



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

**POTENCIAL DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CODIGESTÃO DE
DEJETOS BOVINO E MACRÓFITA INVASORA (*Hydrilla verticillata*)**

LARYANNE NAIARA RODRIGUES

Foz do Iguaçu
2019

**POTENCIAL DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CODIGESTÃO DE DEJETOS
BOVINO E MACRÓFITA INVASORA (*Hydrilla verticillata*)**

LARYANNE NAIARA RODRIGUES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

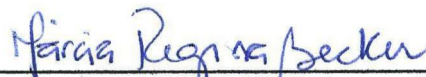
Orientadora: Profa. Dra. Márcia Regina Becker.

LARYANNE NAIARA RODRIGUES


**POTENCIAL DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CODIGESTÃO DE
DEJETOS BOVINO E MACRÓFITA INVASORA (*Hydrilla verticillata*)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Latino-Americano
de Ciências da Vida e da Natureza, da
Universidade Federal da Integração Latino-
Americana, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

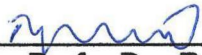
BANCA EXAMINADORA



Orientadora: Profa. Dra. Márcia Regina Becker
UNILA



Profa. Dra. Andréia Cristina Furtado
UNILA



Profa. Dra. Rafaella Costa Bonugli
UNILA

Foz do Iguaçu, 05 de dezembro de 2019.

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Laryanne Naiara Rodrigues

Curso: Biotecnologia

Tipo de Documento

<input checked="" type="checkbox"/> graduação	<input type="checkbox"/> artigo
<input type="checkbox"/> especialização	<input checked="" type="checkbox"/> trabalho de conclusão de curso
<input type="checkbox"/> mestrado	<input type="checkbox"/> monografia
<input type="checkbox"/> doutorado	<input type="checkbox"/> dissertação
	<input type="checkbox"/> tese
	<input type="checkbox"/> CD/DVD – obras audiovisuais
	<input type="checkbox"/> _____

Título do trabalho acadêmico: Produção de biogás a partir da codigestão de dejetos bovinos e macrófita invasora (*Hydrilla verticillata*).

Nome da orientadora: Márcia Regina Becker

Data da Defesa: 05 /12/2019.

Licença não-exclusiva de Distribuição

A referida autora:

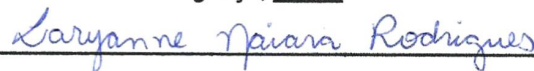
a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, a autora autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra, gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons Licença 3.0 Unported*.

Foz do Iguaçu, 05 de dezembro de 2019.



Assinatura da Responsável

Dedico este trabalho ao meu pai Hortencio (*in memoriam*), à minha mãe Elianni e ao meu padrinho Mauro (*in memoriam*), pois sem vocês nada disso seria possível. E também à Sasha, minha filha de 4 patas, por acompanhar-me e alegrar meus dias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por colocar pessoas maravilhosas em minha vida e por ter me dado forças e sabedoria nessa jornada.

Aos meus pais, pelo amor, carinho e dedicação incondicionais, por terem me dado a oportunidade de chegar aonde cheguei. Ao meu pai Hortencio (*in memoriam*), sou imensamente grata pelos ensinamentos deixados, você sempre será meu grande exemplo. A minha mãe, agradeço por tudo, essa graduação não é uma conquista só minha, é nossa! Ao meu padrinho Mauro (*in memoriam*), eu agradeço por ter me auxiliado no momento mais difícil da minha vida, quando perdi meu pai.

À minha orientadora, Márcia Regina Becker, pela amizade, confiança e por ter me dado a oportunidade de fazer parte do projeto de iniciação científica que deu origem ao meu TCC.

Às Professoras Andréia e Rafaella que também presidiram a banca, sou grata pelas orientações para a melhoria deste trabalho. À Professora Andréia, agradeço pela ajuda com o detector de gases. E à Professora Rafaella, agradeço também pela importante contribuição no pré-tratamento biológico da macrófita.

À UNILA pela assistência estudantil, pela bolsa de iniciação científica e pela excelência do ensino. É um privilégio ter o diploma de uma universidade multicultural, diversa e com tamanha excelência.

Aos grandes parceiros desta pesquisa: à equipe do Laboratório do Centro Internacional de Energias Renováveis - Biogás (CIBiogás), especialmente para Juliana Somer e Tiago Joelzer, pela importante contribuição neste trabalho, inclusive pela doação do inóculo; à equipe do Refúgio Biológico Bela Vista (Itaipu), em especial à Caroline Henn, por ter dado todo o suporte necessário para a coleta das macrófitas; ao Senhor Alexandrino e sua família, por disponibilizarem os dejetos bovinos; ao PTI (Parque Tecnológico de Itaipu), por permitir que parte do trabalho fosse realizado no Laboratório do Núcleo de Pesquisas em Hidrogênio (NUPHI). Obrigada ao Ricardo Ferracini, à Carina Bonavigo e à Glenda Sousa do NUPHI.

Ao pessoal dos laboratórios da UNILA: no JU, um agradecimento especial à Amanda, à Juliana e à Giseli; no PTI, minha profunda gratidão à Paula dos Santos, pela disponibilidade e prontidão de sempre.

A todos meus professores, por todos os ensinamentos! Agradeço especialmente, aos Professores Cristian Rojas e Marcela Boroski pelos apontamentos para o aprimoramento deste trabalho.

À Professora Sanely Lourenço, por ter trazido leveza nos momentos difíceis do curso.

À mestranda Beatriz Arcain, pelos ensinamentos de taxonomia.

Ao Leiber Galvis e seu irmão Osman, pela parceria e colaboração neste projeto de pesquisa.

Ao Marcos Konopka, agradeço pelo auxílio com o detector de gases.

Aos amigos do Observatório Educador Ambiental Moema Viezzer (UNILA) e às Professoras Luciana Ribeiro e Suellen Oliveira, aprendi muito com vocês.

Aos colegas do curso de Biotecnologia, em especial aos da turma de 2015, pelo companheirismo e amizade.

Às minhas grandes amigas, Ema Barcellos, Nathália Delgado e Verenice Zanchi, por estarem ao meu lado nos momentos em que precisei.

Enfim, agradeço a todos que torceram e torcem por mim, que ao longo da minha vida contribuíram de alguma forma para meu crescimento pessoal e profissional. Minha trajetória e esse trabalho não seriam os mesmos sem vocês, gratidão!

*Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe. **Clarice Lispector***

RODRIGUES, Laryanne Naiara. **Potencial da produção de biogás a partir da codigestão de dejetos bovino e macrófita invasora (*Hydrilla Verticillata*)**. 2019. 73 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2019.

RESUMO

A gestão e disposição inadequadas de dejetos bovinos podem causar a contaminação de corpos d'água, levando ao crescimento exacerbado de plantas aquáticas como a *Hydrilla verticillata*. Esta é uma macrófita invasora do Rio Paraná que, devido à sua alta capacidade de adaptação e dispersão, apresenta potencial para causar diversos prejuízos ambientais e econômicos. Aplicar um pré-tratamento biológico em biomassas lignocelulósicas pode melhorar a biodegradabilidade e facilitar a conversão destas em bioenergia. Diante disso, a biodigestão anaeróbia é uma importante ferramenta que possibilita o tratamento e aproveitamento energético de materiais orgânicos. A codigestão anaeróbia combina diferentes substratos e é uma estratégia promissora para otimizar a produção de biogás, no entanto, mais estudos são necessários sobre a viabilidade de utilizar novos substratos e pré-tratamentos. A adição do inóculo, uma população adicional de microrganismos já adaptada ao processo, também é recomendada para a otimização da biodigestão. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da produção de biogás a partir da mono e codigestão de dejetos bovinos e *H. verticillata*. Uma solução tampão de bicarbonato de sódio (0,13 mol/L) foi utilizada para homogeneizar os substratos e ajudar a prevenir a acidificação do meio. Os substratos foram caracterizados mediante análise gravimétrica dos sólidos e a produção de biogás foi analisada através do Potencial Bioquímico de Metano (PBM). Na codigestão (razão 2:1 de dejetos:macrófita, respectivamente), foram analisados os efeitos da adição do inóculo e da aplicação de um pré-tratamento biológico na biomassa da *H. verticillata*. Após 40 dias de tempo de retenção hidráulica, o volume acumulado de biogás foi de 671 mL e 1585 mL na monodigestão de dejetos e de macrófita, respectivamente; enquanto que, nos ensaios de codigestão obteve-se: 1120 mL (sem inóculo), 1173 mL (com inóculo) e 609 mL (com inóculo e macrófita pré-tratada). Portanto, a macrófita sem pré-tratamento biológico é um substrato adequado para a produção de biogás, seja como substrato único ou cossustrato da biodigestão anaeróbia. Os ensaios utilizando a *H. verticillata* (sem pré-tratamento) resultaram no aumento de mais de 60% no volume de biogás produzido, em relação à monodigestão de dejetos. A adição do inóculo melhorou a biodigestão anaeróbia, acelerando a degradação da matéria orgânica, reduzindo o tempo de retenção hidráulica, antecipando o pico da produção de biogás e melhorando o conteúdo de metano.

Palavras-chave: Biodigestão anaeróbia. Codigestão anaeróbia. Biogás. Dejetos bovinos. Planta aquática.

RODRIGUES, Laryanne Naiara. **Potential of biogas production from co-digestion of bovine manure and invasive macrophyte (*Hydrilla verticillata*)**. 2019. 73 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2019.

ABSTRACT

Inadequate management and disposal of bovine manure can cause contamination of water bodies, leading to exacerbated growth of aquatic plants such as *Hydrilla verticillata*. This is an invasive macrophyte of the Paraná River that, due to its high adaptability and dispersion, has the potential to cause several environmental and economic damages. Applying biological pretreatment to lignocellulosic biomass can improve biodegradability and facilitate their conversion to bioenergy. Given this, anaerobic biodigestion is an important tool that enables the treatment and energy utilization of organic materials. Anaerobic co-digestion combines different substrates and is a promising strategy to optimize the production of biogas, however, more studies are needed on the feasibility of using new substrates and pre-treatments. The addition of the inoculum, an additional population of microorganisms previously adapted to the process, is also recommended for the optimization of biodigestion. Therefore, this work aimed to evaluate the potential of biogas production from mono and co-digestion of bovine manure and *H. verticillata*. A sodium bicarbonate buffer solution (0.13 mol/L) was used to homogenize the substrates and to help prevent acidification of the medium. Substrates were characterized by gravimetric analysis of solids and biogas production was analyzed by Biochemical Methane Potential (BMP). In the co-digestion (ratio of 2:1 - manure:macrophyte, respectively), the effects of inoculum addition and biological pretreatment on *H. verticillata* biomass were analyzed. After 40 days of hydraulic retention time, the accumulated volume of biogas was 671mL and 1585 mL in the manure and macrophyte monodigestion, respectively; while in the co-digestion assays were obtained: 1120 mL (without inoculum), 1173 mL (with inoculum) and 609 mL (with inoculum and pretreated macrophyte). Therefore, macrophyte without biological pretreatment is a suitable substrate for biogas production, either as a single substrate or anaerobic biodigestion substrate. Tests using *H. verticillata* (without pretreatment) resulted in an increase of more than 60% in the volume of biogas produced compared to monodigestion of bovine manure. Inoculum addition improved anaerobic digestion, accelerating the degradation of organic matter, reducing hydraulic retention time, anticipating peak biogas production and improving methane content.

Key words: Anaerobic biodigestion. Anaerobic co-digestion. Biogas. Bovine manure. Aquatic plant.

RODRIGUES, Laryanne Naiara. **Potencial de la producción de biogás a partir de la codigestión de desechos ganadero y macrofita invasora (*Hydrilla verticillata*)**. 2019. 73 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2019.

RESUMEN

El manejo y la eliminación inadecuados de los desechos ganadero pueden causar la contaminación de los cuerpos de agua, lo que lleva a un crecimiento exacerbado de las plantas acuáticas como la *Hydrilla verticillata*. Esta es una macrófita invasora del Río Paraná que, debido a su alta adaptabilidad y dispersión, tiene el potencial de causar varios daños ambientales y económicos. La aplicación de pretratamiento biológico a la biomasa lignocelulósica puede mejorar la biodegradabilidad y facilitar su conversión en bioenergía. Ante esto, la biodigestión anaerobia es una herramienta importante que permite el tratamiento y la utilización de energía de los materiales orgánicos. La codigestión anaerobia combina diferentes sustratos y es una estrategia prometedora para optimizar la producción de biogás, sin embargo, se necesitan más estudios sobre la viabilidad de nuevos sustratos y pretratamientos. La adición de inóculo, una población adicional de microorganismos ya adaptados al proceso, también es recomendada para la optimización de la biodigestión. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de producción de biogás a partir de mono y codigestión de desechos ganadero y *H. verticillata*. Una solución tampón de bicarbonato de sodio (0,13 mol/L) fue usada para homogeneizar los sustratos y ayudar a prevenir la acidificación del medio. Los sustratos fueron caracterizados por análisis gravimétrico de sólidos y la producción de biogás fue analizada por el Potencial Bioquímico de Metano (PBM). En la codigestión (la relación 2:1 de desechos y macrófita, respectivamente), fueron analizados los efectos de la adición de inóculo y el pretratamiento biológico sobre la biomasa de la *H. verticillata*. Después de 40 días de tiempo de retención hidráulica, el volumen acumulado de biogás fue de 671 ml y 1585 ml en la monodigestión de desecho y de la macrófita, respectivamente; mientras que en los ensayos de codigestión se obtuvieron: 1120 ml (sin inóculo), 1173 ml (con inóculo) y 609 ml (con inóculo y macrófita pretratada). Por lo tanto, la macrófita sin pretratamiento biológico es un sustrato adecuado para la producción de biogás, sea como sustrato único o como co-sustrato de biodigestión anaerobia. Las pruebas con *H. verticillata* (sin pretratamiento) dieron como resultado un aumento de más del 60% en el volumen de biogás producido en relación con la monodigestión de los desechos. La adición de inóculo mejoró la digestión anaerobia, acelerando la degradación de la materia orgánica, reduciendo el tiempo de retención hidráulica, anticipando la producción máxima de biogás y mejorando el contenido de metano.

Palabras clave: Biodigestión anaerobia. Codigestión anaerobia. Biogás. Desechos ganadero. Planta acuática.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BA – Biodigestão anaeróbia

BMP – *Biochemical Methane Potencial*

CIBiogás - Centro Internacional de Energias Renováveis

C – Carbono

CH₄– Metano

CO₂ – Dióxido de carbono

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

H₂ – Hidrogênio

H₂S – Ácido sulfídrico

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ILACVN – Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza

JU – Jardim Universitário

GLP – Gás Liquefeito de Petróleo

N₂ – Nitrogênio

Na₂CO₃ – Carbonato de sódio

Na₂CO₃.10 H₂O – Carbonato de sódio decahidratado

NaHCO₃– Bicarbonato de sódio

NUPHI – Núcleo de Pesquisas em Hidrogênio

pH – Potencial hidrogeniônico

PBM – Potencial Bioquímico de Metano

PTI – Parque Tecnológico de Itaipu

SF – Sólidos Fixos

ST – Sólidos Totais

SV – Sólidos Voláteis

T – Temperatura

UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana

VDI – *Verein Deutscher Ingenieure*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 MACRÓFITA <i>Hydrilla verticillata</i>	14
2.1.1 Características Morfológicas	15
2.2 MÉTODOS DE CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS.....	17
2.2.1 Métodos Físicos	19
2.2.2 Métodos Químicos	20
2.2.3 Métodos Biológicos	20
2.3 RESERVATÓRIO DE ITAIPU	21
2.4 BIODIGESTÃO ANAERÓBIA.....	23
2.4.1 Biogás	27
2.4.2 Codigestão anaeróbia	28
2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS.....	29
2.6. PRÉ-TRATAMENTOS DA BIOMASSA	30
2.6.1 Pré-tratamento físico	31
2.6.2 Pré-tratamento químico.....	31
2.6.3 Pré-tratamento biológico	31
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 OBJETIVO GERAL	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4 METODOLOGIA	34
4.1 COLETA DAS BIOMASSAS.....	34
4.2 ACLIMATAÇÃO DO INÓCULO	35
4.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	36
4.3.1 Teor de sólidos.....	36
4.4 DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO DOS SUBSTRATOS	38
4.5 APARATO EXPERIMENTAL.....	41
4.6 PRÉ-TRATAMENTO BIOLÓGICO DA MACRÓFITA.....	42
4.7 TESTE DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM).....	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
6 CONCLUSÕES.....	56
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	58
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICES	65
APÊNDICE A – PRODUÇÃO DE BIOGÁS NOS TESTES PBM.....	66
APÊNDICE B – ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA).....	73

1 INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial gera uma demanda crescente por alimentos, água e energia. De modo que, através da produção de alimentos e aproveitamento energético dos resíduos, o setor agropecuário desempenha um importante papel para a garantia da segurança alimentar e produção de energia renovável. Desta forma, o Brasil apresenta grande potencial para responder a essas demandas (LINS, 2017).

A agropecuária é um setor estratégico e de grande impacto no desenvolvimento do país. Dentre os produtos agropecuários, destaca-se a produção de proteína animal. O Brasil é um dos líderes desse segmento, possuindo um dos maiores rebanhos de bovinos do mundo, com mais de 200 milhões de cabeças (BRASIL, 2018).

Diante da redução da área útil e do aumento populacional, tem-se a necessidade de melhorar a produtividade e rentabilidade do sistema agropecuário. Para atender essas demandas, houve a expansão do sistema intensivo. Sendo este caracterizado pelo manejo de animais em áreas menores e com confinamento (BLANCO et al, 2014; BRASIL, 2018; MITO et al, 2018).

Com base nisso, na pecuária leiteira (um dos setores de maior destaque da agroindústria brasileira), o confinamento de animais é um dos sistemas de produção mais utilizados (BRASIL, 2018). De acordo com a Produção da Pecuária Municipal (IBGE, 2017), a Região Sul detém a maior produtividade leiteira, sendo responsável por 35,7% do total de litros. Neste contexto, o oeste paranaense destaca-se pela expressiva atividade pecuária e segundo dados compilados pelo Observatório Territorial (2016), essa região detém 22,5% de toda produção de leite do estado.

Embora a alta produtividade resulte em desenvolvimento econômico e social, a pecuária é responsável pela geração de resíduos altamente poluentes. No sistema de confinamento, a elevada quantidade de dejetos por unidade de área aliada à falta de tratamento e/ou disposição inadequada desses resíduos podem gerar um passivo ambiental, visto que estes apresentam grande potencial de contaminar o solo e corpos d'água (COSTA, 2015; LINS, 2017; MITO et al, 2018).

Segundo LINS (2017), devido ao excesso de nutrientes (principalmente de nitrogênio e fósforo, que são essenciais para o crescimento

vegetal) contidos nesses efluentes, a disposição destes em corpos d'água pode resultar no crescimento de plantas aquáticas, tal como a *Hydrilla verticillata*. Esta é uma macrófita altamente invasora e persistente, presente na bacia do Rio Paraná, que tem capacidade de produzir elevada quantidade de biomassa, podendo gerar diversos problemas ambientais e econômicos, tais como desequilíbrio do ecossistema aquático e prejuízos aos diversos usos do recurso hídrico, respectivamente (CHEN et al, 2016; PANDOLFI, 2017; SOUSA, 2011).

Para controlar as macrófitas aquáticas que estão em desequilíbrio no ambiente, aplica-se, preferencialmente, a retirada manual ou mecanizada (PANDOLFI, 2017). De modo a se aproveitar dessa biomassa, pode-se utilizá-la para produção de biogás a partir da mono ou codigestão anaeróbia (EVANS & WILKIE, 2010; LINS, 2017).

É possível ainda, realizar um pré-tratamento (químico, físico ou biológico) dos substratos, de modo a promover o rompimento da estrutura de lignocelulose e aumentar a superfície, melhorando a biodegradabilidade através da ruptura da parede celular (ZHANG et al, 2016). Desta forma, facilita-se o acesso dos microrganismos ao substrato, aumentando o potencial de produção de biogás (ZHANG et al, 2016; CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014).

Diante disso, para se obter um sistema de produção mais sustentável e ainda, dar uma destinação para a biomassa de macrófitas invasoras, a biodigestão anaeróbia destes resíduos mostra-se como uma alternativa viável por promover a reciclagem dos nutrientes, produzir biofertilizante (ou digestato, um subproduto do processo) e ainda, gerar energia sustentável, por meio do biogás (BRASIL, 2018; LINS, 2017; MITO et al, 2018). Em comparação com a monodigestão, a codigestão anaeróbia apresenta grande potencial para maximizar a produção de biogás e por isso, tem crescido o interesse na busca de novos resíduos para atuarem como cossustratos (MATA-ALVAREZ et al, 2014; XU et al, 2018; ZHANG et al, 2016).

Neste sentido, os interesses deste trabalho foram a caracterização físico-química e o aproveitamento energético da biomassa da *Hydrilla verticillata* através da mono e codigestão anaeróbia com dejetos bovinos, de modo que esse tratamento fosse utilizado para mitigar os passivos ambientais causados por essas biomassas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MACRÓFITA *Hydrilla verticillata*

As macrófitas são organismos que crescem em ambientes aquáticos, desempenhando importantes funções nesses ecossistemas, uma vez que atuam na manutenção dos mesmos, ao participar de processos biogeoquímicos e servindo de abrigo e alimento para diversas espécies (BIANCHINI et al, 2010; SOUSA, 2011). Deste modo, afetam a estrutura de habitats, a diversidade biológica, as relações interespecíficas e a produtividade do sistema (THOMAZ & BINI, 2003).

Embora apresentem importância ecológica, a proliferação excessiva de macrófitas pode causar diversos prejuízos ambientais e econômicos, tais como desequilíbrio do ambiente aquático (devido à diminuição dos níveis de oxigênio e eutrofização que causam a morte massiva de invertebrados e peixes) e prejuízos aos diversos usos dos corpos d'água (como uso recreativo, abastecimento, navegação, irrigação, pesca e geração de energia por hidrelétricas), respectivamente (SOUSA, 2011; LINS, 2017; PANDOLFI, 2017).

