

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE PESQUISAS HIDRÁULICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO  
AMBIENTAL

**NESTOR LEONEL MUÑOZ HOYOS**

**CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE MACRÓFITAS COM EXCESSO DE LODO DE  
REATOR UASB GERADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES DOMÉSTICOS**

**TESE DE DOUTORADO**

Porto Alegre

2021

**NESTOR LEONEL MUÑOZ HOYOS**

**CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE MACRÓFITAS COM EXCESSO DE LODO DE REATOR UASB GERADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES DOMÉSTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor.

Orientador: Prof. Luiz Olinto Monteggia.

Porto Alegre

2021

### CIP - Catalogação na Publicação

Muñoz Hoyos, Nestor Leonel  
CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE MACRÓFITAS COM EXCESSO DE  
LODO DE REATOR UASB GERADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES  
DOMÉSTICOS / Nestor Leonel Muñoz Hoyos. -- 2021.  
136 f.  
Orientador: Luiz Olinto Monteggia.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Instituto de Pesquisas Hidráulicas,  
Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e  
Saneamento Ambiental, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Biogás. 2. Co-digestão anaeróbia . 3. Rendimento  
específico de metano . 4. Macrófitas. 5. Lodo  
anaeróbio . I. Monteggia, Luiz Olinto, orient. II.  
Título.

**NESTOR LEONEL MUÑOZ HOYOS**

**CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE MACRÓFITAS COM EXCESSO DE LODO DE REATOR UASB GERADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES DOMÉSTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Aprovado em Porto Alegre 12 de agosto de 2021

---

Prof. Luiz Olinto Monteggia IPH/UFRGS  
Orientador

---

Profa. Dr. Maria Cristina de Almeida Silva - IPH/UFRGS  
Examinador

---

Prof. Dr. Luis A. Schiavo Miranda - UNISINOS  
Examinador

---

Prof. Dr. Odorico Konrad - UNIVATES  
Examinador

Dedico este trabajo a mi madre Ana, a mis hijos  
Oliver, Icaro y a mi familia por su apoyo  
constante y su comprensión por mi ausencia en  
todos los momentos vividos en los que no pude  
estar presente.  
Dedicado a mi tío Saul Hoyos (*in memoriam*)

## AGRADECIMIENTOS

Agradeço a Deus por sua presença em todo momento, a minha mãe Ana Hoyos por todo seu carinho, amor e pela confiança depositada em todas minhas escolhas e decisões de vida. Aos meus irmãos Angelica, Danny e Cesar por sempre me incentivar na busca contínua dos meus sonhos e me acompanhar à consecução deles.

Ao meu pai Leonel Muñoz pela sua compreensão num momento difícil da minha vida, obrigado por ter me ajudado na finalização do ensino médio e em seguida começar o ensino superior o qual posteriormente me permitiu fazer uma pós-graduação no Brasil.

Aos meus avós Maria e Argemiro e avôs Maria e Eliodoro por serem essa luz de vida que nos serve de guia e nos ilumina sempre.

Ao Professor Luiz Monteggia, meu orientador, pelos conselhos, seus valiosos ensinamentos e pela sua paciência em momentos difíceis afrontados durante este longo caminhar que começou no ano de 2013.

Aos amigos e colegas do grupo de pesquisa em saneamento ambiental do IPH em especial o Junior, Crica, Felipe, Cassio, Gabi, Rafael, Daniela, Thais, Malaquias, Saide, Ian, Ana e Ligia pelos diversos momentos vividos durante o tempo de convivo no instituto.

Aos professores do IPH pelas excelentes contribuições na formação pessoal e profissional de todos os que trafegamos pela pós-graduação.

Aos técnicos e servidores do IPH porque sem seu valioso trabalho seria muito mais difícil poder realizar nossos trabalhos experimentais e assim alcançar nossos objetivos.

À professora Ana Luiza Borges quem facilitou o uso do espaço físico, dos materiais e o equipamento CILAS 1180 no laboratório do Núcleo de Estudos em Correntes de Densidade (NECOD). Ao técnico Cristian Valenti pelo auxílio nas análises granulométricas da macrófita.

