

## II-349 – EFEITO DA HIDRÓLISE ALCALINA NA SOLUBILIZAÇÃO DE MATERIAL ORGÂNICO DE LODO DE ESGOTO

**Fernanda Patricia do Monte<sup>(1)</sup>**

Engenheira Sanitarista e Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Mestre em Engenharia Civil e Ambiental pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Doutoranda em Engenharia Ambiental na UEPB.

**André Luiz Muniz Brito<sup>(2)</sup>**

Graduando em Engenharia Sanitária e Ambiental na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

**Beatriz Susana Ovruski de Ceballos<sup>(3)</sup>**

Bioquímica pela Universidade Nacional de Tucumán. Mestre em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo. Doutora em Microbiologia Ambiental pela Universidade de São Paulo.

**Wilton Silva Lopes<sup>(4)</sup>**

Químico Industrial pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Mestre em Desenvolvimento e Meio Ambiente pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Doutor em Química pela UFPB.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Vigário Calixto, 1379, Apt. 402 - Catolé – Campina Grande - PB - CEP: 58.410-340 - Brasil - Tel: (83) 98875-7541 - e-mail: [fernandamonte20@gmail.com](mailto:fernandamonte20@gmail.com)

### RESUMO

A lenta e incompleta hidrólise das substâncias poliméricas extracelulares (EPS) do lodo em excesso de sistema aeróbio e da biomassa microbiana, em conjunto, limitam a sua taxa de biodegradação na digestão anaeróbia (DA). A hidrólise biológica, primeira etapa da fermentação metanogênica, da qual dependem as etapas seguintes até a formação do biogás, pode ser acelerada pelo pré-tratamento do lodo antes de submetê-lo a DA. Nesse estudo foram analisados os efeitos das diferentes concentrações de NaOH (0,05 g/g ST; 0,10 g/g ST; 0,25 g/g ST) e tempos de reação (0,25 – 720 h) na solubilização do lodo, a partir do aumento dos componentes dissolvidos. O lodo sem tratamento apresentava concentrações de COD, fósforo total, sólidos dissolvidos voláteis, proteína solúvel e carboidrato solúvel de 20,2 mg/L, 10,9 mg/L, 290 mg/L, 91,1 mg/L e 12,2 mg/L e após o pré-tratamento essas concentrações chegaram a 322,7 mg/L, 47,2 mg/L, 2.790 mg/L, 3.695, 75 mg/L e 507,89 mg/L, respectivamente. Sob essas condições, a melhor solubilização do lodo ocorreu na concentração de 0,25 g NaOH/g ST e no tempo de 48 h, mostrando a hidrólise alcalina como um método simples e muito eficiente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Lodo Aeróbio, Solubilização do Lodo, Substâncias Poliméricas Extracelulares, Digestão Anaeróbia.

### INTRODUÇÃO

Durante décadas o processo de digestão anaeróbia (DA) tem sido muito utilizado no tratamento do lodo em excesso dos sistemas aeróbios com o objetivo de reduzir o volume desse lodo e gerar energia na forma de biogás – metano (CH<sub>4</sub>) + dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) – para uso na própria ETE, minimizando os custos de operação e garantindo a sua autosustentabilidade energética (APPELS *et al.*, 2008). No entanto, a DA convencional do lodo apresenta limitações que restringem ou retardam a produção de CH<sub>4</sub> por causa dos longos tempos de retenção celular (TRC) no reator, de 20 a 30 dias, que são necessários devido às lentas taxas de crescimento dos microrganismos. Essa demora reflete na baixa eficiência da biodigestão dos sólidos orgânicos que constituem de 30 a 50% do peso seco do lodo, quando a DA é realizada em condições mesófilas, a 35-37 °C (STRONG *et al.*, 2011).