A *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle é uma planta aquática submersa obrigatória, sendo uma angiosperma monocotiledônea da família *Hydrocharitaceae*, que é altamente persistente e competitiva (BIANCHINI et al, 2010; SOUSA et al, 2010; SOUSA, 2011). Apresenta alta adaptabilidade, forte capacidade de adsorção de nutrientes e até de metais pesados, tais como: urânio, arsênio, cádmio, cobre e cromo (SRIVASTAVA et al, 2010; JAIN & KALAMDHAD, 2018). Mas o crescimento excessivo desta pode trazer diversos prejuízos aos múltiplos usos do ambiente aquático (BIANCHINI et al, 2010; SOUSA, 2011; CHEN et al, 2016).

Esta macrófita é a única espécie do gênero *Hydrilla* e pode apresentar dois biótipos sexuais: monoico (produz separadamente flores “masculinas” e “femininas” na mesma planta) e dioico (cada planta produz apenas flores “masculinas” ou “femininas”). Visto que, os biótipos são muito semelhantes, necessita-se de análise genética para diferenciá-los (GETTYS & ENLOE, 2016; SOUSA, 2011). Na bacia do Rio Paraná, de acordo com SOUSA (2011), o biótipo encontrado é o dioico, confirmado por análise molecular.

Devido às suas estratégias de reprodução (sexual e assexuada) e por apresentar alta tolerância às mudanças ambientais (tais como: temperatura, pH,

salinidade, quantidade de matéria orgânica, níveis de luminosidade, entre outros), a *Hydrilla verticillata* que é nativa de partes da África, Ásia e Austrália, foi capaz de se espalhar pelo mundo. A sua capacidade de reprodução vegetativa aliada ao sistema de rizomas bem desenvolvido, permitem que esta macrófita persista e recupere-se mesmo após graves perturbações, o que a torna uma das piores ervas daninhas aquáticas do mundo (BIANCHINI et al, 2010; CHEN et al, 2016; SOUSA, 2011; JAIN & KALAMDHAD, 2018).

A *H. verticillata* é uma macrófita submersa que possui capacidade de crescer e se estabelecer em ambiente eutrófico (WU et al, 2015) e ainda, possui elevada taxa de crescimento, podendo facilmente atingir rendimentos de biomassa superiores a 10 toneladas.hectare⁻¹.ano⁻¹ (ABBASI, NIPANEY & SCHAUMBERG, 1990). Esta espécie é uma competidora superior e pode perturbar a comunidade de macrófitas nativas, exercendo significativa pressão ecológica para *Hydrocharitaceae* nativas (SOUSA, 2011). Diante disso, esta é uma planta aquática invasora com grande potencial para gerar diversos prejuízos ambientais e econômicos (JAIN & KALAMDHAD, 2018). Consequentemente, a elevada quantidade de biomassa é capaz de obstruir canais de coleta e distribuição de água, prejudicando a navegabilidade e a geração de energia por hidrelétricas, entre outros problemas (BIANCHINI et al, 2010; SOUSA, 2011; LINS, 2017).

No Brasil, essa macrófita foi encontrada pela primeira vez em 2005, estando presente no Lago de Itaipu e ao longo do Rio Paraná, isto é, uma importante bacia hidrográfica para geração de energia, por meio de hidrelétricas. E ainda segundo SOUSA (2011), a *H. verticillata* apresenta potencial para infestar outras bacias hidrográficas brasileiras.

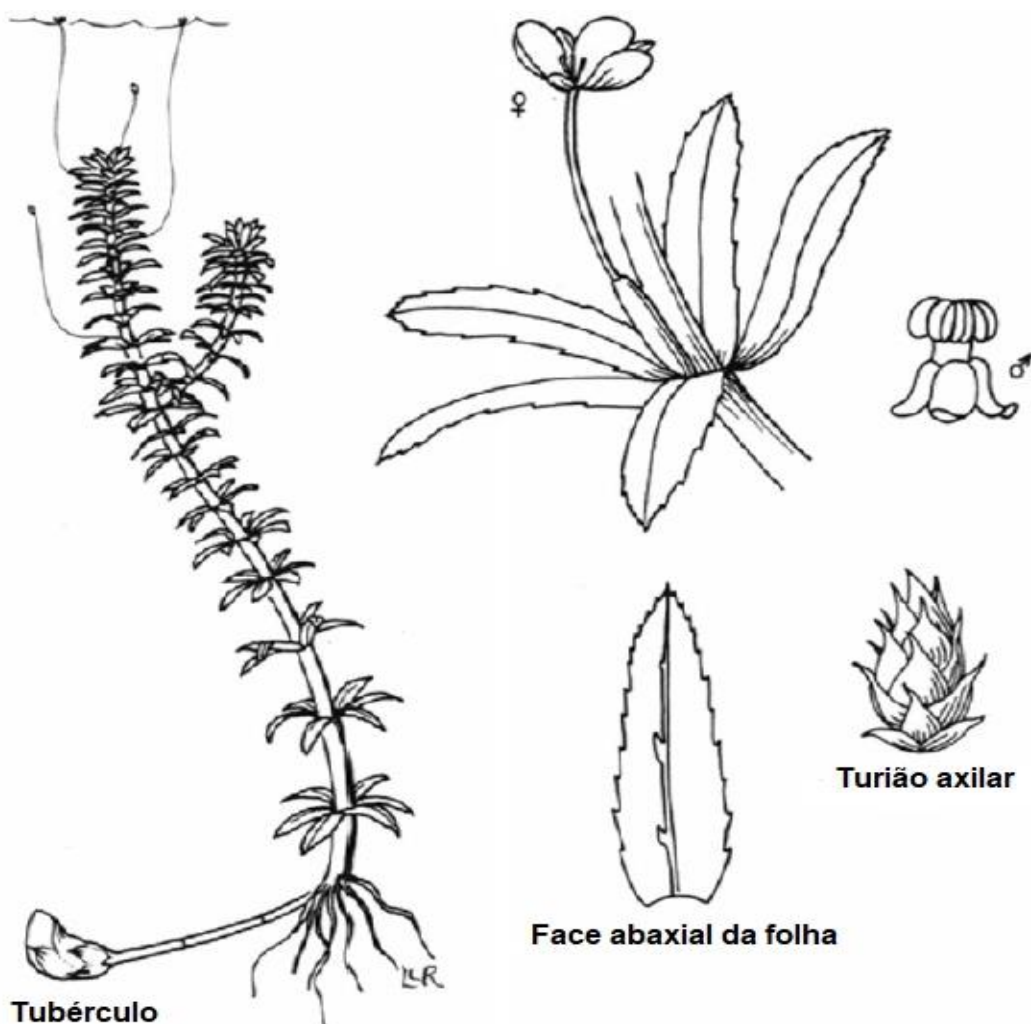
2.1.1 Características Morfológicas

A *H. verticillata* apresenta folhas verdes de formato pontiagudo, margens dentadas/serrilhadas, estando dispostas ao redor do caule de maneira verticilada (em espiral), com quatro a oito folhas presas em cada nó. Na parte inferior da nervura central pode haver um ou mais dentes também. Possui flores de pequeno tamanho (4-5 mm) e coloração branca, sendo que, suas pétalas e sépalas são ambas em número de três. Apresenta hastes longas, delgadas e ramificadas,

que podem atingir 25 metros de comprimento (GETTYS & ENLOE, 2016; SOUSA, 2011).

Essa macrófita apresenta estruturas especializadas (turiões e tubérculos) que lhe conferem resistência e um sistema radicular desenvolvido que é capaz de armazenar carboidratos. Essas estruturas (ilustradas na Figura 1) permitem que a planta se regenere mesmo após graves perturbações. A *H. verticillata* pode se espalhar rapidamente por fragmentação, de modo que, a partir de pequenas seções de caule pode haver a formação de raízes e desenvolvimento de plantas independentes (GETTYS & ENLOE, 2016; SOUSA, 2011). Os tubérculos são viáveis por longos períodos, sendo que, um único tubérculo que se desenvolve em uma planta, é capaz de produzir cerca de 700 tubérculos por metro quadrado, tornando ainda maior o alcance desta erva daninha (GETTYS & ENLOE, 2016).

Figura 1: Morfologia da *Hydrilla verticillata*



Adaptado: IFAS, Center for Aquatic Plants and Invasive Plants, University of Florida.

A *H. verticillata* é uma macrófita submersa que apresenta baixo conteúdo de lignina, de modo que sua estrutura é flexível e macia, possivelmente para adaptar-se à flutuação do nível de água (PUGLIESE et al, 2015; ZHANG, LIU & DING, 2012). Segundo MOELLER et al (2018), plantas aquáticas com menor teor de lignina (tal como a *H. verticillata*) apresentam potencial para a produção de biogás. E de acordo com os poucos dados encontrados na literatura, esta planta aquática pode ser usada como substrato único (ABBASI et al, 1990; EVANS & WILKIE, 2010) ou cossustrato (KAINTHOLA et al, 2019) na biodigestão anaeróbia.

2.2 MÉTODOS DE CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS

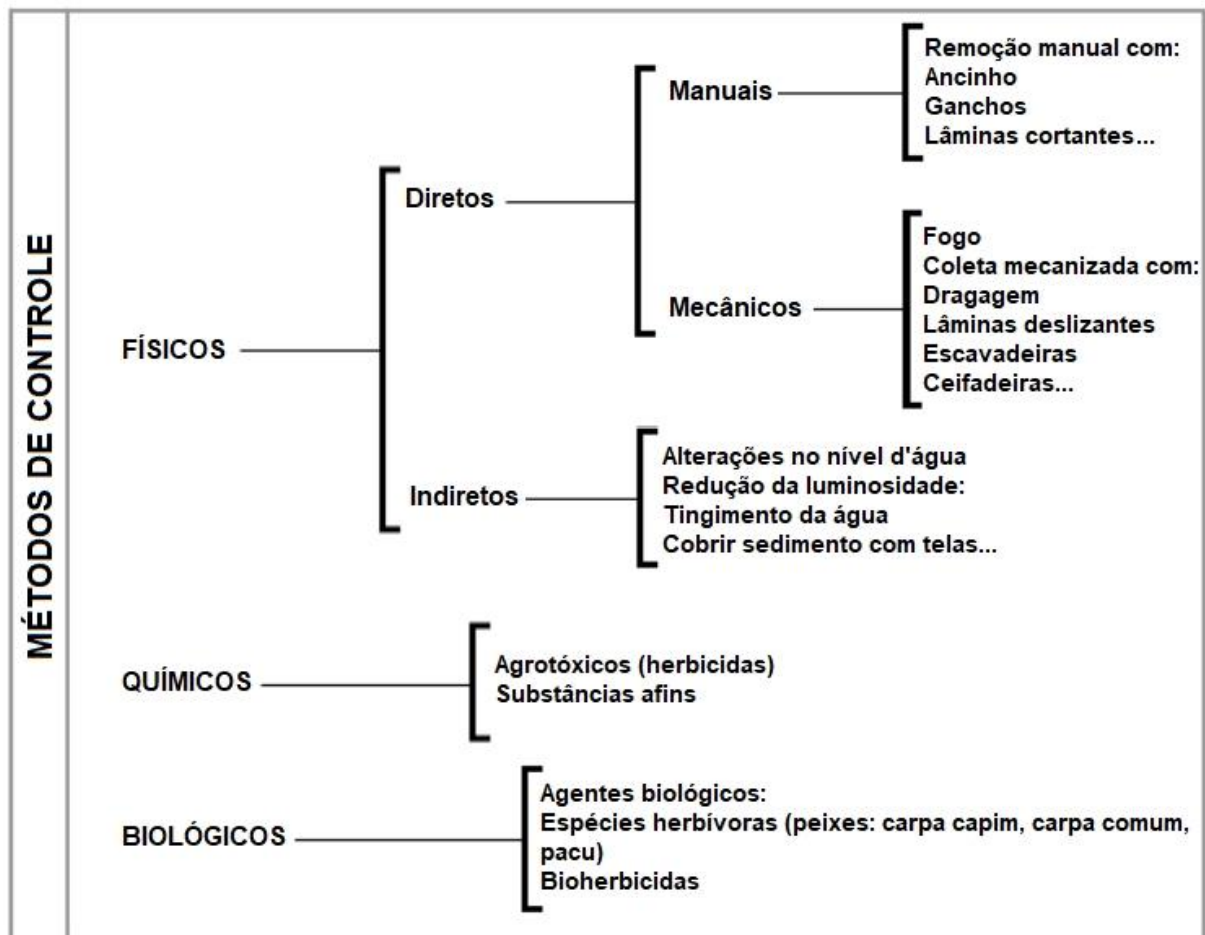
Para evitar os problemas gerados pelo crescimento exacerbado, há necessidade de manter programas de monitoramento e controle de plantas aquáticas. Esses programas visam obter conhecimentos sobre a diversidade de espécies, o desenvolvimento e dinâmica das mesmas, de modo a embasar o manejo racional desses organismos (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003). Contudo, antes de optar pelo controle, devem ser considerados os níveis a partir dos quais, a abundância das macrófitas pode ser considerada problemática (THOMAZ & BINI, 2003).

Diante disso, um programa de monitoramento e controle deve ser baseado nas características das espécies, na identificação da área colonizada, no nível de infestação e no resultado desejado do controle, de modo a ser definido o melhor método de manejo (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003). Há diversos procedimentos de controle que podem ser aplicados de forma isolada ou integrada. Esses procedimentos são classificados como métodos físicos, químicos e biológicos (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003).

Segundo POMPÊO (2017), mesmo sendo dispendioso, o controle físico é o procedimento de manejo mais amplamente empregado. E embora a biomassa removida possa ser acomodada provisoriamente às margens do reservatório, se faz necessário definir uma destinação final apropriada. Ainda segundo esse autor, a biomassa pode ser descartada em aterros sanitários ou ser aproveitada em processos de bioissorção, fitorremediação, fitoquímico e na obtenção de diversos produtos (como ração animal, fertilizantes e biocombustíveis, tal como o biogás).

O monitoramento de macrófitas aquáticas é necessário para definir ações preventivas e corretivas de controle, sendo utilizado para subsidiar ações de conservação do ecossistema aquático, uma vez que essas plantas são essenciais na manutenção desse ambiente. Deste modo, independente do tipo de manejo a ser aplicado, este deve ser viável, adequado ao biótipo da macrófita considerada problema (se submersa ou flutuante, por exemplo) e, ainda, o método escolhido deve impactar minimamente o ecossistema aquático e seus múltiplos usos (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003). A Figura 2 ilustra alguns métodos de controle comumente utilizados:

Figura 2: Métodos de controle de plantas aquáticas



Adaptado: POMPÊO, 2017.

A remoção (manual ou mecânica) da macrófita aquática geralmente é considerada como primeiro procedimento de manejo, por causar um menor impacto ao meio e pelo potencial aproveitamento da biomassa coletada. Diante

disso, o manejo das macrófitas aquáticas não se limita apenas ao monitoramento e aplicação da técnica de controle (quando necessária), mas também envolve a disposição adequada da biomassa removida, seja esta em grande quantidade ou não (POMPÊO, 2017).

Embora o controle preventivo seja o mais adequado, no Brasil, na maioria das vezes, utiliza-se o controle corretivo das macrófitas (BERTI, 2013). De acordo com POMPÊO (2017), com o manejo tardio, a biomassa a ser removida pode ser substancial, trazendo dificuldades no que se refere à destinação final da mesma. Sendo assim, além de promover o constante monitoramento, outros estudos são importantes, no que se refere ao potencial em utilizar macrófitas em sistemas alternativos de tratamento de efluentes (evitando que os mesmos sejam dispostos incorretamente em corpos d'água, favorecendo a eutrofização e crescimento exacerbado de plantas aquáticas) e na utilização da biomassa das macrófitas para obtenção de produtos, tais como biocombustíveis (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017).

Um desafio enfrentado no controle de macrófitas está na ausência de técnicas padronizadas de manejo das mesmas (THOMAZ & BINI, 2003). De acordo com SOUSA (2011), a dificuldade em controlar a *Hydrilla verticillata* está relacionada à alta taxa de crescimento, presença de estruturas de resistência e grande habilidade de dispersão. Segundo Itaipu Binacional (2019), dentre espécies de plantas aquáticas que já foram identificadas no reservatório, a *Hydrilla verticillata* é uma das espécies que merece destaque por ser exótica e com grande potencial invasor.

2.2.1 Métodos Físicos

Os métodos físicos podem ser aplicados diretamente na macrófita alvo ou de forma indireta, sendo que, os métodos diretos podem ser manuais ou mecanizados. Ainda segundo POMPÊO (2017), o controle direto consiste principalmente na aplicação de chama ou poda e coleta de macrófitas, que pode ser feita de forma manual (indicada para pequenas extensões) ou mecanizada que consiste na utilização de equipamentos de pequeno a grande porte (recomendado para infestações de maiores proporções).

Independente de a remoção ser manual ou mecânica é necessário retirar a macrófita cortada dos corpos d'água, uma vez que, os fragmentos dos

cortes podem rebrotar (gerando novas infestações) e ainda, provocar ou piorar a eutrofização do ambiente aquático (POMPÊO, 2017; JAIN & KALAMDHAD, 2018).

Em contrapartida, os métodos indiretos consistem basicamente em reduzir/bloquear a quantidade de luz disponível (através do tingimento da água ou utilização de telas) ou promover alterações no nível da água no reservatório (POMPÊO, 2017; JAIN & KALAMDHAD, 2018).

Diante disso, EVANS & WILKIE (2010) sugerem a colheita mecânica como uma importante forma de manejo da *Hydrilla verticillata* aliado ao aproveitamento da biomassa para produção bioenergia e biofertilizante.

2.2.2 Métodos Químicos

Os métodos químicos envolvem a aplicação de herbicidas ou substâncias afins, no ambiente aquático. É considerado um método rápido de controle de plantas aquáticas, porém deve ser usado com muita cautela, uma vez que sua aplicação gera impactos em todo o ecossistema aquático, limitando seus múltiplos usos. Para aplicação de substâncias químicas de controle são necessários conhecimentos sobre seletividade; dosagem; número de aplicações e alternância do herbicida; além de avaliações do impacto ambiental e da eficiência do controle (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003).

Segundo JAIN & KALAMDHAD (2018), o herbicida Diquat afeta as porções de brotamento da planta, mas não os rizomas e tubérculos, exigindo subseqüentes aplicações, enquanto que, o herbicida aquático Fluridone requer tempos muito longos de exposição. Ainda segundo esses autores, embora herbicidas químicos sejam usados para o manejo do crescimento excessivo de ervas daninhas aquáticas, o seu uso não é recomendado devido ao alto custo e aos problemas ambientais associados.

2.2.3 Métodos Biológicos

Tais métodos consistem na utilização de agentes biológicos que promovam o controle da espécie indesejada. No controle de macrófitas, geralmente, utiliza-se espécies herbívoras, tal como peixes. Outra estratégia é a aplicação de

bioherbicidas, que consiste na utilização de microrganismos patogênicos para controlar a espécie daninha (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003).

O controle biológico é uma alternativa interessante por apresentar menor risco ambiental, desde que seja aplicado de forma criteriosa (para que o agente de controle não se torne uma nova praga e/ou atinja espécies não alvo, por exemplo). No entanto, para a maior utilização desse método são necessários mais estudos sobre ecologia, bioprospecção de agentes de biocontrole e viabilidade da produção de inóculos, por exemplo (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003).

2.3 RESERVATÓRIO DE ITAIPU

O reservatório de Itaipu é do tipo fio d'água, característica que favorece o estabelecimento e riqueza de espécies de macrófitas aquáticas, uma vez que o nível da água mantém-se praticamente constante, com variação menor que 1 metro, mantendo-se em torno de 219 e 220 metros acima do nível do mar (BERTI, 2013; THOMAZ & BINI, 2003).

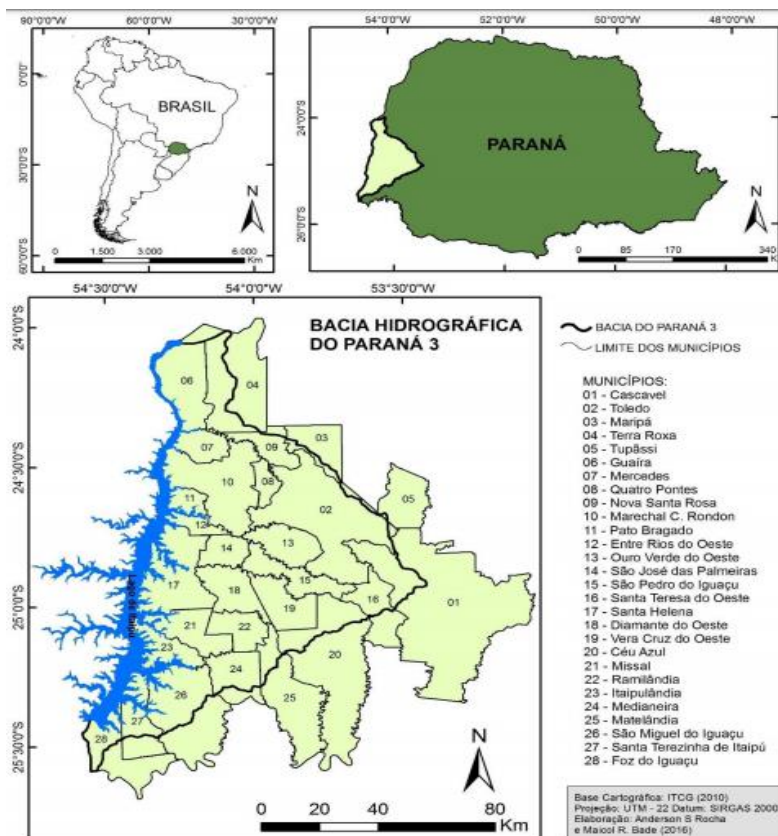
De acordo com Itaipu Binacional (2019), há 64 espécies de plantas aquáticas identificadas no reservatório. E segundo THOMAZ & BINI (2003), estas estão presentes em áreas mais afastadas da barragem, localizadas mais na região dos braços do reservatório. Nestes locais, há ocorrência de espécies submersas (tal como a *H. verticillata*) que geralmente atingem profundidades inferiores a 2 metros, sendo encontradas raramente acima de 4 metros de profundidade (THOMAZ & BINI, 2003).

No reservatório, o crescimento excessivo das macrófitas é limitado devido à grande profundidade, aliada à elevada exposição ao vento e turbidez (THOMAZ & BINI, 2003). Ademais, a hidrelétrica de Itaipu mantém o monitoramento das plantas aquáticas, de modo a resolver problemas pontuais, uma vez que, até então, não foi preciso de estratégias de controle em grande escala. Isso ocorre porque as áreas colonizadas são reduzidas e o monitoramento é constante, de modo que coletas manuais são aplicadas segundo a necessidade (BERTI, 2013; THOMAZ & BINI, 2003).

