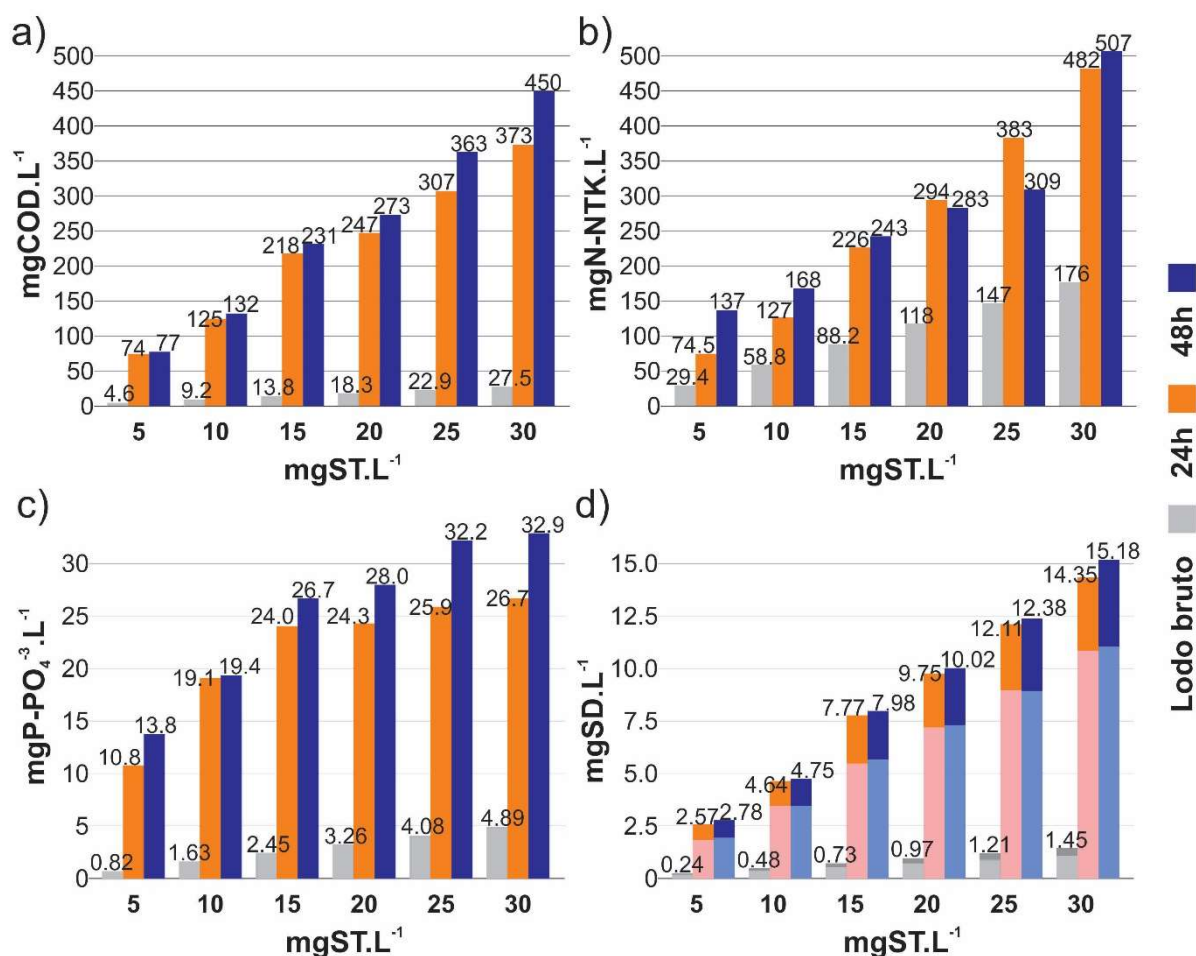


Figura 3.6. Em dois tempos de reação a influência da concentração de sólidos é apresentada para a) COD; b) NTK, c) fósforo total (P); d) sólidos dissolvidos e suas frações volátil e fixa.

As concentrações nas amostras tratadas não aumentaram proporcionalmente, mas a diferença para carbono orgânico (Fig. 3.6a) e sólidos dissolvidos (Fig. 3.6b) entre as diferentes concentrações de sólidos foram baixas. Como se vê na Figura 3.6a, a concentração de COD após o pré-tratamento para ST de 5 g.L⁻¹, 10 g.L⁻¹, 15 g.L⁻¹, 20 g.L⁻¹, 25 g.L⁻¹ e 30 g.L⁻¹ foi de 14,88 mg.gTS⁻¹, 12,46 mg.gTS⁻¹, 14,52 mg.gTS⁻¹, 12,36 mg.gTS⁻¹, 12,26 mg.gTS⁻¹ e 12,44 mg.gTS⁻¹ às 24 horas de tempo de reação e 15,48 mg.gTS⁻¹, 13,20 mg.gTS⁻¹, 15,43 mg.gTS⁻¹, 13,65 mg.gTS⁻¹, 14,54 mg.gTS⁻¹ e 14,99 mg.gTS⁻¹ para 48 horas, respectivamente. Observe que a maior solubilização foi realizada a 5 e 15 g.L⁻¹ para ambos os tempos de reação. No entanto, entre todas as concentrações de sólidos investigadas, a média de 24 horas foi de 13,15 mg.gST⁻¹ e 14,55 mg.gST⁻¹ por 48 h, enquanto o desvio padrão foi de 1,2 e 0,94, respectivamente. Esse desvio padrão implica em um coeficiente de variação aceitável, inferior a 10%, e um comportamento semelhante aconteceu com o SD e sua fração (Fig. 3.6d). Portanto, na faixa de concentração de sólidos estudada (5-30 g.L⁻¹), a desintegração do lodo

parece eficiente para o pré-tratamento alcalino em pH 12. Além disso, para as ETEs que solubilizam o lodo por pré-tratamento alcalino, é relevante saber se é possível concentrar os sólidos por desidratação e otimizar a dosagem da quantidade de álcali gasto.

Sobre o nitrogênio Kjeldahl total (Fig. 3.6b) e o fósforo total (Fig. 3.6c) a concentração aumentou com o aumento da concentração de sólidos para ambos os parâmetros e ambos os tempos de reação. No entanto, a razão entre a concentração de P e sólidos diminuiu significativamente com o aumento dos sólidos, isso para ambos os tempos de reação. O que não aconteceu com o NTK, que a razão média foi de 2,51 mgNTK.gST⁻¹ para 24 h e 2,94 mgNTK.gST⁻¹ por 48 h. O mesmo comportamento foi relatado anteriormente por Bi *et al.* (2014), que identificaram que a eficiência de liberação de PO₄⁻³ e NH₄⁺ diminuiu com o aumento da concentração de sólidos. Além disso, os autores relataram que a faixa de concentração de sólidos de 20.000 - 30.000 mg.L⁻¹ fornece maior liberação de PO₄⁻³ e NH₄⁺. Sabendo que o dano celular ocorreu (LI et al., 2008), a liberação de NTK foi principalmente de matéria orgânica nitrogenada, como proteínas. Portanto, o processo de stripping discutido na etapa II é uma explicação para esse comportamento. Entretanto, para o fósforo, Bi *et al.* (2014) forneceram uma explicação razoável, o teor de água no lodo é baixo em uma concentração elevada de sólidos, o que resulta na diminuição da lixiviação do material intracelular para a fase aquosa.

Na Figura 3.7 é mostrada a liberação de carboidratos e proteínas de acordo com a concentração de sólidos. O comportamento para ambos foi semelhante ao comportamento do fósforo, o que possibilita a mesma explicação para isso. Assim, os resultados deste último passo indicam que a concentração elevada de sólidos (30 g.L⁻¹) é a melhor opção para solubilizar o lodo devido a quantidade de álcali gasto para solubilizar ser seis vezes menor do que a quantidade para 5 g.L⁻¹. No entanto, a aplicação posterior do lodo é o melhor parâmetro para selecionar a melhor concentração de sólidos. Curiosamente, os resultados da etapa III demonstram que os efeitos de solubilização do método de pré-tratamento alcalino dependem de seus mecanismos inerentes mais do que a entrada específica de "energia".

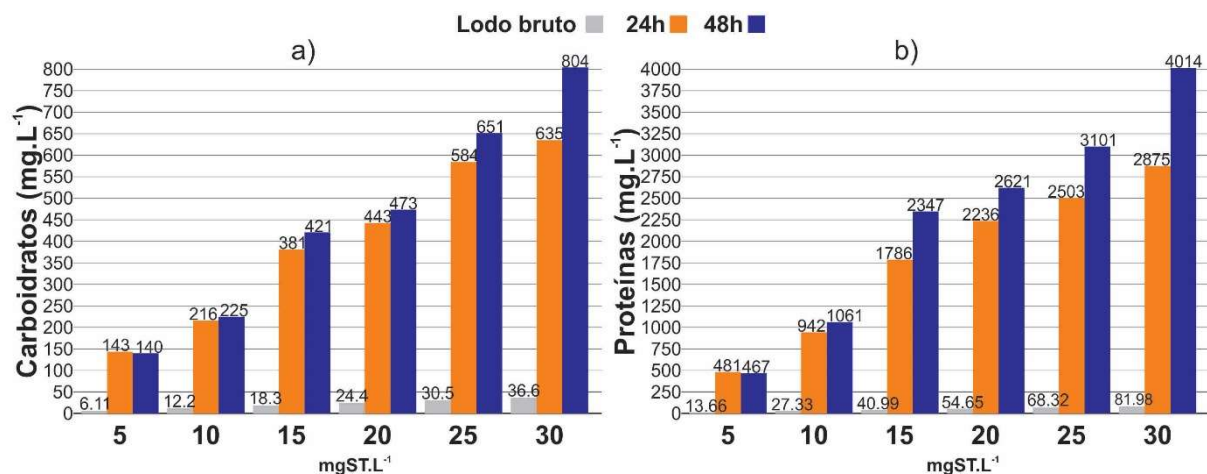


Figura 3.7. A influência da concentração de sólidos em dois tempos de reação diferentes para a) carboidratos; e b) proteínas.

Etapa IV – Aumento da biodegradabilidade.

Teoricamente, o metabolismo bacteriano no processo aeróbio é dividido em duas frações, um terço da matéria orgânica deve sofrer catabolismo oxidativo, enquanto dois terços devem formar nova massa bacteriana durante o anabolismo (MARAIS; EKAMA, 1976). A fração de matéria orgânica utilizada no catabolismo pode ser quantificada pelo consumo de oxigênio dissolvido, estequiometricamente 1 grama de oxigênio dissolvido consumido equivale a 1 grama de DQO oxidado (METCALF & EDDY, 2004). Na Tabela 3.4 são mostrados os resultados do teste respirométrico. A DQO filtrada (COD_f) é a quantidade de matéria orgânica disponível suscetível à oxidação, enquanto a DQO utilizada (COD_u) é a fração biodegradável da COD_f , a que foi metabolizada.

Tabela 3.4. Matéria orgânica metabolizada do lodo bruto e pré-tratado durante o teste respirométrico.

Substrato	DQO metabolizada durante o teste			Teste respirométrico				Taxa de consumo mgO ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹
	DQO _f (g.L ⁻¹)	DQO _u (g.L ⁻¹)	F _b (%)	DQO _{rb} (g.L ⁻¹)	DQO _{lb} (g.L ⁻¹)	F _{rb} (%)	F _{lb} (%)	
Lodo bruto	88.2	30.42	34.49	22.85	7.57	75.11	24.89	19.42
Lodo tratado	490	291.37	59.46	216.70	74.67	74.37	25.63	26.78

F_b: Fração de DQO biodegradada durante o teste;

DQO_f: DQO filtrada (mg.L⁻¹);

DQO_u: DQO utilizada (mg.L⁻¹);

DQO_{rb}: DQO rapidamente biodegradada (mg.L⁻¹);

DQO_{lb}: DQO lentamente biodegradada (mg.L⁻¹);

F_{rb}: Fração de DQO rapidamente biodegradada;

F_{lb}: Fração de DQO lentamente biodegradada.

É interessante notar que a DQO_f teve um aumento significativo após o pré-tratamento, 5,56 vezes mais que o lodo bruto, o que significa um aumento de 401,8 mg DQO_f . E a fração biodegradável acompanhou o crescimento, pois o lodo tratado (59,46%) foi superior à fração do lodo bruto (34,49%). Resultados que demonstram a predominância de matéria orgânica biodegradável após a solubilização alcalina. A média de DQO rapidamente biodegradável (DQO_{rb} = material solúvel) e DQO lentamente biodegradável (COD_{lb} = material particulado) foi de 22,85 mg e 7,57 mg para lodo bruto, e de 216,70 mg e 74,67 mg para lodo pré-tratado, respectivamente. Apesar da fração de DQO_{rb} (F_{rb}) e DQO_{lb} (F_{lb}) terem mantido porcentagem similares para o lodo bruto e pré-tratado, a taxa de consumo aumentou 1,38 vezes, confirmando que uma ampla oferta de material facilmente biodegradável foi proporcionada pela solubilização alcalina, rapidamente assimilada pelo metabolismo bacteriano. Assim, após o pré-tratamento, o lodo torna-se mais propenso a um tratamento biológico com menor tempo de retenção.

A notável melhoria da solubilização alcalina indicou uma assimilação rápida e superior do substrato pelo metabolismo bacteriano, o que torna viável o tratamento biológico. No entanto, embora os autores relatem uma relação entre a solubilização da DQO e a biodegradabilidade (BOUGRIER et al., 2008), há estudos que contradizem essa solubilização da DQO com a mesma ou menor produção de metano (DHAR et al., 2012; NAZARI et al., 2016; SAPKAITE et al., 2017). Portanto, o teste de PBM é necessário para avaliar o efeito de pré-tratamentos na solubilização para biodegradabilidade anaeróbia e seu respectivo potencial de biometanização. Esses testes foram realizados e são mostrados na Figura 3.8.

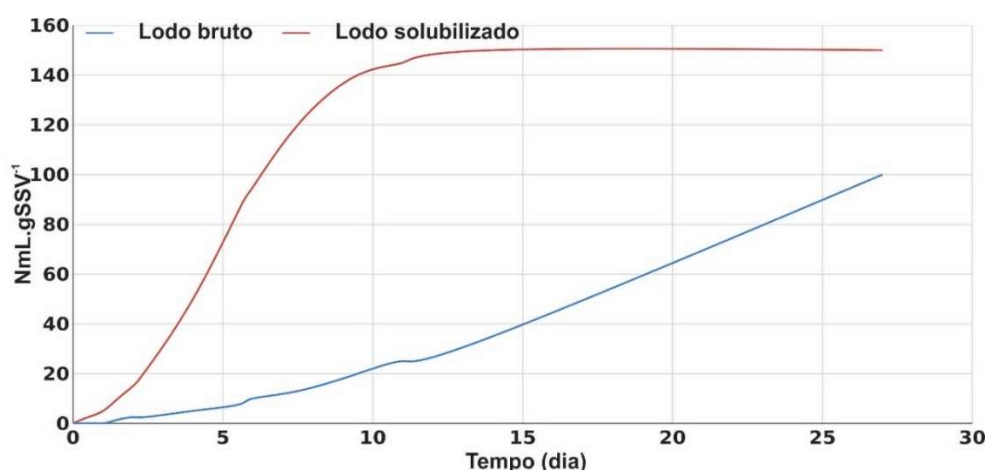


Figura 3.8. Curva de produção de biogás acumulado em função do tempo (dias), para lodo bruto e tratado.

A produção de biogás acumulado é apresentada em volume normalizado produzido por grama de SV do substrato. A melhor produção de metano após a solubilização já é notável no início do teste. Enquanto que o metano acumulado para o lodo pré-tratado atingiu o máximo de 150 mL.gSV^{-1} , em 13 dias (e o acúmulo após foi insignificante), o lodo bruto após 27 dias foi de 100 mL.gVS^{-1} . Nos mesmos 13 dias dos 150 mL.gSV^{-1} para o tratado, o lodo bruto ainda era só 35 mL.gSV^{-1} , apenas 23% do lodo pré-tratado. Apesar da eficiência da solubilização após 27 dias ter sido apenas 50%, nos 13 dias foi de 328%.

4. CONCLUSÕES

Este trabalho quantificou a adição de álcali como capaz de solubilizar eficazmente lodo biológico oriundo de esgotos domésticos. E constatou que comparando o tratamento ácido e alcalino, a melhor solubilização de lodo ocorre no tratamento em meio alcalino.

Na condição alcalina, entre pH 10, 11 e 12, quanto mais elevado é o pH maior é a taxa de solubilização do lodo. E, provavelmente, essa condição obtem maior eficiência no processo de despolimerização e consegue destruir as camadas mais internas dos flocos de lodo.

A solubilização alcalina foi igualmente eficiente tanto para a menor concentração de sólidos quanto para a maior, esse resultado destaca a independente capacidade do pré-tratamento alcalino, inerente ao álcali. O que é um ganho econômico possibilitando tratar maior concentração de sólidos com menor quantidade de álcali.

Quanto ao tempo de tratamento, expresso como tempo de reação, a solubilização aumenta de acordo com o aumento do tempo, porém a seleção do melhor tempo deve ser calculada de acordo com o custo benefício de sua aplicação.

A aplicação dos testes biológicos com o lodo pré-tratado mostrou um resultado de aumento significativo da taxa de solubilização. A melhor taxa de consumo de oxigênio, identificada no teste respirométrico foi em perfeito acordo com o teste PBM. Além disso, também apresentaram elevação da taxa de solubilização e consumo na digestão anaeróbia, indicando maior geração de metano.

5. REFERÊNCIAS

- ABELLEIRA-PEREIRA, J.M.; PÉREZ-ELVIRA, S.I.; SÁNCHEZ-ONETO, J.; DE LA CRUZ, R.; PORTELA, J.R.; NEBOT, E. Enhancement of methane production in mesophilic anaerobic digestion of secondary sewage sludge by advanced thermal hydrolysis pretreatment. **Water Research**. v. 71, p. 330-340, 2015.
- APHA-American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**: 22 ed. Washington, 2012.
- APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGRÈVE, J.; DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**. v. 34, p. 755-781, 2008.
- AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 10, n. 2, p. 152-161, 2015.
- BARJENBRUCH, M.; KOPFLOW, O. Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge. **Advances in Environmental Research**. v. 7, p. 715-720, 2003.
- BI, W.; LI, Y.; HU, Y. Recovery of phosphorus and nitrogen from alkaline hydrolysis supernatant of excess sludge by magnesium ammonium phosphate. **Bioresource Technology**. v. 166, p. 1-8, 2014.
- BOUGRIER, C.; ALBASI, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. **Chem. Eng. Process. Process Intensif**. v. 45, p. 711–718, 2006.
- BOUGRIER, C.; CARRERE, H.; DELGENES, J. P. Solubilization of waste-activated sludge by ultrasonic treatment. **Chem. Eng. J.** v. 106, p. 163–169, 2005.
- BOUGRIER, C.; DELGENE'S, J.P.; CARRERE H. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal**. v. 139, p. 236–244, 2008.
- CAMPO, G.; CERUTTI, A.; ZANETTI, M.; SCIBILIA, G.; LORENZI, E.; RUFFINO, B. Enhancement of waste activated sludge (WAS) anaerobic digestion by means of pre- and intermediate treatments. Technical and economic analysis at a full-scale WWTP. **Journal of Environmental Management**. v. 216, p. 372-382, 2018.
- CARRÈRE, H.; DUMAS, C.; BATTIMELLI, A.; BATSTONE, D. J.; DELGENÈS, J. P.; STEYER, J. P.; FERRER, I. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. **J Hazard Mater**. v. 183, p. 1–15, 2010.
- CELLA, M. A.; AKGUL, D.; ESKICIOGLU, C. Assessment of microbial viability in municipal sludge following ultrasound and microwave pretreatments and resulting impacts on the efficiency of anaerobic sludge digestion. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** p. 1–14, 2015.

CHEN, Y. G.; JIANG, S.; YUAN, H. Y.; ZHOU, Q.; GU, G. W. Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs. **Water Research**. v. 41, p. 683–689, 2007.

CHO, H. U.; PARK, S. K.; HA, J. H.; PARK, J.M. An innovate sewage sludge reduction by using a combined mesophilic anaerobic and thermophilic aerobic process with thermal-alkaline treatment and sludge recirculation. **Journal of Environmental Management**. v. 129, p. 274-282, 2013.

CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V.; YOU, C. S.; Tay, J. H. ‘Weak’ ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids. **Water Res.** v. 36, p. 2681–2688, 2002.

DE SOUSA, J. T.; MINÁ, V. G.; LOPES, W. S.; LEITE, V. D.; DE OLIVEIRA, M. F. Treatment of wastewater using a sequencing batch reactor. **Environmental Technology**. v. 34, n.8, p. 1035–1042, 2013.

DE VALK, S.; KHADEM, A. F.; FOREMAN, C. M.; VAN LIER J. B.; DE KREUK, M. K. Physical and biochemical changes in sludge upon *Tubifex tubifex* predation. **Environmental Technology**. v. 8, n. 12, p. 1524-1538, 2016.

DEVLIN, D. C.; ESTEVES, S. R. R.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A.J. The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge. **Bioresour. Technol.** v. 102, p. 4076–4082, 2011.

DHAR, B. R.; NAKHLA, G.; RAY, M. B. Techno-economic evaluation of ultrasound and thermal pretreatments for enhanced anaerobic digestion of municipal waste activated sludge. **Waste Manag.** v. 32, p. 542–549, 2012.

DOĞAN, I.; SANIN, F. D. Alkaline solubilization and microwave irradiation as a combined sludge disintegration and minimization method. **Water Res.** v. 43, p. 2139–2148, 2009.

DOGSA, I.; KRIECHBAUM, M.; STOPAR, D.; LAGGNER, P. Structure of bacterial extracellular polymeric substances at different pH values as determined by SAXS. **Biophys. J.** v. 89, p. 2711–2720, 2005.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. v. 28, p. 350-356, 1956.

ELEFSINIOTIS, P.; OLDHAM, W.K. Substrate degradation patterns in acid phase anaerobic digestion of municipal primary sludge. **Environmental Technology**. v.15, p. 741–751, 1994.