Os fatores limitantes da DA estão geralmente associados ao estágio inicial da fermentação, na fase de hidrólise. A hidrólise do lodo é especialmente lenta devido à composição do resíduo. Os maiores constituintes da fração orgânica do lodo são as células microbianas intactas que se encontram envoltas em substâncias poliméricas extracelulares (EPS) – produzidas pelos próprios microrganismos - e diversas fibras orgânicas. Essa complexa estrutura contém cadeias de glicanos ligadas a peptídeos que protegem os microrganismos da lise celular e são

a causa da resistência do lodo à biodegradação, o que torna a hidrólise mais lenta (ELEFSINIOTIS *et al.*, 1994; FERRER *et al.*, 2006; TIAN *et al.*, 2014).

As EPS são substâncias de alta massa molecular secretadas pelos microrganismos e também produtos da lise celular e da hidrólise de macromoléculas complexas tais como polissacarídeos, proteínas, ácidos nucléicos, substâncias húmicas e lipídios presentes no interior do agregado microbiano. O conjunto é relativamente recalcitrante e as dificuldades de sua degradação biológica na primeira etapa do processo de DA, em especial a de hidrólise microbiana, retarda as etapas seguintes e consequentemente o desempenho geral da DA metanogênica (RODRIGUES, 2011; SHENG *et al.*, 2010).

Uma melhora no desempenho da DA tem sido obtida por diversos pesquisadores que têm investido no desenvolvimento de novos métodos de pré-tratamento do lodo para acelerar a biodegradabilidade e aumentar a produção de metano (LIU *et al.*, 2012). O pré-tratamento promove a destruição de células e/ou solubilização das EPS presentes no lodo, causando a liberação de constituintes intra e extracelulares na fase aquosa antes do envio do lodo para os digestores. Esses constituintes liberados são mais facilmente biodegradáveis durante a DA, portanto aceleram a hidrólise biológica e melhoram a produção de metano (ELLIOT *et al.*, 2007; ZAHEDI *et al.*, 2016).

Os métodos mais usados para o pré-tratamento do lodo em excesso do sistema de lodo ativado incluem os mecânicos térmicos ((KOPP *et al.*, 1997, ABELLEIRA-PEREIRA *et al.*, 2015; VALO *et al.*, 2004), químicos (TIAN *et al.*, 2014) e biológicos (BARJENBRUCH & KOPFLOW, 2003). Alguns estudos utilizam métodos combinados de pré-tratamentos. Sua aplicação mostrou aumento na taxa diária de produção do gás metano e, consequentemente, redução dos sólidos voláteis (DOGAN & SONIN, 2009; LI *et al.*, 2015; RANI *et al.*, 2012; YUNQUIN *et al.*, 2009).

Hassan *et al.*, (2016) citam que a hidrólise química alcalina é a melhor opção em comparação com os outros métodos químicos porque apresenta baixo custo e é de utilização simples. É considerada uma técnica de alta eficiência na solubilização das EPS porque em valores extremamente elevados de pH a célula perde viabilidade não conseguindo manter a pressão de turgescência adequada, ocorrendo a sua ruptura ou lise. As EPS são degradadas resultando na liberação de material orgânico facilmente disponível para ação dos microrganismos acidogênicos que o transformará em ácidos orgânicos simples (GRAEF *et al.*, 1974; NEYENS *et al.*, 2003; RANI *et al.*, 2012; WEEMAES *et al.*, 1998).

O hidróxido de sódio (NaOH) é o álcali mais frequentemente utilizado em relação aos outros como, o hidróxido de potássio (KOH), hidróxido de magnésio (Mg(OH)<sub>2</sub>) e hidróxido de cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>), devido a sua elevada taxa de solubilização utilizando dosagens relativamente baixas (LIN *et al.*, 1997; TIAN *et al.*, 2014). Lin *et al.*, (1997) adicionaram concentrações de NaOH de 20 meq/L (1% ST), 40 meq/L (1% ST) e 20 meq/L (2% ST) e mostraram que o álcali sozinho é capaz de solubilizar o lodo e aumentar a produção de metano em 33%, 30% e 163%, respectivamente.