Com o programa de monitoramento é possível identificar o aumento da colonização e a necessidade de empregar formas de controle e manejo. Os trechos superiores dos braços do reservatório, por apresentarem condições adequadas para crescimento de plantas aquáticas, merecem maior atenção no programa de manejo, sendo que, o mesmo deve ser realizado respeitando as necessidades operacionais do reservatório. O controle de espécies invasoras e a manipulação dos níveis de água para controlar a vegetação submersa são estratégias que podem contribuir para diminuir as infestações pontuais no reservatório de Itaipu (BERTI, 2013; POMPÊO, 2017; THOMAZ & BINI, 2003).

De acordo com Itaipu Binacional (2017), a empresa realiza diagnósticos e avaliações ambientais do reservatório e da área de influência, a fim de fornecer parâmetros e indicadores que orientem e atestem as ações de controle que são desenvolvidas no Reservatório de Itaipu e na Bacia Hidrográfica do Paraná 3 (BP3). Esta região, ilustrada na Figura 3, possui aproximadamente 8.000km² e envolve, total ou parcialmente, 28 municípios da região Oeste do Paraná e Mundo Novo-MS (ROCHA, 2016).

Figura 3: Localização da Bacia Hidrográfica do Paraná 3



Fonte: ROCHA, 2016.

De acordo com o Relatório de 2017 da Itaipu Binacional, neste mesmo ano, foi verificado aumento populacional de macrófitas aquáticas em um braço da Bacia do Paraná 3, decorrente da poluição causada pela presença de nutrientes como nitrogênio e fósforo. Ainda de acordo com este relatório, as principais atividades que contribuem para aumento exacerbado de nutrientes que resultam no crescimento acelerado de plantas aquáticas e eutrofização são: disposição inadequada de dejetos de animais e esgoto doméstico sem tratamentos, sedimentos de áreas agrícolas em que não há manejo e conservação do solo.

Diante disso, a Itaipu Binacional incentiva projetos para produção de biogás, de modo a tratar os dejetos da suinocultura e bovinocultura e ainda, apoia com recursos financeiros e técnicos a elaboração de Planos de Saneamento Municipais, deste modo, a hidrelétrica espera, a longo prazo, solucionar esses problemas na região (ITAIPU BINACIONAL, 2017).

2.4 BIODIGESTÃO ANAERÓBIA

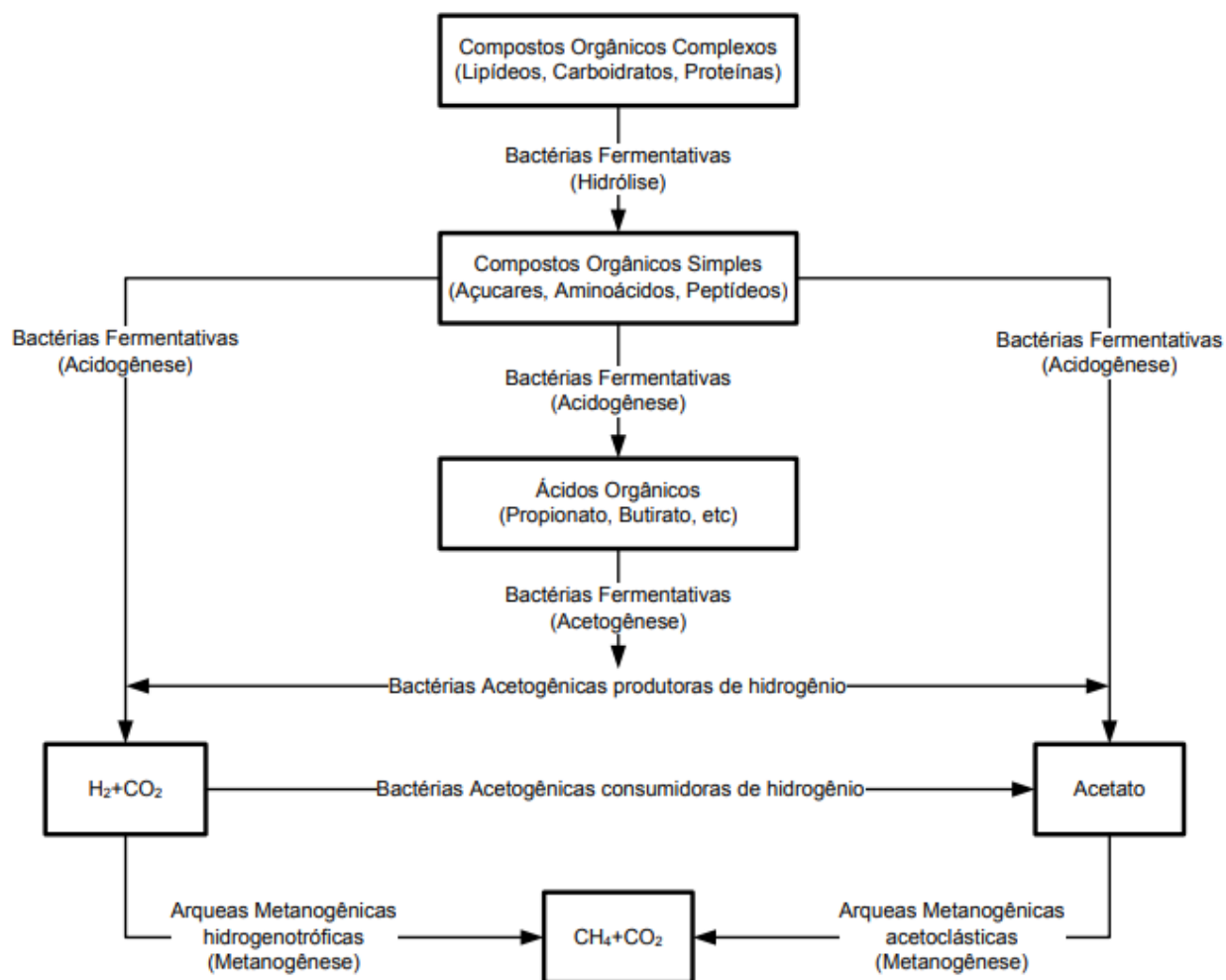
A decomposição de matéria orgânica envolve processos complexos que resultam na redução do material orgânico à forma mineral. Esses processos podem ocorrer por meio de mecanismos abióticos (através de processos físicos e químicos) ou bióticos. Diversos fatores influenciam a decomposição da matéria orgânica, tais como condições ambientais (temperatura, umidade, concentração de oxigênio e dióxido de carbono, entre outros), além das características inerentes ao substrato (composição, tamanho da partícula, entre outros) (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014).

Na degradação biológica, o metabolismo de organismos vivos, de microrganismos principalmente, é responsável por degradar a matéria biológica em componentes mais simples, podendo ocorrer na ausência ou presença de oxigênio. Na degradação aeróbica, o oxigênio é usado pelos microrganismos como acceptor de elétrons, de modo que, ao final da degradação, a matéria orgânica é convertida em dióxido de carbono, água, nitratos e sulfatos (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014).

Enquanto que, na biodigestão anaeróbia (BA), o processo de degradação da matéria orgânica ocorre na ausência de oxigênio, em que uma complexa comunidade de microrganismos (arqueas e bactérias) atua estabilizando o

material orgânico e convertendo-o em diversos compostos mais simples (que incluem ácidos graxos voláteis, alcoóis, gás carbônico, metano, hidrogênio...), resultando em biogás e em biofertilizante (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014; MATA-ALVAREZ et al, 2014). Conforme ilustrado na Figura 4, a BA é dividida em 4 etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (MATA-ALVAREZ et al, 2014; LINS, 2017).

Figura 4: Processo da biodigestão anaerobia



FONTE: LINS, 2017.

De acordo com XU et al (2018), existem cerca de 50 tipos de bactérias (tais como *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio*, *Proteobacteria*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Eubacterium*, entre outras) que atuam no processo de hidrólise e acidogênese.

Na primeira etapa, ocorre a hidrólise do substrato em substâncias mais simples. De modo que diferentes microrganismos, principalmente *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (XU et al, 2018), atuam nesse processo secretando diversas enzimas

(tais como: celulase, xilanase, amilase, protease, lipase...) (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014; XU et al, 2018). Uma vez que a hidrólise é considerada a etapa limitante do processo de BA, a aplicação de um pré-tratamento na biomassa pode ser uma alternativa adotada para quebrar os polímeros complexos, de modo a facilitar a atuação dos microrganismos e das enzimas extracelulares (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014; MATA-ALVAREZ et al, 2014; XU et al, 2018).

Essa transição da matéria orgânica complexa em substâncias mais simples resulta na diminuição do pH que, por sua vez, favorece o crescimento de microrganismos acidogênicos que tem o pH ótimo entre 4,5 e 5,5. Ainda segundo CHRISTY, GOPINATH & DIVYA (2014), microrganismos hidrolíticos e acidogênicos se desenvolvem mais rapidamente em relação aos metanogênicos, sendo que, geralmente, a acidogênese é a etapa mais rápida na conversão anaeróbia de compostos orgânicos.

Na segunda etapa da BA, a acidogênese, os ácidos graxos, aminoácidos e açúcares (resultantes da hidrólise) são usados como substrato por microrganismos fermentativos, formados predominantemente por *Bacteroidetes*, *Cloroflexi*, *Firmicutes* e *Proteobacteria* (XU et al, 2018) para produzir substâncias mais simples, tais como: ácidos orgânicos (acético, propiônico, butírico, ácidos graxos de cadeia curta...), alcoóis e compostos inorgânicos (H₂, CO₂, H₂S e outros) (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014; MATA-ALVAREZ et al, 2014; XU et al, 2018).

Na acetogênese, terceira etapa da BA, ocorre a conversão dos ácidos orgânicos em acetato, H₂ e CO₂. Nesta etapa, atuam microrganismos estritamente anaeróbios (*Acetobacterium*, *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*...) que tem o pH ótimo em torno de 6. Sendo que, tais microrganismos acetogênicos são responsáveis pela produção dos substratos a serem metabolizados pelas arqueas, na metanogênese (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014; XU et al, 2018).

Na última etapa, ocorre a produção de metano, que pode ocorrer por diferentes vias: por meio da clivagem de moléculas de acetato (gerando dióxido de carbono e metano) ou através da redução do dióxido de carbono e hidrogênio, formando metano e água (MATA-ALVAREZ et al, 2014; LINS, 2017). Sendo que, os metanogênicos consumidores de hidrogênio (*Methannospirillum*, *Methanoculleus* e *Methanoculleus*) apresentam o crescimento mais rápido do que os metanogênicos

consumidores de acetato (*Methanosarcina* e *Methanosaeta*) (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014; XU et al, 2018).

Os microrganismos produtores de metano, as arqueas, são muito sensíveis às mudanças de pH, não sobrevivendo em pH ácido menor do que 6, de modo que, o pH do meio deve ser mantido próximo da neutralidade, a fim de reduzir efeitos inibitórios (MATA-ALVAREZ et al, 2014; XU et al, 2018).

A BA pode ser conduzida em diferentes temperaturas: psicrófila (próximo a 25° C), termófila (próxima a 55°C) e mesófila (em torno de 35°C), embora a mesófila seja considerada a mais estável (SIDDIQUE & WAHID, 2018). A razão ótima de C:N dos substratos sugerida é na faixa de 20-30, visto que, a baixa razão C:N leva ao acúmulo de amônia que pode levar à inibição dos microrganismos metanogênicos, enquanto que, a alta razão de C:N leva ao acúmulo de ácidos graxos voláteis que também desestabilizam o processo (SIDDIQUE & WAHID, 2018; XU et al, 2018; ZHANG et al, 2016). A amônia é originada da degradação de proteínas, peptídeos e aminoácidos, e em condições ótimas atua como uma importante fonte de N para o crescimento dos microrganismos e agente estabilizador de pH (LI et al, 2015).

O tipo de biodigestor também influencia a BA. Este é composto por uma câmara de fermentação (que pode possuir diferentes formatos), um gasômetro (que armazena o biogás gerado), de uma entrada para o afluente (matéria orgânica a ser biodigerida) e de uma saída para o efluente (biofertilizante ou material biodigerido) (ALENCAR, 2017; LINS, 2017). O biodigestor pode ser operado de forma contínua ou descontínua. No de operação contínua, ocorre o fluxo ininterrupto de matéria orgânica, conseqüentemente, o volume do material no biodigestor é mantido constante ao longo do tempo, assim o biogás é continuamente produzido. Já no processo descontínuo, a matéria orgânica é inserida de uma só vez, ficando retida até a degradação total, sendo que esta operação é indicada para resíduos com alto teor de sólidos e que são produzidos sazonalmente (ALENCAR, 2017).

O inóculo é outro elemento que gera impacto na produção de biogás, visto que é um material que já passou pela biodigestão anaeróbia e que fornece uma população extra de microrganismos adaptada ao processo (O'SULLIVAN et al 2010; XAVIER & LUCAS JÚNIOR, 2010). Por esse motivo, a adição do inóculo otimiza a BA, promovendo a antecipação do pico de produção de biogás, reduzindo o tempo de retenção hidráulica (isto é, o período em que a matéria

orgânica permanece no biodigestor), sendo ainda capaz de melhorar o conteúdo de metano do biogás (XAVIER & LUCAS JÚNIOR, 2010).

Portanto, a eficiência da BA é influenciada por vários parâmetros, tais como: natureza dos substratos, design do biodigestor, adição de inóculo, pH, temperatura, tempo de retenção hidráulica, razão C:N, entre outros. De modo que, para a estabilidade do processo e maximização do rendimento de metano é necessário aplicar condições ótimas. Diante disso, tem-se a necessidade de estudos para aprimorar o processo (CHRISTY, GOPINATH & DIVYA, 2014; MATA-ALVAREZ et al, 2014; XU et al, 2018).

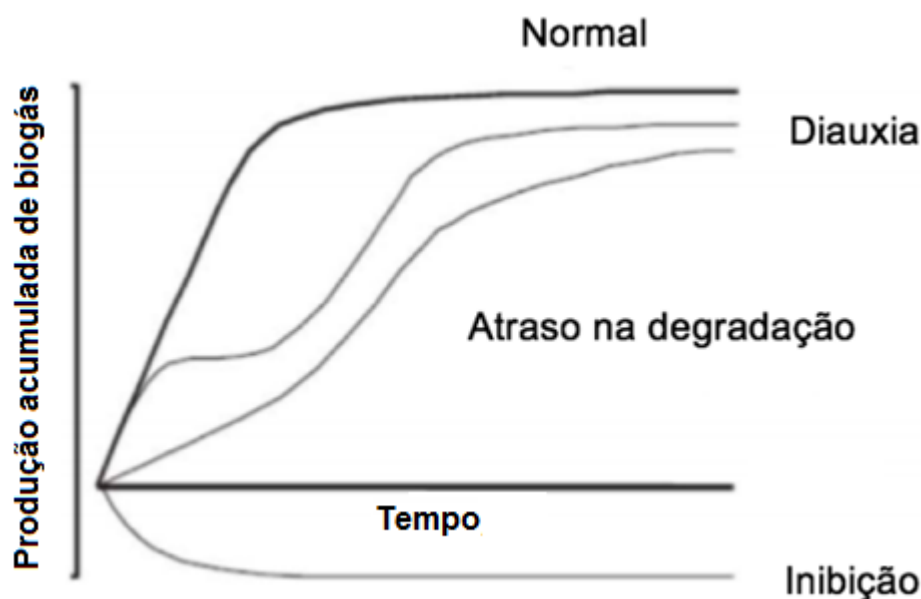
2.4.1 Biogás

O biogás é um gás inodoro e incolor que ao queimar, apresenta uma chama azul clara, similar ao gás liquefeito de petróleo (GLP). Trata-se de uma mistura de gases, contendo principalmente metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), mas também há traços de ácido sulfídrico (H_2S), amônia (NH_3), hidrogênio (H_2) e vapor d'água (LINS, 2017). Sendo que, a composição de gases relaciona-se diretamente com a composição dos substratos e com parâmetros operacionais da fermentação anaeróbia (VDI, 2006).

Portanto, o biogás é um importante recurso energético renovável, que apresenta diversas aplicações e alto valor de mercado, visto que, pode ser usado para produzir eletricidade, calor e até combustível veicular (COSTA, 2015; LIMA, 2016; MATA-ALVAREZ et al, 2014). De acordo com LYSON et al (2011), a produção de biogás pode ser descrita através de quatro tipos de curvas (Figura 5), sendo essas:

- Normal: Há uma rápida conversão da matéria orgânica em biogás, apresentando uma curva de aumento íngreme da produção acumulada;
- Diauxia: A degradação ocorre em duas etapas;
- Degradação retardada: A curva apresenta um retardo, pode ocorrer em substâncias recalcitrantes ou devido a um leve efeito inibitório;
- Inibição: Ocorre uma produção negativa, isto é, a produção de biogás é inferior à produção acumulada do inóculo. Essa curva é resultado de uma forte inibição.

Figura 5: Curvas de produção acumulada de biogás



Adaptado: LYSON et al, 2011.

2.4.2 Codigestão anaeróbia

A biodigestão anaeróbia de substrato único (monodigestão) apresenta algumas desvantagens relacionadas às propriedades do substrato. Tem-se, por exemplo, que as baixas cargas orgânicas e altas concentrações de nitrogênio em dejetos de animais podem inibir os microrganismos metanogênicos. No entanto, esses problemas podem ser resolvidos com a adição de um cossustrato, isto é, através da codigestão anaeróbia que consiste na BA simultânea de dois ou mais substratos (MATA-ALVAREZ et al, 2014; SIDDIQUE & WAHID, 2018).

A codigestão é uma alternativa viável para superar as desvantagens da monodigestão e ainda melhorar a produção de metano, resultando na maior estabilidade do processo e, conseqüentemente, na viabilidade econômica de plantas de biogás. O custo de transporte do cossustrato do ponto de geração para a planta de BA deve ser um dos critérios de seleção. Além disso, é importante escolher o melhor cossustrato e a proporção de mistura com o objetivo de aperfeiçoar a produção de biogás e conteúdo de metano, através da melhor relação C:N, da diluição de compostos inibitórios e da promoção do equilíbrio da umidade, dos

macro e micronutrientes (MATA-ALVAREZ et al, 2014; SIDDIQUE & WAHID, 2018; SARATALE et al, 2018).

Há um crescente interesse por pesquisas de codigestão, visto que, de modo geral, a diversificação de substratos leva a uma comunidade microbiana mais versátil e robusta. Entretanto, mais conhecimento é necessário sobre como a população microbiana é afetada pela adição de um cossubstrato, em termos de cinética, estabilidade e rendimento (MATA-ALVAREZ et al, 2014; SIDDIQUE & WAHID, 2018; SARATALE et al, 2018). Sendo assim, estudos como o deste trabalho contribuem para melhorar a seleção de cossubstratos e taxas de dosagem, fornecendo dados que subsidiem a implementação de plantas de biogás economicamente viáveis, visto que, este tipo de pesquisa contribui para maximizar a produção de biogás através da otimização das condições e utilização de novas biomassas como recurso energético.

2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS

Os resíduos lignocelulósicos estão entre os mais abundantes do mundo e essa biomassa apresenta grande potencial para produção de biocombustíveis (ZHENG et al, 2014). Os principais componentes desse tipo de matéria orgânica são a celulose, a lignina e a hemicelulose. A quantidade desses polímeros difere de acordo com o tipo de biomassa, mas tem-se que a celulose (cadeia polissacarídea de moléculas de glicose) é o componente mais abundante. A hemicelulose (composto de açúcares de 5 e 6 carbonos, tais como: arabinose, galactose, glicose, manose e xilose) é o segundo maior constituinte da biomassa. E em menor quantidade, há lignina (constituída por componentes fenólicos). Esses compostos formam um complexo lignocelulósico resistente à bioconversão, isto é, ao ataque enzimático e/ou microbiano (KOYAMA et al, 2017; PUGLIESE et al, 2015; SANTOS FILHO et al, 2018).

De acordo com PUGLIESE et al (2015), a hidrólise de resíduos lignocelulósicos é um fator limitante da biodigestão de materiais vegetais, visto que, a lignina é um polifenol recalcitrante, que atua protegendo a celulose contra a ação enzimática, podendo implicar numa menor taxa de biodegradação. Diante disso, plantas aquáticas apresentam vantagens para a produção de biocombustíveis, tais como: baixo conteúdo de lignina, crescem na água sem competir com o cultivo de

alimentos (SINDHU et al, 2017) e tem potencial para produzir elevada quantidade de biomassa (REDDY & DEBUSK, 1985).

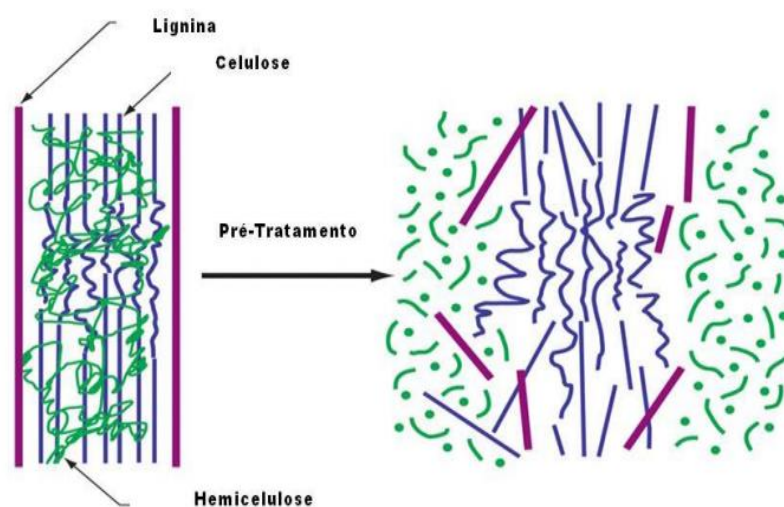
De acordo com O'SULLIVAN et al (2010), os dejetos de animais são menos degradáveis do que os substratos vegetais. Tendo em vista que, os dejetos bovinos são compostos, basicamente, por matéria vegetal que foi processada no rúmen do animal (isto é, que já passou pelo processo de digestão), tem-se que, esse material apresenta menor digestibilidade. Diante disso, a codigestão pode ajudar a superar as deficiências da monodigestão de dejetos bovinos (ZHANG et al, 2016).