À professora Maria Cristina, ao professor Odorico e ao professor Miranda pelas contribuições e sugestões para melhorar meu trabalho de pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de estudos de doutorado que me permitiu começar e finalizar meu projeto de pesquisa aportando significativamente para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Oliver meu nenê que sempre terá um lugar especial no meu coração, por ser o meu motivo e meu motor para culminar esta fase da minha vida. Pelas noites, tardes e manhãs de dividir os teus cuidados com a escrita da tese.

Ao Icaro, embora tenho sido pouco o tempo compartilhado a gente passou momentos inesquecíveis e consegui com muito orgulho te acompanhar nos teus primeiros passos pelo mundo.

Ao Brasil muito obrigado pelo acolhimento e por se tornar minha segunda pátria e lar.

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo explorar o potencial de produção de biogás e metano das macrófitas flutuantes (*Lemna minor*, *Wolffia columbiana*, *Spirodela polyrrhiza* e *Spirodela intermedia*) num processo de co-digestão utilizando lodo anaeróbio de reator UASB como inóculo. O substrato (macrófitas) e o inóculo do processo anaeróbio de co-digestão foram obtidos do tratamento de água residual doméstica. Para alcançar os objetivos propostos foram realizados 5 ensaios exploratórios nos quais foram testadas diferentes condições operacionais para determinar a sua influência na produção de biogás e metano. Os ensaios foram realizados utilizando biodigestores de 50 litros de volume e operados em bateladas. Os experimentos foram conduzidos em triplicatas para branco (lodo anaeróbio) e as diferentes relações I/S (inóculo/substrato). No ensaio 1 foram avaliadas quatro relações I/S (0.5, 1.0, 1.5 e 2.0) e os biodigestores foram operados sob condições de temperatura de inverno (média de  $18\pm 2,4^{\circ}\text{C}$ ) durante 66 dias. No ensaio 2 o substrato foi submetido a trituração com o objetivo de avaliar o efeito do pré-tratamento mecânico das macrófitas sobre a produção de biogás. As relações I/S foram mantidas do experimento anterior e o ensaio foi conduzido durante 52 dias a temperatura de inverno ( $19\pm 1,4^{\circ}\text{C}$ ). No ensaio 3 foi avaliado o efeito da temperatura sobre a produção de biogás e metano nos biodigestores. Neste experimento foram mantidas as relações I/S e não foi aplicado pré-tratamento mecânico no substrato. A aplicação do ensaio foi a temperatura de verão ( $26,6\pm 1,1^{\circ}\text{C}$ ) e o tempo duração das bateladas foi de 37 dias. No ensaio 4 as macrófitas foram trituradas e as condições operacionais dos biodigestores foram similares as do ensaio 3. O tempo de duração do ensaio foi de 32 dias e a temperatura média do período quente foi de  $25,8\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ . No ensaio 5 foi avaliado o efeito do regime de mistura sobre a produção de biogás em biodigestores de monodigestão (lodo) e co-digestão anaeróbia (lodo e macrófitas). Os resultados obtidos em todas as condições operacionais testadas neste trabalho indicaram que a biomassa lignocelulósica contribuiu positivamente para aumento da produção de biogás e metano. Evidenciou-se que a produção de biogás e metano variaram em função do parâmetro operacional I/S que determina a quantidade de substrato alimentado nos biodigestores.

Quando os biodigestores foram operados em temperaturas baixas (inverno) e com substrato sem pré-tratamento, a relação que apresentou maior produção de biogás e metano foi a I/S=1.5 e o maior  $Y_{\text{CH}_4}$  foi para a I/S=2.0 com 184 NmL  $\text{CH}_4/\text{g SV}$ . Para a mesma condição de temperatura, mas com pré-tratamento aplicado no substrato o biodigestor que produziu maior volume de biogás e metano foi a I/S=0.5 e o  $Y_{\text{CH}_4}$  mais elevado foi atingido