O efeito do pré-tratamento químico depende do método aplicado e das características dos substratos. A hidrólise química não é adequada para substratos facilmente biodegradáveis contendo altas quantidades de carboidratos porque nessas condições de excesso de energia os microrganismos acidogênicos, que são os de rápido crescimento, produzirão mais ácidos orgânicos, principalmente o acético, propiônico e butírico. Devido aos microrganismos acetogênicos operarem perto da condição de equilíbrio, eles são facilmente inibidos pelo acúmulo desses produtos no meio líquido o que afeta a etapa de metanogênese no processo de DA (AQUINO e CHERNICHARO, 2005; JAIN *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2011).

Diversos autores divergem a respeito do melhor valor do pH para realizar a hidrólise, assim como o melhor tempo de reação. Rani *et al.*, (2012) avaliaram os efeitos de dos álcalis (NaOH, KOH e Ca(OH)<sub>2</sub>), do tempo de tratamento (15 - 180 min) e do pH (8, 9, 10 e 11), encontrando o melhor desempenho em termos de solubilização de DQO, redução de SS e produção de biogás quando utilizado o NaOH em pH 10. Bi *et al.*, (2014) analisaram os valores de pH 8, 9, 10, 11, 12, 13, e 13,5 e os tempos de reação de 0,5 h, 1 h, 2 h, 5 h, 8 h e 12 h, concluindo que a maior liberação de material solúvel ocorreu em pH 12,5 no tempo de 2 h.

O objetivo do presente trabalho foi definir as melhores condições de pH e de tempo de reação na realização do pré-tratamento químico alcalino do lodo para aumentar a solubilização do lodo de esgoto gerado em sistema

aeróbio. A definição das melhores condições conduzirá a uma melhora no desempenho da DA, acelerando a etapa da hidrólise biológica e, então, aumentará a produção de gás metano.

## MATERIAIS E MÉTODOS

- **Origem do lodo aeróbio e suas características**

O lodo aeróbio utilizado no experimento foi produzido em reator sequencial em batelada (RSB) que utilizou esgoto doméstico captado na estação elevatória da rede coletora de esgotos de Campina Grande/PB, localizada na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgoto Sanitário (EXTRABES), em área pertencente à Companhia de Água e Esgoto da Paraíba e cedida em comodato à Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

O RSB foi construído em fibra de vidro, operado com fluxo intermitente e funcionava como tanque de aeração e decantador, apresentando volume útil de 76 L (50 L do tanque de aeração e 26 L do decantador). A aeração e a homogeneização do esgoto eram realizadas com um compressor eletromagnético (BOYU, mod. ACQ – 003) conectado a mangueiras com pedras porosas de aquário que eram trocadas a cada oito dias de uso para garantir aeração e homogeneização uniformes. A sedimentação do efluente ocorria na zona de repouso do reator de lodos ativados (decantador) que consistia de uma inclinação em forma de funil no fundo do reator. Esse reator era operado em quatro ciclos ao longo do dia, cada um com três horas de duração, sendo duas horas reservadas para aeração, quarenta e cinco minutos para repouso (decantação) e quinze minutos para enchimento (alimentação).