2.6 PRÉ-TRATAMENTOS DA BIOMASSA

O pré-tratamento da biomassa lignocelulósica recalcitrante é uma alternativa para melhorar o rendimento de biogás no processo de BA. Há diferentes técnicas de pré-tratamento que podem ser aplicadas, tais como tratamentos físicos, químicos e biológicos ou uma combinação destes (KARUPPIAH & AZARIAH, 2019; ZHENG et al, 2014).

Entre os objetivos do pré-tratamento estão: o rompimento da camada de lignina que protege a celulose e a hemicelulose (a fim de tornar os açúcares fermentáveis mais acessíveis à biodigestão, conforme ilustrado na Figura 6) e a diminuição da cristalinidade da celulose, aumentando a porosidade desta (KARUPPIAH & AZARIAH, 2019).

Figura 6: Representação esquemática do pré-tratamento na biomassa lignocelulósica



Adaptado: U.S. Department of Energy Office of Biological and Environmental Research. Image Gallery Gateway: <https://public.ornl.gov/site/gallery/detail.cfm?id=248>

2.6.1 Pré-tratamento físico

No pré-tratamento físico, a estrutura da biomassa é alterada e o tamanho da partícula é reduzido, através da aplicação de uma força física. Deste modo, ocorre um aumento da área de superfície tornando a matéria orgânica mais susceptível ao ataque enzimático e microbiológico, favorecendo assim a biodigestão anaeróbia. Esse tipo de pré-tratamento pode ser aplicado empregando irradiação por micro-ondas, sonicação, esmagamento mecânico, moagem, cavitação, secagem, entre outros (KARUPPIAH & AZARIAH, 2019).

2.6.2 Pré-tratamento químico

O pré-tratamento químico consiste no uso de químicos, tais como ácidos, bases e líquidos iônicos, para alterar as características químicas da biomassa lignocelulósica. Ao contrário dos pré-tratamentos físico e biológico, o método químico pode deixar resíduos tóxicos que podem influenciar na estabilidade da BA (KARUPPIAH & AZARIAH, 2019; ZHENG et al, 2014).

Alguns resíduos químicos, como as bases podem aumentar a alcalinidade (capacidade de tamponamento) do biodigestor e assim, contribuir para estabilizar o pH, especialmente quando há altas taxas de material orgânico. No entanto, ácidos podem reduzir o pH do digestor e afetar negativamente o processos da BA. Desta forma, o pré-tratamento químico deve ser usado com cautela, pois pode resultar em resíduos altamente inibidores, prejudicando os microrganismos da biodigestão (KARUPPIAH & AZARIAH, 2019; ZHENG et al, 2014).

2.6.3 Pré-tratamento biológico

No pré-tratamento biológico, através da ação de microrganismos (tais como fungos e consórcios microbianos) e/ou pela adição de enzimas, os biopolímeros complexos (tais como carboidratos, proteínas, lipídeos) são transformados em produtos mais simples. Durante esse processo, enzimas como protease, lipase, celulase, alfa-amilase e dextranase atuam melhorando a taxa da hidrólise (KARUPPIAH & AZARIAH, 2019).

Em comparação com métodos físicos e químicos, o pré-tratamento biológico requer menos energia e é conduzido sob condições ambientais brandas, de modo que, menos compostos inibidores são gerados. Entretanto, pode haver uma competição dos carboidratos entre os microrganismos usados no pré-tratamento e os da biodigestão anaeróbia, uma vez que, certos níveis de carboidratos são utilizados pelos microrganismos durante o pré-tratamento biológico. Por outro lado, aumenta-se a acessibilidade da celulose após o pré-tratamento, podendo otimizar a produção de biogás. Diante disso, o objetivo principal do pré-tratamento biológico é minimizar a perda de carboidratos e maximizar a remoção de lignina para melhorar a biodigestibilidade (KARUPPIAH & AZARIAH, 2019; ZHENG et al, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar e otimizar a produção de biogás a partir da codigestão anaeróbia de dejetos bovinos e macrófita aquática da espécie *Hydrilla verticillata*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os substratos (dejeito bovino, inóculo e macrófita *H. verticillata*), o afluente e efluente dos biodigestores;
- Avaliar a geração diária e acumulada do biogás dos biodigestores;
- Identificar os gases produzidos, ao final da biodigestão;
- Investigar a influência do pré-tratamento biológico da macrófita na produção do biogás;

4. METODOLOGIA

4.1 COLETA DAS BIOMASSAS

As plantas aquáticas foram coletadas no reservatório de Itaipu, localizado na bacia do Rio Paraná, nas proximidades do Refúgio Biológico Bela Vista. As amostras coletadas eram acondicionadas em sacos plásticos (Figura 7). Após a coleta, as macrófitas da espécie *Hydrilla verticillata* foram selecionadas com base nas suas características morfológicas (SOUSA, 2011; GETTYS & ENLOE, 2016) e em seguida, as mesmas foram lavadas com água para remoção dos sedimentos grosseiros. Posteriormente, as macrófitas foram secas ao sol e armazenadas em sacos de polietileno até o seu uso (Figura 8). A secagem ao sol foi adotada como uma estratégia simples para aumentar o teor de sólidos da biomassa da *H. verticillata* (PRIYA et al, 2018).

Figura 7: Coleta das macrófitas no Lago de Itaipu



Fonte: Autoria própria.

Figura 8: Armazenamento da macrófita *H. verticillata* desidratada.



Fonte: Autoria própria

Também na cidade de Foz do Iguaçu-PR, em uma pequena propriedade rural situada nas proximidades do Ecomuseu de Itaipu, foram coletados os dejetos bovinos. Para a amostragem foi utilizado um frasco de plástico (2 L). Antes da coleta, o recipiente foi ambientado com a amostra, sendo realizada a “lavagem” do mesmo com os dejetos por três vezes. Somente a quarta amostra foi coletada, sendo esta armazenada em banho de gelo até o laboratório (LINS, 2017). A amostra de dejetos foi mantida na geladeira até a sua utilização nos primeiros ensaios (em que não houve a adição do inóculo). Posteriormente, os dejetos foram mantidos no freezer (LINS, 2017), até que fossem utilizados nos demais ensaios (em que o inóculo foi adicionado).

4.2 ACLIMATAÇÃO DO INÓCULO

O inóculo mesofílico anaeróbico (que foi doado pela CIBiogás) tratava-se de uma mistura de razão 1:1 (v/v) de efluentes de dejetos de suínos e bovinos, isto é, já haviam passado pelo processo de biodigestão anaeróbica. O mesmo era armazenado sob-refrigeração a 4 °C até o seu uso, de forma que as reações enzimáticas fossem minimizadas e a comunidade microbiana conservada

(ALENCAR, 2017). Foram necessárias duas coletas de inóculo, ambas do mesmo biodigestor. A primeira amostra coletada foi utilizada nos ensaios de codigestão e uma segunda coleta foi necessária para realizar o ensaio de monodigestão.

Antes da utilização do inóculo, este era aclimatado em anaerobiose, sem adição da solução tampão, por um período de 7 dias, na temperatura de realização dos ensaios ($37,5 \pm 1,0$ °C), conforme a norma alemã VDI 3630 (2006). Sendo que, o objetivo dessa aclimação é a redução da produção de biogás proveniente do inóculo para análise da produção de gases proveniente das biomassas (ALENCAR, 2017).

4.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

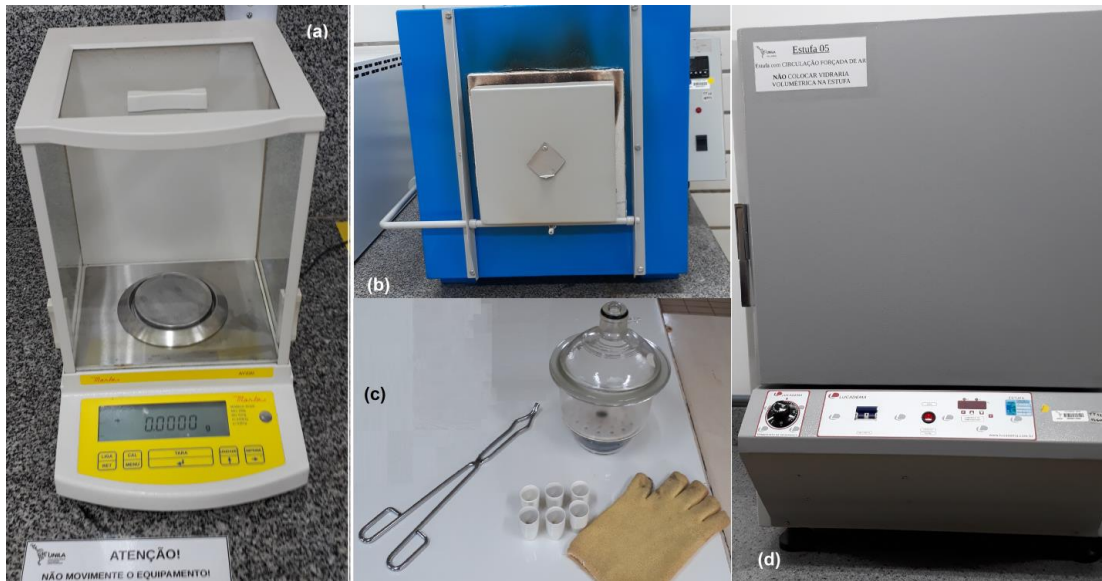
4.3.1 Teor de Sólidos

Os substratos (dejeito bovino, macrófita e inóculo), bem como os afluentes e os efluentes dos biodigestores (isto é, matéria orgânica de entrada e saída dos ensaios de biodigestão anaeróbia, respectivamente) foram caracterizados através do teor de sólidos (totais, fixos e voláteis). Os ensaios foram realizados conforme o método 2540 de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005), sendo que, o método 2540-B corresponde aos sólidos totais, e o 2540-E aos sólidos fixos e voláteis.

Essa metodologia baseia-se essencialmente na secagem dos materiais, em estufa a 105 °C até massa constante para a determinação dos sólidos totais (ST) e na posterior calcinação a 570 °C, até massa constante, para determinar os sólidos fixos (SF) e sólidos voláteis (SV).

Conforme ilustrado na Figura 9, os equipamentos utilizados para tais análises foram os seguintes: cadinhos de porcelana previamente calcinados (a 570°C por 1 hora); estufa; mufla; luva térmica; pegador de metal; dessecador (para acondicionamento das amostras até que as mesmas estivessem em temperatura ambiente); para a pesagem foi utilizado balança analítica.

Figura 9: Equipamentos utilizados nos ensaios de ST, SV e SF.



Fonte: Autoria própria.

- (a) Balança Analítica de Precisão Digital;
- (b) Mufla;
- (c) Cadinhos de porcelana;
- (c) Dessecador;
- (c) Luva térmica;
- (c) Pegador de metal;
- (d) Estufa.

Os ST consistem na matéria orgânica que permanece mesmo após a retirada da umidade (WEBER et al, 2014; LINS, 2017). É importante avaliar o teor de sólidos de entrada do biodigestor para não haver sobrecarga de matéria orgânica no sistema. Diante disso, a mistura ideal de substratos não deve ultrapassar um percentual de ST de 10% (VDI 4630, 2006). Sendo que, para obter o teor de ST aplica-se o seguinte cálculo (APHA, 2005):

$$ST \% = \frac{A - B}{C - B} \times 100 \quad \text{Equação 01}$$

Onde:

A = Peso da amostra seca (g)

B = Peso do cadinho (g)

C = Peso da amostra úmida (g)

D = Peso da amostra calcinada (g)

Os SF representam as cinzas, isto é, o material inerte que permanece após a calcinação, ou seja, consistem na matéria inorgânica ou mineral (LINS, 2017). Enquanto que, os SV consistem no material carbonáceo que tem potencial para ser biodigerido e convertido em biogás (LINS, 2017; WEBER et al, 2014). Segundo LINS (2017), quanto maior o teor de SV do substrato, maior o potencial da produção de biogás. No entanto, para evitar a formação de ácidos (como o acético e ácidos graxos voláteis) e manter a estabilidade do processo é necessário que a relação mássica dos SV entre o inóculo e o substrato seja superior a dois (ALENCAR, 2017; VDI 4630, 2006). Diante disso, uma razão 2:1 (inóculo:substrato), com base nos SV, é recomendada pela norma alemã VDI 4630 (2006). Os cálculos para obter os teores de SF e SV são dados pelas equações 02 e 03, respectivamente:

$$\text{SF \%} = \frac{D-B}{A-B} \times 100 \quad \text{Equação 02}$$

$$\text{SV \%} = \frac{A-D}{A-B} \times 100 \quad \text{Equação 03}$$

Diante disso, realizou-se inicialmente a análise gravimétrica dos sólidos da macrófita *H. verticillata* seca ao sol e do dejetos bovino, sendo os resultados mostrados na Tabela 01:

Tabela 01. Percentual de sólidos totais e voláteis dos substratos dejetos bovinos, *Hydrilla verticillata* (seca ao sol).

Amostra	ST (%)	SF (%)	SV(%)
Dejeto bovino	19,3 ± 0,2	23 ± 2	77 ± 2
<i>Hydrilla verticillata</i>	88,4 ± 0,8	28,8 ± 3	71,2 ± 3

4.4 DETERMINAÇÃO DA PROPORÇÃO DOS SUBSTRATOS

Com base na capacidade dos gasômetros e em experimentos iniciais, foi definido que em todos os ensaios seriam adicionados 70 gramas de substratos que correspondiam a 14% do volume total do biodigestor (W), contendo 9% de ST (K), equivalente a 6,3 g de massa seca (Ms). Os percentuais de 9% de ST

utilizados na BA seguiram a recomendação de YAVINI, CHIA & JOHN (2014) para codigestão com dejetos bovino, sendo que este teor de ST está de acordo com a norma VDI 4630, que recomenda que o percentual de Sólidos Totais do material de entrada (afluente) do biodigestor não ultrapasse 10%.

Uma solução tampão (A) de 0,13 mol/L foi adicionada para homogeneizar os substratos no biodigestor e prevenir a acidificação do meio, sendo essa solução composta por bicarbonato de sódio (NaHCO_3) 11g/L em água destilada, recomendada por O'SULLIVAN et al (2010).

A partir dos resultados obtidos da análise dos sólidos totais da macrófita e do dejetos bovino (Tabela 01), foram calculadas as quantidades de massa úmida dos substratos a serem adicionadas aos biodigestores (para obter 6,3g de massa seca) utilizando as equações adaptadas de ALBUQUERQUE & ARAUJO (2016):

$$M_s = \frac{(K \cdot W)}{100} \quad \text{Equação 04}$$

$$M_s = M_{sd} + M_{sm} \quad \text{Equação 05}$$

$$M_u = \frac{M_s}{ST} \times 100 \quad \text{Equação 06}$$

$$A = W - M_u \quad \text{Equação 07}$$

Sendo que:

W= Massa total que será adicionada ao biodigestor;

M_s= Massa seca de substratos que deverá ser adicionada em W;

M_{sd} = Massa seca de dejetos bovinos que deverá ser adicionada em W;

M_{sm} = Massa seca de macrófita que deverá ser adicionada em W;

K = Porcentagem de sólidos totais que se pretende colocar em W;

ST = Porcentagem de sólidos totais contidos na amostra;

M_u= Massa de amostra úmida/fresca para se obter W;

A= Massa da solução tampão a ser misturada com M_u para se obter W;

Para o cálculo dos substratos a serem adicionados na codigestão (razão 2:1 de dejetos e macrófita, com base na massa seca), foi preciso realizar uma pequena adaptação, sendo utilizadas as equações 05.1 e 06.1:

$$Ms = 2 \times Msd + 1 \times Msm \quad \text{Equação 05.1}$$

$$Mu = \left(\frac{Ms_d}{ST} \times 100 \right) + \left(\frac{Ms_m}{ST} \times 100 \right) \quad \text{Equação 06.1}$$

Para os cálculos da monodigestão de dejetos, assumiu-se na equação 05: que a massa seca (Ms) equivalia a massa seca de dejetos (Msd), enquanto que, para monodigestão de macrófita, assumia-se na equação 05 que a massa seca (Ms) era equivalente a massa seca de macrófita (Msm).

Após calcular a quantidade de massa úmida dos substratos (macrófita e dejetos bovino) e solução tampão para serem obtidos 70 g (com 9% de ST), realizou-se a análise gravimétrica dos sólidos dessas 70 g de amostras a serem adicionados nos ensaios de: codigestão (2:1 de dejetos e macrófita); monodigestão de dejetos bovinos, monodigestão de *H. verticillata*. E também foram analisados os teores de sólidos dos inóculos, sendo estes denominados de: inóculo 1 (usado na codigestão) e inóculo 2 (usado na monodigestão de macrófita). Os resultados desta análise são mostrados na Tabela 02:

Tabela 02: Teor de sólidos totais, fixos e voláteis em 70 g de amostra.

Amostras	ST (%)	SF (%)	SV(%)
Codigestão	8,9 ± 0,6	22,1 ± 0,5	77,9 ± 0,5
Monodigestão dejetos	9,1 ± 0,5	24,8 ± 0,6	75,2 ± 0,6
Monodigestão macrófita	9,5 ± 0,1	27,6 ± 0,3	72,4 ± 0,3
Inóculo 1	2,60 ± 0,01	37,7 ± 0,2	62,3 ± 0,2
Inóculo 2	0,86 ± 0,04	44,9 ± 2,4	55,1 ± 2,4

Para calcular a quantidade de inóculo necessária para 70 g de substratos (mS) da codigestão e da monodigestão de *H. verticillata*, de modo que seguissem a proporção 2:1 (inóculo:substrato) com base nos sólidos voláteis, de acordo com VDI 4630 (2006), utilizou-se os dados dos sólidos mostrados na Tabela 02. O primeiro inóculo coletado (nomeado como Inóculo 1) foi utilizado nos ensaios de codigestão de dejetos:macrófita (2:1), enquanto a segunda amostra de inóculo coletada (Inóculo 2) foi utilizada na monodigestão da macrófita.

Para o cálculo da quantidade de inóculo foi utilizada a equação 08 (COSTA, 2015; LIMA, 2016):

$$2 = \frac{mI \times SVi}{mS \times SVs}$$

Equação 08

Onde:

mI = massa do inóculo a ser utilizada;

mS = massa dos substratos (70 g);

SVi = Sólidos voláteis do inóculo;

SVs = sólidos voláteis dos substratos.

4.5 APARATO EXPERIMENTAL

O aparato experimental foi adaptado do sistema utilizado por LIMA & FRANKENBERG (2010) e consistiu em um biodigestor, gasômetro e coletor de líquido deslocado pela produção de biogás, tal como ilustrado na Figura 10:

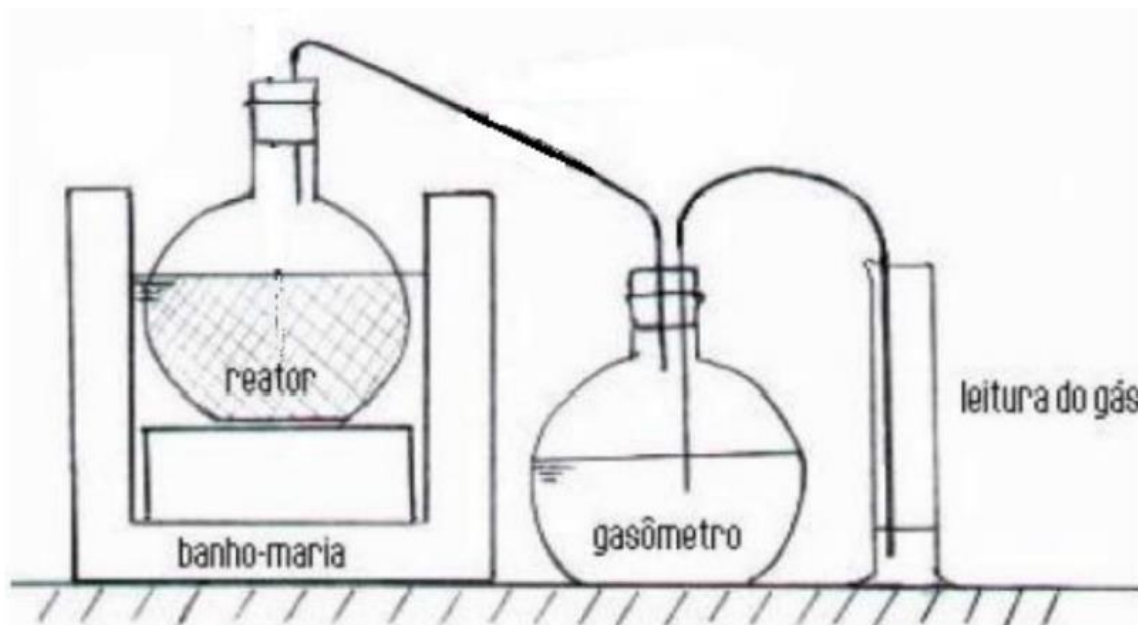


Figura 10: Esquema do aparato experimental (**Adaptado:** LIMA & FRANKENBERG, 2010).

Conforme ilustrado na Figura 11, o sistema foi formado por: kitassatos de 500 mL (biodigestores) conectados através de mangueira (3/8" de diâmetro) a frascos Mariotte de 1 L (gasômetros) para coleta do biogás e erlenmeyers (500 mL) para coleta do líquido deslocado.

Figura 11: Aparato experimental.



Fonte: Autoria própria.

Dentro do gasômetro (frasco Mariotte de 1 L), utilizou-se uma solução adaptada de LYSON et al (2011), que consistiu em uma solução de carbonato de sódio, ácido sulfúrico e água destilada. Contudo, realizou-se uma pequena modificação na solução recomendada: substituição do carbonato de sódio decahidratado ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) por carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3). De modo que, para 1 L de água destilada, adicionou-se 74,08 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3), 30 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4), sendo adicionadas algumas gotas de alaranjado de metila e corante alimentício de coloração rosa, de modo que fosse possível observar uma possível mudança do pH e também para melhorar a visualização do deslocamento do líquido, respectivamente.

Tal solução foi chamada de líquido selante e de acordo com LYSON et al (2011), além de servir como uma solução barreira (isto é, com função de impedir que os gases gerados se solubilizem no meio líquido, fazendo com que todo o biogás produzido ficasse retido no gasômetro), a mesma também tinha função de permitir a medição da produção de biogás, através do deslocamento do volume.