pela I/S=1.5 com 233,6 NmL CH<sub>4</sub>/g SV. Com o aumento da temperatura (verão) e com substrato sem pré-tratamento a relação I/S=0.5 apresentou as produções mais elevadas de todos os ensaios com 144.863 e 76.927 NmL de biogás e metano. O maior valor do Y<sub>CH<sub>4</sub></sub> alcançado neste ensaio foi de 323,3 NmL CH<sub>4</sub>/g SV para a I/S=1.0. No ensaio 4 o pré-tratamento físico da biomassa e a temperatura de verão favoreceram o processo de digestão anaeróbia, sendo que as relações I/S=1.0, 1.5 e 2.0 apresentaram valores de Y<sub>CH<sub>4</sub></sub> próximos de 300 NmL CH<sub>4</sub>/g SV. Observou-se que o regime de mistura aplicado nos biodigestores incrementou a produção de metano em 67% nos biodigestores com inóculo (monodigestão) e em 29% nos biodigestores com lodo anaeróbio e macrófitas (co-digestão). A mistura também favoreceu o Y<sub>CH<sub>4</sub></sub>, com incremento de 28% alcançado pelos biodigestores com mistura (1.0-CM), comparativamente aos biodigestores sem mistura (1.0-SM).

**Palavras-chave:** Biogás, bioenergia, co-digestão anaeróbia, macrófitas, lodo anaeróbio, temperatura, pré-tratamento, rendimento específico de metano.



## ABSTRACT

This present study aimed to explore the potential for biogas and methane production of floating macrophytes (*Lemna minor*, *Wolffia Columbiana*, *Spirodela polyrrhiza*, and *Spirodela intermedia*) in a co-digestion process using anaerobic sludge from a UASB reactor as inoculum. The substrate and inoculum of the anaerobic process were obtained from the treatment of domestic wastewater. To achieve our purpose, five exploratory tests were carried out in which different operating conditions were tested to determine the incidence in biogas and methane production. The tests were performed using biodigesters of 50 liters of volume and operated in batches. The experiments were conducted in triplicate and four different ratios of inoculum to macrophytes I/S (0.5, 1.0, 1.5, and 2.0) were applied to test 1 to test 4. In test 1 the biodigesters were operated under winter temperature conditions (average of  $18\pm 2,4$  °C) for 66 days. In test 2 the substrate was subjected to grinding to evaluate the effect of the mechanical pre-treatment of macrophytes aiming to improve the biogas production. The test was conducted for 52 days under winter temperature conditions ( $19\pm 1,4$  °C). In test 3 the effect of temperature on the production of biogas and methane in the biodigesters was evaluated. In this experiment no mechanical pre-treatment was applied to the substrate, the test application was the summer temperature ( $26,6\pm 1,1$  °C) and the duration of the batches was 37 days. In test 4 the macrophytes were crushed and the operating conditions of the biodigesters were the same as in test 3. The duration of the test was 32 days under summer temperature ( $25.8\pm 1.0$  °C). In test 5 the effect of the mixing on the production of biogas was evaluated. The results obtained in all operational conditions tested in this study indicated that the lignocellulosic biomass contributed positively to the increase of biogas and methane production. It was evidenced that the production of biogas and methane varied according to the operational parameter I/S that determines the amount of substrate fed in the digesters. When the biodigesters were operated at low temperatures (winter) and with the substrate without pre-treatment, the ratio that showed the highest production of biogas and methane was I/S=1.5 and the highest specific methane yield  $Y_{CH_4}$  was for I/S=2.0 with 184 NmL  $CH_4/g$  SV. For the same temperature condition, but with pre-treatment applied to the substrate, the biodigester that produced the higher volume of biogas and methane was I/S=0.5 and the highest specific methane yield  $Y_{CH_4}$  was achieved by I/S=1.5 with 233.6 NmL  $CH_4/g$  SV. With the increase in temperature (summer) and with the substrate without pre-treatment, the I/S=0.5 showed the highest production with 144.863 and 76.927 NmL of biogas and methane. The highest specific methane yield  $Y_{CH_4}$  achieved in this test was 323.3 NmL  $CH_4/g$

SV for I/S=1.0. In test 4 the physical pre-treatment of biomass and the summer temperature favored the process of anaerobic digestion, and I/S ratios (1.0, 1.5, 2.0) showed specific methane yield  $Y_{CH_4}$  values close to 300 NmL  $CH_4/g$  SV. It was observed that the mixing regime applied to biodigesters increased the production of methane by 29% in biodigesters with anaerobic sludge and macrophytes (co-digestion). The mixture also favored  $Y_{CH_4}$  of the co-digestion with a 28% increase (1.0-CM) over biodigesters without mixture (1.0-SM).