ELLIOTT, A.; MAHNOOD, T. Pretreatment technologies for advancing anaerobic digestion of pulp and paper biotreatment residues. **Water Research**. v. 41, p. 4273-4286, 2007.

ERDEN, G.; DEMIR, O.; FILIBELI, A. Disintegration of biological sludge: Effect of ozone oxidation and ultrasonic treatment on aerobic digestibility, **Bioresour Technol.** v. 101, p. 8093–8098, 2010.

FENG, L.; WANG, H.; CHEN, Y.; WANG, Q. Effect of solids retention time and temperature on waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under alkaline conditions in continuous-flow reactors. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 44-49, 2009.

FERRER, I.; CLIMENT, M.; BACZA, M.M.; ARTOLA, A.; VAZQUEZ, F.; FONT, X. Effect of sludge pretreatment on thermophilic anaerobic digestion. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. v. 79, p. 11197-11203, 2006.

FOLADORI, P.; ANDREOTTOLA, G.; ZIGLIO, G. Sludge Reduction Technologies in Wastewater Treatment Plants, 2010.

FRØLUND, B.; GRIEBE, T.; NIELSEN, P. H. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. **Applied Microbiology Biotechnology**. v. 43, p. 755–761, 1995.

GONZALEZ, A.; HENDRIKS, A. T. W. M.; VAN LIER, J. B.; DE KREUK, M. Pre-treatments to enhance the biodegradability of waste activated sludge: elucidating the rate limiting step. **Biotechnology Advances**. v. 36, p. 1434-1469, 2018.

GUO, X., LIU, J., XIAO, B. Evaluation of the damage of cell wall and cell membrane for various extracellular polymeric substance extractions of activated sludge. **J. Biotechnol.** v. 188, p. 130–135, 2014.

JAIN, S.; JAIN, S.; WOLF, I. T.; LEE, J.; TONG, Y. W. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 52, p. 142-154, 2015.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. ABES, 6ª ed. p. 1050, Rio de Janeiro – RJ, 2011.

KAVITCHA, S.; JAYASHREE, C.; ADISH, S. K.; KALIAPPAN, S.; RAJESH, B. J. Enhancing the functional and economical efficiency of a novel combined thermo chemical dispenser disintegration of waste activated sludge for biogas production. **Bioresource Technology**. v. 173, p. 32-41, 2014.

KIM, D. H.; JEONG, E.; OH, S. E.; SHIN, H. S. Combined (alkaline + ultrasonic) pretreatment effect on sewage sludge disintegration. **Water Research**. v. 44, p. 3093-3100, 2010.

KIM, J.; PARK, C.; KIM, T. H.; LEE, M.; KIM, S.; KIM, S. W., LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **J. Biosci. Bioeng.** v. 95, p. 271–275, 2003.

KOPP, J.; MULLER, J.; DICHTL, N.; SCHWEDES, J. Anaerobic digestion and dewatering characteristics of mechanically disintegrated excess sludge. **Water Science Technology**, v. 36, p.129–136, 1997.

- KROISS, H. What is the potential for utilizing the resources in sludge? **Water Sci. Technol.** v. 49, p. 1–10, 2004.
- LEE, S. Y.; CHO, J. M.; CHANG, Y. K.; OH, Y. K. Cell disruption and lipid extraction for microalgal biorefineries: A review. **Bioresource Technology.** v. 244, p. 1317-1328, 2017.
- LEITE, V. D.; PAREDES, J. M. R.; SOUSA, T. A. T.; LOPES, W. S.; SOUSA, J. T. Ammoniacal Nitrogen Stripping From Landfill Leachate at Open Horizontal Flow Reactors. **Water Environment Research.** v. 90, p. 387-394, 2018.
- LI, H.; JIN, Y. Y.; MAHAR, R.; WANG, Z. Y.; NIE, Y. F. Effects and model of alkaline waste activated sludge treatment. **Bioresource Technology.** v. 99, p. 5140–5144, 2008.
- LIANG, P.; HUANG, X.; QIAN, Y. Excess sludge reduction in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*. **Biochem. Eng. J.**, v. 28, p. 117–122, 2006.
- LIAO, B. Q.; ALLEN, D. G.; LEPPARD, G. G.; DROPPA, I. G.; LISS, S. N. Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs. **J. Colloid Interface Sci.** v. 249, 372–380, 2002.
- LIN, J. G.; CHANG, C. N.; CHANG, S. C. Enhancement of anaerobic digestion of waste activated sludge by alkaline solubilization. **Bioresource Technology.** v. 162, p. 85-90, 1997.
- LIU, Y.; LIU, H.; CUI, L.; ZHANG, K. The ration of food-to-microorganism (F/M) on membrane fouling of anaerobic membrane bioreactors treating low-strength wastewater. **Dessalination.** v. 297, p. 97-103, 2012.
- MA, D.; GAO, B.; XIA, C.; WANG, Y.; YUE, Q.; LI, Q. Effects of sludge retention times on reactivity of effluent dissolved organic matter for thrialomethane formation in hybrid powdered activated carbon membrane bioreactors. **Bioresource Technology.** v. 166, p. 381-388, 2014.
- MARAIS, G. R.; EKAMA, G. A. The activated sludge process part I – steady state behavior. **Water SA.** v. 2, p. 164–200, 1976.
- MASON, C.; HAMER, G.; BRYERS, J. The death and lysis of microorganisms in environmental processes, **FEMS Microbiol. Lett.** v. 39, p. 373–401, 1986.
- MASPOLIM, Y.; ZHOU, Y.; GUO, C.; XIAO, K.; NG, W. J. Comparison of single-stage and two-phase anaerobic sludge digestion systems – Performance and microbial community dynamics. **Chemosphere.** v. 140, p. 54–62, 2015.
- MASPOLIM, Y.; ZHOU, Y.; GUO, C.; XIAO, K.; NG, W. J. The effect of pH on solubilization of organic matter and microbial community structures in sludge fermentation. **Bioresource Technology.** v. 190, p. 289-298, 2015.
- NAZARI, L.; YUAN, Z.; SANTORO, D.; SARATHY, S.; HO, D.; BATSTONE, D.; XU, C. (CHARLES), RAY, M. B. Low-temperature thermal pre-treatment of municipal wastewater

sludge: Process optimization and effects on solubilization and anaerobic degradation. **Water Res.** v. 113, p. 111–123, 2016.

NEYENS, E.; BAEYENS, J.; CREEMENS, C. Alkaline thermal sludge hydrolysis. **Journal of Hazardous Materials.** v. B97, p. 295-314, 2003.

NEYENS, E.; BAEYENS, J.; DEWIL, R.; DE HEYDER, B. Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. **J. Hazard. Mater.** v. 106, p. 83–92, 2004.

NOYOLA, A.; PADILLA-RIVERA, A.; MORGAN-SAGASTUME, J.M.; GÜERECAL.P.; HERNÁNDEZ-PADILLA F. Typology of municipal wastewater treatment technologies in Latin America. **Clean Soil Air Water.** v. 40, n. 9, p. 926–932, 2012.

OMOIKE, A.; CHOROVER, J. Spectroscopic study of extracellular polymeric substances from *Bacillus subtilis*: Aqueous chemistry and adsorption effects. **Biomacromolecules.** v. 5, p. 1219–1230, 2004.

PARK, N. D.; HELLE, S. S.; THRING, R. W. Combined alkaline and ultrasound pre-treatment of thickened pulp mill waste activated sludge for improved anaerobic. **Biomass and bioenergy.** v. 46, p. 750-756, 2012.

PILLI, S.; BHUNIA, P.; YAN, S.; LEBLANC, R. J.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y. Ultrasonic pretreatment of sludge: a review. **Ultrason. Sonochem.** v. 18, p. 1–18, 2011.

PILLI, S.; YAN, S.; TYAGI, R. D. et al. Thermal pretreatment of sewage sludge to enhance anaerobic digestion: a review. **Crit Rev Environ Sci Technol.** v. 45, p. 669–702., 2015.

RANI, R. U.; KALIAPPAN, S.; KUMAR, S. A.; BANU, J. R. Combined treatment of alkaline and disperser for improving solubilization and anaerobic biodegradability of dairy waste activated sludge. **Bioresource Technology.** v. 126, p. 107-116, 2012.

ROSA, A. P.; CHERNICHARO, C. A. L.; DE MELO, G. C. B. Contribuição para o aproveitamento energético do lodo de ETEs em processos térmicos. **Revista DAE.** v. 63, p. 55-62, 2015.

RUFFINO, B.; CAMPO, G.; GENON, G.; LORENZI, E.; NOVARINO, D.; SCIBILIA, G.; ZANETTI, M. Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge in a wastewater treatment plant by means of mechanical and thermal pre-treatments: Performance, energy and economical assessment. **Bioresour. Technol.** v. 175, p. 298–308, 2015.

SAHINKAYA, S. Disintegration of municipal waste activated sludge by simultaneous combination of acid and ultrasonic pretreatment. **Process Safety and Environmental Protections.** v. 93, p. 201-205, 2015.

SALSABIL, M. R.; LAURENT, J.; CASELLAS, M.; DAGOT, C. Techno-economic evaluation of thermal treatment, ozonation and sonication for the reduction of wastewater biomass volume before aerobic or anaerobic digestion. **J. Hazard. Mater.** v. 174, p. 323–333, 2010.

SAPKAITE, I.; BARRADO, E.; FDZ-POLANCO, F.; PÉREZ-ELVIRA, S. I. Optimization of a thermal hydrolysis process for sludge pre-treatment. **J. Environ. Manage.** 192, 25–30, 2017.

SHENG, G. P.; YU, H. Q. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using 3-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. **Water Res.** v. 40, p. 1233–1239, 2006.

SHENG, G. P.; YU, H. Q.; LI, X. Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. **Biotechnology Advances.** v. 26, p. 882-894, 2010.

SHENG, G. P.; YU, H. Q.; YU, Z. Extraction of extracellular polymeric substances from the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas acidophila*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 67, p. 125–130, 2005

SPANJERS H.; VANROLLEGHEM P. Respirometry as a tool for rapid characterisation of wastewater and activated sludge. **Water Science and Technology.** v. 31, n. 2, p. 105–114, 1995.

SPONZA, D. T. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions, **Enzyme Microbial Technology.** v. 32 p. 375–385, 2003.

STUCKEY, D. C.; MCCARTY, P. L. The effect of thermal pretreatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. **Water Res.** v. 18, p. 1343–1353, 1984.

SUN, F.; XIAO, K.; ZHU, W.; WITHANAGE, N.; ZHOU, Y. Enhanced sludge solubilization and dewaterability by synergistic effects of nitrite and freezing. **Water Research.** v. 130, p. 208-214, 2018.

SUN, R.; ZHOU, A.; JIA, J.; LIANG, Q.; LIU, Q.; XING, D.; REN, N. Characterization of methane production and microbial community shifts during waste activated sludge degradation in microbial electrolysis cells. **Bioresource Technology.** v. 175, p. 68-74, 2015.

TCHOBANOGLOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D. METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: treatment and reuse.** 4 ed. New York, McGraw-Hill International edition, 2004.

TIAN, X.; WANG, C.; TRZCINSKI, A. P.; LIN, L.; NG, W. J. Insights on the solubilization products after combined alkaline and ultrasonic pre-treatment of sewage sludge. **Journal of Environmental Sciences.** v. 29, p. 97-105, 2014.

TIEHM, A.; NICKEL, K.; ZELHORN, M.; NEIS, U. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. **Water Res.** v. 35, p. 2003–2009, 2001.

TSADILAS, C.; SAMARAS, V.; EVANGELOU, E.; SHAHEEN, S. M. Influence of fly ash and sewage sludge application on wheat biomass production, nutrients availability, and soil properties. **International Journal of Coal Science Technology.** n. 2, p. 221-226, 2014.

- VALO, A., CARRÈRE, H., DELGENES, J. P. Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. v. 79, p.1197-1203, 2004.
- VAN HAANDEL, A. C.; CATUNDA, P. F. C. Determinação da taxa de consumo de oxigênio. **Revista Engenharia Sanitária**. v. 21, n. 4, p. 481-488, 1982.
- VANROLLEGHEM, P.A., SPANJERS, H., PETERSEN, B., GINESTET, P., AND TAKACS, I. Estimating (combinations of) Activated Sludge Model No.1 parameters and components by respirometry. **Water Science and Technology**. v. 39, n. 1, p. 195–215, 1999.
- VAXELAIRE, S.; GONZE, E.; MERLIN, G.; GONTHIER, Y. Reduction by sonication of excess sludge production in a conventional activated sludge system: Continuous flow and lab-scale reactor. **Environ. Technol.** v. 29, p. 1307- 1320, 2008.
- VLYSSIDES, A. G.; KARLIS, P. K. Thermal-alkaline solubilization of waste activated sludge as a pre-treatment stage for anaerobic digestion. **Bioresource Technology**. v. 91, p. 201-206, 2004.
- WANG, L. L.; WANG, L. F.; REN, X. M.; YE, X. D.; LI, W. W.; YUAN, S. J.; SUN, M.; SHENG, G. P.; YU, H. Q.; WANG, X. K.; pH dependence of structure and surface properties of microbial EPS. **Environ. Sci. Technol.** v. 46, p. 737–744, 2012.
- WANG, L.; MATTSSON, M.; RUNDSTEDT, J.; KARLSSON, N. **Different pretreatments to enhance biogas production**. Master of science thesis. Halmstad University, 2011.
- WANG, Q.; JIANG, G.; YE, L.; YUAN, Z. Enhancing methane production from waste activated sludge using combined free nitrous acid and heat pre-treatment. **Water Res.** v. 63, p. 71–80, 2014.
- WAWRZYNCZYK, J.; RECKTENWALD, M.; NORRLÖW, O.; DEY, E.S. Solubilisation of sludge by combined chemical and enzymatic treatment. **African Journal of Biotechnology**.v. 6, n. 17, p. 1994-1999, 2007.
- WEEMAES, M.; VERSTRAETE, W. Evaluation of current wet sludge disintegration techniques. **Journal of Chemical Technology Biotechnology**. v. 73, p. 83–92, 1998.
- WEI, W.; WANG, Q.; ZHANG, L.; LALOO, A.; DUAN, H.; BATSTONE, D. J.; YUAN, Z. Free nitrous acid pre-treatment of waste activated sludge enhances volatile solids destruction and improves sludge dewaterability in continuous anaerobic digestion. **Water Research**. v. 130, p. 13-19, 2018.
- WILÉN, B. M.; JIN, B.; LANT, P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. **Water Res.** 37, 2127–2139, 2003.
- XIAO, B.; LIU, C.; LIU, J.; GUO, X. Evaluation of the microbial cell structure damages in alkaline pretreatment of waste activated sludge. **Bioresour. Technol.** v. 196, p. 109–115, 2015.

XU, D.; ZHONG, C.; YIN, K.; PENG, S.; Zhu, T.; CHENG, G. Alkaline solubilization of excess mixed sludge and the recovery of released phosphorus as magnesium ammonium phosphate. **Bioresource Technology**. v. 249, p. 783-790, 2018.

YU, G. H.; HE, P. J.; SHAO, L. M.; ZHU, Y. S. Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasonic pre-treatment. **Water Res.** v. 42, p. 1925–1934, 2008.

ZAHEDI, S.; ICARAN, P.; YUAN, Z.; PIJUAN, M. Assessment of free nitrous acid pre-treatment on a mixture of primary sludge and waste activated sludge: Effect of exposure time and concentration. **Bioresource Technology**. v. 216, p. 870-875, 2016.

ZAHEDI, S.; ROMERO-GÜIZA, M.; ICARAN, P.; YUAN, Z.; PIJUAN, M. Optimization of free nitrous acid pre-treatment on waste activated sludge. **Bioresource Technology**. v. 252, p. 216-220, 2018.

ZHANG, Y.; ZHANG, P.; GUO, J.; MA, W.; XIAO, L. Spectroscopic analysis and biodegradation potential study of dissolved organic matters in sewage sludge treated with high-pressure homogenization. **Bioresour Technol.** v. 135, p. 616-621, 2013.

ZHAO, Y. X., YIN, J., YU, H. L., HAN, N., TIAN, F. J. Observations on ozone treatment of excess sludge. **Wat. Sci. Technol.** v. 56, n. 9, p. 167–175, 2007.

ZHOU, A; ZHANG, J; VARRONE, C; WEN, K; WANG, G; LIU, W; WANG, A; YUE, X. Process assessment associated to microbial community response provides insight on possible mechanism of waste activated sludge digestion under typical chemical pretreatments. **Energy**. p. 1-11, 2017.

CAPÍTULO IV

Solubilização enzimática de lodo aeróbio

1. INTRODUÇÃO

Diferentes estratégias de redução, ou de solubilização visando aumentar sua biodisponibilidade como fonte renovável de energia estão em constante desenvolvimento (GONZALEZ et al., 2018). Dentre essas tecnologias de solubilização a aplicação direta de enzimas tem sido proposto (LAGERKVIST; CHEN, 1993; PARMAR et al., 2001; LA COUR JANSEN et al., 2004; ZABRANSKA et al., 2006; WAWRZYNCZYK et al., 2007; GUO; XU, 2011). As enzimas foram potencialmente hábeis para solubilizar as SPE (DEY et al., 2006), tanto que a adição de enzimas ao processo de digestão anaeróbia foi reportada como efetivo, melhorando a biodegradabilidade do lodo e reduzindo o tempo de retenção dos sólidos no reator (WAWRZYNCZYK et al., 2008), além de ser capaz de reduzir os custos de descarte (RONJA, 2008). As enzimas, que são parte fundamental do metabolismo celular, são catalizadoras dos processos biológicos produzidos pelos próprios organismos. Podem ser intracelulares (endoenzimas) ou extracelulares (exoenzimas), no entanto as exoenzimas ligadas à superfície celular são classificadas de ectoenzimas, porém, nos agregados microbianos, as exoenzimas podem estar adsorvidas nas SPE (FRØLUND et al., 1995; VAVILIN et al., 1996; CADORET et al., 2002; BURGESS; PLETSCHKE, 2008). Apesar de ser um pré-tratamento químico, no entanto sua natureza é biológica, essa realidade acaba sendo uma vantagem frente aos demais processos químicos, que é a não geração final de material recalcitrância (AHUJA et al., 2004).

O presente trabalho investiga a hipótese de solubilizar a predominante fração de difícil biodegradabilidade do lodo com a adição de enzimas. Investiga a limitação da atividade enzimática e sua combinação em série com tratamento térmico que visam aumentar o contato das enzimas hidrolíticas com o material intraflocular com o intuito de melhorar a relação enzima/substrato. O objetivo da pesquisa foi investigar os efeitos da protease e da lipase na redução do lodo, buscando o reaproveitamento do material solubilizado como fonte renovável de subprodutos. A principal justificativa para o uso de protease se relaciona com os altos níveis de proteína presentes no lodo, quanto a lipase foi devida da fração de lipídios presente no lodo ser um limitante na hidrólise celular. Diferentes condições de pré-tratamento foram propostas para identificar os efeitos: (I) do tempo de reação enzimática; (II) da solubilização enzimática e sua limitação; (III) da concentração dos ST (relação enzima substrato); e (IV) do aumento da biodisponibilidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O aparato experimental foi instalado, desenvolvido e monitorado na EXTRABES (Estação Experimental de Tratamentos Biológico de Esgoto Sanitário), no laboratório pertencente ao departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Esse laboratório situa-se na cidade de Campina Grande no estado da Paraíba, e está a aproximadamente 512 metros de altitude em relação ao nível do mar. Nessa área se localizava a antiga depuradora da Companhia de Águas e Esgotos da Paraíba (CAGEPA), que era responsável por tratar 70% do esgoto do município na década de 70, e ainda hoje passa pelo local o interceptor leste. Desse interceptor que é captado o esgoto para alimentação dos sistemas operados no laboratório da EXTRABES.

2.1. Lodo e enzimas

O lodo utilizado no procedimento experimental foi produzido em um reator de lodo ativado operado em regime de bateladas sequenciais alimentado com esgoto municipal. Esse reator operava com 3 ciclos de 8 horas, era alimentado com 20 litros de esgoto do interceptor leste a cada batelada. Com um fluxo de oxigênio de $9 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, a aeração e homogeneização eram realizadas por um compressor de ar conectado a um conjunto de difusores. O reator era operado com duas fases, aeróbia e anaeróbia, sendo 2 horas em regime anaeróbio mantido em homogeneização, e 5 horas de aeração, e para o procedimento de encerramento do ciclo a decantação foi programada com um tempo de descanso de 0,75 hora, seguido do descarte do sobrenadante e da realimentação do sistema com esgoto em 0,25 hora. O Tempo de Retenção Celular (TRC) foi de 5 dias e foi calculada pela relação volume utilizado do reator e vazão de descarte.

As enzimas utilizadas foram compradas em farmácia de manipulação com suas respectivas fichas técnicas de certificado de análise. A protease foi descrita com uma atividade de $100000 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, em pó com umidade de 5,1% (fornecido pela Iberoquímica magistral), enquanto que a lipase foi descrita com uma atividade de $4000 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, em pó com umidade de 3,6% (fornecido pela Pharmanostra), ambas procedentes dos Estados Unidos.

2.2. Procedimento experimental

A solubilização enzimática foi desenvolvida utilizando duas espécies de enzima, protease e lipase, separadamente bem como a combinação de ambas na mesma proporção. Assim, a pesquisa se iniciou investigando o tempo de reação, bem como a limitação da ação enzimática. Para investigar o tempo de reação necessário para cada enzima, utilizou-se o teste respirométrico associado a análise de sólidos e DQO, antes e depois do processo enzimático. A dose enzimática foi estabelecida em 10% referente aos sólidos totais (ST).