4.6 PRÉ-TRATAMENTO BIOLÓGICO DA MACRÓFITA

Com o intuito de melhorar a digestibilidade da macrófita e melhorar a produção de biogás (ZHENG et al, 2014), foi aplicado um pré-tratamento biológico

na *H. verticillata*. Este consistiu na aplicação de um fungo lignocelulítico da coleção microbiológica da UNILA, denominado “EL”, que foi isolado do Parque Nacional do Iguaçu por CASTAÑO (2016).

A obtenção da macrofita pré-tratada foi realizada em colaboração com o projeto de iniciação científica desenvolvido pelo discente Leiber Julio Granada Galvis, sob orientação da Profa. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos. A metodologia foi adaptada de LAURINOVICA et al (2013) e consistiu, basicamente, em adicionar 4 g de *H. verticillata* em um erlenmeyer com 50 mL de meio, sendo que, a macrofita, o meio e a vidraria foram previamente autoclavados, antes da inoculação. O meio de cultivo consistiu em caldo de batata (preparado através do cozimento de 500 g de batata em 1 L de água).

O experimento do pré-tratamento da macrofita foi realizado em triplicata e teve como controles as seguintes amostras: caldo de batata apenas (controle negativo) e caldo de batata inoculado com fungo (controle positivo). Na Figura 12 estão ilustradas as amostras autoclavadas de: caldo de batata apenas e macrofita + caldo de batata.

Figura 12: Amostras dos ensaios de pré-tratamento (macrofita com caldo de batata à esquerda e controle à direita).



Fonte: Leiber Julio Granada Galvis (2019).

Depois da inoculação das amostras com o isolado EL, os ensaios do pré-tratamento e os controles foram incubados na estufa, a 28 °C, por 21 dias. Após esse período, a amostra de macrofita pré-tratada foi mantida em estufa a 60 °C até a

sua utilização na análise gravimétrica dos sólidos e no ensaio de biodigestão anaeróbia.

Os resultados das análises dos sólidos (totais, fixos e voláteis) da macrófita com e sem pré-tratamento biológico foram submetidos à análise de variância bifatorial (ANOVA), com significância de 5 %, com auxílio do programa Excel.

4.7 TESTE DO POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

O teste do Potencial Bioquímico de Metano (PBM), em inglês, *Biochemical Methane Potencial* (BMP) foi aplicado para determinar o potencial produtivo do biogás e metano das biomassas por meio da fermentação em batelada, sendo realizadas a quantificação e a caracterização dos gases produzidos (ALENCAR, 2017; LINS, 2017).

Esse teste seguiu a norma alemã VDI 4630 de 2006 (*Verein Deutscher Ingenieure* – Associação de Engenheiros Alemães), que estabelece a metodologia para biodigestão anaeróbia de matéria orgânica, caracterização, amostragem e coleta dos substratos (BRUINSMA, 2015). Esta norma pode ser aplicada tanto para testes em digestão anaeróbia em batelada (tal como o teste PBM) como para processos contínuos (BRUINSMA, 2015; ALENCAR, 2017).

Para avaliação do teste PBM é necessário realizar análises físico-químicas do material de entrada e de saída dos reatores. Diante disso, no início e ao final da biodigestão, realizou-se as análises gravimétricas dos sólidos (totais, fixos e voláteis) e do pH, conforme recomendação da VDI 4630 (2006).

Diante disso, neste trabalho foram realizados os seguintes ensaios no teste PBM: codigestão (razão 2:1 de dejetos:macrófita, respectivamente) com e sem inóculo; monodigestão de dejetos bovinos; monodigestão de *H. verticillata* com adição de inóculo; codigestão com inóculo e pré-tratamento (razão 2:1 de dejetos e macrófita pré-tratada, respectivamente); além dos inóculos 1 e 2 (controles da codigestão e da monodigestão de *H. verticillata*, respectivamente).

Com base nos cálculos supracitados (capítulo 4.4), todos os ensaios possuíam 70 g de biomassa (com teor de 9% de ST), enquanto que, os ensaios com adição de inóculo estavam na razão 2:1- inóculo:substrato (com base nos SV). Na

Tabela 03, estão descritas as quantidades de dejetos, macrófita, solução tampão e inóculo adicionados aos ensaios de PBM:

Tabela 03: Quantidades das biomassas (dejetos bovinos e macrófita *H. verticillata*), solução tampão e inóculo adicionados nos ensaios do teste PBM.

Ensaio PBM	Dejetos (g)	Macrófita (g)	Solução tampão (g)	Inóculo (g)
Codigestão – 2:1 (deje:macrófita)	21,78	2,38	45,84	-
Monodigestão dejetos	32,68	-	37,32	-
Codigestão+ Inóculo 1	21,78	2,38	45,84	175
Inóculo 1	-	-	-	175
Monodigestão macrófita + Inóculo 2	-	7,13	62,87	183,9
Inóculo 2	-	-	-	183,9
Codigestão (pré- tratamento) + Inóculo 1	21,78	2,38	45,84	175
Inóculo 1	-	-	-	175

Antes de iniciar os ensaios, inseriu-se gás nitrogênio nos fermentadores para promoção de um ambiente anaeróbio desde o momento de partida dos testes. Uma vez ao dia, foi realizada a agitação manual dos frascos, de modo que a mistura completa do material que estava sendo fermentado fosse garantida, evitando-se, assim, a formação de camadas de espuma (ALENCAR, 2017). As leituras do volume do biogás foram realizadas diariamente, mediante o deslocamento de volume do líquido do gasômetro.

Os testes PBM foram encerrados após 40 dias, quando o volume diário produzido era menor ou igual a 1% do total acumulado de biogás (VDI 4630, 2006). A qualidade do biogás (dada pelo conteúdo de metano) foi avaliada ao final da BA, com um detector portátil de gases (modelo X-am 7000, Dräger). Conforme ilustrado na Figura 13, o acesso ao biogás produzido foi dado através da perfuração

da mangueira (que ligava o kitassato ao frasco Mariotte) com uma agulha hipodérmica, minimizando assim, a entrada de ar no sistema.

Figura 13: Análise do biogás (à esquerda) e detector portátil de gases (à direita).



Fonte: Autoria própria.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise dos sólidos da *Hydrilla verticillata* desidratada apresentados na Tabela 01 ($88,4 \pm 0,8\%$ de ST e $71,2 \pm 3\%$ de SV), condizem com os resultados encontrados na literatura. Enquanto que, os valores dos sólidos dos dejetos bovinos ($19,3 \pm 0,2\%$ de ST e $77 \pm 2\%$ de SV) não estão de acordo com valores da literatura, visto que, trata-se de um material de grande heterogeneidade (WEBER et al, 2014). A Tabela 04 apresenta o resultado da análise dos sólidos de outros trabalhos:

Tabela 04: Teor de ST e SV da *H. verticillata* desidratada e dejetos bovinos.

Amostra	ST (%)	SV (%)	Fonte
<i>H. verticillata</i>	92	72,4	CHEN et al (2016)
<i>H. verticillata</i>	89,5	75,9	WISE et al (1979)
Dejetos bovinos	5,51	72,39	LINS (2017)
Dejetos bovinos	28,75	21,73	MICALLI JR. et al (2009)

Em relação aos conteúdos dos sólidos dos afluentes (material de entrada) dos biodigestores (Tabela 05), os mesmos seguiram a recomendação da norma VDI 4630 (2006) e não ultrapassaram 10% de ST, garantindo que, a matéria orgânica não sobrecarregasse o sistema.

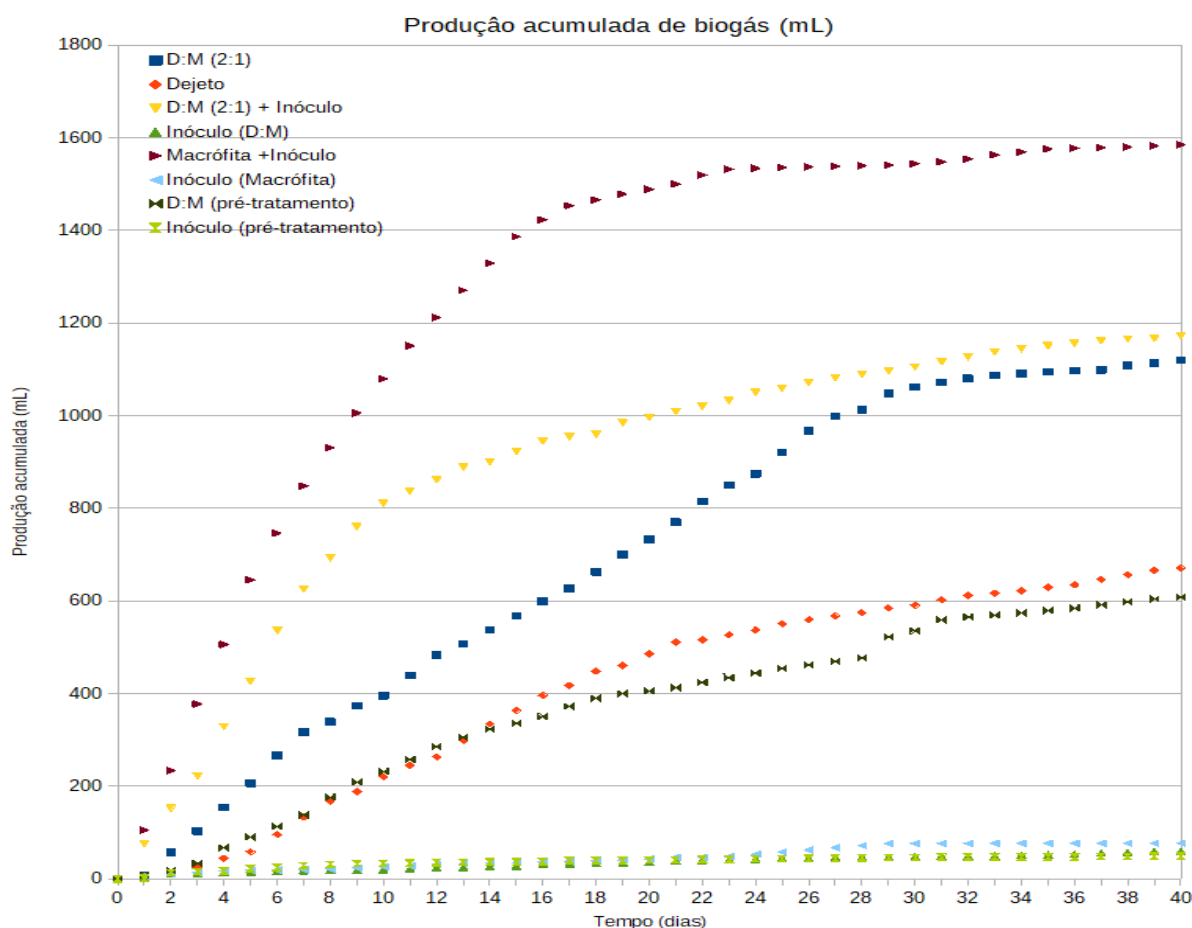
Tabela 05: Teor dos sólidos inicial (afluente) e final (efluente) dos ensaios de PBM.

Ensaio PBM	ST (%) Inicial	ST(%) Final	SV (%) Inicial	SV(%) Final
Codigestão	$8,9 \pm 0,6$	$7,0 \pm 0,2$	$77,9 \pm 0,5$	$62,3 \pm 1,1$
Monodigestão dejetos	$9,1 \pm 0,5$	$7,7 \pm 0,7$	$75,1 \pm 0,6$	$63,9 \pm 3,7$
Codigestão + Inóculo 1	$4,2 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$70,4 \pm 0,8$	$59,5 \pm 0,7$
Inóculo 1	$2,60 \pm 0,01$	$1,9 \pm 0,4$	$62,3 \pm 0,2$	$60,4 \pm 0,2$
Monodigestão macrófita + Inóculo 2	$4,9 \pm 0,6$	$2,4 \pm 2,8$	$61,2 \pm 0,8$	$51 \pm 7,7$
Inóculo 2	$0,86 \pm 0,04$	$0,8 \pm 0,1$	$55,1 \pm 2,4$	$52,8 \pm 1,5$
Codigestão (pré- tratamento) + Inóculo 1	$3,8 \pm 0,2$	$2,54 \pm 0,8$	$69,8 \pm 1,2$	$64,3 \pm 1,4$
Inóculo 1	$2,60 \pm 0,01$	$1,9 \pm 0,4$	$62,3 \pm 0,2$	$50,9 \pm 1,9$

Conforme os resultados das análises dos sólidos dos afluentes (iniciais) e efluentes (finais) (Tabela 05), tem-se que, em todos os ensaios, houve a redução do teor dos sólidos, assim como esperado, uma vez que, ocorreu a biodegradação da matéria orgânica. Portanto, os sistemas foram apropriados para a produção de biogás, pois houve uma degradação regular e contínua dos substratos, indicando um bom equilíbrio do sistema (PUGLIESE et al, 2015).

A curva da produção acumulada de biogás mostra um início imediato e uma produção contínua, conforme ilustrado na Figura 14. Os resultados da produção acumulada de biogás, ao final dos 40 dias, estão sumarizados na Tabela 06, sendo expressos em mL (equivalente ao líquido selante deslocado pela produção de biogás) e em mL/g de SV (calculados com base no volume de líquido selante deslocado e valores de sólidos dos afluentes, expressos na Tabela 05).

Figura 14: Média da produção acumulada de todos os ensaios PBM: codigestão (D:M – 2:1), monodigestão dejetos (Dejeto), codigestão com inóculo (D:M – 2:1 + Inóculo), monodigestão macrófita (Macrófita + Inóculo), controles (Inóculos), codigestão com macrófita pré-tratada (D:M – 2:1 pré-tratamento).



De acordo a Figura 14, a monodigestão de *H. verticillata* e codigestão com inóculo (e sem pré-tratamento biológico da macrófita) apresentaram curva normal, enquanto que, os ensaios de monodigestão de dejetos, codigestão (com pré-tratamento da macrófita) e codigestão sem inóculo apresentaram curvas demonstrando atraso na degradação (LYSON et al, 2011).

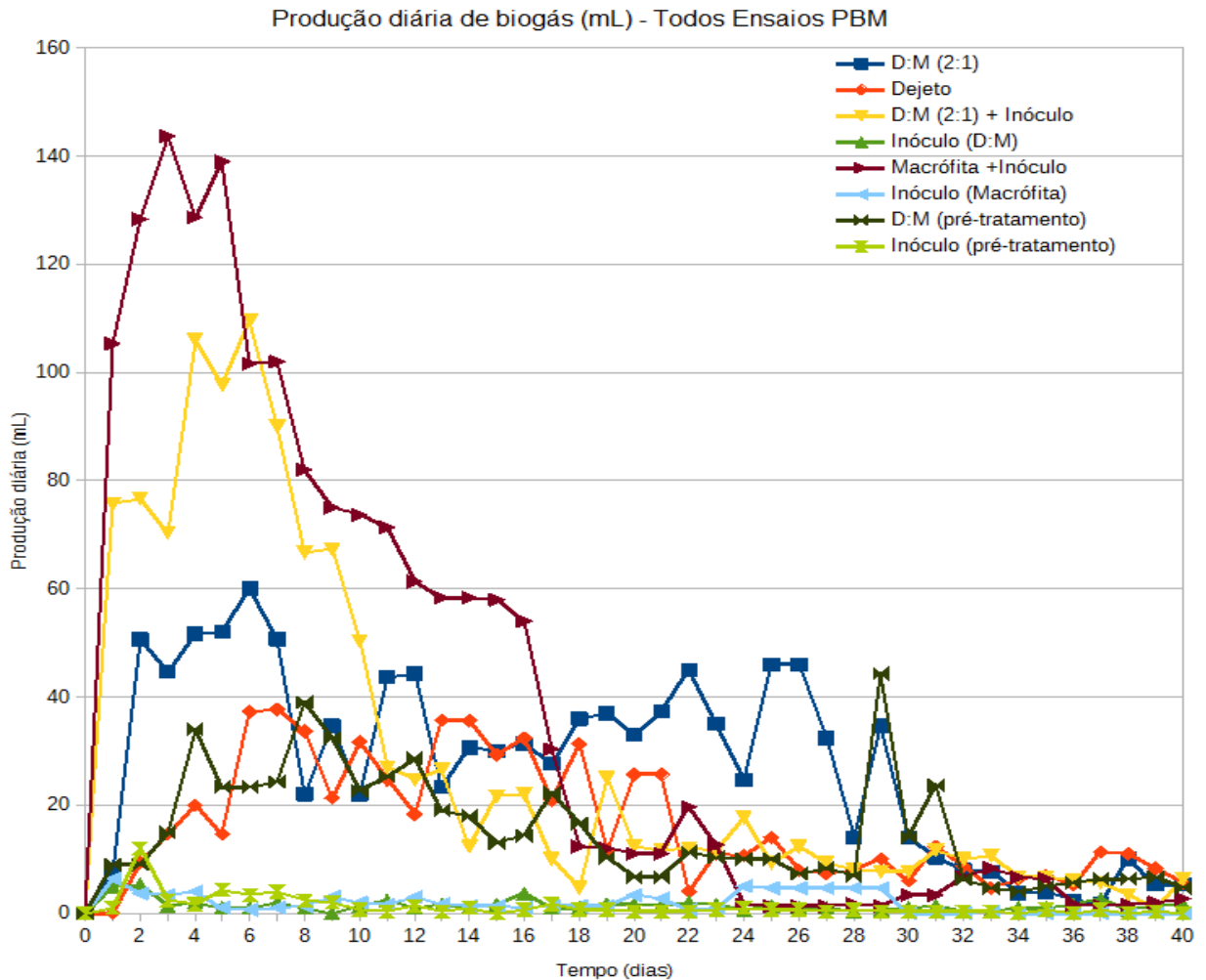
Tabela 06: Produção acumulada de biogás dos ensaios do teste PBM.

Amostra	mL	mL/g de SV
Codigestão (2:1 – dejetos:macrófita)	1120 ± 77	231
Monodigestão de dejetos	671 ± 23	140
Codigestão + Inóculo 1	1173 ± 57	162
Inóculo 1	60 ± 16	21
Monodigestão macrófita + Inóculo 2	1585 ± 50	208
Inóculo 2	77 ± 9	88
Codigestão (macrófita pré-tratada)+ Inóculo 1	609 ± 147	94
Inóculo 1	49 ± 8	17

Conforme exposto na Figura 14 e na Tabela 06, a adição do inóculo contribuiu pouco na quantidade de biogás gerada, mas promoveu a antecipação do pico de produção de biogás (Figura 15), por conta de uma população extra de microrganismos já adaptados à BA. Deste modo, o inóculo atingiu os objetivos esperados: garantir que a biodigestão anaeróbia fosse estabelecida rapidamente, por meio de uma comunidade microbiana estável (ALENCAR, 2017; O’SULLIVAN et al, 2010).

Conforme Figura 15, a produção de biogás aumentou consideravelmente na primeira semana dos ensaios com adição de inóculo, e a tendência da produção se tornou mais lenta entre os dias 7 e 14 dias, enquanto que, após o dia 14, a acumulação de biogás tornou-se quase constante, o que significa que a maioria dos componentes biodegradáveis foi digerida nos primeiros 14 dias, e após esse período restaram os materiais recalcitrantes (CHEN et al, 2016). Enquanto que, nos ensaios sem inóculo e no ensaio usando *H. verticillata* pré-tratada, a produção manteve-se constante por um período maior, mostrando uma taxa de biodegradação mais lenta.

Figura 15: Média da produção diária de todos os ensaios PBM.



Em relação ao pH, observou-se que, mesmo não havendo ajuste inicial e correção ao longo do processo para a faixa ótima para os microrganismos metanogênicos, isto é, pH entre 6 e 8 (MATA- ALVAREZ et al, 2014; XU et al, 2018), os valores obtidos podem ser considerados adequados para a BA. Conforme mostrado na Tabela 07, os valores finais do pH foram mais baixos do que os iniciais, exceto nos tratamentos controles (inóculos), o que indica a formação de hidroxilas devido à degradação de compostos orgânicos, que resultou no aumento do pH (MATTER et al, 2017).

Tem-se, portanto, que o pH inicial ficou na faixa entre 8,1 e 8,8, enquanto que, o pH final manteve-se entre 7,5 e 8,7. Diante dos resultados, tem-se que a solução tampão de bicarbonato de sódio (0,13 mol/L) pode ter contribuído para que o meio reacional não tenha sido acidificado durante a BA, evitando assim, a instabilidade do processo (O'SULLIVAN et al, 2010).

Tabela 07: pH inicial e final dos ensaios PBM

Ensaio PBM	pH inicial	pH final
Codigestão (2:1 – dejetos:macrófita)	8,8 ± 0,1	8,4 ± 0,4
Monodigestão dejetos	8,3 ± 0,2	7,5 ± 0,3
Codigestão + Inóculo 1	8,6 ± 0,1	8,0 ± 0,1
Inóculo 1 (controle)	8,2 ± 0,2	8,6 ± 0,2
Monodigestão macrófita + Inóculo 2	8,3 ± 0,1	7,8 ± 0,1
Inóculo 2 (controle)	8,10 ± 0,02	8,60 ± 0,01
Codigestão (macrófita pré-tratada) + Inóculo 1	8,40 ± 0,04	8,20 ± 0,06
Inóculo 1 (controle)	8,40 ± 0,04	8,7 ± 0,1

Conforme ilustrado nas Figuras 14 e 15, o pré-tratamento biológico da biomassa da *H. verticillata* não atendeu às expectativas de otimizar a BA, pois embora apresente maior conteúdo dos sólidos em comparação com a macrófita seca ao sol sem pré-tratamento, a produção acumulada do ensaio de codigestão com macrófita pré-tratada foi a menor encontrada entre os ensaios de codigestão e monodigestão. Na Tabela 08, estão descritos os valores obtidos na análise gravimétrica dos sólidos (totais, fixos e voláteis) das macrófitas com e sem pré-tratamento biológico.

Tabela 08: Teor dos sólidos da macrófita com e sem pré-tratamento biológico.