A captação do esgoto desde a elevatória até a alimentação do RSB era realizada com bomba submersa (Schneider/mod. BSC-94). O volume de esgoto bombeado por dia era variável e dividido em quatro ciclos correspondentes as quatro bateladas de funcionamento do reator: para os 1º, 3º e 4º ciclos o volume era de 50 L e no 2º ciclo de 63 L, para compensar o descarte do lodo em excesso que era realizado uma vez por dia e que correspondia a 13 L. O lodo em excesso apresentava tempo de retenção celular (TRC) de 2 dias, após coleta era adensado em cones Imhoff e armazenado a 4 °C para minimizar a atividade bacteriana até ser utilizado. O lodo, antes de ser utilizado nos ensaios de solubilização, era retirado da geladeira e deixado atingir temperatura ambiente; em seguida tinha a concentração de sólidos totais (ST) ajustada para 20.000 mg/L seguindo recomendações de Bi *et al.*, (2014), que perceberam que a eficiência de liberação de  $PO_4^{3-}$  e  $NH_4^+$  diminuía com o aumento da concentração de sólidos, constatando que valores na faixa de 20.000 – 30.000 mg/L proporcionam maior liberação de  $PO_4^{3-}$  e  $NH_4^+$ . A explicação mais provável para isso é o fato de que em baixas concentrações de lodo há maior teor de água, o que pode resultar no aumento da lixiviação de material intracelular na fase aquosa.

As principais características do lodo adensado são as seguintes: pH 7,9, ST 20.873 mg/L, Carbono Orgânico Dissolvido (COD) 20,2 mg/L, Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV) 290 mg/L, Fósforo Total 10,9 mg/L, Proteína Solúvel 91,1 mg/L e Carboidrato Solúvel 12,2 mg/L.

- **Condições dos ensaios de hidrólise do lodo**

A fase experimental consistiu no pré-tratamento químico alcalino com adição de diferentes dosagens de NaOH: a) 0,05 g NaOH/g ST, b) 0,1 g NaOH/g ST e c) 0,25 g NaOH/g ST em 100 mL de lodo atingindo valores de pH na faixa de 10, 11 e 12, respectivamente. O NaOH foi escolhido por ser o álcali mais eficiente na solubilização das partículas orgânicas de lodos (CHO *et al.*, 2013). A mistura lodo-álcali nas três dosagens foi mantida sob agitação à 200 rpm em mesa agitadora (New Brunswick Scientific, mod. G 33) em diferentes tempos de tratamento 0,25 h, 0,5 h, 1h, 3h, 6h, 9 h, 15 h, 24 h, 36 h, 48 h, 96 h, 144 h, 192 h, 240 h, 384 h, 528 h e 720 h à temperatura de aproximadamente 25 °C. Ao final de cada tempo de tratamento a amostra de lodo pré-tratado tinha o pH neutralizado com HCl, depois era centrifugada à 3.480 rpm por 30 minutos e o sobrenadante filtrado através de microfiltro de fibra de vidro (GF-2, diâmetro 47 mm), tamanho de poro de 0,45 µm. Os valores de NaOH e HCl utilizados no pré-tratamento químico alcalino encontram-se na Tabela 01.

**Tabela 01.** Concentração de NaOH e HCl utilizada no pré-tratamento químico do lodo.

pH	NaOH (g/g ST lodo)	HCl (g/g ST lodo)
10	0,05	0,14
11	0,1	0,27
12	0,25	0,75

Fonte: Autor.

- **Parâmetros Analíticos**

Foram realizadas análises de caracterização físico-química no lodo bruto antes dos ensaios de hidrólise (lodo sem tratamento) e no lodo hidrolisado (lodo pré-tratado). Os parâmetros Fósforo Total (PT) solúvel e Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV) foram quantificados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Proteínas (PN) e carboidratos (PS) (Produtos Microbianos Solúveis – SMP) foram medidos pelo método de Lowry (modificado por *Frølund et al.*, (1995)) e *Dubois et al.*, (1956), respectivamente. A determinação de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) foi realizada com analisador de combustão em alta temperatura (COT Multi N/C 3100 Analytic Jena, Germany). Na Tabela 02 encontram-se esses parâmetros, os métodos utilizados na sua determinação e suas respectivas referências.