2.2.1. Solubilização enzimática e sua limitação

Para identificar a espécie enzimática com maior taxa de solubilização foi desenvolvida uma primeira etapa onde cada enzima foi dosada independentemente, bem como a combinação de ambas. Estabelecida anteriormente, a dose de enzimas foi de 10%, e para manter a mesma dose de 10% na combinação, foi estabelecido 5% de cada espécie. Assim sendo, o teste enzimático era sempre desenvolvido em 4 condições classificadas em condição controle o lodo ativado bruto sem a adição de enzima (C), com adição de protease (P), com adição de lipase (L) e com a adição da mistura das enzimas (M), classificações essas correspondentes a cada coluna da Tabela 4.1. Todas as 4 condições eram sempre realizadas em triplicata, assim, eram obrigatoriamente 12 elermayers com 0,3 litros cada, divididos em grupos de 3. Todos os elermayers eram agitados por 1 hora em uma mesa agitadora incubada à 35 °C

Para determinar a limitação enzimática, foi planejado realizar a solubilização puramente enzimática, conforme descrito anteriormente, e em paralelo a solubilização enzimática combinada em série com um tratamento prévio. O tratamento prévio foi projetado para viabilizar um maior contato entre enzima e substrato, é uma ação de *start-up* aplicada para estimular efetivamente a ação enzimática no lodo. É importante frisar que esse pré-tratamento, apesar de ser uma tecnologia de tratamento de lodo, foi aplicado somente como procedimento para estimular a ação enzimática, logo, seus efeitos intrínsecos ao processo de solubilização não são abordados com relevância. Assim sendo, foram selecionados cinco distintos processos como gatilhos enzimáticos que tiveram em comum, além da variação térmica, sua simplicidade de operação. Os gatilhos foram processos térmicos, variando a temperatura para 5 distintas condições térmicas, -30 °C, 50 °C, 65 °C, 80 °C e 95 °C, além da prova em branco que foi a amostra controle com temperatura ambiente. O mesmo

procedimento foi repetido 4 vezes, o teste iniciava com o acúmulo de 21,6 litros de lodo. Estando bem homogêneo, era dividido em 6 frações de 3,6 litros para as 6 distintas condições, correspondente a amostra controle e os cinco ensaios submetidos a variação de temperatura. A prova em branco era imediatamente realizada, conforme parágrafo anterior, enquanto que simultaneamente o processo gelo/desgelo era realizado no congelador a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, a temperatura foi medida com um termômetro de infravermelho. Em paralelo a tudo, o banho maria era aquecido conforme temperaturas estabelecidas (50, 65, 80 e $95\text{ }^{\circ}\text{C}$) e, conferidos no termômetro digital do equipamento. Ao atingir a respectiva temperatura programada a amostra de lodo era colocada no banho maria em recipiente fechado para evitar a perda de água por evaporação. Para as cinco condições, somente após re-estabelecida a temperatura ambiente é que o teste enzimático era desenvolvido, conforme descrito anteriormente. Todas as condições, incluindo prova em branco, estão apresentados na Tabela 4.1 com as frações do teste enzimático.

Tabela 4.1. Exposição das 24 condições trabalhadas.

Condições	Controle	Adição de protease (10%)	Adição de lipase (10%)	Adição da mistura protease (5%) + lipase (5%)
Amostra controle	AC	AP	AL	AM
Gelo/degelo ($-30\text{ }^{\circ}\text{C}$)	C-30	P-30	L-30	M-30
Aquecimento à $50\text{ }^{\circ}\text{C}$	C50	P50	L50	M50
Aquecimento à $65\text{ }^{\circ}\text{C}$	C65	P65	L65	M65
Aquecimento à $80\text{ }^{\circ}\text{C}$	C80	P80	L80	M80
Aquecimento à $95\text{ }^{\circ}\text{C}$	C95	P95	L95	M95

2.2.2. Da concentração de sólidos totais (relação enzima substrato)

Para investigar a relação entre a enzima e o substrato foi selecionado somente a melhor condição com sua respectiva enzima da etapa anterior. As concentrações das enzimas variaram entre 0%, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10,0% em relação aos ST do lodo. Também foi utilizado no experimento uma amostra sem ação térmica como a condição controle. O teste foi desenvolvido em triplicata, com 5 frações de lodo correspondentes as 5 distintas condições propostas de enzima e substrato incubados à $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ em mesa agitadora.

2.3. Parâmetros analíticos

Foram realizadas análises de caracterização físico-química no lodo bruto antes dos ensaios de solubilização (lodo sem tratamento) e no lodo solubilizado. As amostras de lodo eram filtradas através de papel em fibra de vidro (GF-2, diâmetro 47 mm) com tamanho de poro de $0,45\text{ }\mu\text{m}$. Os parâmetros fosfato solúvel (P-PO_4^{-3}), N-NTK solúvel, Sólidos Totais

(ST), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), Sólidos Suspensos Fixos (SSF), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV) e Sólidos Dissolvidos Fixos (SDF) foram quantificados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Para a análise de proteínas foi aplicado o método de Lowry (modificado por Frølund et al., (1995)), e para carboidratos foi o método de Dubois et al., (1956). A determinação de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) foi realizada com analisador de combustão em alta temperatura (COT Multi N/C 3100 Analytic Jena, Germany).

2.4. Teste do aumento de biodegradabilidade

Além dos testes físico-químicos aplicados para avaliar o potencial de solubilização de lodo, foi também analisada a biodegradabilidade da matéria orgânica liberada seja avaliada. Para quantificar o ganho real na biodegradabilidade, testes biológicos foram propostos realizados. A proposta foi de investigar o ganho no processo biológico, tanto aeróbio quanto o anaeróbio. A biodegradabilidade aeróbia foi investigada pelo teste respirométrico, enquanto que o teste de produção de biometano (BMP - *biomethane production test*) foi adotado para a anaeróbia. Portanto, sempre que os testes biológicos foram realizados, foram investigados tanto o lodo bruto quanto o solubilizado.

2.4.1. Teste respirométrico

Para avaliar o potencial de solubilização do lodo foi aplicado o teste respirométrico, o qual quantifica diretamente a biodegradabilidade da matéria orgânica liberada. A proposta do teste é acessível na literatura (VAN HAANDEL; CATUNDA, 1982; SPANJERS; VANROLLEGHEM, 1995; VANROLLEGHEM et al., 1999). O teste permite medir a taxa de consumo de oxigênio (TCO), como taxa de respiração, possibilitando quantificar separadamente a taxa de remoção de matéria orgânica rapidamente e lentamente biodegradável por organismos heterotróficos, e permite calcular as frações catabolizada e anabolizada, durante o metabolismo bacteriano (VAN HAANDEL; CATUNDA, 1982; DE SOUSA et al., 2013).

O respirômetro utilizado nessa pesquisa foi do modelo Beluga S32c do tipo aberto e semi-contínuo. O ensaio ocorre em um reator onde uma amostra de lodo ativado era aerada de forma intermitente com dois valores de referência (máximo e mínimo) para o oxigênio

dissolvido (OD). Um agitador mecânico mantinha o lodo em suspensão nos períodos de tempo sem aeração. Um sensor de leitura de oxigênio dissolvido YSI (5718) e de temperatura acoplados ao respirômetro coletam os dados sistematicamente. O software controla o sistema de aeração, e quando a concentração de OD alcança o nível de referência inferior, o software calculará a variação da concentração de OD em relação ao tempo (TCO) e o aerador será novamente ativado para uma nova determinação da TCO. Os dados calculados fornecem uma curva conhecida como respirograma, a Figura 3.1 é um exemplo de respirograma obtido nesse trabalho.

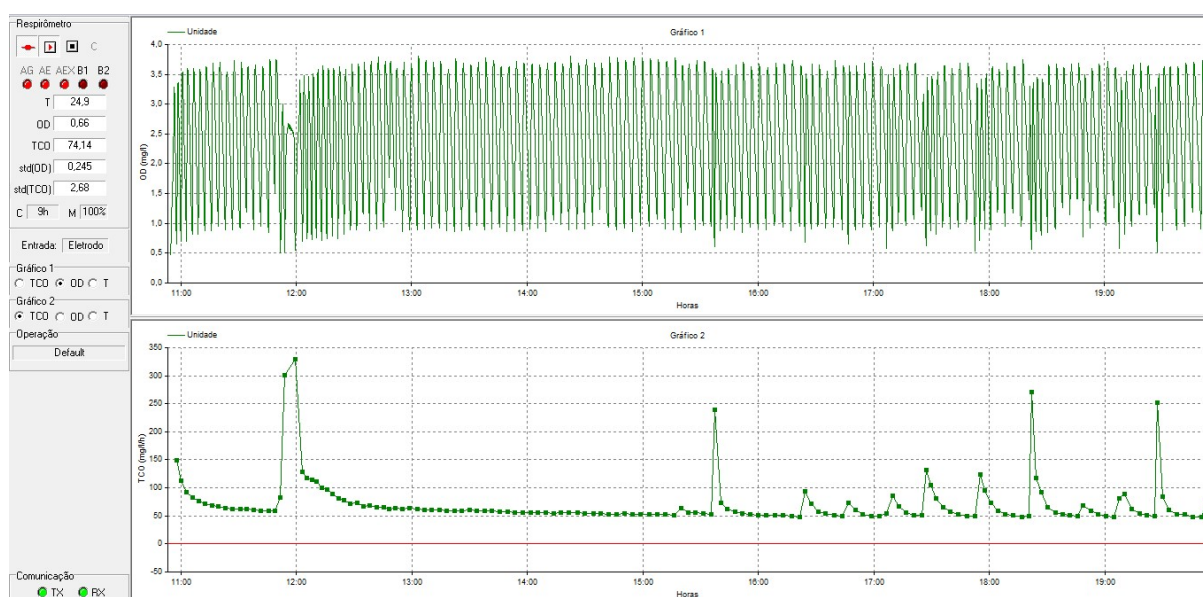


Figura 4.1. Print Screen do painel de um teste respirométrico realizado nesse trabalho.

Os dados de OD e temperatura são armazenados constantemente. E a TCO é calculada através de regressão linear expressa na Equação 4.1.

$$TCO = \frac{dOD}{dt} = \frac{OD_{m\acute{a}x} - OD_{m\acute{i}n}}{\Delta t} \quad (\text{Eq.: 4.1})$$

TCO: Taxa de Consumo de Oxigênio ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$);

$OD_{m\acute{a}x}$: concentração de oxigênio dissolvido de referência superior ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$);

$OD_{m\acute{i}n}$: concentração de oxigênio dissolvido de referência inferior ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$);

Δt : variação do tempo (h).

Para inibir os organismos autotróficos nitrificantes é necessário utilizar a dosagem de allylthiourea (ATU). No entanto, também pode ser adotado uma idade de lodo reduzida e durante o ensaio testar se há atividade das autotróficas nitrificantes com cloreto de amônia (NH_4Cl) e nitrito de sódio (NaNO_2).

2.4.2. Teste de produção de biometano (BMP)

O teste de produção de biometano (BMP) quantifica o potencial de produção bioquímico de metano (CH_4) de um determinado substrato, o que corresponde a quanto do substrato atingirá a forma reduzida de metano. A maior solubilização do lodo ativado não é diretamente proporcional ao aumento da produção de metano, fator que limita os testes físico-químicos em quantificar o ganho bioenergético de um pré-tratamento, o que acentua a relevância do teste BMP (HOLLIGER et al., 2016).

O teste de BMP foi realizado seguindo padrão já estabelecido (ANGELIDAKI et al., 2009), através de um sistema automatizado que foi desenvolvido no próprio laboratório. O ensaio é realizado em um reator fechado, projetado para não permitir o vazamento de gás, garantindo estabilidade na pressão interna. O reator deve ser vedado quando o teste inicia e aberto somente no final do teste. Um sensor de pressão acoplado ao reator e conectado a uma placa Arduino é o manômetro digital (MPX5700AP) que registra sistematicamente a pressão interna do reator permitindo um banco de dados contínuo e, assim, é possível representar graficamente o comportamento do aumento de pressão ao longo do tempo. Para o processo de incubação do teste, o volume total de líquido adequado ao reator foi previamente determinado (V_{total}), e a relação aplicada entre o inóculo e substrato foi de 1:2 (com base no SSV). Sabendo a concentração dos sólidos suspensos voláteis do substrato (SSV_S) e do inóculo (SSV_I), seus volumes requeridos, V_S e V_I , respectivamente, são facilmente calculados com as equações 4.2 e 4.3 são aplicadas.

$$V_S + V_I = V_{total} \quad (\text{Eq.: 4.2})$$

$$\frac{V_S \times SSV_S}{V_I \times SSV_I} = 0,5 \quad (\text{Eq.: 4.3})$$

O teste de BMP é associado à cromatografia gasosa com detector de condutividade térmica para quantificação e caracterização de amostras de gás. É interessante notar que a base científica do método BMP é a biodegradação anaeróbia, portanto, o reator é mantido na incubadora em temperatura de incubação controlada ($35\text{ }^\circ\text{C}$) e agitação constante até completar o teste, que tem o momento de término determinado quando a produção de gás torna-se insignificante.

O teste é finalizado quando se atinge pressão constante, então, para concluir, o banco de dados gerado para representar graficamente o comportamento da pressão ao longo do tempo é salvo na planilha e calculado para convertê-lo na produção de metano ao longo do tempo, utilizando a equação 4.4.

$$PV = nRT \quad (\text{Eq.: 3.4})$$

Onde:

P: Pressão (P);

V: Volume (m³);

n: Número de mols da amostra gasosa;

R: Constante universal dos gases perfeitos;

T: Temperatura (K).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de atividade enzimática foi uma incógnita avaliada com a análise de sólidos e suas frações. Conforme Figura 4.2, as concentrações de sólidos e suas frações, após a adição da enzima, foram avaliadas ao longo do tempo. E tanto para a adição da protease (Fig. 4.2a), quanto para a adição da lipase Fig. 4.2b), as concentrações de sólidos se mantiveram constantes após a primeira batelada de análises, com 15 minutos (0,25h) de reação.

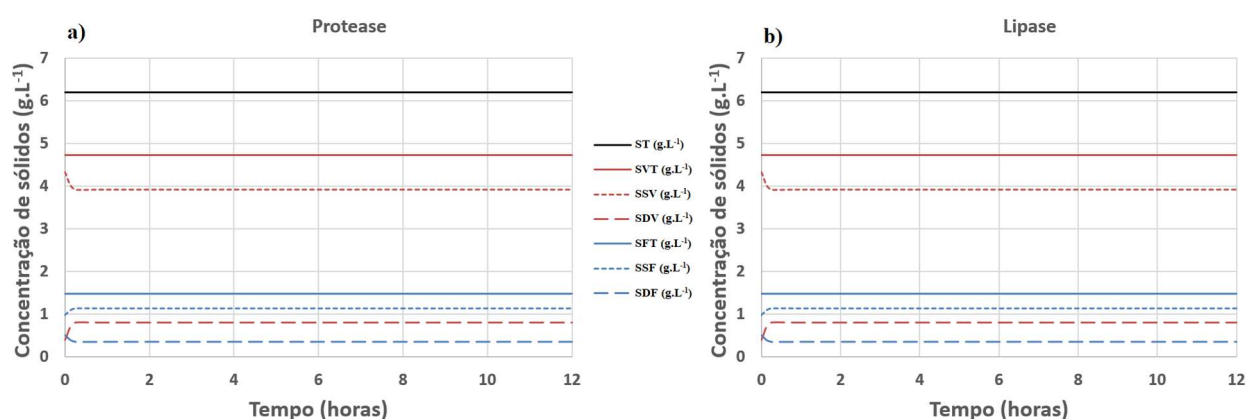


Figura 4.2. Perfil de 12 horas de sólidos e fração com adição de protease (a) e de lipase (b).

3.1. Solubilização enzimática e sua limitação

Tabela 4.2. Resultados correspondentes às amostras sem ação da temperatura.

Parâmetros	Lodo bruto $\bar{x} \pm \delta$	Pós protease $\bar{x} \pm \delta$	Pós lipase $\bar{x} \pm \delta$	Pós protease+lipase $\bar{x} \pm \delta$
Carbono Orgânico Dissolvido (mg.L ⁻¹)	17,8 ± 0,9	46,4 ± 4,4	47,6 ± 3,9	41,8 ± 3,9
	-	161%	167%	135%
Fósforo (mgP-PO ₄ ³⁻ .L ⁻¹)	12,64 ± 1,41	13,78 ± 1,91	14,87 ± 2,12	13,65 ± 1,23
	-	9,0%	17,7%	8,0%
Sólidos Voláteis Totais (mg.L ⁻¹)	5,0291	-	-	-
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	4,6158	4,1696	4,0892	4,3402
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg.L ⁻¹)	0,4134	0,8595	0,9399	0,6889
Sólidos Fixos Totais (mg.L ⁻¹)	1,5715	-	-	-
Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)	1,2323	1,1132	1,0918	1,1588
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg.L ⁻¹)	0,3392	0,4583	0,4797	0,4127
Proteína (mg.L ⁻¹)	76,50 ± 5,33	94,15 ± 9,77	129,46 ± 12,13	124,71 ± 11,08
	-	23,1%	69,2%	63,0%
Carboidratos (mg.L ⁻¹)	10,48 ± 1,10	20,39 ± 2,91	18,61 ± 2,29	15,04 ± 2,18
	-	94,6%	77,6%	43,5%

Os resultados das análises de carbono orgânico dissolvido (COD), fósforo total, proteínas, carboidratos, sólidos e suas frações estão apresentados a seguir. Na Tabela 4.2, estão os resultados obtidos pela solubilização sem ação de temperatura, puramente enzimática, que foi a condição controle. As outras cinco condições, as que foram influenciadas por uma ação térmica, estão apresentados nas Tabelas 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8 que

estão no apêndice do próprio capítulo. As Tabelas são respectivamente correspondentes ao tratamento enzimático em série com tratamento térmico, que são o gelo/degelo, e os de aquecimento à 50, 65, 80 e 95 °C.

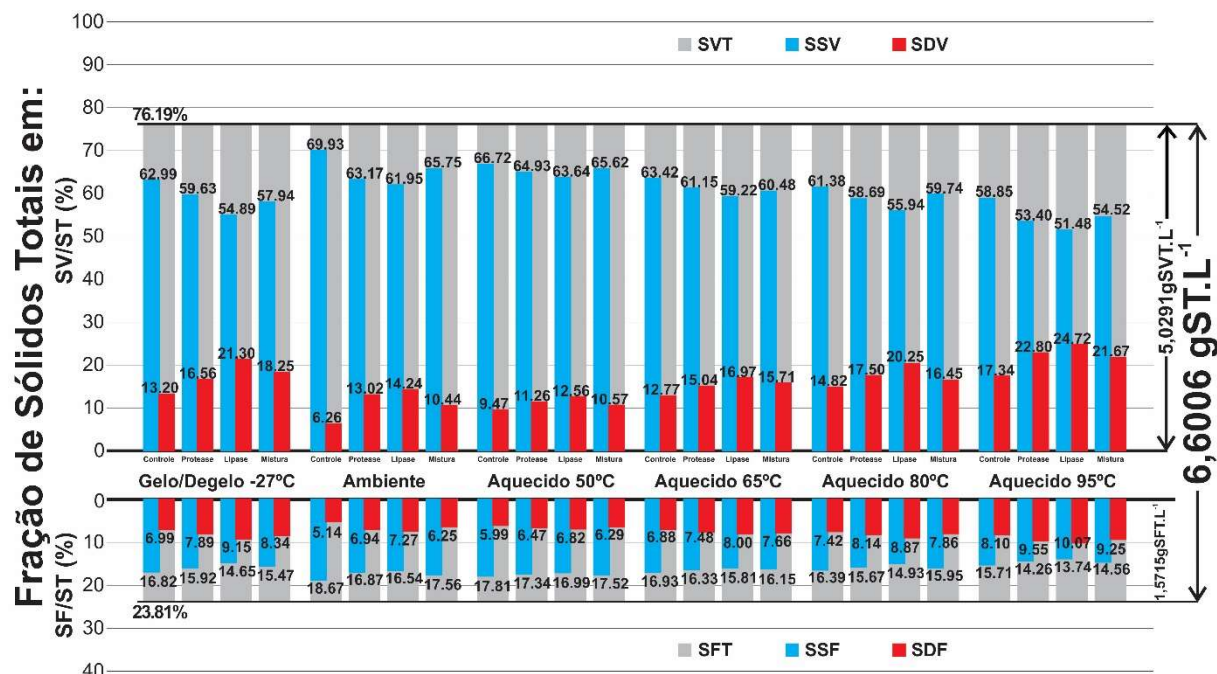


Figura 4.3. Concentrações das frações de sólidos conforme condição de tratamento.

Conforme a Tabela 4.2, a solubilização enzimática ocorreu para as três condições, utilizando individualmente a protease e a lipase, bem como sua combinação. O aumento da concentração de COD para protease, lipase e mistura corresponderam à liberação de 28,6 mg.L⁻¹, 29,8 mg.L⁻¹ e 24,0 mg.L⁻¹, respectivamente. Enquanto que o incremento de fósforo na fração solúvel foi de 1,14 mg.L⁻¹ para protease, 2,23 mg.L⁻¹ para lipase, e 1,01 mg.L⁻¹ para a mistura enzimática. No que concerne às análises de proteínas e carboidratos, o incremento na fração solúvel foi respectivamente 17,65 mg.L⁻¹, 52,96 mg.L⁻¹ e 48,21 mg.L⁻¹ para proteínas, e 9,91 mg.L⁻¹, 8,13 mg.L⁻¹ e 4,56 mg.L⁻¹ para carboidratos. No caso do aumento da concentração de proteínas pós protease ser limitado quando comparado aos carboidratos, é necessário constar que essa enzima é produzida para solubilizar proteína, o que indica que a proteína que vem a ser liberada com o processo de solubilização é susceptível a ser solubilizada pela própria enzima. Os resultados de sólidos e suas frações estão apresentados e discutidos com a Figura 4.3, no entanto, a Tabela 4.2 deixa claro que a adição da enzima reduz a fração suspensa aumentando a dissolvida, resultados que são confirmados pela literatura (PARMAR et al., 2001; WAWRZYNCZYK et al.; 2007; AYOL et al., 2008;

YANG et al., 2010). Mesmo que em menor número de artigos, a solubilização enzimática é reportada para diferentes espécies enzimáticas (alfa-amilase, endo e exo-celulase, beta-glucanase, protease).