Amostra	ST (%)	SF (%)	SV (%)
<i>H. verticillata</i>	88,4 ± 0,8	28,8 ± 3	71,2 ± 3
<i>H. verticillata</i> pré-tratada	98,2 ± 0,2	19,3 ± 0,9	80,7 ± 0,9

Foi realizada a Análise de Variância (ANOVA) bifatorial, para avaliar se houve diferenças significativas ($P < 0,05$) nos valores da análise dos sólidos (totais, fixos e voláteis) entre a macrófita pré-tratada e a que não recebeu o pré-tratamento biológico. O resultado da análise estatística (apresentado no Apêndice B) indica que houve diferença significativa (valor- $P < 0,05$) entre as médias dos sólidos.

Um dos motivos da baixa produção de biogás (na codigestão com macrófita pré-tratada) pode estar relacionado à formação de espuma (Figura 16) que, segundo LI et al (2015), pode resultar na instabilidade da BA. Ainda de acordo com esses autores, a formação de espuma está ligada a diversos fatores, tais como: altas concentrações de proteínas, aminoácidos e lipídeos; existência de alguns

microrganismos; padrão de mistura inadequado, entre outros. Além disso, a menor produção de biogás pode ser ocasionada pela menor quantidade de açúcares disponíveis, pois segundo ZHENG et al (2014), certos níveis de carboidratos são consumidos pelos microrganismos durante o pré-tratamento.

Conforme exposto na Tabela 08, o pré-tratamento biológico também promoveu uma diminuição nos SF, indicando uma possível degradação da matéria orgânica recalcitrante, tal como observado no trabalho de REGANINI (2017) que também realizou um pré-tratamento com fungos.

Figura 16: Formação de espuma no ensaio da codigestão com macrófita pré-tratada



Fonte: Autoria própria.

Diante disso, o pré-tratamento biológico não obteve bons resultados de produção de biogás, conforme se esperava. Ao final dos 40 dias de experimento da codigestão com macrófita pré-tratada, foi possível recuperar parte da biomassa da *H. verticillata* (Figura 17), indicando a baixa biodegradação da mesma. E conforme os dados da produção acumulada de biogás (Tabela 06), a degradação da matéria orgânica nas triplicatas no ensaio da codigestão (com macrófita pré-tratada) não foi uniforme, tendo em vista o alto valor do desvio padrão apresentado, sendo o mesmo, o maior valor entre os ensaios do teste PBM.

Figura 17: Macrófita pré-tratada recuperada dos ensaios PBM da codigestão



Fonte: Autoria própria.

Os ensaios que utilizaram macrófita seca ao sol sem pré-tratamento biológico foram os que obtiveram os melhores resultados de biogás, conforme ilustrado na Figura 14. De forma que, a secagem ao sol da macrófita pode ser considerada um pré-tratamento eficiente, pois, de acordo com PRYIA et al (2018), essa desidratação contribui para aumentar o conteúdo de sólidos e ainda possibilita a preservação do material, que pode auxiliar na garantia da disponibilidade contínua da biomassa de *H. verticillata*.

Outros pré-tratamentos podem ser estudados para otimizar o aproveitamento energético da biomassa da *H. verticillata*, visto que, outros trabalhos de codigestão de plantas aquáticas e dejetos de animais sugerem o maior teor de metano nos ensaios com planta aquática pré-tratada (PUTRA et al, 2014).

De acordo com O'SULLIVAN et al (2010), a menor degradação dos dejetos de animais ocorre devido sua composição, isto é, matéria vegetal que já foi biodigerida, basicamente. Diante disso, estes apresentam baixo conteúdo de carbono e maior concentração de nitrogênio, que podem inibir os microrganismos metanogênicos, de modo que, a codigestão de dejetos com outro substrato pode ser uma alternativa para melhorar a produção de biogás (MATA-ALVAREZ et al, 2014; XU et al, 2018). E de acordo com SINDHU et al (2017), o bom rendimento da

codigestão em relação à digestão de substrato único, ocorre devido à melhor relação C:N e composição bioquímica. Isso explica o menor rendimento da monodigestão de dejetos bovinos em relação à codigestão (sem pré-tratamento biológico).

Diante dos resultados, a macrófita desidratada sem pré-tratamento biológico mostrou-se um bom substrato e cossustrato para a produção de biogás. Segundo JAIN & KALAMDHAD (2018), o bom aproveitamento energético de ervas daninhas aquáticas, tal como a *H. verticillata*, ocorre porque as mesmas, geralmente, são ricas em proteínas, vitaminas e minerais, de modo que podem servir como matérias-primas de alta qualidade para biodigestão anaeróbia. E uma vez que a *Hydrilla verticillata* tem grande capacidade de adsorção de nutrientes orgânicos e inorgânicos, a utilização dessa biomassa na codigestão com dejetos também pode aumentar o valor nutricional do biofertilizante (PATEL & KANUNGO, 2012).

Em relação a outros materiais lignocelulósicos, a *H. verticillata* apresenta uma boa digestibilidade, visto que possui uma estrutura flexível devido ao baixo teor de lignina (MOELLER et al, 2018; PUGLIESE et al, 2015). Os resultados obtidos neste trabalho condizem com os poucos relatos encontrados na literatura, que sugerem um bom rendimento da produção de biogás utilizando esta macrófita, seja por monodigestão (ABBASI et al, 1990; EVANS & WILKIE, 2010) ou por codigestão com outros substratos, tal como palha de arroz (KAINTHOLA et al, 2019).

Embora as macrófitas sejam substratos promissores para a produção de biogás, diante da grande produtividade de biomassa que pode superar 10 toneladas.hectare⁻¹.ano⁻¹ (REDDY & DEBUSK, 1985), a hidrólise da lignocelulose é um fator limitante da biodigestão de materiais vegetais. De acordo com PUGLIESE et al (2015), a lignina (que atua protegendo a celulose contra a ação enzimática) pode implicar numa menor taxa de biodegradação. Portanto, há necessidade de mais estudos que avaliem a viabilidade do uso das macrófitas para produção de biogás, visto que, o teor de sólidos orgânicos e de lignocelulose varia significativamente de acordo com a espécie (ABBASI et al, 1990; PUGLIESE et al, 2015).

Portanto, a biomassa da macrófita (sem o pré-tratamento biológico) é apropriada para a monodigestão e codigestão anaeróbia, visto que, aumentou em mais de 60% a produção de biogás (em volume) em relação à biodigestão única de dejetos bovinos. A colheita programada da biomassa da macrófita, seguida da

secagem ao sol, pode ser uma solução sustentável para o manejo de plantas aquáticas e aproveitamento energético das mesmas (PRIYA et al, 2018).

Em relação à composição do biogás, na Tabela 09, são apresentados os resultados referentes ao teor de metano dos ensaios PBM. Com o analisador de gases Dräger (X-am 7000) também foram detectados: $5\% \pm 1,75$ de CO_2 e 40ppm de H_2 , não sendo quantificados H_2S e vapor d'água.

Tabela 09: Teor de metano quantificado nos ensaios PBM

Ensaio PBM	CH_4 (%)	Fonte
Codigestão (2:1 – dejetos:macrófita)	37 ± 4	Autoria própria
Monodigestão dejetos	22 ± 8	Autoria própria
Codigestão + Inóculo	50 ± 6	Autoria própria
Monodigestão macrófita + Inóculo	50	(CHEN et al, 2016)
Codigestão (macrófita pré-tratada) + Inóculo	18 ± 1	Autoria própria
Inóculos	37	Autoria própria

Diante dos resultados, tem-se que o pré-tratamento da macrófita não resultou em bons rendimentos de biogás e teor de metano. E em relação à adição do inóculo, tem-se que este também contribuiu para melhorar o conteúdo de CH_4 , na codigestão (sem pré-tratamento da biomassa).

Uma vez que, segundo CANEVER (2017), o biogás é composto principalmente por metano (50-70%) e dióxido de carbono (30-50%), apresentando outros gases em pequena quantidade (tais como: vapor d'água, sulfeto de hidrogênio, amônia, entre outros), tem-se que os valores dos gases estão abaixo da literatura e, ainda que, problemas na calibração do detector de gases não possam ser descartados, há necessidade da continuidade da investigação.

Embora a solução selante tenha sido usada para evitar a dissolução dos gases (LYSON et al, 2011), a mesma pode ter sido responsável pela remoção de H_2S e CO_2 . Pois, de acordo com CANEVER (2017), soluções alcalinas a base de hidróxidos, carbonatos e bicarbonatos têm a capacidade de absorver tais gases. Em seu trabalho sobre purificação de biogás, CANEVER (2017) obteve remoções na ordem de 55 % para o CO_2 e 99 % para o H_2S utilizando carbonato de sódio diluído em água.

6 CONCLUSÕES

Com relação ao estudo sobre o potencial da produção de biogás a partir de dejetos bovinos e planta aquática invasora (*Hydrilla verticillata*), concluiu-se que:

- A partir das análises gravimétricas dos sólidos dos substratos, verificou-se que estes e a mistura (razão 2:1 de dejetos e macrófita, respectivamente) apresentam teores de sólidos voláteis apropriados para a biodigestão anaeróbia;
- Embora o pH inicial não tenha sido ajustado para a faixa ótima de produção de metano, a adição do agente tamponante (0,13 mol/L de bicarbonato de sódio) pode ter contribuído para manter o meio reacional em pH apropriado para a biodigestão anaeróbia;
- Os sistemas simulados tiveram início imediato da produção de biogás e foram estabilizados em até quarenta dias;
- O resultado do ensaio da codigestão com macrófita pré-tratada mostrou pouca diferença na produção do biogás em relação com a monodigestão de dejetos bovinos;
- A codigestão de dejetos e macrófita *Hydrilla verticillata* (sem pré-tratamento biológico) aumentou em mais de 60% (em volume) a produção de biogás, em comparação com a monodigestão de dejetos;
- A *Hydrilla verticillata* pode ser usada como substrato único ou cossustrato para fins energéticos, devido ao bom teor de metano obtido ($50 \pm 6\%$);
- Por conta da adição de uma comunidade extra de microrganismos já adaptada ao processo, o inóculo melhorou a biodigestão anaeróbia, acelerando a degradação da matéria orgânica, reduzindo o tempo de retenção hidráulica, antecipando o pico da produção de biogás e melhorando o conteúdo de metano;
- Embora o aparato experimental seja simples e de fácil manipulação, não foi possível descartar a ocorrência de vazamento no sistema, mesmo realizando os testes de vedação. E problemas na calibração do detector portátil de gases também não podem ser descartados;

- A modelagem e o planejamento experimental podem ser usados, em estudos futuros, para prever o processo de reação, de acordo com alterações das variáveis de entrada, o que ajudará a evitar falhas do processo em escala real;
- Apesar dos bons resultados do aproveitamento energético das biomassas, faz-se necessário um bom gerenciamento dos resíduos da pecuária e de plantas daninhas aquáticas. Sendo necessários mais estudos quanto à viabilidade do aproveitamento energético e sobre o efeito da aplicação de um pré-tratamento da biomassa para otimizar a produção de biocombustíveis.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com o objetivo de aprimorar este trabalho, neste capítulo, há algumas propostas para trabalhos futuros:

- Variar as condições operacionais (pH, temperatura, teor de sólidos, razão de substratos, utilizar dejetos de outros animais) e aplicar planejamento experimental para otimizar a BA;
- Avaliar o efeito de outros pré-tratamentos da biomassa, como tratamentos físicos e biológicos (testando outros fungos, consórcios microbianos e/ou enzimas lignocelulolíticas comerciais);
- Analisar o conteúdo de C e N dos substratos;
- Analisar a demanda química de oxigênio (DQO) do material de entrada e de saída do biodigestor;
- Analisar a monodigestão anaeróbia da *H. verticillata* pré-tratada com adição do inóculo;
- Avaliar a estrutura e dinâmica funcional da comunidade microbiana de biodigestores anaeróbios com substrato único e cossustrato;
- Estudar o uso da *H. verticillata* em lagoas de estabilização de dejetos e/ou lagoas de pós-tratamento da digestão anaeróbia, para a valorização dos subprodutos do processo.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, S. A.; NIPANEY, P. C.; SCHAUMBERG, G. D. Bioenergy potential of eight common aquatic weeds. **Biological Wastes**, v. 34, n. 4, p. 359-366, 1990.
- ALBUQUERQUE, Lais Schmidt; DE ARAUJO, Jesuína Cássia Santiago. Produção de biogás por codigestão utilizando uma mistura de dejetos bovinos e casca de café conilon. **Brazilian Journal of Production Engineering-BJPE**, v. 2, n. 3, p. 44-54, 2016.
- ALENCAR, Lívia Caldas. **Potencial bioquímico da produção de metano da fração biodegradável dos resíduos sólidos urbanos de Campinas-SP**. 2017. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2017.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th ed. Washington/DC, 2005.
- BERTI, Karina Abranches de Faria. **Avaliação dos impactos ambientais ao uso de mecanismos de controle de macrófitas em reservatórios**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia, Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2013.
- BIANCHINI, I. et al. Growth of *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle under controlled conditions. **Hydrobiologia**, v. 644, n. 1, p. 301-312, 2010.
- BLANCO, M. F. J. et al. Produção de biogás a partir de dejetos da bovinocultura de leite e cama de aviário. **Acta Iguazu**, v. 3, n. 1, p. 14-27, 2014.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Pecuária de baixa emissão de carbono**. Tecnologias de produção mais limpa e aproveitamento econômico dos resíduos da produção de bovinos de corte e leite em sistemas confinados. Brasília: MAPA, 2018.
- BRUINSMA, Eduardo. **Avaliação do pré-tratamento termoquímico de cama de frango para produção de biogás**. 2015. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em Engenharia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul. Cerro Largo, 2015.
- CANEVER, Víctor Bruno. **Estudo de filtragem de biogás para fins energéticos utilizando como método de filtragem lavador de gases de baixo custo**. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado: Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura), Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, 2017.
- CASTAÑO, Diana Carolina Duque. **Efeito de borda em fungos da Mata Atlântica Semidecidual**. 2016. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas – Ecologia e Biodiversidade), Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Foz do Iguaçu, 2016.

- CHEN, Xiaojuan et al. Application of ADM1 for modeling of biogas production from anaerobic digestion of *Hydrilla verticillata*. **Bioresource technology**, v. 211, p. 101-107, 2016.
- CHRISTY, P. Merlin; GOPINATH, L. R.; DIVYA, D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 34, p. 167-173, 2014.
- COSTA, Lays Fabiana dos Santos. **Resíduos do setor sucroenergético de goiás e seu potencial metanogênico e como biofertilizante**. 2015. 61 f. Dissertação (Mestrado: Programa de Pós-Graduação em Agronomia), Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2015.
- EVANS, Jason M.; WILKIE, Ann C. Life cycle assessment of nutrient remediation and bioenergy production potential from the harvest of hydrilla (*Hydrilla verticillata*). **Journal of environmental management**, v. 91, n. 12, p. 2626-2631, 2010.
- GETTYS, L. A.; ENLOE, S. F. **Hydrilla**: Florida's Worst Submersed Weed. University of Florida - Institute of Food and Agricultural Sciences (UF/IFAS: Center for Aquatic and Invasive Plants). Gainesville, 2016. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/ag404>. Acesso em 02/11/2018.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal, 2017**. Rio de Janeiro, v. 45, p.1-8, 2017
- ITAIPU BINACIONAL. **Relatório Anual Itaipu Binacional 2017**. Foz do Iguaçu, 2017.
- ITAIPU BINACIONAL. **Macrófitas aquáticas**. Disponível em: <https://www.itaipu.gov.br/meioambiente/macrofitas-aquaticas> . Acesso em: 17 fev. 2019.
- JAIN, Mayur Shirish; KALAMDHAD, Ajay S. A review on management of *Hydrilla verticillata* and its utilization as potential nitrogen-rich biomass for compost or biogas production. **Bioresource Technology Reports**, v. 1, p. 69-78, 2018.
- KAINTHOLA, Jyoti; KALAMDHAD, Ajay S.; GOUD, Vaibhav V. Optimization of methane production during anaerobic co-digestion of rice straw and hydrilla verticillata using response surface methodology. **Fuel**, v. 235, p. 92-99, 2019.
- KARUPPIAH, Tamilarasan; AZARIAH, Vimala Ebenezer. Biomass Pretreatment for Enhancement of Biogas Production. **In: Biogas**. IntechOpen, 2019.
- KOYAMA, Mitsuhiro et al. Effect of alkaline pretreatment on mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of a submerged macrophyte: Inhibition and recovery against dissolved lignin during semi-continuous operation. **Bioresource technology**, v. 238, p. 666-674, 2017.

LAURINOVICA, Lauma et al. Biochemical methane potential of biologically and chemically pretreated sawdust and straw. **In: Proceedings of the 12th International Scientific Conference: Engineering for Rural Development**. 2013.

LI, Dong et al. Effects of feedstock ratio and organic loading rate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and pig manure. **Bioresource technology**, v. 187, p. 120-127, 2015.

LIMA, F.A. P; FRANKENBERG, C. L. C.. Influência da Concentração dos Resíduos na Produção de Biogás por Biodigestor Anaeróbio. **In: XI Salão de Iniciação Científica – PUCRS**, 2010

LINS, Leonardo Pereira. **Produção de biogás a partir de resíduos de bovinocultura leiteira por meio da codigestão com macrófitas da espécie *Salvinia***. 2017. 80 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2017.

LYSON, D. F. et al. **Biogas Laboratory Setup in Foz do Iguaçu, Brazil**: 3rd Progress Report. Vienna: University of Natural Resources and Life Sciences. 2011. Disponível em: http://www.renenergyobservatory.org/uploads/media/Anexo_12_Biogas_Lab.3erd_and_final_report.pdf>. Acesso em: 10/08/2018.

MATA-ALVAREZ, Joan et al. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 412-427, 2014.

MATTER, Juliana M. et al. Anaerobic co-digestion of hatchery waste and wastewater to produce energy and biofertilizer-Batch phase. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 9, p. 651-656, 2017.

MICALLI JUNIOR, J. R. et al. Produção de biogás a partir de dejetos de ruminantes e monogástrico com e sem inóculo. **In: VI Congresso de Meio Ambiente da AUGM**. 2009.

MITO, J. Y de L. et al. Metodologia para estimar o potencial de biogás e biometano a partir de plantéis suínos e bovinos no Brasil. **Embrapa Suínos e Aves-Documentos (INFOTECA-E)**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2018.

MOELLER, Lucie et al. Crop characteristics of aquatic macrophytes for use as a substrate in anaerobic digestion plants—A study from Germany. **Energies**, v. 11, n. 11, p. 3016, 2018.

OBSERVATÓRIO TERRITORIAL. **Oeste do Paraná em Números**. Disponível em: https://www.oesteemdesenvolvimento.com.br/src/pagina_arquivo/15.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2019.

O'SULLIVAN, Cathryn et al. Anaerobic digestion of harvested aquatic weeds: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), cabomba (*Cabomba Caroliniana*) and salvinia (*Salvinia molesta*). **Ecological Engineering**, v. 36, n. 10, p. 1459-1468, 2010.

PANDOLFI, L. **Controle Alternativo de Macrófitas Aquáticas Infestantes de Reservatórios**. 14.f, 2017. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Universidade Federal da Fronteira Sul. Erechim, 2017.

PATEL, D. K.; KANUNGO, V. K. Comparative eco-physiological potential of a submerged and a free floating aquatic plant to treat domestic wastewater. **Journal of Ecobiotechnology**, 2012.

POMPÊO, M. **Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas em reservatórios tropicais brasileiros**. São Paulo: Instituto de Biociências da USP, 2017. p.16-85.

PRIYA, P. et al. Biomethanation of water hyacinth biomass. **Bioresource technology**, v. 255, p. 288-292, 2018.

PUGLIESE, A.; BIDINI, G.; FANTOZZI, F. Anaerobic digestion of macrophytes algae for eutrophication mitigation and biogas production. **Energy Procedia**, v. 82, p. 366-373, 2015.

PUTRA, Yuhelsa; MURNI, Dewi; KURNIAWAN, Teguh. Study of biogas production rate from water hyacinth by hydrothermal pretreatment with buffalo dung as a starter. **Waste Technol**, v. 2, p. 26-30, 2014.

REDDY, K. R.; DEBUSK, W. F. Growth characteristics of aquatic macrophytes cultured in nutrient enriched water: II. Azolla, Duckweed, and Salvinia. **Economic Botany**, v. 39, n. 2, p. 200-208, 1985.

REGANINI, B. S. **Hidrólise enzimática a partir de fungos do lodo algáceo produzido em um fotobiorreator que trata esgoto sanitário**. 105 f. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2017.

ROCHA, A. S. **As vertentes características e os sistemas pedológicos como instrumentos de análise para a identificação das fragilidades e potencialidades ambientais na Bacia Hidrográfica do Paraná 3**. 165 f. 2016. Tese (Doutorado em Geografia), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2016.

SANTOS FILHO, Derovil Antonio dos et al. Avaliação da produção de biogas a partir da co-digestão anaerobia de resíduos sólidos orgânicos e glicerina residual. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 3, n. 2, p. 260-266, 2018.

SARATALE, Rijuta Ganesh et al. A critical review on anaerobic digestion of microalgae and macroalgae and co-digestion of biomass for enhanced methane generation. **Bioresource technology**, v. 262, p. 319-332, 2018.

SIDDIQUE, Md Nurul Islam; WAHID, Zularisam Ab. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 194, p. 359-371, 2018.

SINDHU, Raveendran et al. Water hyacinth a potential source for value addition: an overview. **Bioresource technology**, v. 230, p. 152-162, 2017.

SOUSA, W. T. Z.; THOMAZ, S. M.; MURPHY, K. J. Response of native *Egeria najas* Planch. and invasive *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle to altered hydroecological regime in a subtropical river. **Aquatic Botany**, v. 92, n. 1, p. 40-48, 2010.

SOUSA, W. T. Z. *Hydrilla verticillata* (Hydrocharitaceae), a recent invader threatening Brazil's freshwater environments: a review of the extent of the problem. **Hydrobiologia**, v. 669, n. 1, p. 1, 2011.

SRIVASTAVA, Sudhakar; BHAINSA, K. C.; D'SOUZA, S. F. Investigation of uranium accumulation potential and biochemical responses of an aquatic weed *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle. **Bioresource technology**, v. 101, n. 8, p.2573-2579, 2010.

THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: EDUEM, 2003. p.261-338.

VDI 4630. **Fermentation of organic materials. Characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests**. 92 p. Germany: Verein Deutscher Ingenieure – VDI, 2006.