**Keywords:** Biogas, bioenergy, anaerobic co-digestion, macrophytes, anaerobic sludge, temperature, pre-treatment, specific methane yield.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Etapas do metabolismo anaeróbio e os principais compostos de cada fase:.....	22
<b>Figura 2.</b> Biodigestor empregados nos testes co-digestão anaeróbia de macrófitas e lodo anaeróbio. ....	45
<b>Figura 3.</b> Esquema de montagem do biodigestor e do medidor de biogás. ....	46
<b>Figura 4.</b> Unidades piloto de lagoas (esquerda) e sistema de retirada da macrófita (direita)..	47
<b>Figura 5.</b> Família <i>Lemnáceae</i> e tamanho das diferentes espécies predominantes na lagoa ....	48
<b>Figura 6.</b> Triturador TR 200 (esquerda) e macrófitas trituradas (direita).....	50
<b>Figura 7.</b> Reator UASB e lodo anaeróbio utilizado como inóculo.....	51
<b>Figura 8.</b> Esquema de processamento da amostra de lodo. ....	52
<b>Figura 9.</b> Protocolo de análises e caracterização da <i>Lemnáceae</i> . ....	53
<b>Figura 10.</b> Imagem da macrófita fresca (A) e após secagem a 70 °C (B). ....	54
<b>Figura 11.</b> Etapas de laboratório para análise granulométrica da macrófita. ....	55
<b>Figura 12.</b> Protocolo testes granulométricos da <i>Lemnáceae</i> . ....	56
<b>Figura 13.</b> Analisador de partículas a laser (CILAS 1180). ....	56
<b>Figura 14.</b> Esquema de processamento da amostra do processo de co-digestão.....	57
<b>Figura 15.</b> Amostra estratificadas: A- 1.0-SM; B- 1.0-CM; C- In-SM; D- In-CM.....	107

## LISTA DE GRAFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 1 .....	70
<b>Gráfico 2.</b> Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 1 .....	71
<b>Gráfico 3.</b> Produção bruta acumulada de CH <sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 1 .....	71
<b>Gráfico 4.</b> Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 1 .....	72
<b>Gráfico 5.</b> Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 1 .....	72
<b>Gráfico 6.</b> Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 2 .....	74
<b>Gráfico 7.</b> Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 2 .....	75
<b>Gráfico 8.</b> Produção bruta acumulada de CH <sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 2 .....	75
<b>Gráfico 9.</b> Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 2 .....	76
<b>Gráfico 10.</b> Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 2 .....	76
<b>Gráfico 11.</b> Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 1 .....	81
<b>Gráfico 12.</b> Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 2 .....	84
<b>Gráfico 13.</b> Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 3 .....	85
<b>Gráfico 14.</b> Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 3 .....	86
<b>Gráfico 15.</b> Produção bruta acumulada de CH <sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 3 .....	86
<b>Gráfico 16.</b> Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 3 .....	87
<b>Gráfico 17.</b> Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 3 .....	88
<b>Gráfico 18.</b> Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 3 .....	92
<b>Gráfico 19.</b> Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 4 .....	93
<b>Gráfico 20.</b> Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 4 .....	94
<b>Gráfico 21.</b> Produção bruta acumulada de CH <sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 4 .....	94
<b>Gráfico 22.</b> Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 4 .....	95
<b>Gráfico 23.</b> Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 4 .....	96
<b>Gráfico 24.</b> Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 4 .....	101
<b>Gráfico 25.</b> Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 5 .....	102
<b>Gráfico 26.</b> Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 5 .....	103
<b>Gráfico 27.</b> Produção bruta acumulada de metano em relação ao tempo - Ensaio 5 .....	103
<b>Gráfico 28.</b> Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 5 .....	104
<b>Gráfico 29.</b> Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 5 .....	105
<b>Gráfico 26.</b> Curvas granulométricas das macrófitas não triturada (esquerda) e triturada (direita) .....	126
<b>Gráfico 27.</b> Distribuição granulométrica da amostra residual do teste sem trituração (esquerda A, B, C) e triturada (direita D, E, F) .....	127