É necessário constar que após a adição da enzima ocorreu um ligeiro aumento da concentração de ST correspondente à massa da enzima. No entanto, todas as bateladas de testes foram correlacionadas e os resultados médios de sólidos e suas respectivas frações foram são apresentados em porcentagem para discussão mais fidedigna. Na Figura 4.3 as maiores concentrações dos sólidos suspensos (SSV e SSF), 5,8481 gSS.L⁻¹, 4,6158 gSSV.L⁻¹ e 1,2323 gSSF.L⁻¹, e as menores dos sólidos dissolvidos (SDV e SDF), 0,7525 gSD.L⁻¹, 0,4134 gSDV.L⁻¹ e 0,3391 gSDF.L⁻¹, foram evidentemente marcadas pela amostra controle, sem a combinação da ação térmica ao processo enzimático. Para cada concentração, as porcentagens dos sólidos da amostra controle foram 88,60%, 69,93%, 18,67%, 11,40%, 6,26%, 5,14%, respectivamente. Analisando a condição de tratamento puramente enzimática, é observado que a utilização da lipase forneceu melhores resultados de redução dos sólidos suspensos, alcançando em porcentagem dos ST 61,95% de SSV e 16,54% de SSF. Comparando somente os SSV, a eficiência de solubilização da lipase foi de 11,41% enquanto a protease e a mistura obtiveram 9,67% e 5,97%, respectivamente. O melhor comportamento da lipase foi característico da própria enzima, tanto que a maior redução das frações dos SS e os maiores aumentos de SD se repetiram para as 5 condições com ação térmica. Os percentuais de eficiências de redução da concentração dos SSV estão apresentados na Tabela 4.3. A redução da concentração dos SSV é uma evidência de que o volume de sólidos que passou no papel filtro com porosidade de 0,45 µm aumentou, o que indica uma clara redução do material particulado e um aumento do solúvel. Assim, neste estudo, a redução de SSV foi utilizada como um parâmetro balizador para identificar a solubilização do lodo.

Tabela 4.3. Eficiências da redução na concentração de SSV (%) por condições investigadas.

Condições	Adição de protease (10%)	Adição de lipase (10%)	Adição da mistura protease (5%) + lipase (5%)
Amostra controle	9,67%	11,41%	5,97%
Gelo/degelo (-30 °C)	5,33% (14,73%)	12,86% (21,51%)	8,01% (17,14%)
Aquecimento à 50 °C	2,68% (7,14%)	4,63% (9,00%)	1,65% (6,16%)
Aquecimento à 65 °C	3,58% (12,56%)	6,63% (15,32%)	4,63% (13,51%)
Aquecimento à 80 °C	4,38% (16,08%)	8,86% (20,01%)	2,67% (14,58%)
Aquecimento à 95 °C	9,27% (23,64%)	12,53% (26,39%)	7,36% (22,03%)

Na Tabela 4.3 é apresentado a eficiência puramente da atividade enzimática. Observando cada condição isoladamente, tanto na Tabela quanto na Figura 4.3, a

solubilização da lipase pura foi sempre mais eficiente, com ou sem pré-tratamento térmico, obtendo menores concentrações de SSV. No entanto, a eficiência de solubilização da atividade enzimática foi menor após o aquecimento a 50 °C, 65 °C e 80 °C, sendo superior somente para o aquecimento à 90 °C e para o gelo/degelo. Sabendo que o floco de lodo, bem estruturado pelas SPE, é fisicamente dividido em duas partes, uma fortemente ligada que é mais interna, classificada de mais estável, enquanto que a outra mais externa é fracamente ligada e menos estável (HIGGINS; NOVAK, 1997; SHENG et al. 2010), a fração mais interna é a recalcitrante, enquanto que a fracamente ligada é mais solúvel e mais acessível à biodegradabilidade. Assim, analisando as eficiências de redução do SSV (Tabela 4.3), é verificado que apesar da limitação da análise de sólidos, essas eficiências demonstram que os pré-tratamentos térmicos não proporcionaram maior contato entre substrato e enzima, e apenas complementaram a solubilização facilitando que a enzima atingisse outra fração mais interna. Logo, apesar da eficiência da atividade enzimática após processo gelo/degelo ser ilusoriamente maior que a eficiência do aquecimento a 95 °C (0,33%), a eficiência total é inferior (4,88%). Supondo uma simetria matemática entre a massa de SSV e as camadas mais internas do floco de lodo, na qual os 4,6158 gSSV.L⁻¹ do lodo controle seria a parte mais externa do floco, enquanto que a parte mais interna, a recalcitrante, seria próximo a 0 (zero) gSSV.L⁻¹, a solubilização do processo gelo/degelo alcançou 4,1575 g.L⁻¹, enquanto que a lipase pura atingiu 4,0892 g.L⁻¹, o que seriam faixas de camadas mais externas e semelhantes entre si. No entanto, esses resultados se distinguem da solubilização por aquecimento (90 °C) que alcançou camada mais interna (3,8846 g.L⁻¹). Analizando somente a atividade enzimática após pré-tratamentos, esta foi capaz de alcançar zonas mais profundas do floco, 3,6230 g.L⁻¹ e 3,3977 g.L⁻¹, que para gelo/degelo e aquecimento, respectivamente. Ainda associando as camadas do floco à massa, a atividade enzimática após o aquecimento à 95 °C atingiu zona mais profunda, de 0,2253 g.L⁻¹ a mais que o gelo/degelo.

Para ratificar as análises de sólidos, a liberação do material intraflocular na fração solúvel foi comprovada com as análises de proteínas, carboidratos e fósforo. Os aumentos das concentrações desses parâmetros indicam que o material particulado sofreu solubilização, ou seja, ocorreu ruptura flocular aumentando a biodisponibilidade. Na Figura 4.4 as concentrações de proteínas (a) e de carboidratos (b) estão apresentados conforme enzimas dosadas e condição térmica trabalhada.

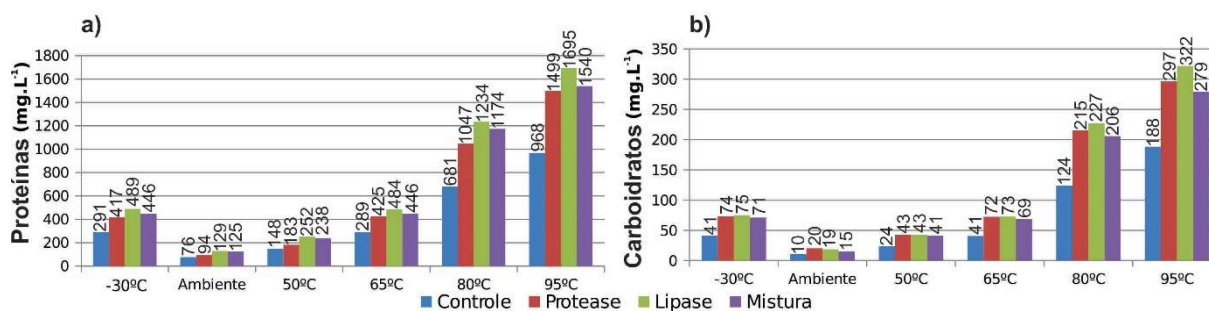


Figura 4.4. Concentrações de a) proteínas e b) carboidratos.

Analisando a Figura 4.4, a liberação das proteínas e dos carboidratos na condição controle, sem o estímulo da solubilização térmica, foi nitidamente limitada. No entanto, o ganho da solubilização puramente enzimática nas concentrações, após ação térmica, aumentou conforme aumentava a fração solúvel. A lipase, conforme discutido anteriormente, obteve maior eficiência no processo de solubilização para todas as condições, aumentando 52,96 mg.L⁻¹, 197,70 mg.L⁻¹, 104,78 mg.L⁻¹, 195,11 mg.L⁻¹, 553,60 mg.L⁻¹ e 727,29 mg.L⁻¹ na fração solúvel para proteínas, e 8,13 mg.L⁻¹, 33,65 mg.L⁻¹, 18,75 mg.L⁻¹, 32,22 mg.L⁻¹, 103,22 mg.L⁻¹ e 133,45 mg.L⁻¹ para carboidratos, isso para condição controle, -30 °C, 50 °C, 65 °C, 80 °C e 95 °C, respectivamente. Já na solubilização com protease, para todas as condições supracitadas, o incremento na concentração foi respectivamente de 17,25 mg.L⁻¹, 125,95 mg.L⁻¹, 35,10 mg.L⁻¹, 136,27 mg.L⁻¹, 366,23 mg.L⁻¹ e 531,14 mg.L⁻¹ para proteínas, e 9,91 mg.L⁻¹, 32,22 mg.L⁻¹, 18,96 mg.L⁻¹, 31,79 mg.L⁻¹, 91,24 mg.L⁻¹ e 108,35 mg.L⁻¹ para carboidratos. Por fim, a solubilização enzimática combinando ambas enzimas, Mistura, foi capaz de incrementar à fração solúvel respectivos 48,21 mg.L⁻¹, 154,85 mg.L⁻¹, 90,33 mg.L⁻¹, 157,43 mg.L⁻¹, 493,21 mg.L⁻¹ e 572,44 mg.L⁻¹ de proteínas, e 4,56 mg.L⁻¹, 29,73 mg.L⁻¹, 17,11 mg.L⁻¹, 28,23 mg.L⁻¹, 82,12 mg.L⁻¹ e 90,67 mg.L⁻¹ de carboidratos. Tendo somente a liberação de proteínas como referência, a mistura das enzimas apresentou eficiência de solubilização superior à protease. No entanto, conforme as concentrações de carboidratos, o quadro se inverte de modo a melhor consoar com os resultados de sólidos, no qual a protease foi mais eficiente que a combinação das enzimas, em alguns momentos. E para a protease, em particular, sua presença não inibiu o crescimento da concentração de proteínas. Porém, devido a protease ser uma enzima que solubiliza a própria proteína, a análise de proteínas passa a ser puramente quantitativo, mas não balizador. A Figura 4.4 evidencia que a atividade enzimática após solubilização térmica propiciou maior ganho, dos constituintes em questão, na fração solúvel. No entanto, o maior ganho após o aquecimento à 95 °C, indica que a maior atividade

enzimática não foi alcançada para condição controle e nem após solubilização térmica à -30 °C, 50 °C, 65 °C e 80°C, o que permite questionar se de fato foi alcançada à 95 °C. A limitação da atividade pode ter sido a disponibilidade da fração susceptível a ação enzimática.

Para as amostras aquecidas à 65, 80 e 95 °C, foi observado, após filtração das amostras, um escurecimento da fração filtrada tendendo ao marrom, com certa leveza à 65 °C, com maior intensidade à 80 °C e bem mais marcante e evidente à 95 °C. Esse escurecimento já foi relatado anteriormente por outros autores como um forte indício da ocorrência da reação Maillard (DWYER et al., 2008; JEONG et al., 2019). A reação de Maillard (MAILLARD, 1912) é uma reação química entre os aminoácidos ou as proteínas com os açúcares (carboidrato redutor), quando aquecidos, o grupo carbonila (C=O) do carboidrato interage com o grupo amina (-NH₂) dos aminoácidos ou proteínas, produzindo melanoidinas, que dão a cor e o aspecto característicos dos alimentos cozidos ou assados (SMITH; FRIEDMAN, 1984; FRIEDMAN, 1996). Assim, a forma combinada das proteínas e carboidratos após aquecimento, melanoidinas, são recalcitrantes, o que pode ter limitado a liberação desses constituintes após aquecimento e conseqüentemente limitado a ação enzimática.

A análise de fósforo foi o parâmetro selecionado para balizar a liberação de nutrientes. Curiosamente, os resultados de sólidos (Fig. 4.3) são diretamente correspondentes aos de fósforo (Fig. 4.5), apresentando maior semelhança na solubilização. Conforme Figura 4.5, a solubilização enzimática foi confirmada para as três dosagens da enzima, protease, lipase e mistura, aumentando 1,14 mgP.L⁻¹, 2,23 mgP.L⁻¹ e 1,01 mgP.L⁻¹, respectivamente. E melhores resultados após solubilização térmica foram de fato identificados para todas as condições, e mais uma vez a lipase se destacou dentre as demais (Fig. 4.5). Após a solubilização térmica, para protease, lipase e mistura, respectivamente, as concentrações aumentaram 1,94 mgP.L⁻¹, 3,07 mgP.L⁻¹ e 2,76 mgP.L⁻¹ para -30 °C, 2,93 mgP.L⁻¹, 6,58 mgP.L⁻¹ e 3,76 mgP.L⁻¹ para a 50 °C, 3,44 mgP.L⁻¹, 7,54 mgP.L⁻¹ e 4,67 mgP.L⁻¹ para 65 °C, 4,27 mgP.L⁻¹, 9,14 mgP.L⁻¹ e 5,67 mgP.L⁻¹ para a 80 °C, e 5,81 mgP.L⁻¹, 11,96 mgP.L⁻¹ e 7,54 mgP.L⁻¹ para 95 °C.

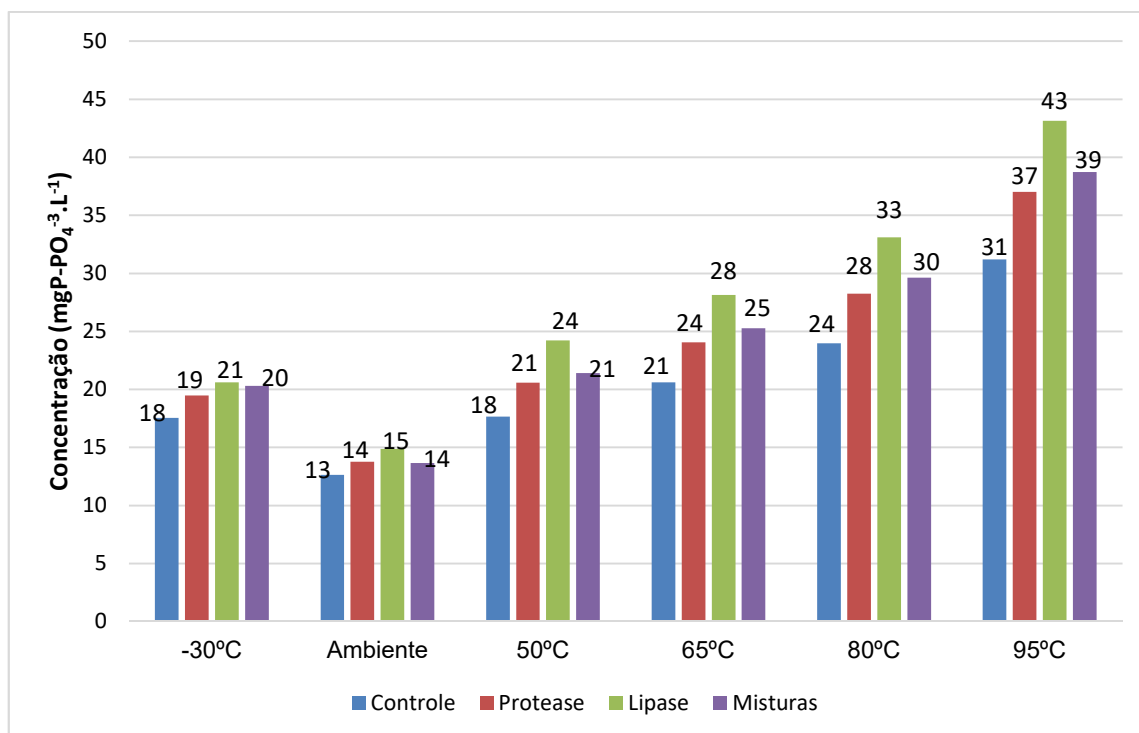


Figura 4.5. Concentrações de fósforo conforme condição de tratamento.

Analisando as variações das concentrações de COD (Fig. 4.6), o ganho resultante da ação enzimática não foi diretamente proporcional à concentração inicial (controle). Para a prova em branco, a solubilização enzimática desenvolvida à temperatura ambiente, o aumento na concentração para protease, lipase e mistura, respectivamente, foram de 28,6 mg.L⁻¹, 29,8 mg.L⁻¹ e 24,0 mg.L⁻¹, o que correspondem a 161%, 167% e 135% da concentração inicial. Enquanto que, após solubilização térmica, pré-solubilizado à -30 °C o ganho foi de 78,0% (26,9 mg.L⁻¹), 87,8% (30,3 mg.L⁻¹) e 79,1% (27,3 mg.L⁻¹), à 50 °C o ganho foi de 59,1% (21,2 mg.L⁻¹), 64,3% (23,1 mg.L⁻¹) e 55,4% (19,9 mg.L⁻¹), à 65 °C o ganho foi de 53,9% (26,3 mg.L⁻¹), 76,2% (37,2 mg.L⁻¹) e 40,0% (19,5 mg.L⁻¹), à 80 °C o ganho foi de 26,3% (19,6 mg.L⁻¹), 35,3% (26,3 mg.L⁻¹) e 21,5% (20,4 mg.L⁻¹), à 95 °C o ganho foi de 25,7% (24,6 mg.L⁻¹), 33,7% (32,2 mg.L⁻¹) e 27,2% (26,0 mg.L⁻¹), para adição de protease, lipase e mistura, respectivamente.

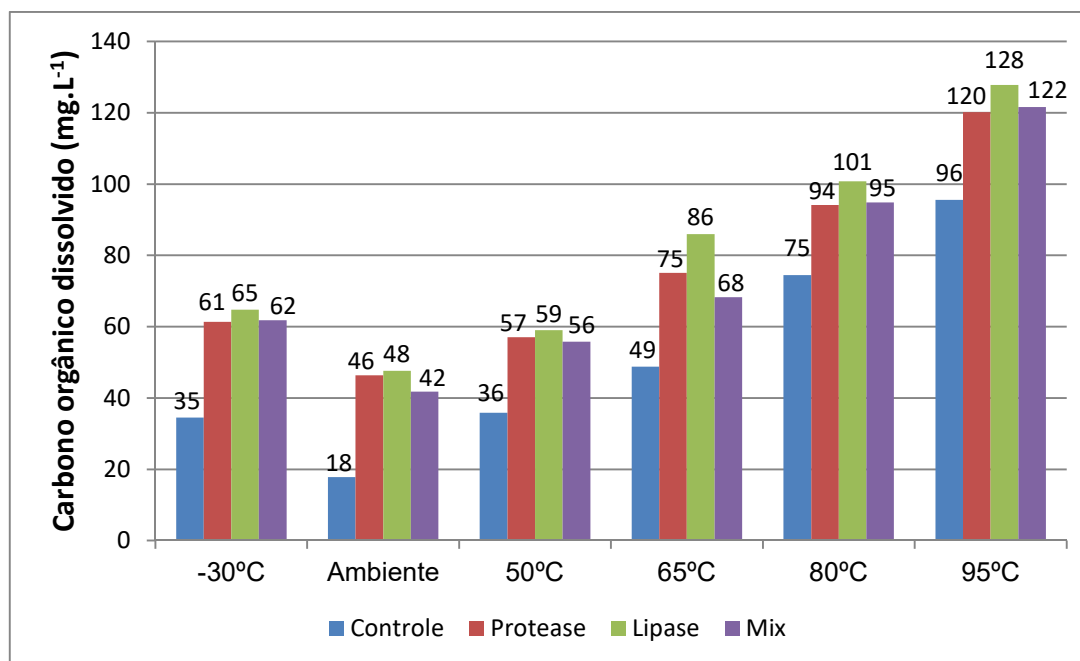


Figura 4.6. Concentrações de fósforo na fração solúvel conforme condições de tratamento.

É interessante observar que a maior concentração liberada para protease (28,6 mg.L⁻¹) foi sem pré-tratamento térmico, enquanto que para lipase foi após aquecimento à 65 °C (37,2 mg.L⁻¹) e para mistura foi após processo gelo/degelo (27,3 mg.L⁻¹). Corroborando com a discussão de sólidos, a limitação da atividade enzimática é identificada neste trabalho, tendo em vista que a sua capacidade de solubilização pode ter sido limitada por diferentes fatores, como a recalcitrância das melanoidinas. A exemplo da lipase, apesar de menor solubilização à 65 °C comparada à 95 °C, a qualidade da biodegradabilidade disponível é uma forte explicação para justificar sua melhor atividade. O que ratifica que a limitação da atividade enzimática não foi alcançada na solubilização puramente enzimática.

3.2. Aumento da biodegradabilidade

Proteínas e carboidratos são dois constituintes predominantes nas SPE, predominante matéria orgânica que compõe uma grande proporção da demanda química de oxigênio (DQO). Logo, o processo de despolimerização propicia o aumento da concentração de proteínas e carboidratos na fração solúvel (Fig. 4.4), o que é um indício do aumento da DQO solúvel (DQO_s). O teste respirométrico, associado a DQO filtrada (DQO_f), possibilita identificar a DQO utilizada (DQO_u) e a remanescente por diferença. A Figura 4.7 é uma compilação dos resultados respirométricos e DQOs.

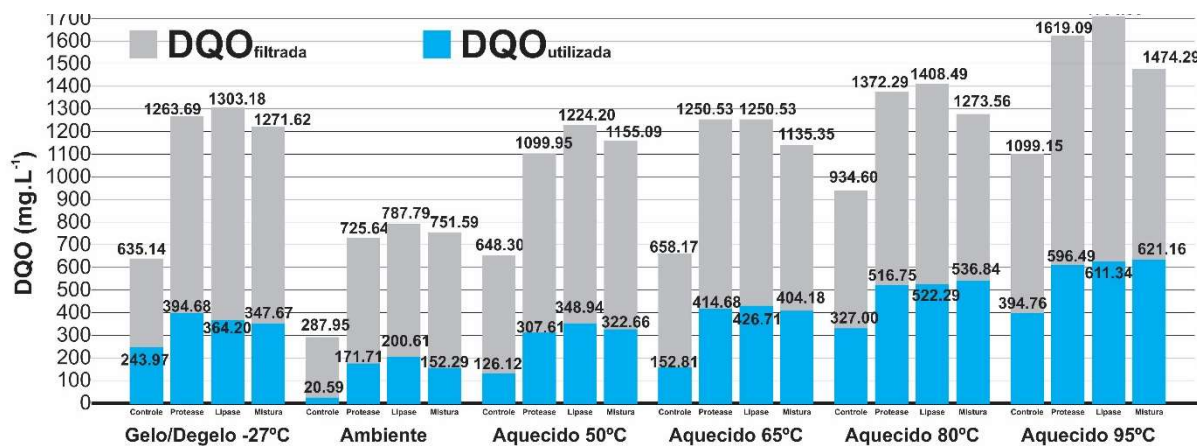


Figura 4.7. DQO filtrada (DQO_f) e matéria orgânica metabolizada representada pela DQO utilizada (DQO_u) obtido através do teste respirométrico.