WEBER, Rafaely et al. Produção de biogás com relação ao teor de sólidos voláteis dos dejetos de bovinocultura de leite. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, n. 1, 2014.

WISE, D. L.; AUGENSTEIN, D. C.; RYTHER, J. H. Methane fermentation of aquatic biomass. **Resource Recovery and Conservation**, v. 4, n. 3, p. 217-237, 1979.

WU, Juan et al. Acclimation of *Hydrilla verticillata* to sediment anoxia in vegetation restoration in eutrophic waters. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 10, p. 2181-2189, 2015.

XAVIER, Cristiane de A. N; LUCAS JUNIOR, Jorge de. Parâmetros de dimensionamento para biodigestores batelada operados com dejetos de vacas leiteiras com e sem uso de inóculo. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal , v. 30, n. 2, p. 212-223, 2010.

XU, Rong et al. A critical review on the interaction of substrate nutrient balance and microbial community structure and function in anaerobic co-digestion. **Bioresource technology**, v. 247, p. 1119-1127, 2018.

YAVINI, Tsunatu D.; CHIA, Azuaga I.; JOHN, Agabison. Evaluation of the effect of total solids concentration on biogas yields of agricultural wastes. **Int Res J Environ Sci**, v. 3, n. 2, p. 70-75, 2014.

ZHANG, Xiaoke; LIU, Xueqin; DING, Qingzhang. Morphological responses to water-level fluctuations of two submerged macrophytes, *Myriophyllum spicatum* and *Hydrilla verticillata*. **Journal of Plant Ecology**, v. 6, n. 1, p. 64-70, 2012.

ZHANG, Zhikai et al. Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 21, p. 9153-9158, 2016.

ZHENG, Yi et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in energy and combustion science**, v. 42, p. 35-53, 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A – PRODUÇÃO DE BIOGÁS DOS TESTES PBM

Figura A1: Média da produção diária de biogás dos ensaios da Codigestão de dejetos e macrófita, razão 2:1 (com inóculo, sem inóculo e com pré-tratamento biológico) e dos Controles (Inóculos).

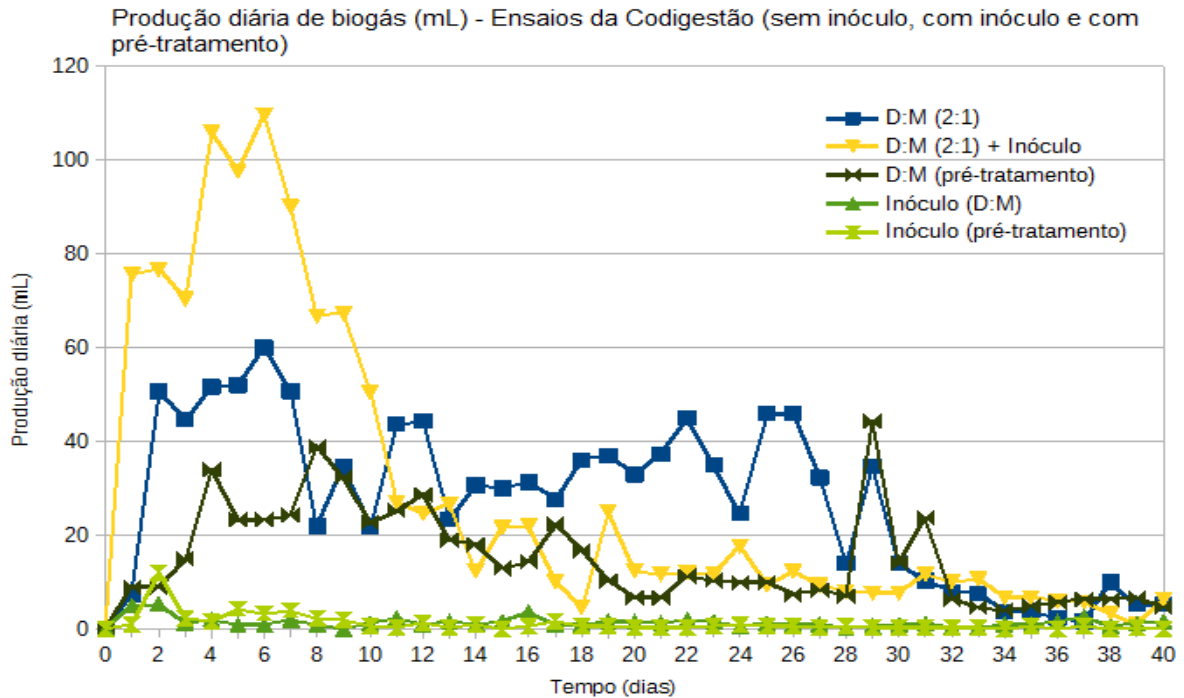


Figura A2: Média da produção acumulada de biogás dos ensaios da Codigestão de dejetos e macrófita, razão 2:1 (com inóculo, sem inóculo e com macrófita pré-tratada) e dos Controles (inóculos).

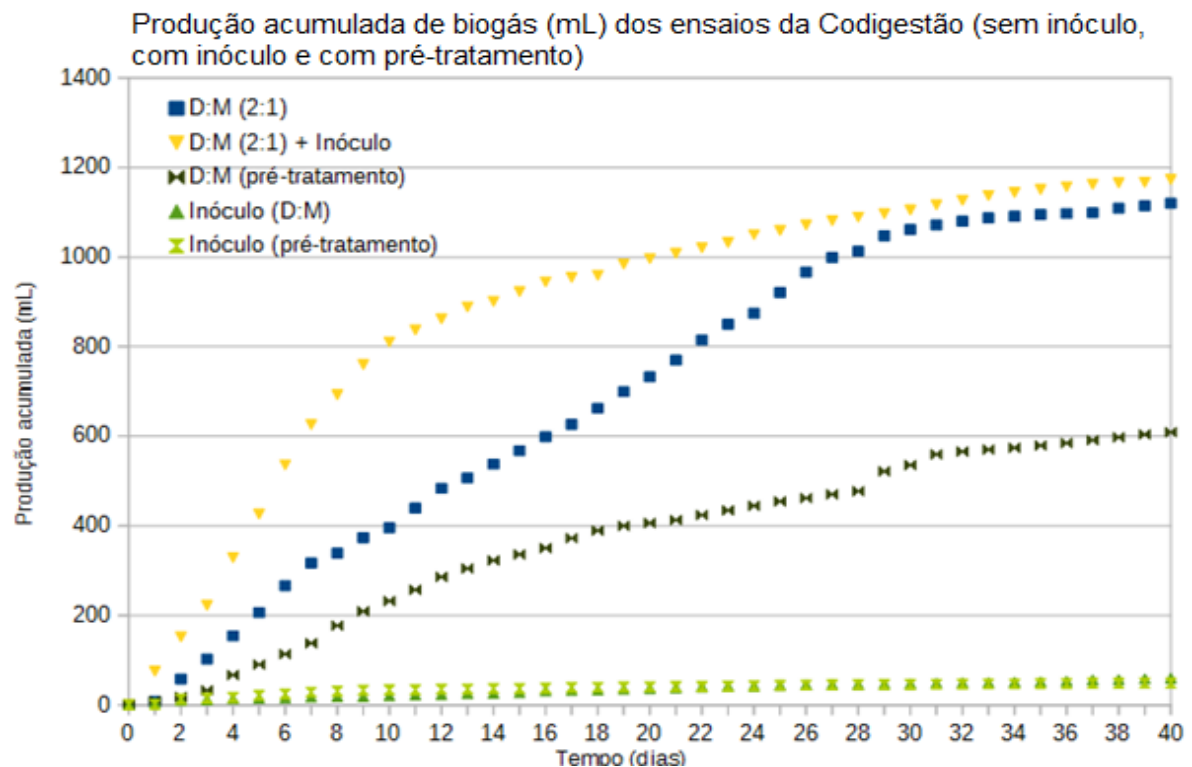


Figura A3: Média da produção diária de biogás dos ensaios da Monodigestão (de dejetos bovino e de macrófita + inóculo) e do Controle (inóculo).

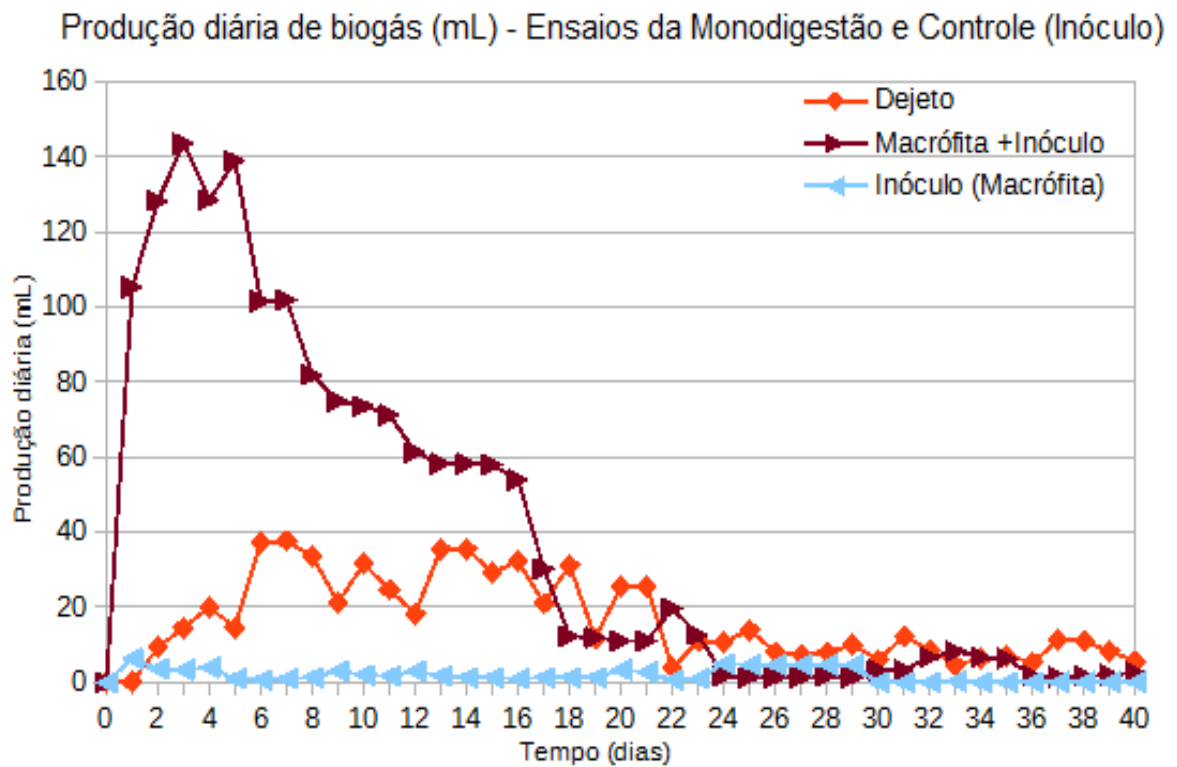


Figura A4: Média da produção acumulada de biogás dos ensaios da Monodigestão (de dejetos bovino e de macrófita + inóculo) e do Controle (inóculo).

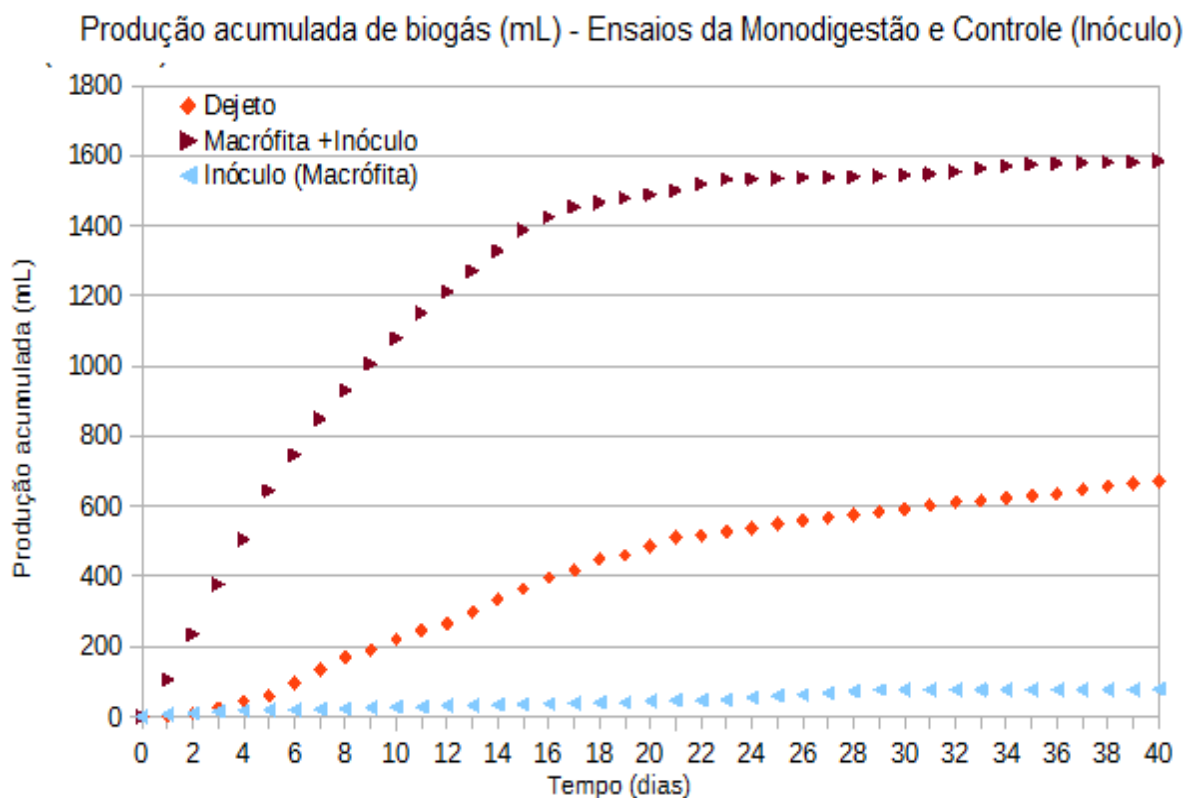


Figura A5: Produção diária de biogás das triplicatas e média do ensaio de Codigestão (razão 2:1 de dejetto:macrófita, respectivamente).

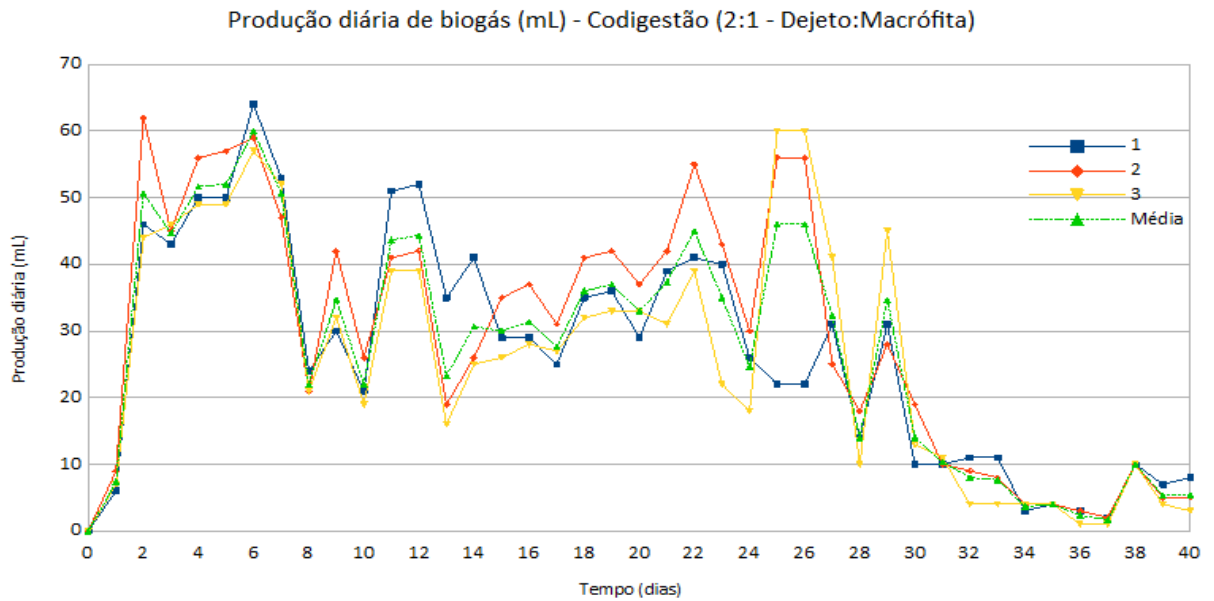


Figura A6: Produção acumulada de biogás das triplicatas e média do ensaio de Codigestão (razão 2:1 de dejetto:macrófita, respectivamente).

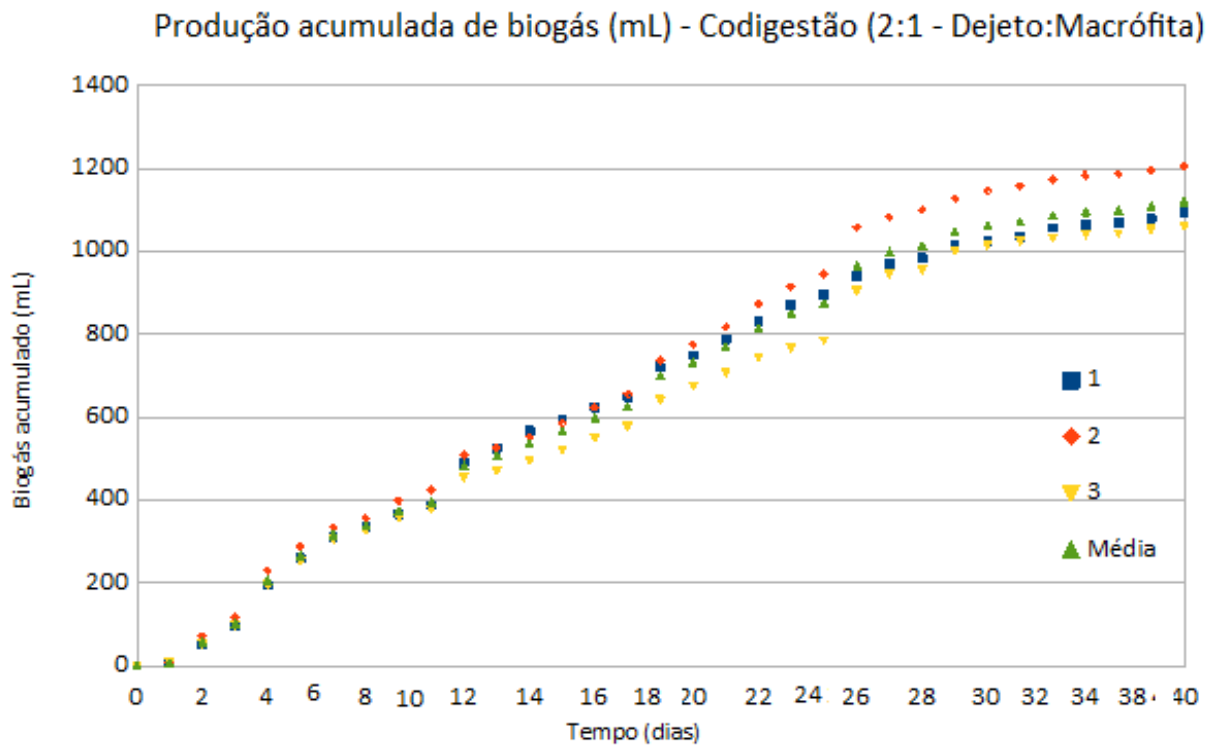


Figura A7: Produção diária de biogás das triplicatas e média do ensaio de Monodigestão de dejetos bovino.

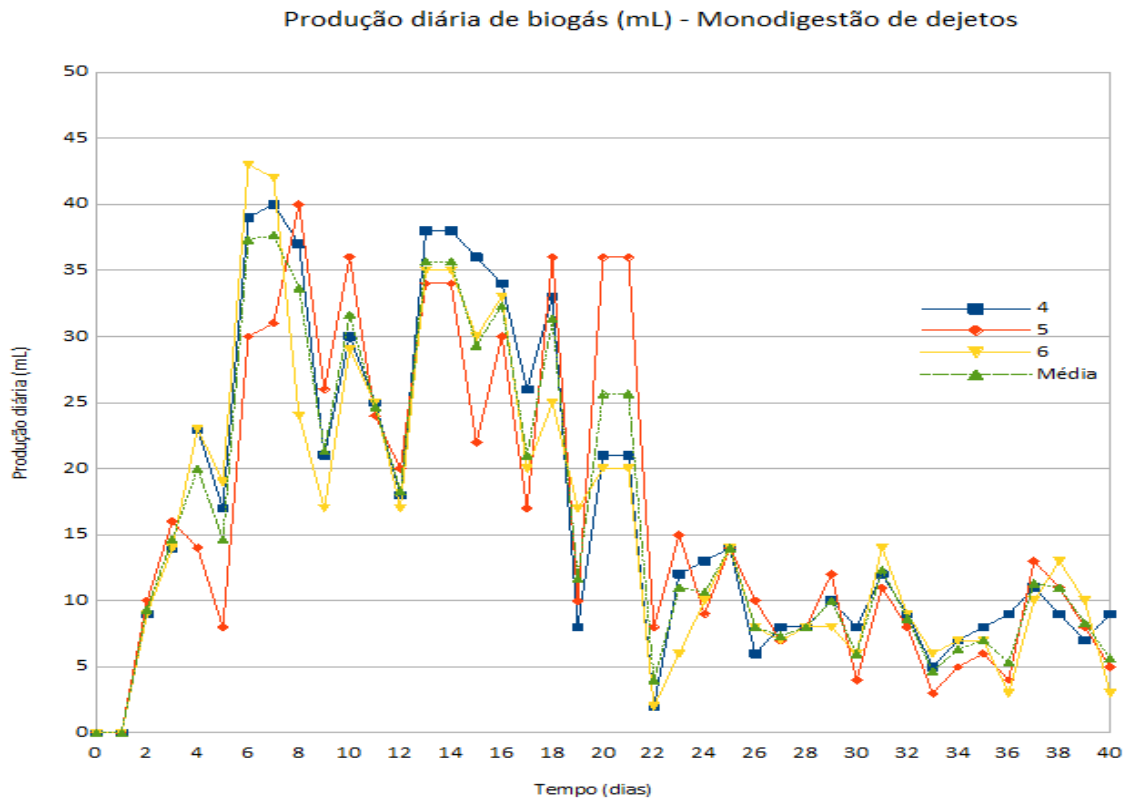


Figura A8: Produção acumulada de biogás das triplicatas e média do ensaio de Monodigestão de dejetos bovino.