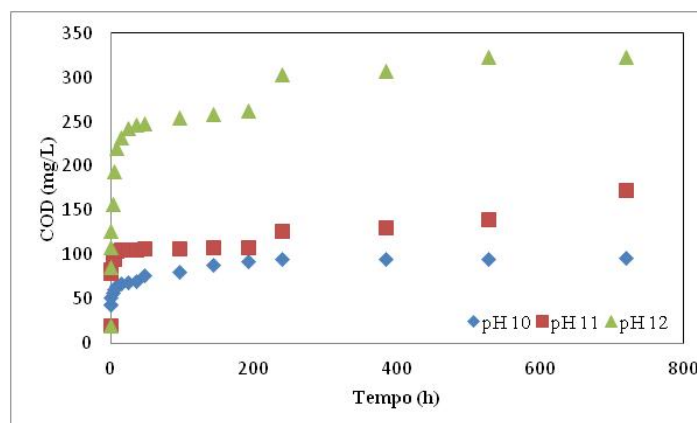
**Tabela 02 -** Parâmetros analisados no lodo sem tratamento e no lodo pré-tratado.

Parâmetro	Método	Referência
SDV	Gravimétrico	2540 C/APHA (2012)
PT solúvel	Colorimétrico (Ácido Ascórbico)	4500-P E/APHA (2012)
PN	Colorimétrico	<i>Frølund et al.</i> , (1995)
OS	Colorimétrico	<i>Dubois et al.</i> , (1956)
COD	Combustão a alta temperatura	5310 B/APHA (2012)

Fonte: Autor.

## RESULTADOS

Nesse estudo a solubilização do material particulado do lodo foi expressa em termos da concentração de COD, SDV, PT, PN solúvel e PS solúvel. O material orgânico dissolvido inclui diferentes tipos de compostos orgânicos, tais como carboidratos, proteínas, ácidos orgânicos e alguns compostos resistentes à degradação biológica. As Figuras 1, 2, 3, 4 e 5 apresentam o comportamento dos parâmetros COD, SDV, PT, PN solúvel e PS solúvel no lodo pré-tratado no decorrer dos tempos de tratamento e no lodo sem pré-tratamento. O tempo zero nos gráficos representa a concentração desses parâmetros no lodo sem pré-tratamento.



**Figura 1.** Efeito do pré-tratamento alcalino na concentração de COD.

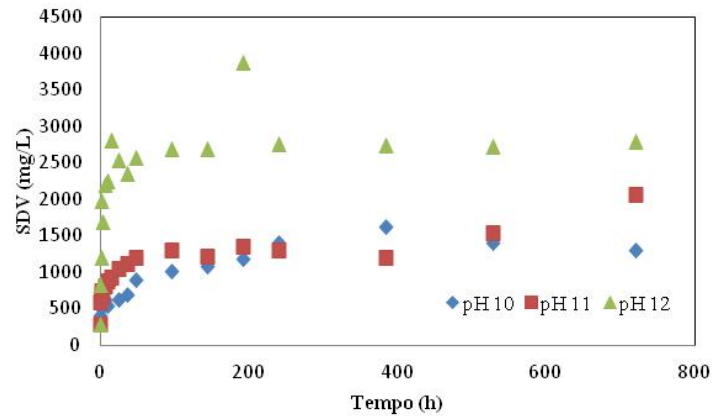


Figura 2 - Comportamento da concentração de SDV no lodo bruto e no lodo pré-tratado.

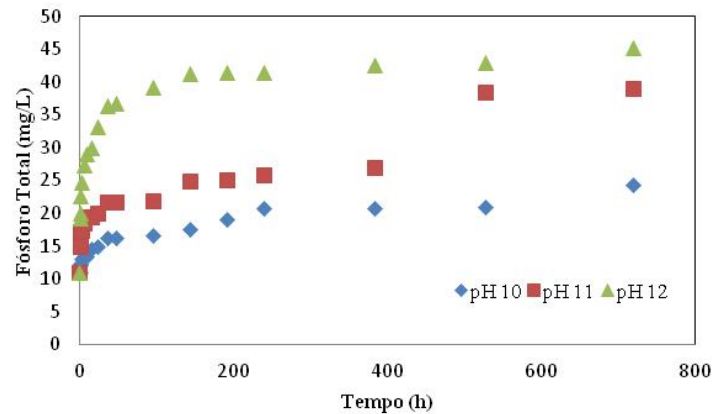


Figura 3 - Comportamento da concentração de PT solúvel no lodo bruto e no lodo pré-tratado.