Dentre as repetições dos ensaios de solubilização, a média da DQO bruta (DQO_b) foi de 10078 mg.L^{-1} , enquanto que a DQO filtrada era respectivamente $287,95 \text{ mg.L}^{-1}$, $635,14 \text{ mg.L}^{-1}$, $648,30 \text{ mg.L}^{-1}$, $658,17 \text{ mg.L}^{-1}$, $934,60 \text{ mg.L}^{-1}$ e $1099,15 \text{ mg.L}^{-1}$ para as condições controle, gelo/degelo, aquecido à $50 \text{ }^\circ\text{C}$, à $65 \text{ }^\circ\text{C}$, $80 \text{ }^\circ\text{C}$ e $95 \text{ }^\circ\text{C}$. Resultando em uma fração de material particulado não solúvel de 97,1% ($9790,25 \text{ mg.L}^{-1}$) para controle, 93,7% ($9443,06 \text{ mg.L}^{-1}$) para gelo/degelo, 93,6% ($9429,90 \text{ mg.L}^{-1}$) para aquecimento à $50 \text{ }^\circ\text{C}$, 93,5% ($9420,02 \text{ mg.L}^{-1}$) para aquecimento à $65 \text{ }^\circ\text{C}$, 90,7% ($9143,60 \text{ mg.L}^{-1}$) para aquecimento à $80 \text{ }^\circ\text{C}$, e 89,1% ($8979,05 \text{ mg.L}^{-1}$) para aquecimento à $95 \text{ }^\circ\text{C}$. Assim, para a prova em branco desenvolvida à temperatura ambiente, a solubilização puramente enzimática obteve um ganho na DQO filtrada de $437,69 \text{ mg.L}^{-1}$, $499,84 \text{ mg.L}^{-1}$ e $463,64 \text{ mg.L}^{-1}$, para protease, lipase e mistura, respectivamente. Enquanto que a solubilização puramente enzimática, após solubilização térmica, obteve um aumento na concentração de DQO_f de $628,55 \text{ mg.L}^{-1}$, $668,05 \text{ mg.L}^{-1}$ e $582,48 \text{ mg.L}^{-1}$ para gelo/degelo, de $451,65 \text{ mg.L}^{-1}$, $575,90 \text{ mg.L}^{-1}$ e $506,79 \text{ mg.L}^{-1}$ para aquecimento à $50 \text{ }^\circ\text{C}$, de $592,35 \text{ mg.L}^{-1}$, $592,35 \text{ mg.L}^{-1}$ e $477,17 \text{ mg.L}^{-1}$ para aquecimento à $65 \text{ }^\circ\text{C}$, de $437,69 \text{ mg.L}^{-1}$, $473,89 \text{ mg.L}^{-1}$ e $338,96 \text{ mg.L}^{-1}$ para aquecimento à $80 \text{ }^\circ\text{C}$, de $519,95 \text{ mg.L}^{-1}$, $605,51 \text{ mg.L}^{-1}$ e $375,15 \text{ mg.L}^{-1}$ para aquecimento à $95 \text{ }^\circ\text{C}$, para adição de protease, lipase e mistura, respectivamente. Essa não simetria do ganho respectivo à solubilização enzimática conforme o aumento da DQO_s , ratifica que a atividade enzimática foi limitada pela biodisponibilidade do meio e não pela relação enzima substrato. Ou seja, o aumento da DQO filtrada também viabiliza o aumento da fração solúvel não biodegradável (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O metabolismo bacteriano no processo aeróbio é dividido em duas frações, um terço da matéria orgânica metabolizada (DQO_u) sofre catabolismo oxidativo, enquanto dois terços devem formar nova massa bacteriana durante o anabolismo (MARAIS; EKAMA, 1976). A fração de matéria orgânica utilizada no catabolismo pode ser quantificada pelo consumo de oxigênio dissolvido, estequiometricamente 1 grama de oxigênio dissolvido consumido equivale a 1 grama de DQO oxidada (METCALF & EDDY, 2004). Observando a Figura 4.7, fica claro que apesar do ganho representado pelos dados físico-químicos, a exemplo da DQO_f que representa a quantidade de matéria orgânica disponível suscetível à oxidação, a fração metabolizada DQO_u foi inferior. A não simetria da DQO_u/DQO_f implica que os testes biológicos são de fato necessários. É interessante notar que a DQO_f teve um aumento significativo após a solubilização enzimática, no entanto, a fração biodegradável, especificamente a DQO_u em azul (Fig. 4.7), que foi assimilada pelo metabolismo bacteriano, aumentou com maior significância que a filtrada para todas as condições, com exceção da condição gelo/degelo, que aumentou apenas 1,62 vezes para protease, 1,49 vezes para lipase e 1,43 vezes para mistura. Para a solubilização enzimática após aquecimento à 50 °C o aumento foi 2,44, 2,77 e 2,56, para solubilização à 65 °C foi de 2,71, 2,79 e 2,64, para 80 °C foi de 1,58, 1,60 e 1,64, e à 95 °C foi 1,51, 1,55, 1,57 vezes para a protease, lipase e mistura, respectivamente. Enquanto que para temperatura ambiente, condição controle, o aumento respectivo a protease, lipase e mistura foi de 8,34, 9,74 e 7,40 vezes. Curiosamente, a pré-solubilização térmica fez reduzir o aumento da fração metabolizada, o que enfatiza a discussão dos resultados de sólidos. O pré-tratamento térmico não viabilizou maior atividade enzimática aumentando a concentração do substrato, de fato foi um processo em série que permitiu que as enzimas atuassem em camadas mais internas, que sem a solubilização térmica, eram inacessíveis à atividade enzimática. Ainda assim, a lipase obteve maior ganho para condição controle e aquecido à 50 e 65 °C, a protease foi mais eficiente para o processo de congelamento, enquanto que a mistura foi a melhor após aquecimento à 80 e 95 °C.

A notável melhoria da solubilização indicou uma maior assimilação do substrato pelo metabolismo bacteriano, o que torna viável o tratamento biológico. No entanto, embora os autores relatem uma relação entre a solubilização da DQO e a biodegradabilidade (BOUGRIER et al., 2008), há estudos que contradizem essa solubilização da DQO com a mesma ou menor produção de metano (DHAR et al., 2012; NAZARI et al., 2016; SAPKAITE et al., 2017). Portanto, o teste de BMP é necessário para avaliar o efeito do pré-tratamentos na

solubilização do lodo para biodegradabilidade anaeróbia e seu respectivo potencial de produção do biogás. Devido aos melhores resultados do aquecimento à 95 °C, o teste de BMP foi realizado somente para o processo gelo/degelo que era a condição extrema do aquecimento, para o aquecimento à 95 °C e para a condição controle. Os resultados foram plotados e apresentados na Figura 4.8, a produção de biogás acumulada é apresentada em volume normalizado produzido por grama de SSV do substrato (Nml.gSSV^{-1}).

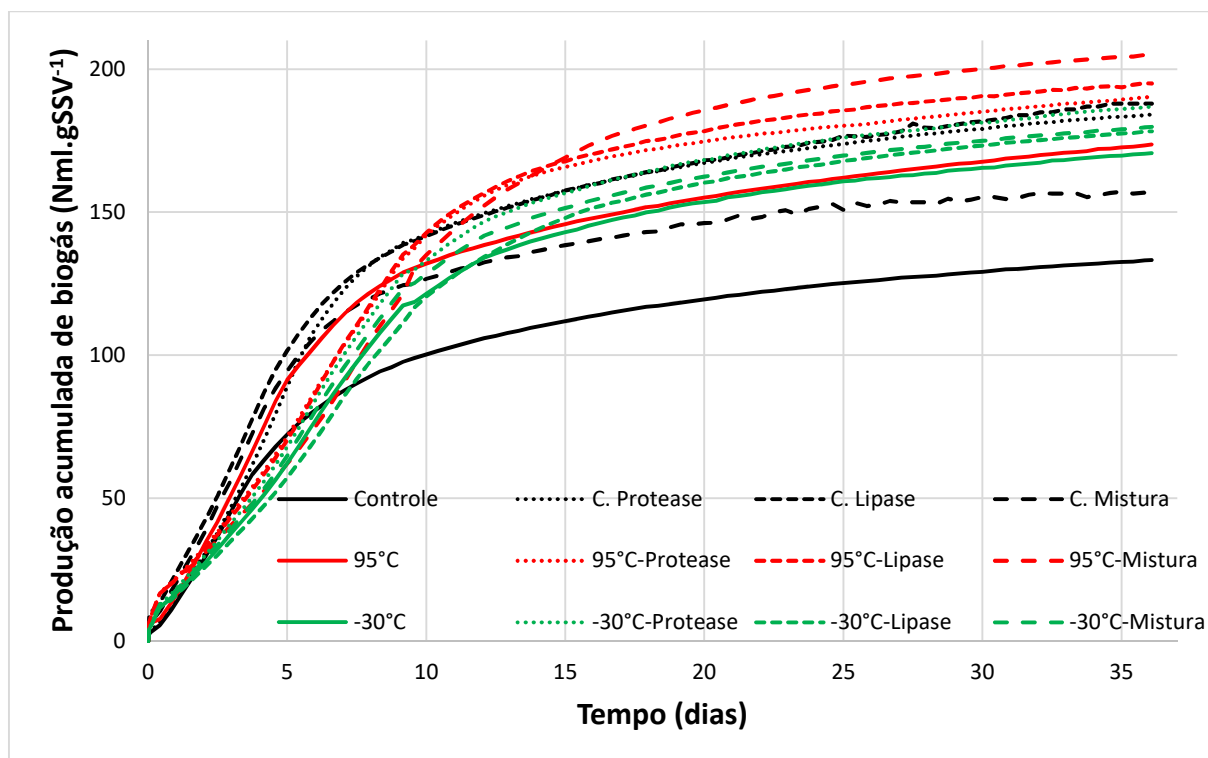


Figura 4.8. Curva de produção de biogás em função do tempo (dias).

A redução do material particulado, que foi confirmado anteriormente, resultou em maior produção de biogás (Fig. 4.8). A maior geração de biogás decorreu após a solubilização enzimática associada a térmica, e aproximadamente no sexto dia a condição controle foi nitidamente se distanciando das demais curvas de produção de biogás. O lodo controle obteve após 36 dias um máximo de $133,27 \text{ mL.gSSV}^{-1}$, enquanto que o controle do gelo/degelo e do aquecido à 95° obtiveram, na mesma data, um total de $170,66 \text{ mL.gSSV}^{-1}$ e $173,63 \text{ mL.gSSV}^{-1}$, respectivamente. E o ganho da produção de biogás após ação enzimática para protease, lipase e mistura, respectivamente, foi de $50,89 \text{ mL.gSSV}^{-1}$, $54,73 \text{ mL.gSSV}^{-1}$ e $23,98 \text{ mL.gSSV}^{-1}$ para condição controle, de $16,63 \text{ mL.gSSV}^{-1}$, $21,38 \text{ mL.gSSV}^{-1}$ e $31,46 \text{ mL.gSSV}^{-1}$ para condição após aquecimento, e de $16,34 \text{ mL.gSSV}^{-1}$, $7,66 \text{ mL.gSSV}^{-1}$ e $9,22 \text{ mL.gSSV}^{-1}$ para condição após congelamento. Apesar da lipase se destacar na condição controle, foi a

mistura quem obteve melhor desempenho após aquecimento e a protease após congelamento, resultado que coincide com a respirometria, ou seja, cada metodologia de tratamento tem desempenho diferenciado, o que requer maiores investigações.

Curiosamente, para todos os parâmetros investigados, sólidos, proteínas, carboidratos, fósforo, COD e biodegradabilidade, o ganho propiciado pela solubilização enzimática, apesar de incidentes para todos os casos, foi inconstante, aparentemente variando conforme a qualidade do substrato biodisponível. No entanto, a atividade enzimática de uma única espécie na solubilização do lodo foi identificada repetidamente com maior eficiência, em poucas vezes a mistura se sobressaiu, sendo majoritariamente a aplicação da lipase responsável pelas maiores concentrações na fração solúvel, seguida da protease e por fim a mistura. Esse resultado vai contra conclusões de outros autores que apresentaram o efeito sinérgico da solubilização combinada (mistura) como sendo mais hábil a obter melhores resultados de solubilização do lodo (ROMAN et al., 2006; YANG et al., 2010). No entanto, é necessário constar que diferentes fatores intervenientes podem alterar a composição do lodo, podendo existir uma variação substancial entre diferentes amostras (BETTIOL et al. 1989; METCALF & EDDY, 2004). O que não é diferente na composição das SPE do floco, assim diferentes resultados podem ser constantemente alcançados (SHENG et al., 2010).

A predominância de matéria orgânica biodegradável após a solubilização confirmou que a oferta de material biodegradável foi ampliada após solubilização enzimática, proporcionando maior assimilação pelo metabolismo bacteriano aeróbio. Além disso, o teste de BMP permitiu a quantificação do aumento da produção de biogás na anaerobiose, corroborando com o teste respirométrico, que após o pré-tratamento enzimático, o lodo torna-se mais propenso a um tratamento biológico com menor tempo de retenção. Por fim, concluiu-se que a aplicação da solubilização enzimática combinada em série com a solubilização térmica alcança maiores eficiências de solubilização, além de permitir que a enzima atue em fração flocular distinta da solubilização puramente enzimática.

3.3. Concentração dos ST (relação enzima substrato)

Nessa etapa do trabalho, a concentração das enzimas em relação aos sólidos totais foi investigada. Na Figura 4.9 o comportamento dos sólidos e frações estão apresentados em gráfico. Igualmente à primeira etapa, a concentração de ST aumentou após adição das enzimas, o que foi correspondente às massas das enzimas. No entanto, assim como na etapa

anterior, todas as bateladas de testes foram correlacionadas e os resultados médios de sólidos e suas respectivas frações também estão apresentados em porcentagem.

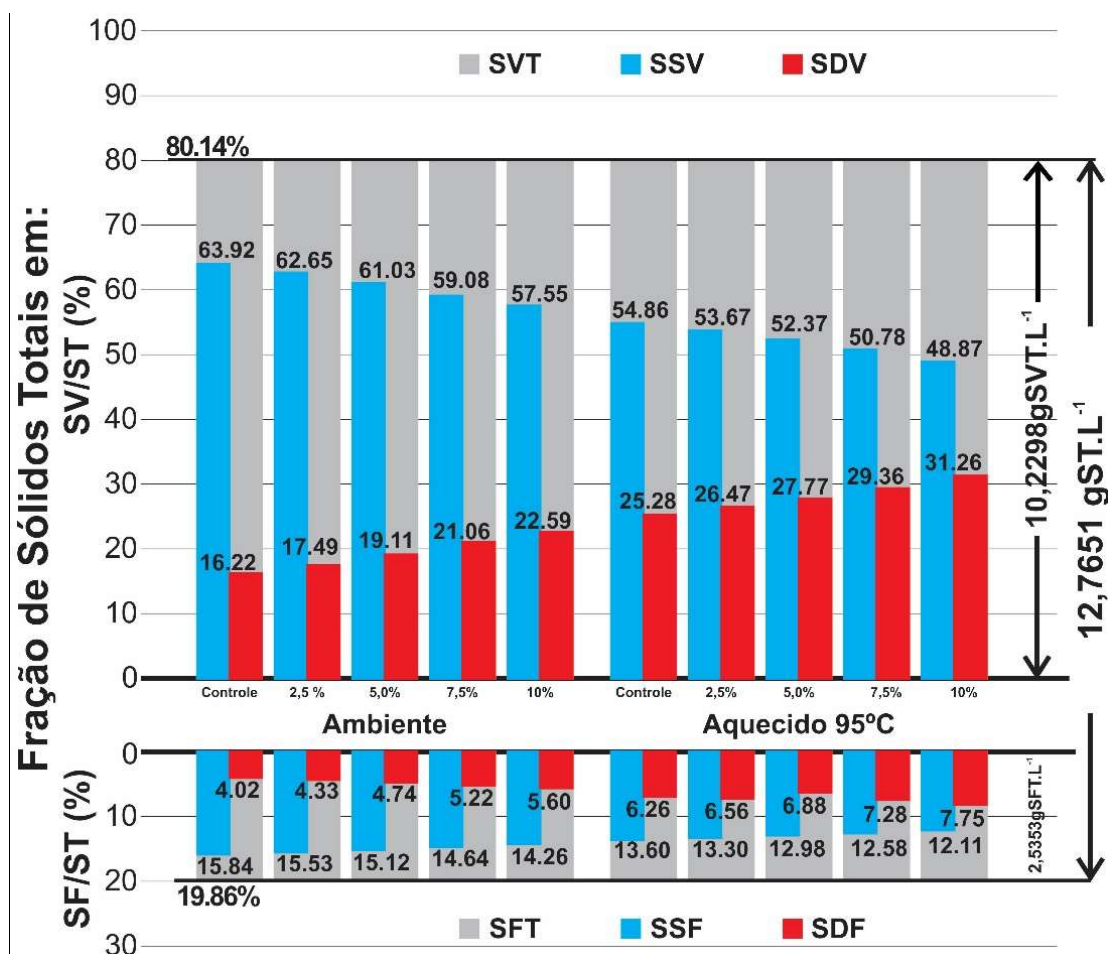


Figura 4.9. Concentrações das frações de sólidos solubilizados pelo processo enzimático para condição controle e aquecido à 95 °C.

Tanto para a condição sem aquecimento, como para após aquecimento, as condições controle foram marcadas pelas maiores concentrações dos SS e menores do SD. Para o controle à temperatura ambiente, as concentrações foram de 10,1809 gSS.L⁻¹, 8,1588 gSSV.L⁻¹, 2,0220 gSSF.L⁻¹, 2,5842 gSD.L⁻¹, 2,0709 gSDV.L⁻¹ e 0,5132 gSDF.L⁻¹, enquanto que as concentrações do controle térmico foram de 8,7388 gSS.L⁻¹, 7,0032 gSSV.L⁻¹, 1,7356 gSSF.L⁻¹, 4,0262 gSD.L⁻¹, 3,2266 gSDV.L⁻¹ e 0,7997 gSDF.L⁻¹. A redução dos SV aumentou linearmente com o aumento da dosagem enzimática, e foi inversamente proporcional aos SD.

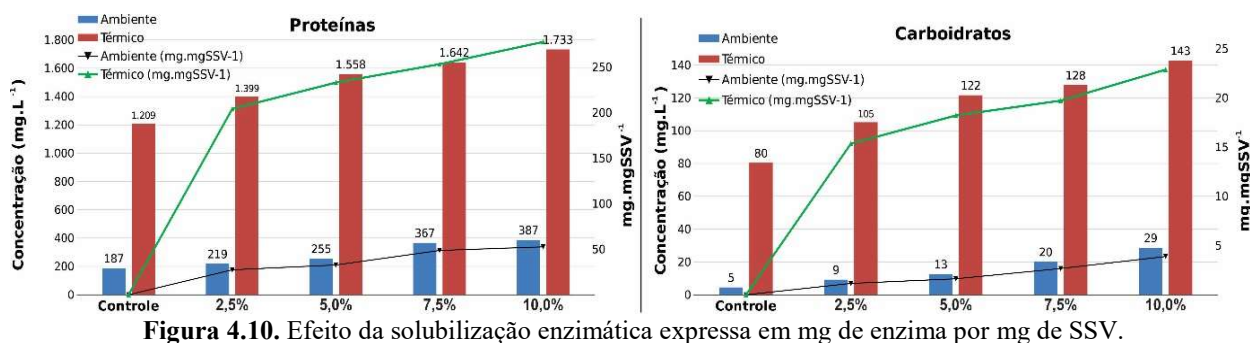


Figura 4.10. Efeito da solubilização enzimática expressa em mg de enzima por mg de SSV.

Utilizando a redução do SSV como parâmetro responsável pela solubilização do lodo, na Figura 4.10 foi apresentado o perfil da atividade enzimática conforme o aumento de sua concentração. Tanto para a condição controle, quanto para a ação térmica, o comportamento apresentou similaridade com a curva da equação de Michaelis-Menten, enquanto a relação enzima/substrato aumenta, a liberação do material solúvel expressa o aumento do produto, e a redução do SSV (Fig. 4.9) demonstra a diminuição do substrato.

4. CONCLUSÕES

A solubilização do lodo aeróbio pode ser aumentada com a adição de enzimas. Essa afirmativa é ratificada com a eficiência da solubilização enzimática identificada neste trabalho, que foi crescente em todas as condições propostas de dosagem das enzimas.

A atividade enzimática de uma única espécie foi caracterizada como mais eficiente. A lipase foi responsável pelos melhores resultados de solubilização, seguida da protease e por fim, com as duas enzimas.

Os testes biológicos permitiram enfatizar o aumento da DQO solúvel não recalcitrante, e a maior dosagem enzimática foi responsável pela maior taxa de solubilização. O aumento da matéria orgânica biodegradável após a solubilização enzimática permitiu maior assimilação pelo metabolismo bacteriano aeróbio, e pela anaerobiose que resultou no aumento da produção de biogás.

A solubilização química utilizando somente as enzimas tem a vantagem única de ser um método que não aumenta a recalcitrância do lodo final. Por fim, conclui-se que a aplicação da solubilização enzimática combinada em série com a solubilização térmica alcança maiores eficiências de solubilização do lodo, além de permitir que a enzima atue em fração flocular mais interna, distinta da solubilização puramente enzimática.