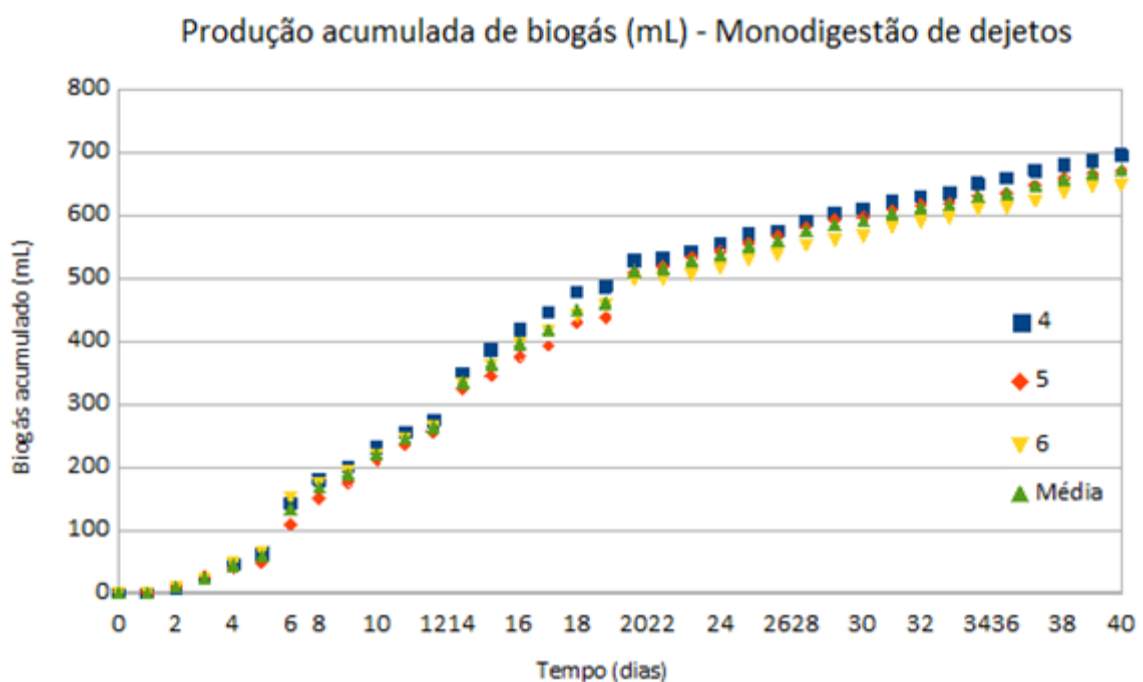


Figura A9: Produção diária de biogás das triplicatas e média do ensaio de Codigestão + Inóculo (1,2 3 e média) e Controle (Inóculo: 4,5, 6 e média).

Produção diária de biogás (mL) - Codigestão + Inóculo e Controle (Inóculo)

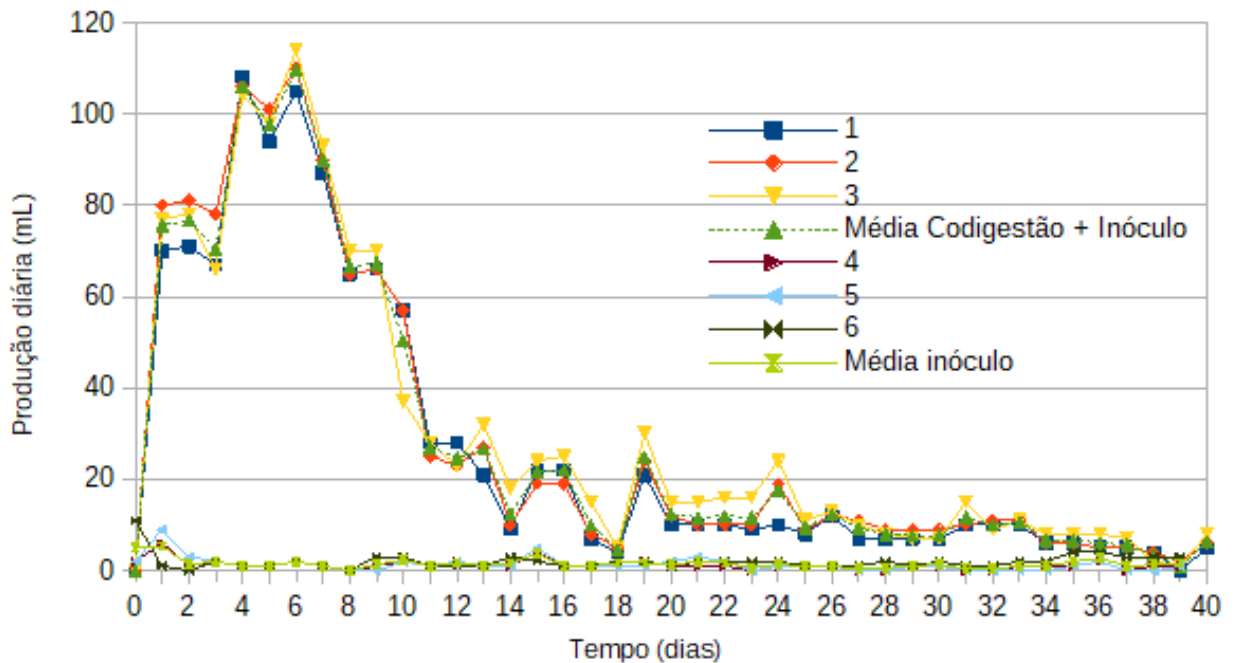


Figura A10: Produção acumulada de biogás das triplicatas e média do ensaio de Codigestão + Inóculo (1,2 3 e média) e Controle (Inóculo: 4,5, 6 e média).

Produção acumulada de biogás da Codigestão + Inóculo e Controle (Inóculo)

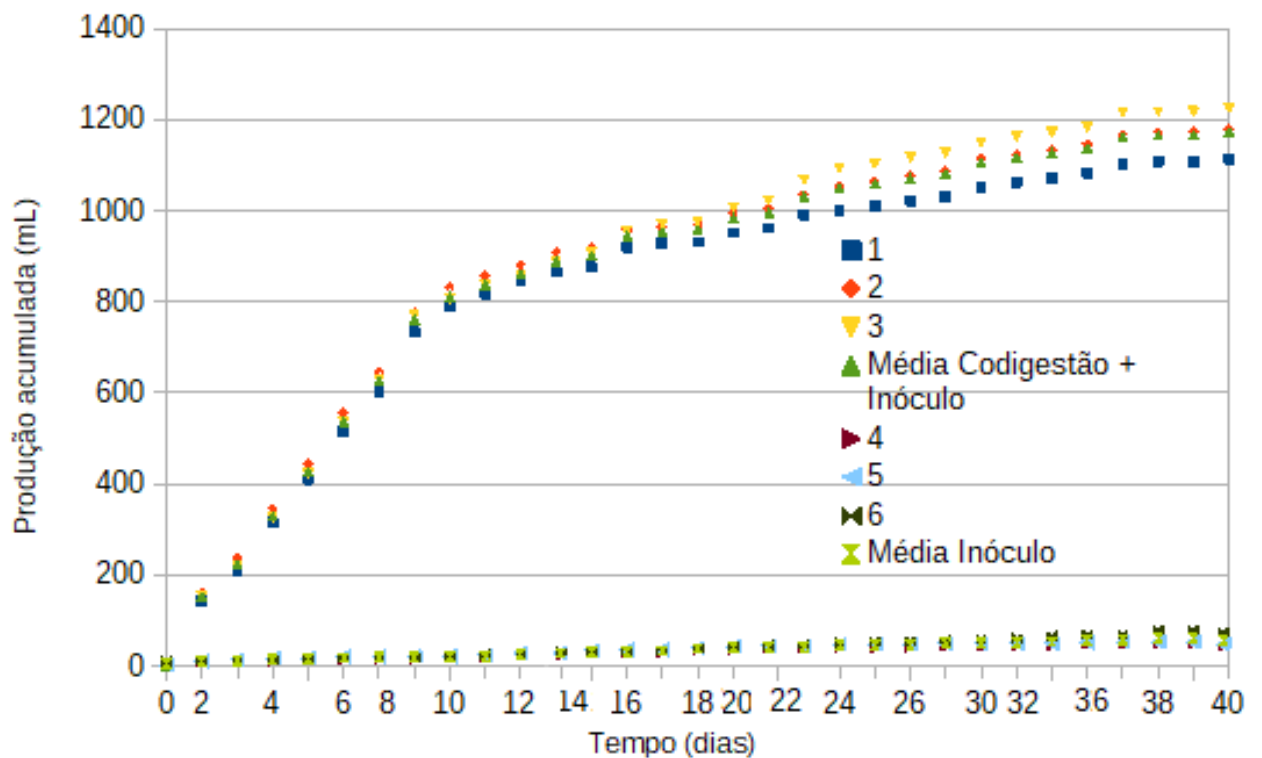


Figura A11: Produção diária de biogás das triplicatas e média do ensaio de Codigestão + Inóculo (com macrófita pré-tratada: 1,2 3 e média) e Controle (Inóculo: 4,5, 6 e média).

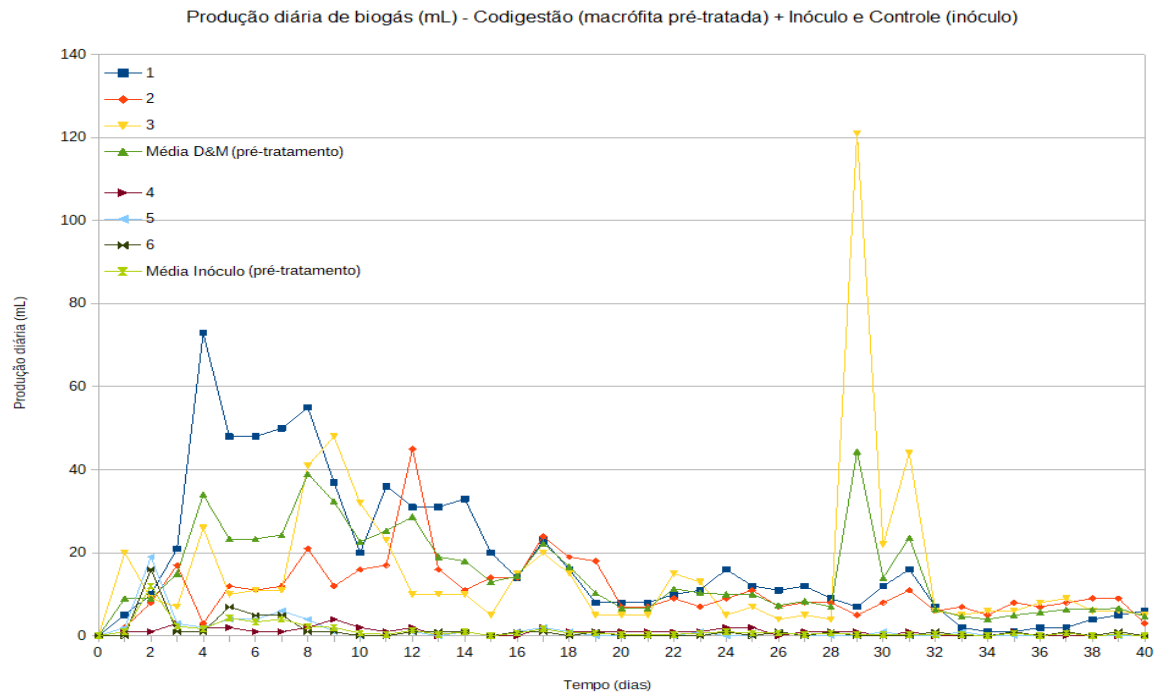


Figura A12: Produção acumulada de biogás das triplicatas e média do ensaio de Codigestão + Inóculo (com macrófita pré-tratada: 1, 2 e 3 e média) e Controle (Inóculo : 4, 5, 6 e média).

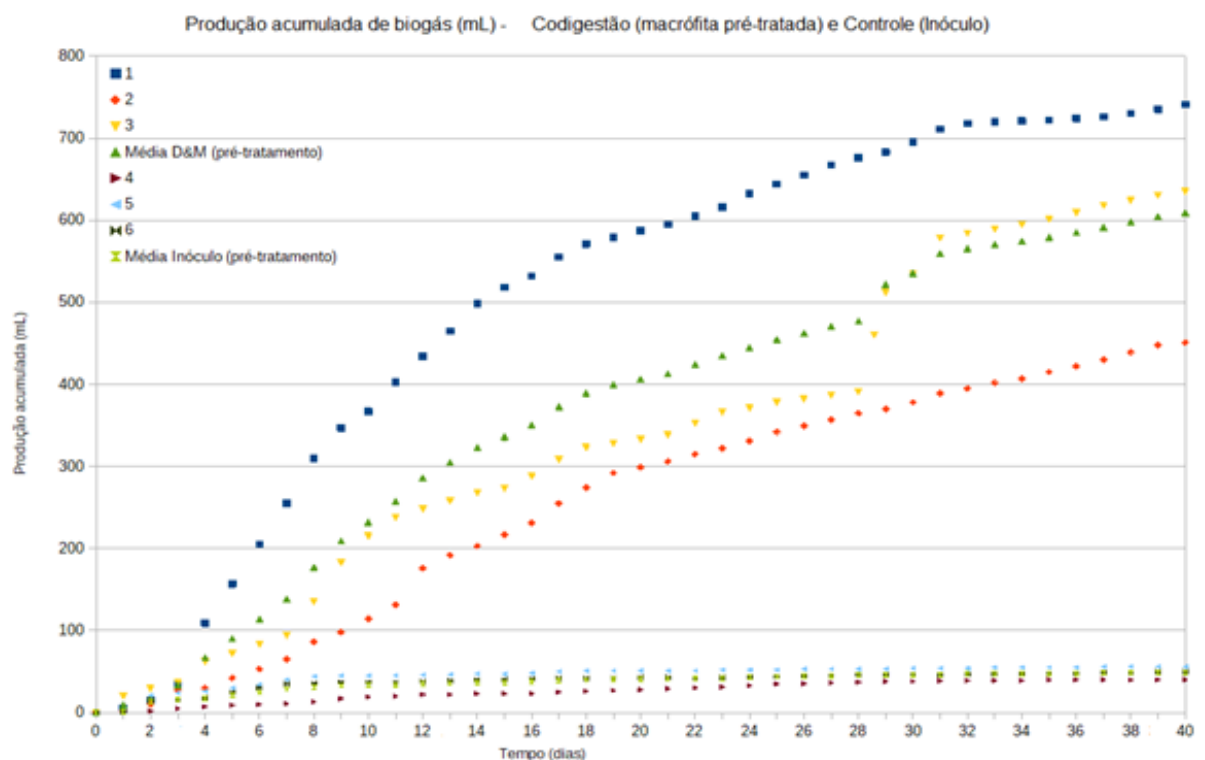


Figura A13: Produção diária de biogás das triplicatas e média do ensaio da Monodigestão de *H. verticillata* + Inóculo (1,2 3 e média) e Controle (Inóculo – 4, 5, 6 e média).

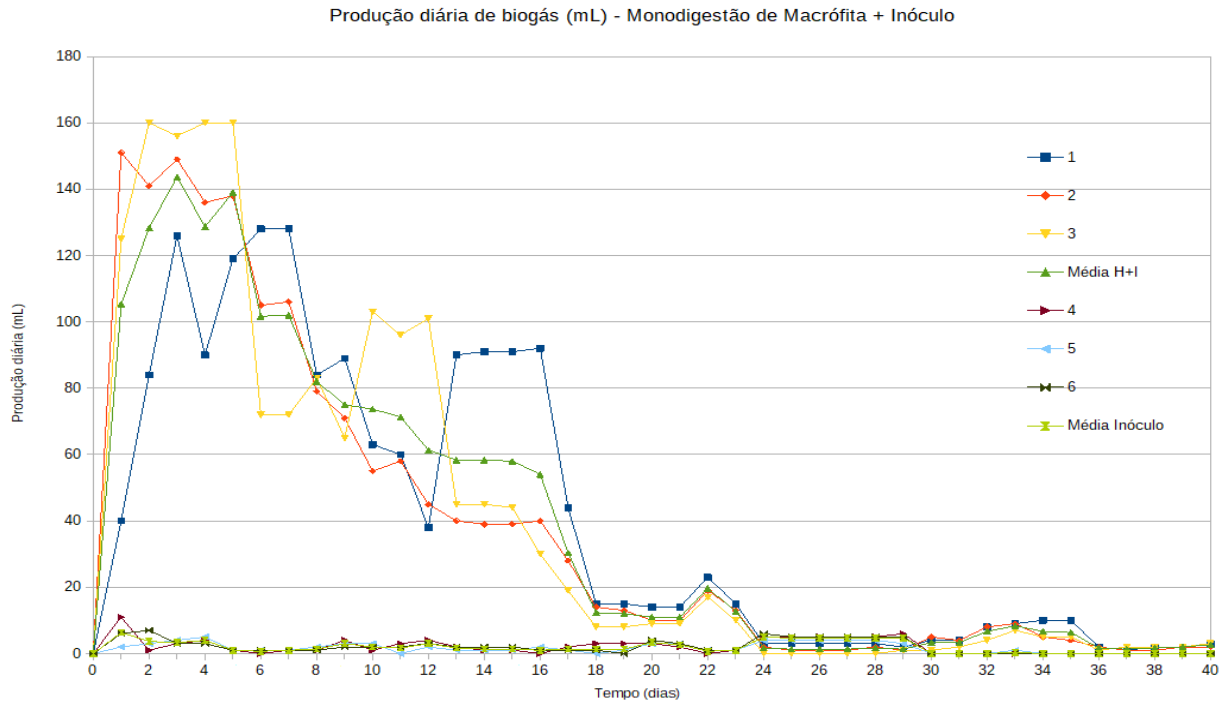
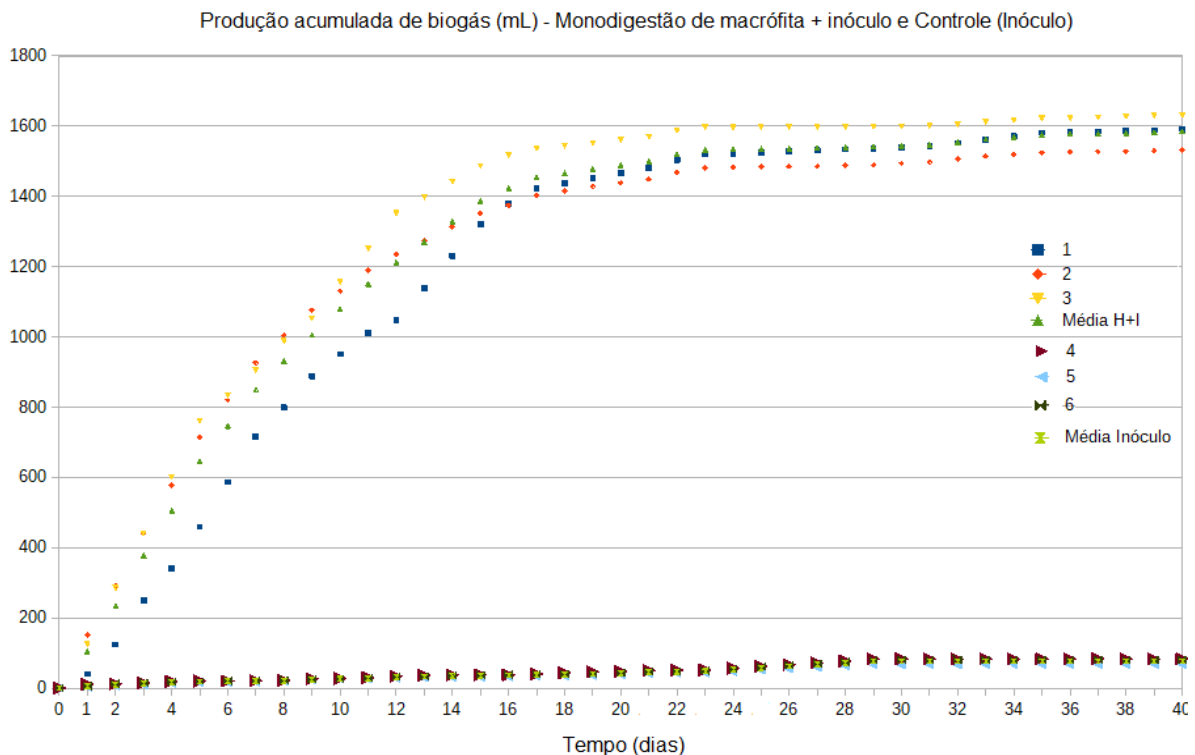


Figura A14: Produção acumulada de biogás das triplicatas e média do ensaio da Monodigestão de *H. verticillata* + Inóculo (1,2 3 e média) e Controle (Inóculo: 4, 5, 6 e média).



APÊNDICE B – ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA)

Análise de variância bifatorial (ANOVA) com repetição e com significância de 5 %, do teor dos sólidos da macrófita (com e sem pré-tratamento biológico).

Variáveis	ST	SF	SV	Total
<i>Com pré-tratamento</i>				
Contagem	3	3	3	9
Soma	294,538	57,961	242,04	594,54
Média	98,1793	19,32	80,68	66,06
Variância	0,04652	0,7775	0,7775	1286,6
<i>Sem pré-tratamento</i>				
Contagem	3	3	3	9
Soma	265,314	86,33	213,67	565,31
Média	88,4379	28,777	71,223	62,813
Variância	0,57391	7,1472	7,1472	710,9
<i>Total</i>				
Contagem	6	6	6	
Soma	559,852	144,29	455,71	
Média	93,3086	24,049	75,951	
Variância	28,7166	29,997	29,997	

ANOVA

Fonte da variação	SQ	GI	MQ	F	valor-P	F crítico
Amostra	47,4473	1	47,447	17,285	0,0013	4,7472
Colunas	15584,3	2	7792,1	2838,7	9E-17	3,8853
Interações	363,168	2	181,58	66,152	3E-07	3,8853
Dentro	32,9394	12	2,745			
Total	16027,8	17				