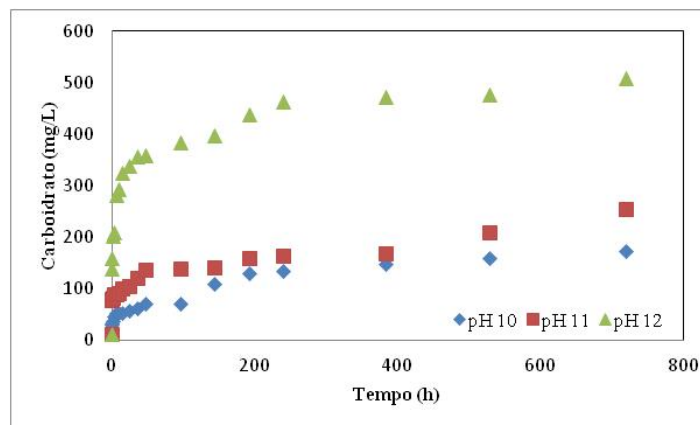


Figura 4. Efeito do pré-tratamento alcalino na concentração de PS solúvel.

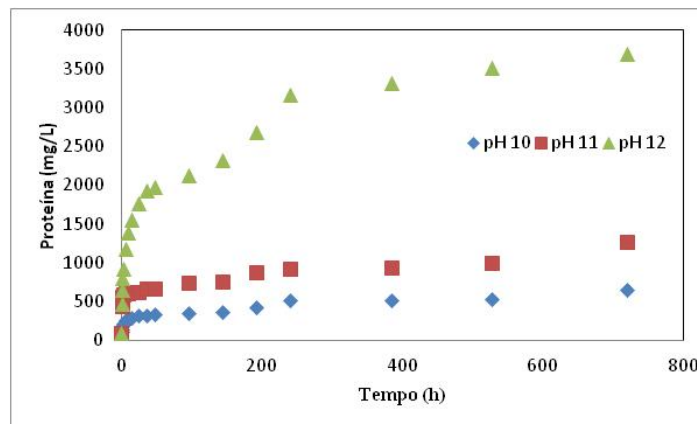


Figura 5. Efeito do pré-tratamento alcalino na concentração de PN solúvel.

O lodo sem pré-tratamento apresentava concentração de 20,15 mg/L para COD, de 290 mg/L para SDV, de 10,9 mg/L para PT, de 91,1 mg/L para PN Solúvel e de 12,2 mg/L para PS Solúvel. No decorrer da pré-tratamento alcalino foi observado que as concentrações de todos os parâmetros analisados apresentaram significativo aumento, indicando que o pré-tratamento alcalino do lodo foi bastante eficiente na liberação de material orgânico (proteína e carboidrato) dos sólidos do lodo para o sobrenadante do lodo.