5. REFERÊNCIAS

- AHUJA, S. K.; FERREIRA, G. M.; MOREIRA, A. R. Utilization of enzymes for environmental applications. **Crit. Rev. Biotechnol.** v. 24, n. 2–3, p. 125–154, 2004.
- ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J. B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. **Water Sci. Technol.** v. 59, p. 927–934, 2009.
- APHA, AWWA. WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22 ed. Washington, DC. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Pollution control Federation, 2012.
- APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGRÈVE, J.; DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Prog. Energy Combust. Sci.** v. 34, p. 755–781, 2008.
- AYOL, A.; FILIBELI, A.; SIR, D.; KUZYAKA, E. Aerobic and anaerobic bioprocessing of activated sludge: floc disintegration by enzymes. **J. Environ. Sci. Health A: Toxic. Hazard. Subst. Environ. Eng.** v. 43, p. 1528–1535, 2008.
- BETTIOL, W.; CARVALHO, P. C. T.; FRANCO, B. J. D. C. Utilização do lodo de esgoto como fertilizante. **O Solo**, Piracicaba. v. 75, n. 1, p. 44-54, 1989.
- BOUGRIER, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chem. Eng. J.** 139, p. 236–244, 2008.
- BURGESS, J. E.; PLETSCHKE, B. I. Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: A mini-review. **Water S A.** v. 34, p. 343–350, 2008.
- CADORET, A.; CONRAD, A.; BLOCK, J.-C. Availability of low and high molecular weight substrates to extracellular enzymes in whole and dispersed activated sludges. **Enzyme Microb. Technol.** v. 31, n. 1–2, p. 179–186, 2002.
- CARRÈRE, H.; DUMAS, C.; BATTIMELLI, A.; BATSTONE, D. J.; DELGENÈS, J. P.; STEYER, J. P.; FERRER, I. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. **J Hazard Mater.** v. 183, p. 1–15, 2010.
- CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V.; YOU, C. S.; Tay, J. H. ‘Weak’ ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids. **Water Res.** v. 36, p. 2681–2688, 2002.
- DE SOUSA, J. T.; MINÁ, V. G.; LOPES, W. S.; LEITE, V. D., & DE OLIVEIRA, M. F. Treatment of wastewater using a sequencing batch reactor. **Environmental Technology.** v. 34, n. 8, p. 1035–1042, 2013.

DEY, E. S.; SZEWCZYK, E.; WAWRZYCZYK, J.; NORRLOW, O. A novel approach for characterization of exopolymeric material in sewage sludge. **J. Residuals Sci. Technol.** v. 3, n. 2, p. 97–103, 2006.

DHAR, B. R.; NAKHLA, G.; RAY, M. B. Techno-economic evaluation of ultrasound and thermal pretreatments for enhanced anaerobic digestion of municipal waste activated sludge. **Waste Manag.** v. 32, p. 542–549, 2012.

DWYER, J.; STARRENBURG, D.; TAIT, S.; BARR, K.; BATSTONE, D. J.; LANT, P. Decreasing activated sludge thermal hydrolysis temperature reduces product colour, without decreasing degradability. **Water Res.** v. 42, p. 4699–4709, 2008.

ELEFSINIOTIS, P.; OLDHAM, W.K. Substrate degradation patterns in acid phase anaerobic digestion of municipal primary sludge. **Environmental Technology.** v.15, p. 741–751, 1994.

ELLIOTT, A.; MAHNOOD, T. Pretreatment technologies for advancing anaerobic digestion of pulp and paper biotreatment residues. **Water Research.** v. 41, p. 4273-4286, 2007.

ERDEN, G.; DEMIR, O.; FILIBELI, A. Disintegration of biological sludge: Effect of ozone oxidation and ultrasonic treatment on aerobic digestibility, **Bioresour Technol.** v. 101, p. 8093–8098, 2010.

FERRER, I.; CLIMENT, M.; BACZA, M.M.; ARTOLA, A.; VAZQUEZ, F.; FONT, X. **Effect of sludge pretreatment on thermophilic anaerobic digestion.** Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 79, p. 11197-11203, v. 79, 2006.

FRØLUND B, GRIEBE T, NIELSEN P. H. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. **Applied Microbiology Biotechnology.** v. 43, p. 755–761, 1995.

GONZALEZ, A.; HENDRIKS, A. T. W. M.; VAN LIER, J. B.; DE KREUK, M. Pre-treatments to enhance the biodegradability of waste activated sludge: elucidating the rate limiting step. **Biotechnology Advances.** v. 36, p. 1434-1469, 2018.

GUO, J. S.; XU, Y. F. Review of Enzymatic Sludge Hydrolysis. **J Bioremed Biodegrad.** v. 2, n. 5, p. 1-7, 2011.

HIGGINS, M. J. AND NOVAK, J. T. Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation. **J. Environmental Eng. Am. Soc. Civil Eng.** v. 123, p. 479-485, 1997.

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; BOUGRIER, C.; BUFFIERE, P.; CARBALLA, M.; DE WILDE, V.; EBERTSEDER, F.; FERNANDEZ, B.; FICARA, E.; FOTIDIS, I.; FRIGON, J.-C.; DE LACLOS, H. F.; GHASIMI, D. S. M.; HACK, G.; HARTEL, M.; HEERENKLAGE, J.; HORVATH, I. S.; JENICEK, P.; KOCH, K.; KRAUTWALD, J.; LIZASOAIN, J.; LIU, J.; MOSBERGER, L.; NISTOR, M.; OECHSNER, H.; OLIVEIRA, J. V.; PATERSON, M.; PAUSS, A.; POMMIER, S.; PORQUEDDU, I.; RAPOSO, F.; RIBEIRO, T.; RUSCH PFUND, F.; STROMBERG, S.; TORRIJOS, M.; VAN EEKERT, M.; VAN LIER, J.; WEDWITSCHKA, H.; WIERINCK, I. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Sci. Technol.** p. 1–9, 2016.

JEONG, S. Y.; CHANG, S. W.; NGO, H. H.; GUO, W.; NGHIEM, L. D.; BANU, J. R.; JEON, B. H.; NGUYEN, D. D. Influence of thermal hydrolysis pretreatment on physicochemical properties and anaerobic biodegradability of waste activated sludge with different solids content. **Waste Management**. v. 85, p. 214–221, 2019.

KIM, J.; PARK, C.; KIM, T.-H.; LEE, M.; KIM, S.; KIM, S.-W.; LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **J. Biosci. Bioeng.** v. 95, p. 271–275, 2003.

MADIGAN, M.; MARTINKO, J.; DUNLOP, P.; CLARK, D. Brock Biology of Microorganisms. 12th ed., Pearson Prentice Hall, 2009

MAILLARD, A. C. Action des acides amines sur les sucres. Formation des melanoidines par voie methodologique. **C. R. Acad. Sci.** v. 154, p. 66-68, 1912.

MARAIS, G. R.; EKAMA, G. A. The activated sludge process part I – steady state behavior. **Water SA**. v. 2, p. 164–200, 1976).

MASPOLIM, Y.; ZHOU, Y.; GUO, C.; XIAO, K.; NG, W. J. Comparison of single-stage and two-phase anaerobic sludge digestion systems – Performance and microbial community dynamics. **Chemosphere**. v. 140, p. 54–62, 2015.

MASPOLIM, Y.; ZHOU, Y.; GUO, C.; XIAO, K.; NG, W. J. The effect of pH on solubilization of organic matter and microbial community structures in sludge fermentation. **Bioresource Technology**. v. 190, p. 289-298, 2015.

NAZARI, L.; YUAN, Z.; SANTORO, D.; SARATHY, S.; HO, D.; BATSTONE, D.; XU, C. (CHARLES), RAY, M. B. Low-temperature thermal pre-treatment of municipal wastewater sludge: Process optimization and effects on solubilization and anaerobic degradation. **Water Res.** v. 113, p. 111–123, 2016.

NEYENS, E.; BAEYENS, J.; DEWIL, R.; DE HEYDER, B. Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. **J. Hazard. Mater.** v. 106, p. 83–92, 2004.

PARK, N. D.; HELLE, S. S.; THRING, R. W. Combined alkaline and ultrasound pre-treatment of thickened pulp mill waste activated sludge for improved anaerobic. Biomass and bioenergy. v. 46, p. 750-756, 2012.

PARMAR, N.; SINGH, A.; WARD, O. Enzyme treatment to reduce solids and improve settling of sewage sludge. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** v. 26, p. 383–386, 2001.

ROMAN, H. J.; BURGESS, J. E.; PLETSCHE, B. I. Enzyme treatment to decrease solids and improve digestion of primary sewage sludge. **Afr. J. Biotechnol.** v. 5, n. 10, p. 963–967, 2006.

RONJA, B. **Enzymatic treatment of wastewater sludge in presence of a cation binding agent-improved solubilisation and increased methane production.** Linkopings University, Sweden, p. 49–50, 2008.

RUFFINO, B.; CAMPO, G.; CERUTTI, A.; ZANETTI, M.; LORENZI, E.; SCIBILIA, G.; GENON, G. Preliminary technical and economic analysis of alkali and low temperature thermo-alkali pretreatments for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Waste Biomass Valorization** v. 7, p. 667–675, 2016.

SAPKAITE, I.; BARRADO, E.; FDZ-POLANCO, F.; PÉREZ-ELVIRA, S. I. Optimization of a thermal hydrolysis process for sludge pre-treatment. **J. Environ. Manage.** 192, 25–30, 2017.

SHENG, G. P.; YU, H. Q. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using 3-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. **Water Res.** v. 40, p.1233–1239, 2006.

SHENG, G. P.; YU, H.Q.; LI, X. Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: **A review. Biotechnology Advances.** n. 28, p. 882-894, 2010.

SMITH, G. A.; FRIEDMAN, M. Effect of carbohydrates and heat on the amino acid composition and chemically available lysine content of casein. **J. Food Sci.** v. 49, p. 817-821, 1984.

SPANJERS H.; VANROLLEGHEM P. Respirometry as a tool for rapid characterisation of wastewater and activated sludge. **Water Science and Technology.** v. 31, n. 2, p. 105–114, 1995.

SPONZA, D. T. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions, **Enzyme Microbial Technology.** v. 32 p. 375–385, 2003.

STUCKEY, D. C.; MCCARTY, P. L. The effect of thermal pretreatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. **Water Res.** v. 18, p. 1343–1353, 1984.

TCHOBANOGLOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D. METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: treatment and reuse.** 4 ed. New York, McGraw-Hill International edition, 2004.

TIAN, X.; WANG, C.; TRZCINSKI, A. P.; LIN, L.; NG, W. J. Insights on the solubilization products after combined alkaline and ultrasonic pre-treatment of sewage sludge. **Journal of Environmental Sciences.** v. 29, p. 97-105, 2014.

VAN HAANDEL, A. C.; CATUNDA, P. F. C. Determinação da taxa de consumo de oxigênio. **Revista Engenharia Sanitária.** v. 21, n. 4, p. 481-488, 1982.

VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. O. **O comportamento do Sistema de lodo ativado – Teoria e aplicação para projeto e operação.** Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, Epgraf, 472 p. 1999.

- VANROLLEGHEM, P.A., SPANJERS, H., PETERSEN, B., GINESTET, P., AND TAKACS, I. Estimating (combinations of) Activated Sludge Model No.1 parameters and components by respirometry. **Water Science and Technology**. v. 39, n. 1, p. 195–215, 1999.
- VAVILIN, V. A.; RYTOV, S. V.; LOKSHINA, L. Y. A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter. **Bioresour. Technol.** 56 229-237, 1996.
- VAXELAIRE, S.; GONZE, E.; MERLIN, G.; GONTHIER, Y. Reduction by sonication of excess sludge production in a conventional activated sludge system: Continuous flow and lab-scale reactor. **Environ. Technol.** v. 29, p. 1307- 1320, 2008.
- WANG, Q.; JIANG, G.; YE, L.; YUAN, Z. Enhancing methane production from waste activated sludge using combined free nitrous acid and heat pre-treatment. **Water Res.** v. 63, p. 71–80, 2014.
- WAWRZYNCZYK, J., RECKTENWALD, M., NORRLOW, O., DEY, E.S. The function of cation-binding agents in the enzymatic treatment of municipal sludge. *Water Res.* 42 (6–7), 1555–1562, 2008.
- WAWRZYNCZYK, J.; RECKTENWALD, M.; NORRLÖW, O.; DEY, E.S. Solubilisation of sludge by combined chemical and enzymatic treatment. **African Journal of Biotechnology**.v. 6, n. 17, p. 1994-1999, 2007.
- WILÉN, B. M.; JIN, B.; LANT, P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. **Water Res.** 37, 2127–2139, 2003.
- YANG, Q; LUO, K.; LI, X. M.; WANG, D. B.; ZHENG, W.; ZENG, G. M.; LIU J. J. Enhanced efficiency of biological excess sludge hydrolysis under anaerobic digestion by additional enzymes. **Bioresource Technology**. v. 101. p. 2924–2930, 2010.
- YU, G. H.; HE, P. J.; SHAO, L. M.; ZHU, Y. S. Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasonic pre-treatment. **Water Res.** v. 42, p. 1925–1934, 2008.
- ZAHEDI, S., ICARAN, P., YUAN, Z., PIJUAN, M. Assessment of free nitrous acid pre-treatment on a mixture of primary sludge and waste activated sludge: Effect of exposure time and concentration. **Bioresource Technology**. v. 216, p. 870–875, 2016.

APÊNDICE DO CAPÍTULO IV

Tabela 4.4 – Processo de solubilização por gelo/degelo (-30 °C)

Tabela 4.4. Resultados correspondentes às amostras com processo gelo/degelo (-30 °C).

Parâmetros	Lodo -30 °C $\bar{x} \pm \delta$	Pós protease $\bar{x} \pm \delta$	Pós lipase $\bar{x} \pm \delta$	Pós protease+lipase $\bar{x} \pm \delta$
Carbono Orgânico Dissolvido (mg.L ⁻¹)	34,5 ± 2,4	61,4 ± 6,2	64,8 ± 5,1	61,8 ± 5,9
	-	78,0%	87,8%	79,1%
Fósforo (mgP-PO ₄ ⁻³ .L ⁻¹)	17,54 ± 1,11	19,47 ± 1,69	20,61 ± 1,57	20,30 ± 1,93
	-	11,0%	17,5%	15,7%
Sólidos Voláteis Totais (mg.L ⁻¹)	5,0291	-	-	-
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	4,1575	3,9358	3,6230	3,8245
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg.L ⁻¹)	0,8716	1,0933	1,4061	1,2047
Sólidos Fixos Totais (mg.L ⁻¹)	1,5715	-	-	-
Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)	1,1100	1,0508	0,9673	1,0211
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg.L ⁻¹)	0,4615	0,5207	0,6042	0,5504
Proteína (mg.L ⁻¹)	291,12 ± 12,31	417,07 ± 19,70	488,82 ± 29,31	445,98 ± 27,11
	-	43,3%	67,9%	53,2%
Carboidratos (mg.L ⁻¹)	41,35 ± 5,12	73,57 ± 7,96	74,99 ± 7,69	71,07 ± 6,32
	-	77,9%	81,4%	71,9%

Tabela 4.5 – Processo de solubilização por aquecimento a 50 °C

Tabela 4.5. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 50°C.

Parâmetros	Lodo 50 °C $\bar{x} \pm \delta$	Pós protease $\bar{x} \pm \delta$	Pós lipase $\bar{x} \pm \delta$	Pós protease+lipase $\bar{x} \pm \delta$
Carbono Orgânico Dissolvido (mg.L ⁻¹)	35,9 ± 2,9	57,1 ± 5,1	59,0 ± 5,7	55,8 ± 5,5
	102%	59,1%	64,3%	55,4%
Fósforo (mgP-PO ₄ ⁻³ .L ⁻¹)	17,65 ± 1,54	20,58 ± 1,91	24,23 ± 1,98	21,41 ± 2,13
	39,6	16,6%	37,3%	21,3%
Sólidos Voláteis Totais (mg.L ⁻¹)	5,0291	-	-	-
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	4,4042	4,2860	4,2003	4,3313
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg.L ⁻¹)	0,6250	0,7431	0,8288	0,6978
Sólidos Fixos Totais (mg.L ⁻¹)	1,5715	-	-	-
Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)	1,1758	1,1443	1,1214	1,1564
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg.L ⁻¹)	0,3956	0,4272	0,4501	0,4151
Proteína (mg.L ⁻¹)	147,63 ± 6,39	182,73 ± 9,72	252,41 ± 12,83	237,96 ± 11,61
	93,0%	23,8%	71,0%	79,2%
Carboidratos (mg.L ⁻¹)	23,95 ± 3,2	42,91 ± 7,9	42,70 ± 7,3	41,06 ± 7,2
	129%	79,2%	78,3%	71,4%

Tabela 4.6 – Processo de solubilização por aquecimento a 65 °C

Tabela 4.6. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 65°C.

Parâmetros	Lodo 65 °C	Pós protease	Pós lipase	Pós protease+lipase
	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$
Carbono Orgânico Dissolvido (mg.L ⁻¹)	48,8 ± 3,9 174%	75,1 ± 6,7 53,9%	86,0 ± 8,2 76,2%	68,3 ± 6,5 40,0%
Fósforo (mgP-PO ₄ ³⁻ .L ⁻¹)	20,61 ± 2,64 63,1%	24,05 ± 2,19 16,7%	28,15 ± 2,69 36,6%	25,28 ± 2,58 22,6%
Sólidos Voláteis Totais (mg.L ⁻¹)	5,0291	-	-	-
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	4,1862	4,0361	3,9089	3,9922
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg.L ⁻¹)	0,8429	0,9930	1,1203	1,0369
Sólidos Fixos Totais (mg.L ⁻¹)	1,5715	-	-	-
Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)	1,1176	1,0776	1,0436	1,0658
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg.L ⁻¹)	0,4538	0,4939	0,5279	0,5056
Proteína (mg.L ⁻¹)	289,06 ± 26,31 278%	425,33 ± 39,87 47,1%	484,17 ± 42,23 67,5%	446,49 ± 41,91 54,5%
Carboidratos (mg.L ⁻¹)	40,63 ± 5,1 288%	72,43 ± 7,9 78,2%	72,85 ± 7,7 79,3%	68,86 ± 6,3 69,5%

Tabela 4.7 – Processo de solubilização por aquecimento a 80 °C

Tabela 4.7. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 80°C.

Parâmetros	Lodo 80 °C	Pós protease	Pós lipase	Pós protease+lipase
	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$
Carbono Orgânico Dissolvido (mg.L ⁻¹)	74,5 ± 7,1 319%	94,1 ± 9,1 26,3%	100,8 ± 9,8 35,3%	94,9 ± 9,5 21,5%
Fósforo (mgP-PO ₄ ³⁻ .L ⁻¹)	23,97 ± 2,49 89,6%	28,24 ± 2,82 17,8%	33,11 ± 3,94 38,1%	29,63 ± 3,32 23,6%
Sólidos Voláteis Totais (mg.L ⁻¹)	5,0291	-	-	-
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	4,0512	3,8738	3,6924	3,9430
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg.L ⁻¹)	0,9779	1,1553	1,3368	1,0861
Sólidos Fixos Totais (mg.L ⁻¹)	1,5715	-	-	-
Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)	1,0816	1,0342	0,9858	1,0527
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg.L ⁻¹)	0,4899	0,5372	0,5857	0,5188
Proteína (mg.L ⁻¹)	680,58 ± 56,93 790%	1046,80 ± 99,97 53,8%	1234,17 ± 99,23 81,3%	1173,78 ± 101,10 72,5%
Carboidratos (mg.L ⁻¹)	123,75 ± 18,2 1081%	215,00 ± 19,8 73,7%	226,97 ± 20,3 83,4%	205,87 ± 21,2 66,4%

Tabela 4.8 – Processo de solubilização por aquecimento a 95 °C

Tabela 4.8. Resultados correspondentes às amostras aquecidas a 95°C.

Parâmetros	Lodo 95 °C	Pós protease	Pós lipase	Pós protease+lipase
	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$	$\bar{x} \pm \delta$
Carbono Orgânico Dissolvido (mg.L ⁻¹)	95,6 ± 9,3 437%	120,2 ± 10,7 25,7%	127,8 ± 11,2 33,7%	121,6 ± 11,9 27,2%
Fósforo (mgP-PO ₄ ³⁻ .L ⁻¹)	31,20 ± 4,41 147%	37,01 ± 4,93 18,6%	43,16 ± 5,91 38,3%	38,74 ± 4,76 24,2%
Sólidos Voláteis Totais (mg.L ⁻¹)	5,0291	-	-	-
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	3,8846	3,5245	3,3977	3,3587
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg.L ⁻¹)	1,1446	1,5046	1,6314	1,4304
Sólidos Fixos Totais (mg.L ⁻¹)	1,5715	-	-	-
Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)	1,0371	0,9410	0,9071	0,9608
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg.L ⁻¹)	0,5344	0,6305	0,6644	0,6107
Proteína (mg.L ⁻¹)	967,83 ± 96,31 1165%	1498,97 ± 121,97 54,9%	1695,12 ± 152,38 75,1%	1540,27 ± 151,04 59,1%
Carboidratos (mg.L ⁻¹)	188,19 ± 17,4 1696%	296,55 ± 18,2 57,6%	321,64 ± 22,7 70,9%	278,87 ± 18,3 48,2%

CAPÍTULO V

Solubilização de lodo aeróbio utilizando resina catiônica DOWEX

1. INTRODUÇÃO

As substâncias poliméricas extracelulares (SPE) são componente essencial e predominante dos agregados microbianos, que no caso do lodo ativado estão na forma de floco. Essas substâncias tem uma significativa influência nas propriedades físico-químicas, inclusive estruturais, na carga superficial, floculação, em suas propriedades de sedimentação, de desidratação e capacidade de adsorção (SHENG et al., 2010). Sua matriz é heterogênea, carboidratos e proteínas são geralmente seus principais componentes, além dos ácidos nucléicos e compostos húmicos (FROLUND et al., 1995; SHENG et al., 2010). Quimicamente, as SPE são uma mistura complexa de polímeros, geralmente contendo compostos de elevada massa molecular, e de grupos funcionais eletricamente carregados que possuem propriedades de adsorção e de ligação (SHENG et al., 2010; WANG et al., 2015).

A natural propriedade de ligação das SPE decorre de compostos eletricamente carregados, que proporcionam novas ligações devido a atração com outras partículas ou moléculas (DECHO, 1990). Além das complexas interações celulares formando uma vasta estrutura de ligação abundante em água que as protege de desidratação (WINGENDER et al., 1999), contra substâncias tóxicas (SUTHERLAND, 2001), além do fato que as SPE podem fornecer carbono, nutrientes ou servir como fonte de energia (SUTHERLAND, 2001, ZHANG; BISHOP, 2003). Assim, para solubilização o rompimento flocular é induzido por métodos químicos, físicos, mecânicos ou biológicos (LIU; TAY, 2001; AYOL et al. 2008).