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resumo dos resultados físicos e químicos e elementares da macrófita.....	48
<b>Tabela 2.</b> Características físicas e químicas do inóculo .....	51
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros operacionais do cromatógrafo gasoso para análise de gases. ....	58
<b>Tabela 4.</b> Resultados de precisão, curva analítica e valores de $R^2$ do método cromatográfico para o $CH_4$ , $N_2$ e $CO_2$ . ....	58
<b>Tabela 5.</b> Parâmetros operacionais do cromatógrafo gasoso para análise de AGVs.....	61
<b>Tabela 6.</b> Curva analítica, coeficiente de correlação e faixa linear para o ácido acético, propiônico, butírico e valérico.....	62
<b>Tabela 7.</b> Dados básico de alimentação dos biodigestores - Ensaio 1 .....	64
<b>Tabela 8</b> Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 2 .....	64
<b>Tabela 9.</b> Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 3 .....	65
<b>Tabela 10.</b> Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 4 .....	65
<b>Tabela 11.</b> Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 5 .....	66
<b>Tabela 12.</b> Parâmetros e atividades de controle do processo de co-digestão anaeróbia.....	67
<b>Tabela 13.</b> Parâmetros de avaliação da eficiência do processo de digestão anaeróbia.....	67
<b>Tabela 14.</b> Produção acumulada de biogás e metano para as relações I/S dos ensaios 1 e 2 ..	78
<b>Tabela 15.</b> Comparativo dos valores de $Y_{CH_4}$ dos ensaios 1 e 2.....	79
<b>Tabela 16.</b> Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 1 .....	80
<b>Tabela 17.</b> Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 2 .....	83
<b>Tabela 18.</b> Produção acumulada de biogás e metano para as relações I/S dos ensaios 1 e 3 ..	89
<b>Tabela 19.</b> Comparativo dos valores de $Y_{CH_4}$ dos ensaios 1 e 3.....	90
<b>Tabela 20.</b> Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 3 .....	90
<b>Tabela 21.</b> Produção acumulada de biogás e metano para as relações I/S dos ensaios 2 e 4 ..	97
<b>Tabela 22.</b> Comparativo dos valores de $Y_{CH_4}$ dos ensaios 2 e 4.....	98
<b>Tabela 23.</b> Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 4 .....	99
<b>Tabela 24.</b> Comparativo dos resultados dos biodigestores - Ensaio 5.....	105
<b>Tabela 25.</b> Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 5 .....	106

### LISTA DE SIGLAS

ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
SNIS	Sistema Nacional de Informações Sobre Saneamento
ANA	Agência Nacional de Águas
GWh	Gigawatt-hora
MW	Megawatt
GW	Gigawatt
COV	Carga Orgânica Volumétrica
CHV	Carga Hidráulica Volumétrica
I/S	Relação inóculo/substrato
AGVs	Ácidos Graxos Voláteis
DA	Digestão Anaeróbia
TDH	Tempo de Detenção Hidráulico
TDS	Tempo de Detenção de Sólidos
DQO <sub>T</sub>	Demanda Química de Oxigênio Total (mg/L)
DQO <sub>F</sub>	Demanda Química de Oxigênio Filtrada (mg/L)
DBO	Demanda Biológica de Oxigênio (mg/L)
NT	Nitrogênio Total
PT	Fosforo Total
FORSU	Fração Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos
BMP	Potencial Bioquímico de Metano
UASB	Reator de Manta de Lodos e Fluxo Ascendente
DMAE	Departamento Municipal de Água e Esgoto de Porto Alegre
LADETEC	Laboratório de Saneamento e Tecnologias Ambientais
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
SF	Sólidos Fixos
TCD	Detector de Condutividade Térmica
STP	Condições Padrão de Temperatura e Pressão
FID	Detector de Ionização de Chama
CH <sub>4</sub>	Metano
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
H <sub>2</sub>	Hidrogênio
pH	Potencial Hidrogeniônico
AT	Alcalinidade Total,
AP	Alcalinidade Parcial
AI	Alcalinidade Intermedia
AI/AT	Relação Alcalinidade Intermedia/Alcalinidade Total
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
Y <sub>CH4</sub>	Rendimento Específico de Metano
A/M	Relação Alimento/Microrganismos
C/N	Relação Carbono/Nitrogênio
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Íon Amonium
NH <sub>4</sub> -N	Nitrogênio Amoniacal Total
CM	Com Mistura
SM	Sem Mistura