A concentração de PN solúvel é bem superior quando comparada a de PS solúvel, chegando a ter valores de 646,1 mg/L em pH 10, de 1.267,8 mg/L em pH 11 e de 3.695,8 mg/L em pH 12, enquanto carboidrato apresentou valores de 171,9 mg/L em pH 10, de 253,04 mg/L em pH 11 e de 507,9 mg/L em pH 12. Situação semelhante foi relatada por Chen *et al.*, (2007) que verificaram que o lodo apresenta 61% de proteína, 11% carboidratos, menos de 1% de lípidios e mais de 27% de componentes desconhecidos. Com a lise celular ocorre maior secreção dessas substâncias e a maior liberação de SMP resulta na alta concentração de COD (ZHANG *et al.* 2013; MA *et al.*, 2014). No presente estudo a concentração de COD em valores de pH 10 aumentou 374,8 %, em pH 11 o aumento foi de 755,1 % e em pH 12 o aumento foi mais expressivo, de 1.501 %. O aumento da concentração de PT encontrado no pH 10 foi de 121,8 %, no pH 11 de 254,7 % e no pH 12 de 312,1 %. Já a concentração dos SDV aumentou 4,51, 7,13 e 9,62 vezes em relação ao valor inicial nos valores de pH 10, 11 e 12, respectivamente

Como mostrado nas Figuras de 1 a 5, quando o pH no pré-tratamento alcalino estava na faixa de 10-11 houve o aumento das concentrações de COD, SDV, PT solúvel PN solúvel e PS solúvel, mas em pH próximo de 12 as concentrações desses parâmetros foram significativamente maiores. Claramente, o pH 12 no pré-tratamento alcalino foi o melhor para a liberação de material orgânico dos sólidos do lodo para o sobrenadante do lodo. Esse aumento é produto da ruptura dos flocos do lodo e da lise celular, sob efeito do pH, com perda e degradação das paredes e do citoplasma das células. Resultados similares foram encontrados por Bi *et al.*, (2014) e Valo *et al.*, (2004).

Analisando todos os tempos de pré-tratamento foi observado que à medida que o tempo aumentava maior era a solubilização do material orgânico. No entanto, considerando o ponto de vista técnico e financeiro, dentre os tempos analisados, nas primeiras 48 horas de pré-tratamento a solubilização do material orgânico do lodo ocorreu mais rapidamente, apresentando concentrações de COD, SDV, PT, PN solúvel e PS solúvel em pH 10 que chegaram a 76,11 mg/L, 900 mg/L, 16,2 mg/L, 328,1 mg/L e 69,3 mg/L; já em pH 11 atingiram valores de 107 mg/L, 1.200 mg/L, 21,6 mg/L, 660,6 mg/L e 136,1 mg/L e em pH 12 a 247,3 mg/L, 2.570 mg/L, 36,8 mg/L, 1.967,3 mg/L e 359 mg/L, respectivamente. Após as 48 h iniciais as concentrações desses parâmetros aumentaram lentamente. Li *et al.*, (2008) observaram que o processo de hidrólise alcalina inclui duas etapas: uma inicial e rápida em que ocorre a maior parte da solubilização do material orgânico do lodo e uma lenta, logo em seguida. Dentre os parâmetros citados acima, o que obteve maior foi o carboidrato com 2.835 %, seguido da proteína 2.059 %, enquanto que no fósforo foi observado o menor valor de 70,20 %. Além disso, na escolha do tempo de reação também foi considerada a aplicação do pré-tratamento em escala real, onde tempos de detenção muito longos demandariam maiores volumes de reatores, necessitando de áreas maiores.

## CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o pré-tratamento alcalino do lodo de esgoto é altamente eficiente para a ruptura das células dos microrganismos presentes nos mesmos e promove a solubilização do material orgânico recalcitrante como as paredes celulares e os exopolímeros produzidos pelas bactérias e nos flocos biológicos, aumentando a disponibilidade de moléculas simples mais facilmente biodegradáveis, o que acelera a produção de metano no processo posterior de biodigestão anaeróbia. A hidrólise alcalina foi mais efetiva quando utilizada a dosagem de 0,25 g NaOH/g ST lodo após 48 horas de tratamento, confirmando ser um método simples, efetivo e de baixo custo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 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.
- 2 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.
- 3 APHA - American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*: 22 ed. Washington, 2012.
- 4 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.
- 5 BARJENBRUCH, M.; KOPFLOW, O. **Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge.** *Advances in Environmental Research*, v. 7, p. 715-720, 2003.
- 6 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.
- 7 CAI, W.; LIU, J.; ZHANG, X.; NG, W. J.; LIU, Y. **Generation of dissolved organic matter and byproducts from activated sludge during contact with sodium hypochlorite and its implications to on-line chemical cleaning in MBR.** *Water Research*, v. 104, p. 44-52, 2016.
- 8 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.
- 9 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*, vol. 41, p. 683-689, 2007.
- 10 DOGAN, I.F.; SANIN, D. **Alkaline solubilization and microwave irradiation as a combined sludge disintegration and minimization method.** *WaterResearch*, n. 45,p. 2139-2148, 2009.
- 11 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.
- 12 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.
- 13 ELLIOTT, A.; MAHNOOD, T. **Pretreatment technologies for advancing anaerobic digestion of pulp and paper biotreatment residues.** *Water Research*, v. 41, p. 4273-4286, 2007.
- 14 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.
- 15 FRØLUND B, GRIEBE T, NIELSEN P. H. **Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix.** *Appl Microbiol Biotechnology*, vol. 43, p. 755 - 761, 1995.
- 16 GRAEF, S.P.; ANDREWS, J.F. **Stability and control of anaerobic digestion,** *Journal Water Pollution Control Federation*, v. 46, p. 667-683, 1974.
- 17 HASSAN, M.; DING, W.; BI, J.; MEHRYAR, W.; TALHA, Z.A.A. **Methane enhancement through oxidative cleavage and alkali solubilization pre-treatments for corn stover with anaerobic activated sludge.** *Bioresource Technology*, n. 200, p. 405-412, 2016.
- 18 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.

- 19 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.
- 20 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.
- 21 LI, C.; CHAMPAGNE, P.; ANDERSON, B.C. **Enhanced biogas production from anaerobic co-digestion of municipal wastewater treatment sludge and fat, oil and grease (FOG) by a modified two-stage thermophilic digester system with selected thermo-chemical pre-treatment.** *Renewable Energy*, n.83, p. 474-482, 2015.
- 22 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
- 23 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 thialomethane formation in hybrid powdered activated carbon membrane bioreactors.** *Bioresource Technology*. v. 166, p. 381-388, 2014.
- 24 NEYENS, E.; BAEYENS, J.; CREEMENS, C. **Alkaline thermal sludge hydrolysis.** *Journal of Hazardous Materials*, v. B97, p. 295-314, 2003.
- 25 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.
- 26 RODRIGUES, C. L. S. **Mecanismos de remoção de compostos orgânicos no sistema de lodos ativado em uma fábrica de polpa Kraft branqueada de eucalipto.** 77p. Dissertação de mestrado em Engenharia Civil da Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- 27 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.
- 28 STRONG, P.J.; MCDONALD, B., GAPES, D.J. **Combined thermochemical and fermentative destruction of municipal biosolids: a comparison between thermal hydrolysis and wet oxidative pre-treatment.** *Bioresource Technology*. v. 9, p. 5520 – 5527, 2011.
- 29 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.
- 30 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.
- 31 WANG, L.; MATTSSON, M.; RUNDSTEDT, J.; KARLSSON, N. **Different pretreatments to enhance biogas production.** Master of science thesis. Halmstad University, 2011.
- 32 WEEMAES, M.; VERSTRAETE, W. **Evaluation of current wet sludge disintegration techniques.** *Journal of Chemical Technology Biotechnology*, v. 73, p. 83–92, 1998.
- 33 YUNQIN, L.; DEHAN, W.; SHAOQUAN, W.; CHUNMIN, W. **Alkali pretreatment enhances biogas production in the anaerobic digestion of pulp and paper sludge.** *Journal of Hazardous Materials*, n. 170, p. 366-373, 2009.
- 34 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.
- 35 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.** v. 135, p. 616-621, 2013.