Um procedimento específico de solubilização foi investigado, utilizando resina de troca catiônica que remove os cátions da matriz de lodo levando à quebra dos flocos e uma liberação subsequente das SPE (FROLUND et al., 1996). Recentemente, o mesmo tipo de resina tem sido usado para extrair SPE do lodo e demonstrou que as composições das SPE extraídas são diferentes entre as estações de tratamento (Frolund et al., 1994). A ideia do método é perturbar o ponto isoelétrico, desequilibrando as concentrações de cargas positivas e negativas, o que influencia diretamente nas forças de atração e repulsão (GOODWIN e FORSTER, 1985; WANG et al., 2012). Assim, a hipótese é que o sódio (Na^+), carregado positivamente, ocasione trocas iônicas, que enfraqueça o lodo de acordo com a teoria divalente de ligação de cátions (Sobeck & Higgins 2002). Assim, perturbando a força iônica do meio, o objetivo é de investigar a resina catiônica como o agente solubilizante. Reduzindo o material intraflocular e aumentando a biodegradabilidade do lodo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado, desenvolvido e monitorado na EXTRABES (Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgoto Sanitário), no laboratório pertencente ao departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Esse laboratório situa-se na cidade de Campina Grande no estado da Paraíba, e está a aproximadamente 512 metros de altitude em relação ao nível do mar. Nessa área se localizava a antiga depuradora da Companhia de Águas e Esgotos da Paraíba (CAGEPA), que era responsável por tratar 70% de todo esgoto do município na década de 70 e ainda hoje passa o interceptor leste. É desse interceptor que é captado o esgoto para alimentação dos sistemas operados no laboratório da EXTRABES.

2.1. Lodo e resina

O lodo utilizado no procedimento experimental era produzido em um reator de lodo ativado operado em regime de bateladas sequenciais, alimentado pelo esgoto municipal. Esse reator em bateladas operava com 3 ciclos de 8 horas, então era alimentado com 20 litros de esgoto do interceptor leste a cada batelada. Com um fluxo de oxigênio de $9 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, a aeração e homogeneização eram realizadas por um compressor de ar conectado a um conjunto de difusores. O reator era operado com duas fases, aeróbia e anaeróbia, sendo 2 horas em regime anaeróbio mantido em homogeneização, e 5 horas de aeração, e para o procedimento de encerramento do ciclo, a decantação foi programada com um tempo de descanso de 0,75 hora, seguido do descarte do sobrenadante e da realimentação do sistema com esgoto em 0,25 hora. O Tempo de Retenção Celular (TRC) foi de 5 dias, e calculada pela relação do volume utilizado do reator e a vazão de descarte.

Comprado pela Sigma-Aldrich[®], a resina catiônica utilizada foi do tipo Dowex[®] Marathon[™] C, ácido forte, na forma de sódio (Na^+), capacidade de troca $\geq 1,8 \text{ meq}\cdot\text{ml}^{-1}$, e tamanho de malha de 20-50.

2.2. Procedimento experimental

A solubilização do lodo foi desenvolvida em duas etapas: Etapa I – Definição da proporção resina/sólidos e seu respectivo tempo de contato; Etapa II – Efeitos da solubilização.

Etapa I – Definição da proporção resina/sólidos, e seu respectivo tempo de contato

Na primeira etapa o trabalho foi desenvolvido para investigar a influência da concentração da resina em relação à concentração dos sólidos totais (ST), e o melhor tempo de contato. Para esta etapa a concentração dos ST foi determinada de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), e as concentrações da resina foram calculadas em gramas de espécie química tendo como base os ST. Quatro diferentes concentrações de resina foram testados: $0,25 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$; $0,5 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$; $0,75 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$; $1 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$, bem como, para traçar o perfil em função do tempo, 13 distintos tempos de contato foram estabelecidos, 2h; 4h; 6h; 12h; 24h; 36h; 48h; 60h; 72h; 84; 96h; 108h; 120h.

Para realização do experimento, 52 tubos de tipo falcon, com volume total de 15 ml, foram separados em 4 grupos de 13, cada grupo correspondente às 4 concentrações propostas ($0,25$; $0,5$; $0,75$ e $1 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$). Primeiramente a resina foi adicionada ao tubo e somente após todos os tubos estarem com seus respectivos volumes de resina foi adicionado os 15 ml de lodo. Por meio de um homogeneizador de soluções, modelo HM01 da Kacil Indústria e Comércio Ltda., os tubos foram mantidos em constante homogeneização à 25 rpm em uma sala pequena sala climatizada por um ar condicionado programado para 16 °C. O intuito era reduzir ao máximo a atividade biológica sem que o resfriamento interferisse no processo de solubilização. Para encerrar a atividade da resina, os conteúdos dos tubos foram individualmente filtrados, vertidos em kit de filtração o material era filtrado através de papel em fibra de vidro (GF-2, diâmetro 47 mm) com tamanho de poro de $0,45 \mu\text{m}$.

Etapa II – Efeitos da solubilização.

Para investigar os efeitos da solubilização do lodo aeróbio, a segunda etapa selecionou a relação $\text{gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$ da primeira etapa que obteve melhor solubilização. Os parâmetros balizadores utilizados foram as concentrações na fração solúvel de fósforo, carboidratos, proteínas, demanda química de oxigênio (DQO) e sólidos dissolvidos (SD), além dos ensaios biológicos de respirometria, para caracterizar a biodegradabilidade aeróbia.

2.3. Parâmetros analíticos

Foram realizadas análises de caracterização físico-química no lodo bruto antes dos ensaios de solubilização e após (lodo pré-tratado). As amostras de lodo bruto eram filtradas

através de papel em fibra de vidro (GF-2, diâmetro 47 mm) com tamanho de poro de 0,45 µm. Os parâmetros de pH, condutividade, fósforo (P) solúvel, Sólidos Totais (ST), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), Sólidos Suspensos Fixos (SSF), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV) e Sólidos Dissolvidos Fixos (SDF) foram quantificados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Para a análise de proteínas, foi aplicado o método de Lowry (modificado por Frølund et al., (1995)), e para carboidratos foi o método de Dubois et al., (1956).

2.4. Teste respirométrico, do aumento de biodegradabilidade

Para avaliar o potencial de solubilização do lodo pela adição da resina, foi aplicado o teste respirométrico, o qual quantifica diretamente a biodegradabilidade da matéria orgânica liberada. A proposta do teste é acessível na literatura (VAN HAANDEL; CATUNDA, 1982; SPANJERS; VANROLLEGHEM, 1995; VANROLLEGHEM et al., 1999). O teste permite medir a taxa de consumo de oxigênio (TCO), como taxa de respiração, possibilitando quantificar separadamente a taxa de remoção de matéria orgânica rapidamente e lentamente biodegradável por organismos heterotróficos, e permite calcular as frações catabolizada e anabolizada durante o metabolismo bacteriano (VAN HAANDEL; CATUNDA, 1982; DE SOUSA et al., 2013).

O respirômetro utilizado nessa pesquisa foi do modelo Beluga S32c do tipo aberto e semi-contínuo. O ensaio ocorre em um reator onde uma amostra de lodo ativado era aerada de forma intermitente com dois valores de referência (máximo e mínimo) para o oxigênio dissolvido (OD). Um agitador mecânico mantinha o lodo em suspensão nos períodos de tempo sem aeração. Um sensor de leitura de oxigênio dissolvido YSI (5718) e de temperatura acoplados ao respirômetro coletam os dados sistematicamente. O software controla o sistema de aeração, e quando a concentração de OD alcança o nível de referência inferior, o software calculará a variação da concentração de OD em relação ao tempo (TCO) e o aerador será novamente ativado para uma nova determinação da TCO. Os dados calculados fornecem uma curva conhecida como respirograma. Os dados de OD e temperatura são armazenados constantemente. E a TCO é calculada através de regressão linear expressa na Equação 4.1.

$$TCO = \frac{dOD}{dt} = \frac{OD_{m\acute{a}x} - OD_{m\acute{i}n}}{\Delta t} \quad (\text{Eq.: 4.1})$$

TCO: Taxa de Consumo de Oxigênio ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$);

$\text{OD}_{\text{máx}}$: concentração de oxigênio dissolvido de referência superior ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$);

$\text{OD}_{\text{mín}}$: concentração de oxigênio dissolvido de referência inferior ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$);

Δt : variação do tempo (h).

Para inibir os organismos autotróficos nitrificantes é necessário utilizar a dosagem de allylthiourea (ATU). No entanto, também pode ser adotada uma idade de lodo reduzida e durante o ensaio testar se há atividade das autotróficas nitrificantes com cloreto de amônia (NH_4Cl) e nitrito de sódio (NaNO_2).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade da metodologia de solubilização iônica de lodo depende de três principais fatores; o tempo de contato entre resina e lodo, a dosagem necessária, e a eficiência da solubilização. Visando essas questões, a primeira etapa do trabalho avaliou tanto a proporção da resina/lodo (m/m), quanto o tempo de contato. E somente após determinação da melhor proporção e do melhor tempo de contato, foi que se desenvolveu a segunda etapa investigando a eficiência da solubilização e a qualidade biológica do material solubilizado.

Etapa I – Definição da proporção resina/sólidos, e seu respectivo tempo de contato

A liberação do material orgânico intraflocular indica a redução da massa molecular orgânica e da provável redução do tamanho de partículas, o que é decorrente da transferência das proteínas, polissacarídeos, enzimas, dentre outros produtos microbianos, da fração interna do floco para a fração externa (CHU et al., 2002; YU et al., 2008; VAXELAIRE et al., 2008; ERDEN et al., 2010). Então, para balizar a ocorrência da solubilização do lodo aeróbio utilizando a resina catiônica DOWEX, as análises de quantificação da concentração de proteínas e carboidratos em função do tempo foram adotadas para traçar perfis de liberação desses constituintes conforme a variação da proporção resina/sólidos. Na Figura 5.1 estão apresentados os perfis da liberação de proteínas (a) e carboidratos (b) para as quatro diferentes proporções, $0,25 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$; $0,5 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$; $0,75 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$; $1 \text{ gDowex.gST}_{\text{lodo}}^{-1}$, em função de treze distintos tempos de contato, 2h; 4h; 6h; 12h; 24h; 36h; 48h; 60h; 72h; 84; 96h; 108h; 120h.

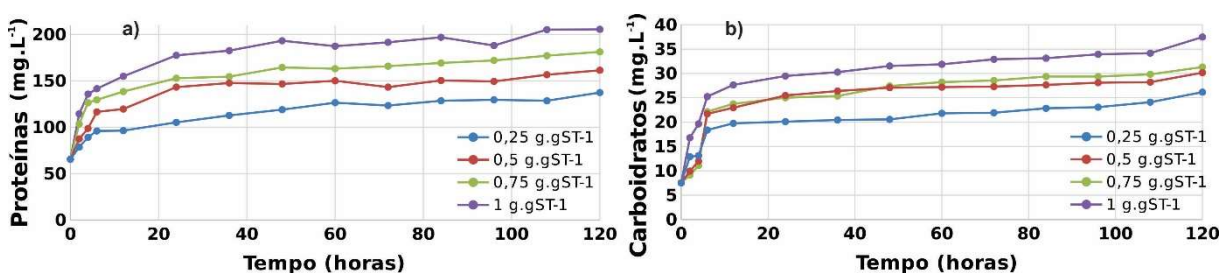


Figura 5.1. Perfis das concentrações de proteínas (a) e carboidratos (b) em função do tempo de contato.

As concentrações de proteínas (Fig. 5.1a) e carboidratos (Fig. 5.1b) na fração solúvel aumentaram para as quatro concentrações da resina. Os perfis do aumento das concentrações de ambos apresentaram similaridade, foram diretamente proporcionais ao aumento do tempo de contato, e também ao aumento da proporção da resina. De fato, a

liberação do material intraflocular era esperada, a resina, apesar de metodologia diferente, é utilizada na extração das SPE (FRØLUND et al., 1996). Além disso, Wawrzynczyk et al., (2007), utilizando nove distintos agentes de ligação de cátion (ácido fórmico, cítrico e tartárico; EDTA, tripolifosfato de sódio, zeólita A, fluoreto de sódio, tiosulfato de sódio e a combinação da Zeólita A e silicato de sódio), reportaram um aumento da DQO solúvel para quase todos agentes, exceto para ácido fórmico.

A influência da proporção da resina no aumento das concentrações de proteínas e carboidratos foi constatada para praticamente todos os tempos de contato investigados. Especificamente para 120 horas de tempo de contato, para as proporção de 0,25, 0,5, 0,75 e 1 gDowex.gST_{lodo}⁻¹ as eficiências na liberação dos PMS foram respectivamente de 110% (17,97 mg.gDowex⁻¹), 146% (47,92 mg.gDowex⁻¹), 177% (86,78 mg.gDowex⁻¹) e 214% (140,01 mg.gDowex⁻¹) para proteínas, e de 247% (4,66 mg.gDowex⁻¹), 300% (11,31 mg.gDowex⁻¹), 316% (17,88 mg.gDowex⁻¹) e 398% (29,94 mg.gDowex⁻¹) para carboidratos. Analisando os perfis para 1 gDowex.gST_{lodo}⁻¹, que foi a melhor proporção na solubilização do lodo, as concentrações após 120 horas de contato foram de 205,56 mgProt.L⁻¹ e 37,47 mgCarb.L⁻¹. Para proporção constante da resina, o crescimento das concentrações dos PMS em função do tempo permitem dividir a reação em duas fases, uma inicial, que apesar de maior eficiência no aumento das concentrações dos produtos, é curta. A segunda fase é mais longa, contudo as concentrações dos produtos sofrem aumento discreto. Ambas as fases atendem a uma cinética de primeira ordem, diferentes pela taxa de liberação que é maior na primeira fase. Essas duas fases se distinguem quando a concentração do “substrato” da reação passa a ser menor que o produto. Na Figura 5.2, após as 6 horas de tempo de contato a taxa de liberação começou a reduzir, se tornando cada vez mais insignificante após às 48 horas. Esse comportamento difásico também foi característico da solução alcalina, apresentado no capítulo 3 e reportado na literatura (LI et al., 2008).

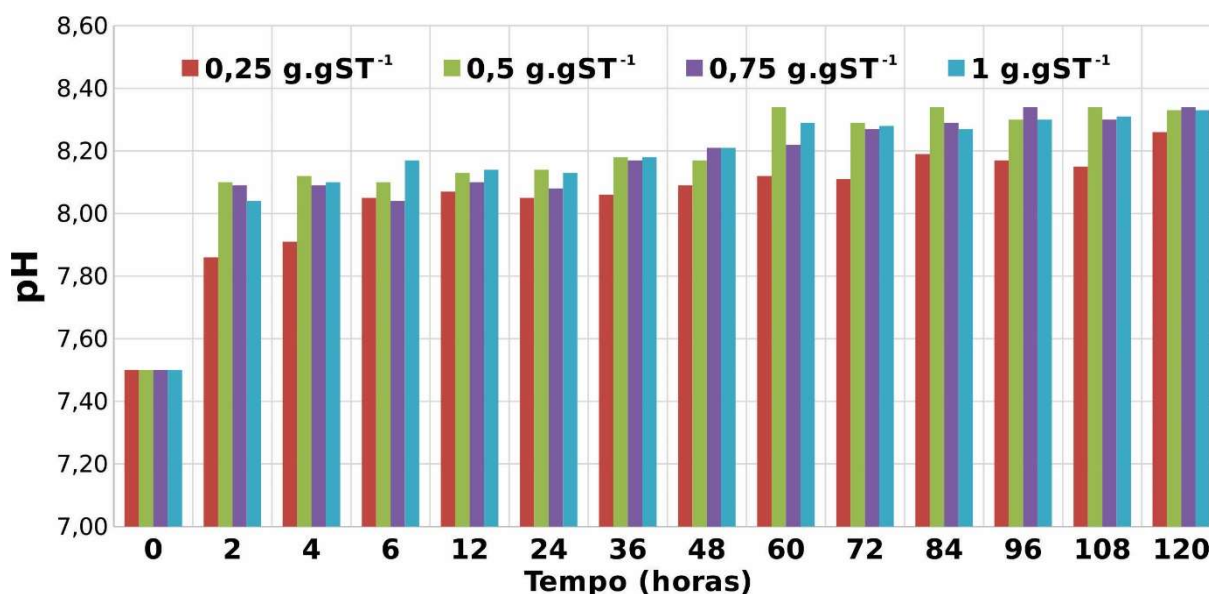


Figura 5.2. Variação do pH em função do tempo conforme cada concentração de resina dosada.

O aumento no potencial hidrogeniônico do meio, após adição da resina, foi característico desta metodologia de solubilização, aumentando para todos os tempos de contato investigados (Fig. 5.2). Os compostos orgânicos, proteínas, são anfóteros, substâncias que reagem tanto com ácidos como com bases formando sais orgânicos. E as proteínas são polímeros de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, que é a união do grupo amina ($-NH_2$) de um aminoácido com o grupo carboxila ($-COOH$) de outro aminoácido, através da formação de uma amida (NELSON E COX, 2006). Logo, os compostos orgânicos tendem à protonação quando o pH do meio é inferior ao seu ponto isoelétrico, indicando que o material orgânico dissolvido desestabiliza o ponto isoelétrico do meio diminuindo a concentração de proton de H^+ , elevando o pH. Frølund et al., (1996), utilizam essa mesma resina de troca de cátion para desestabilizar as SPE de lodo ativado liberando os PMS, reportaram usarem tampão para inibirem o aumento do pH devido à liberação dos compostos orgânicos. Além do mais, as propriedades físico-químicas das substâncias poliméricas extracelulares (SPE) dependem de seus grupos funcionais serem desprotonados ou protonados, assim, o SPE pode ter suas propriedades de superfície e cargas eletrostáticas, bem como sua estrutura, modificadas por consequência da variação do pH (WANG et al., 2012). Assim, sabendo que o Na^+ da resina não influencia no pH, esse aumento no potencial hidrogeniônico, característico dessa metodologia, concorda diretamente com a Figura 5.1, da liberação de compostos orgânicos expressos pela proteína e carboidrato.

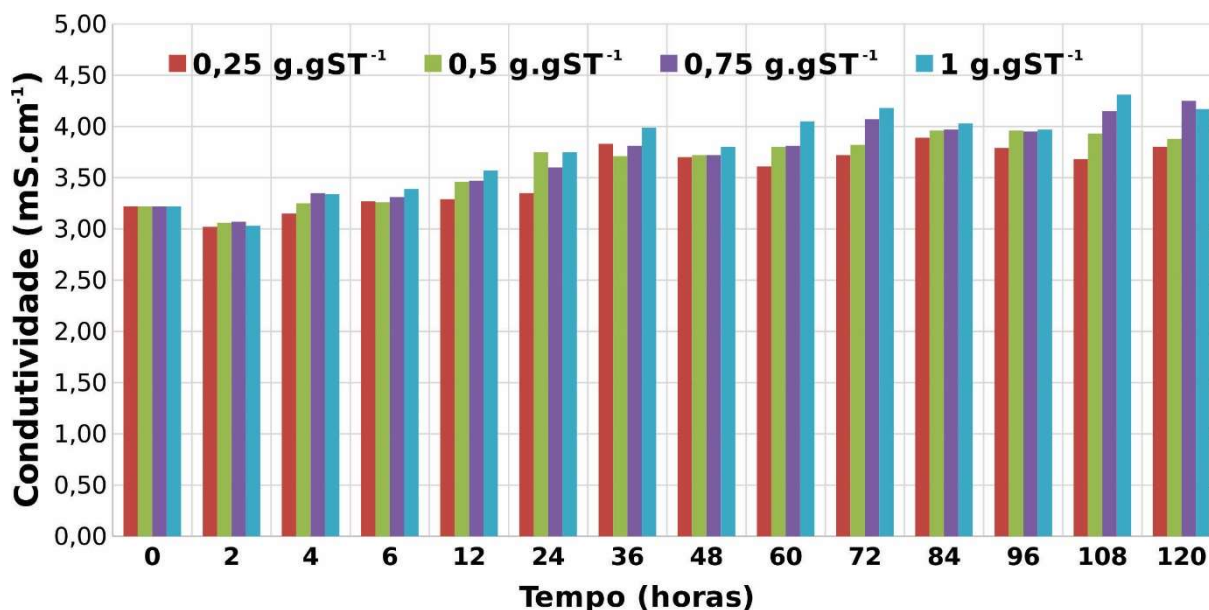


Figura 5.3. Variação da condutividade em função do tempo conforme cada concentração de resina dosada.

A resina utilizada, Dowex[®] Marathon[™] C, na forma de sódio (Na⁺), é um sal que como todos, ao se dissociar no líquido aumenta naturalmente a condutividade do meio. A carga elétrica positiva do sódio atrai os íons do meio alterando diretamente a força iônica, conseqüentemente o potencial zeta. Dessa forma, a natureza química das superfícies do floculo de lodo (SPE) influenciam a carga global de superfície e, por sua vez, o comportamento de sedimentação e ligação (GOODWIN e FORSTER, 1985), além de que, as cargas superficiais das SPE têm uma significativa influência nas propriedades de floculação e de adsorção (SHENG et al., 2010). O que permite compreender que a capacidade de atração ou repulsão dos constituintes presentes nas SPE foram desestabilizados, enfraquecendo a estrutura de agregação microbiana do lodo.

A existência de uma carga positiva ou negativa determina a interação com o meio aquoso, além de estabelecer um estado de repulsão ou atração entre as próprias moléculas de proteína, aumentando ou reduzindo a interação com o solvente e, conseqüentemente, favorecendo ou dificultando uma solubilidade. O que ratifica que o aumento do pH foi conseqüência da solubilização, que incidiu diretamente na estrutura da matriz do lodo, desestabilizando-o. Liao et al., (2002) afirmou para solubilização alcalina que a repulsão é principalmente devido à ionização dos grupos carboxila e amina das proteínas.

Etapa II – Efeitos da solubilização.

O princípio do pré-tratamento do lodo aeróbio é de aumentar a fração solúvel devido à degradação dos agregados microbianos, que pode ocorrer pela desestabilização e ruptura dos flocos de lodo. Para esta etapa foi selecionado 48 horas de tempo de contato como condição extrema, e a proporção de 1 gDowex.gST_{lodo}⁻¹, que foi a que obteve maior eficiência de solubilização na primeira etapa. As concentrações médias na fração solúvel de fósforo, proteínas e carboidratos estão apresentadas na Tabela 5.1 para o lodo controle e o solubilizado.

Tabela 5.1. Concentrações na fração solúvel e suas respectivas eficiências de liberação.

Parâmetros	Lodo bruto $\bar{x} \pm \delta$	Lodo solubilizado $\bar{x} \pm \delta$
Fósforo (mgP-PO ₄ ⁻³ .L ⁻¹)	13,02 ± 0,9 -	40,31 ± 5,1 210%
Proteína (mg.L ⁻¹)	62,33 ± 4,93 -	209,32 ± 11,57 236 %
Carboidratos (mg.L ⁻¹)	6,54 ± 0,89 -	25,07 ± 2,91 283%

Na segunda etapa, o volume de lodo solubilizado foi maior que a primeira, de 0,5 litros, para tanto, as análises de proteína e carboidratos foram repetidas somente para denotarem que ocorreu uma boa repetibilidade, e, apesar de pouca diferença, as eficiências foram aproximadas. No que concerne à concentração de fósforo (Tab. 5.1), foi constatada uma liberação de 27,29 mgP-PO₄⁻³.L⁻¹ na fração solúvel, uma liberação de aproximadamente 2,1 vezes a concentração inicial, mais um parâmetro que ratifica a capacidade da resina de liberar material intraflocular no meio solúvel.

Para proteínas e carboidratos (Tab. 5.1), dois constituintes predominantes nas SPE, o aumento quantificado foi de 146,99 mg.L⁻¹ e 18,53 mg.L⁻¹, respectivamente. Esses constituintes compõem predominante fração da DQO, e os aumentos de suas concentrações na fração solúvel indicam a biodisponibilização de material orgânico solúvel, aumentando a DQO solúvel (DQO_s). O teste respirométrico, associado a DQO filtrada (DQO_f), possibilita identificar a DQO utilizada (DQO_u) e a remanescente por diferença. Os resultados de DQO e sólidos dissolvidos estão apresentados na Figura 5.4.

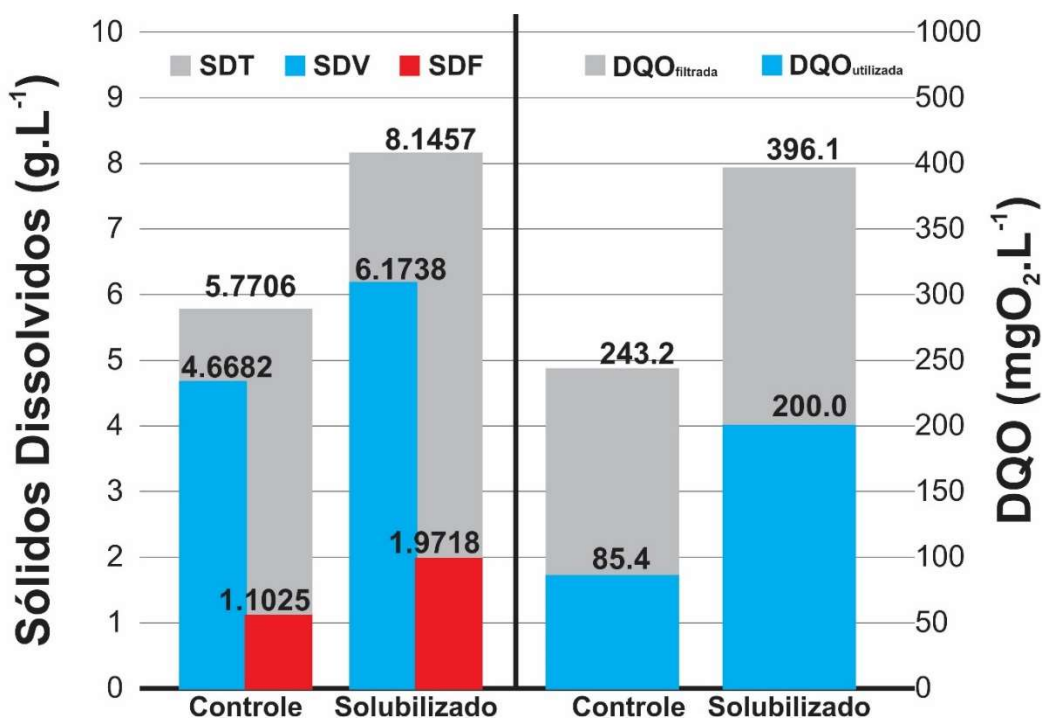


Figura 5.4. Concentrações de DQO e sólidos dissolvidos antes e depois da solubilização.

A média da DQO bruta do lodo utilizado no experimento era de 9523,31 mgDQO_b.L⁻¹, e, conforme Figura 5.4, a filtrada (DQO_f) era de 243,22 mgDQO_f.L⁻¹, o que representava apenas 2,55% do total. Após os ensaios de solubilização do lodo, a DQO_f de saída foi de 396,07 mgDQO_f.L⁻¹, um aumento de 152,85 mgDQO_f.L⁻¹, o que implica em uma eficiência de solubilização de 179%. Por outro lado, a DQO utilizada (DQO_u), que foi quantificada pela respirometria, correspondeu a apenas 35,13% (85,37 mgDQO_u.L⁻¹) da DQO_f de entrada, que após o processo de solubilização passou a representar 50,49% (199,95 mgDQO_u.L⁻¹) da DQO_f de saída. Um ganho de material carbonáceo solúvel biodegradável de 114,58 mgO₂.L⁻¹, 1,34 vezes maior que a inicial. No entanto, é necessário constar que, como obvio, a solubilização também viabilizou aumento da fração de DQO_f solúvel não biodegradável (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999), o que implica que os testes biológicos são de fato necessários.

Para essa metodologia de tratamento, os parâmetros e sólidos devem ser analisados com cautela, tendo em vista que o masa adicionada da resina foi respectivamente a mesma dos sólidos totais pré-existentes no lodo. Os sólidos suspensos também são parâmetros limitados por reterem grande parte da massa da resina. Por outro lado, os sólidos dissolvidos podem dizer muito, apesar do aumento da fração fixa também corresponder ao sal

remanescente da resina e distingui-lo não é possível nessa análise. Assim, analisando os dados de sólidos dissolvidos na Figura 5.4, o montante dissolvido após solubilização aumentou para todas as três frações, 2,3750 mgSDT.L⁻¹, 1,5057 mgSDV.L⁻¹ e 0,8694 mgSDF.L⁻¹. O que corresponde a um aumento de 41,16% dos SDT, de 32,25% dos SDV e 78,86% dos SDF. Apesar do aumento na fração fixa ter sido maior, o que confirma o aumento na salinidade, o aumento dos sólidos voláteis justifica o aumento da fração orgânica e a maior concentração de sódio não inibiu a biodegradabilidade aeróbia apresentada pela respirometria, o que é fundamentado na literatura (MIRANDA et al., 2014; MUÑOZ SIERRA, et al., 2018).

4. CONCLUSÕES

A solubilização do lodo ativado pode ser provocada pela utilização de resina catiônica do tipo Dowex[®] Marathon[™] C, na forma de sódio (Na⁺), uma metodologia de solubilização química ainda pouco investigada.

A solubilização do lodo foi comprovada pelo aumento da concentração de proteínas, carboidratos, fósforo, sólidos voláteis dissolvidos e DQO solúvel. O teste respirométrico permitiu confirmar a presença de material solúvel biodegradável disponibilizado, garantindo o metabolismo bacteriano do material orgânico, com a eficiência de 134% na DQO metabolizada.

A solubilização química utilizando resina de troca de cátions aumentou a condutividade do meio devido ao aumento da salinidade, o que não inibiu o processo biológico. Quanto ao tempo de contato, o comportamento difásico ao utilizar a resina se assemelhou ao da solubilização alcalina, que aumentou em função do tempo. Logo, a seleção do melhor tempo deve ser calculada de acordo com o custo benefício de sua aplicação.

5. REFERÊNCIAS

APHA, AWWA. WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22 ed. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Pollution control Federation, Washington, DC, 2012.

CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V.; YOU, C. S.; Tay, J. H. 'Weak' ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids. **Water Res.** v. 36, p. 2681–2688, 2002.

DE SOUSA, J. T.; MINÁ, V. G.; LOPES, W. S.; LEITE, V. D., & DE OLIVEIRA, M. F. Treatment of wastewater using a sequencing batch reactor. **Environmental Technology.** v. 34, n. 8, p. 1035–1042, 2013.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry.** v. 28, p. 350-356, 1956.

ERDEN, G.; DEMIR, O.; FILIBELI, A. Disintegration of biological sludge: Effect of ozone oxidation and ultrasonic treatment on aerobic digestibility, **Bioresour Technol.** v. 101, p. 8093–8098, 2010.

FRØLUND B., GRIEBE T., NIELSEN P. H. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. **Applied Microbiology Biotechnology.** v. 43, p. 755–761, 1995.

FRØLUND B., PALMGREN R., KEIDING K., NIELSEN P.H. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. **Water Research.** v. 30 (8), p. 1749–1758, 1996.

GAGLIANO, M. C.; ISMAIL, S. B.; STAMS, A. J. M., PLUGGE, C. M.; TEMMINK, H.; VAN LIER, J. B. Biofilm formation and granule properties in anaerobic digestion at high salinity. **Water Research.** v. 121, p. 61-71, 2017.

GOODWIN, L. A. S.; FORSTER, C. F. A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to settlement characteristics. **Water Research.** v. 19, p. 527-533, 1985.

LI, H.; JIN, Y. Y.; MAHAR, R.; WANG, Z. Y.; NIE, Y. F. Effects and model of alkaline waste activated sludge treatment. **Bioresource Technology.** v. 99, p. 5140–5144, 2008.

LIAO, B. Q.; ALLEN, D. G.; LEPPARD, G. G.; DROPO, I. G.; LISS, S. N. Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs. **J. Colloid Interface Sci.** v. 249, 372–380, 2002.

MIRANDA, A. C.; LOPES, W.S. ; HAANDEL, A. V. . Influência da concentração de sal na atividade do lodo. **Hydro** (São Paulo), v.10, p. 36-43, 2014.

MUÑOZ SIERRA, J. D.; OOSTERKAMP, M. J.; WANG, W.; VAN LIER, J. B.; SPANJERS, H. Impact of long-term salinity exposure in anaerobic membrane bioreactors

treating phenolic wastewater: Performance robustness and endured microbial community. **Water Research**. v. 141, p. 172-184, 2018.

MUÑOZ SIERRA, J. D.; WANG, W.; CERQUEDA-GARCIA, D.; OOSTERKAMP, M. J.; SPANJERS, H., VAN LIER, J.B. Temperature susceptibility of a mesophilic anaerobic membrane bioreactor treating saline phenol-containing wastewater. **Chemosphere**. v. 213, 92-102, 2018.

MUÑOZ SIERRA, J.D.; WANG, W.; CERQUEDA-GARCIA, D.; OOSTERKAMP, M.J.; SPANJERS, H., VAN LIER, J.B. Temperature susceptibility of a mesophilic anaerobic membrane bioreactor treating saline phenol-containing wastewater. **Chemosphere**. v. 213, 92-102, 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 4 ed. Sarvier, São Paulo, 2006.

SHENG, G. P.; YU, H.Q.; LI, X. Y. Extracelular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: **A review. Biotechnology Advances**. n. 28, p. 882-894, 2010.

SPANJERS H.; VANROLLEGHEM P. Respirometry as a tool for rapid characterisation of wastewater and activated sludge. **Water Science and Technology**. v. 31, n. 2, p. 105–114, 1995.

VAN HAANDEL, A. C.; CATUNDA, P. F. C. Determinação da taxa de consumo de oxigênio. **Revista Engenharia Sanitária**. v. 21, n. 4, p. 481-488, 1982.

VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. O. **O comportamento do Sistema de lodo ativado – Teoria e aplicação para projeto e operação**. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, Epgraf, 472 p. 1999.

VANROLLEGHEM, P.A., SPANJERS, H., PETERSEN, B., GINESTET, P., AND TAKACS, I. Estimating (combinations of) Activated Sludge Model No.1 parameters and components by respirometry. **Water Science and Technology**. v. 39, n. 1, p. 195–215, 1999.

VAXELAIRE, S.; GONZE, E.; MERLIN, G.; GONTHIER, Y. Reduction by sonication of excess sludge production in a conventional activated sludge system: Continuous flow and lab-scale reactor. **Environ. Technol.** v. 29, p. 1307- 1320, 2008.

WANG, L. L.; WANG, L. F.; REN, X. M.; YE, X. D.; LI, W. W.; YUAN, S. J.; SUN, M.; SHENG, G. P.; YU, H. Q.; WANG, X. K.; pH dependence of structure and surface properties of microbial EPS. **Environ. Sci. Technol.** v. 46, p. 737–744, 2012.

WAWRZYNCZYK, J.; RECKTENWALD, M.; NORRLÖW, O.; DEY, E.S. Solubilisation of sludge by combined chemical and enzymatic treatment. **African Journal of Biotechnology**.v. 6, n. 17, p. 1994-1999, 2007.

YU, G. H.; HE, P. J.; SHAO, L. M.; ZHU, Y. S. Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasonic pre-treatment. **Water Res.** v. 42, p. 1925–1934, 2008.

CAPÍTULO VI

Considerações finais e conclusões

1. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A solubilização química é uma tecnologia de tratamento do lodo, sem ação física, que reúne variadas técnicas que tem em comum a adição de uma espécie, orgânica ou inorgânica, capaz de perturbar as estruturas de agregação microbianas na matriz do lodo, desestabilizando-as permite a ocorrência do processo de despolimerização. Essa ação implica diretamente na capacidade intrínseca ao método de solubilização do floco de lodo, rompendo a estrutura polimérica, e provocando a lise celular. O que reduz a massa intraflocular e aumenta a fração dos produtos microbianos solubilizados no meio.

Para os três métodos químicos investigados os testes físico-químicos confirmaram a despolimerização, além dos testes biológicos que também identificaram aumento significativo da solubilização. Apesar dos variados parâmetros adotados os ensaios de DQO associado a respirometria, bem como as análises de proteínas e carboidratos são os que melhor viabilizam uma comparação. Na Figura 6.1 estão apresentadas as eficiências de solubilização.

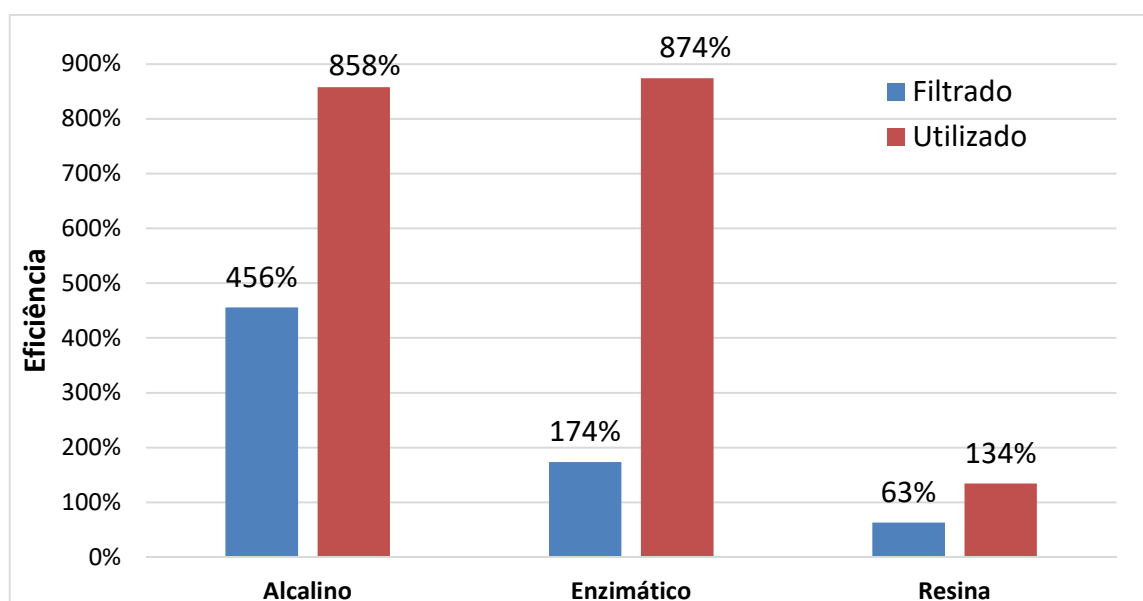


Figura 6.1. Eficiência do aumento da DQO filtrada e utilizada para as três técnicas investigadas.

Observando a Figura 6.1, tanto para a DQO filtrada (DQO_f) quanto para a DQO utilizada (DQO_u) foi registrado aumento significativo da fração solúvel. É importante frisar que, o aumento da DQO_f é acompanhado do aumento da DQO_u, conforme discutido anteriormente, o processo de solubilização libera uma fração metabolizável, no entanto, a fração intraflocular liberada também possui material recalcitrante, o que apesar de aumentar a DQO_f pode não aumentar a DQO_u. Porém, a maior eficiência da DQO_u confirma que o lodo é

composto por predominante fração orgânica, no entanto, uma considerável fração solúvel não é utilizada (não biodegradável). Por outro lado, esse resultado deixa claro que na solubilização enzimática, parte da fração metabolizada na respirometria, possivelmente foi a própria enzima dosada. Pois associando aos outros parâmetros investigados a despolimerização da solubilização alcalina foi superior, mas a DQO_u indicou maior eficiência da solubilização enzimática. Por fim, é notável que a eficiência da solubilização da resina foi a mais limitada, porém, maior dosagem de resina possivelmente altera esse resultado.

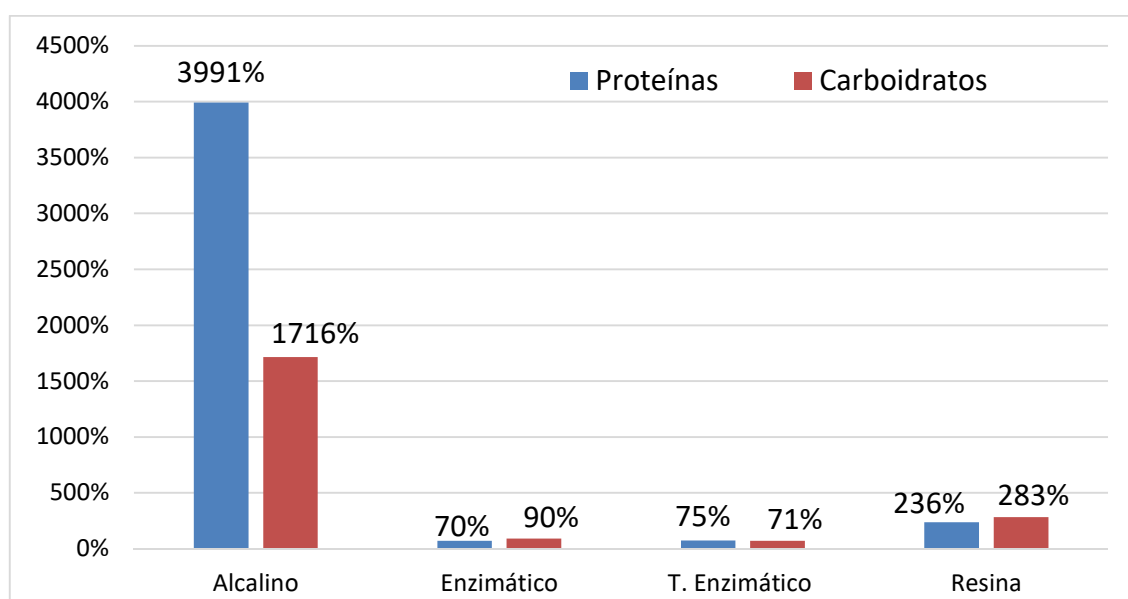


Figura 6.2. Eficiência de liberação de proteínas e carboidratos no meio solúvel.

Para contribuir na discussão, na Figura 6.2 estão apresentadas as eficiências de liberação das proteínas e dos carboidratos. É notável que a solubilização alcalina foi o método de solubilização investigado com maior eficiência, seguido da troca catiônica por dosagem da resina, e por fim a solubilização enzimática. Esse resultado ratifica que os melhores resultados da enzima apresentados na Figura 6.1, são decorrentes da DQO da própria enzima que foi adicionada. Além do mais, reclassifica a adição da resina como um método mais eficiente. No entanto, essa discussão denota a desvantagem da adição de espécie química inorgânica, e a vantagem intrínseca à espécie orgânica. Não existe remanescência de material recalcitrante resultante da adição química, ou seja, o lodo final é possivelmente mais propenso a digestão biológica.

2. CONCLUSÕES

Cada técnica de solubilização química possui características particulares intrínsecas do próprio método. No caso específico da solubilização ácido/base, as dosagens das espécies químicas alteram a concentração dos íons de hidrogênio (H^+), o que perturba as cargas superficiais e as forças de atração e repulsão elétrica do material polimérico promovendo sua dissociação, conseqüentemente, ocorre a despolimerização indicando a solubilização do lodo. Enquanto que, com a utilização da resina ocorre a captura de íons alterando a força iônica do meio o que pode protonar ou desprotonar o meio. No entanto os dois métodos aumentam a salinidade, apesar de não terem afetado o processo biológico estudado. Por outro lado, a solubilização enzimática, atua diretamente na fração orgânica do floco, e sua adição aumenta no lodo material puramente orgânico, o que não acarreta em aumento de recalcitrância do lodo.

A respirometria, para todos os métodos de tratamento, indicou o aumento da fração metabolizada, mas também mostrou que apesar da DQO filtrada ter aumento isso não implica que 100% do aumento é material biodegradável, o que enfatizou a necessidade da aplicação dos testes biológicos.

A solubilização enzimática necessita de uma combinação em série, no entanto as demais são autossuficientes. Além disso, dentre os melhores resultados de cada método de tratamento, a solubilização alcalina foi a que apresentou maior eficiência no aumento dos produtos microbianos solúveis.

3. RECOMENDAÇÕES

Investigar qual o nível de influencia da enzima na destruição da massa célula ativa de lodo ativado, na tentativa da aplicação da enzima no proprio sistema de tratamento de lodo.

Investigar a reutilização do lodo solubiloizado, visando o reaproveitamento como material carbonáceo, como fonte de carbono na remoção de nutrientes.

Quantificar o numero de células degradadas e intactas utilizando citometria de fluxo para antes e após as três técnicas de solubilização investigadas.

pos-graduacao.uepb.edu.br/ppgcta