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	18
2.	OBJETIVOS .....	21
2.1.	GERAL.....	21
2.2.	ESPECÍFICOS .....	21
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1.	DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	22
3.2.	PARÂMETROS DO PROCESSO DA DIGESTÃO ANAERÓBIA (DA) .....	24
3.2.1.	PARÂMETROS DE CONTROLE DA .....	24
3.2.1.1.	ALCALINIDADE.....	24
3.2.1.2.	PH .....	25
3.2.1.3.	AGV .....	25
3.2.1.4.	BIOGÁS .....	26
3.2.1.5.	INIBIDORES.....	27
3.2.2.	PARÂMETROS DE OPERAÇÃO .....	29
3.2.2.1.	RELAÇÃO INÓCULO/SUBSTRATO (I/S).....	29
3.2.2.2.	TEMPERATURA.....	30
3.2.2.3.	CARGA ORGÂNICA .....	31
3.2.2.4.	TEMPO DE DETENÇÃO .....	32
3.2.2.5.	TAMANHO DE PARTÍCULA .....	32
3.3.	MACRÓFITAS DA FAMÍLIA <i>LEMNÁCEAE</i> .....	33
3.4.	CO-DIGESTÃO COMO ALTERNATIVA PARA POTENCIALIZAR A DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	36
3.5.	CO-DIGESTÃO DE MACRÓFITAS DA FAMÍLIA <i>LEMNÁCEAE</i> COM OUTROS RESÍDUOS.....	39
3.6.	CO-DIGESTÃO DE MACRÓFITAS E LODO ANAERÓBIO .....	41
4.	MATERIAS E MÉTODOS .....	44
4.1.	MATERIAIS.....	44
4.1.1.	BIODIGESTORES.....	45
4.1.2.	SUBSTRATO.....	47
4.1.3.	PRÉ-TRATAMENTO MECÂNICO.....	49
4.1.4.	REATOR UASB .....	50
4.2.	MÉTODOS.....	52
4.2.1.	INÓCULO (LODO ANAERÓBIO).....	52
4.2.2.	MACRÓFITAS FAMÍLIA <i>LEMNÁCEAE</i> .....	53
4.2.3.	TAMANHO DE PARTÍCULA .....	54

4.2.4.	MEIO DE REAÇÃO (INÓCULO – SUBSTRATO).....	57
4.2.5.	COMPOSIÇÃO E QUALIDADE DO BIOGÁS PRODUZIDO.....	57
4.2.6.	NORMALIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS E DE METANO .....	59
4.2.6.1.	PRODUÇÃO BRUTA DE BIOGÁS.....	60
4.2.6.2.	PRODUÇÃO BRUTA DE CH <sub>4</sub> .....	60
4.2.6.3.	PRODUÇÃO LÍQUIDA DE BIOGÁS .....	60
4.2.6.4.	PRODUÇÃO LÍQUIDA DE CH <sub>4</sub> .....	60
4.2.6.5.	RENDIMENTO ESPECÍFICO DE METANO (YCH <sub>4</sub> ) .....	61
4.2.7.	DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS (AGVS) .....	61
4.2.8.	EXPERIMENTOS DE CO-DIGESTÃO.....	63
4.2.8.1.	ENSAIO 1.....	63
4.2.8.2.	ENSAIO 2.....	64
4.2.8.3.	ENSAIO 3.....	65
4.2.8.4.	ENSAIO 4.....	65
4.2.8.5.	ENSAIO 5.....	66
4.2.8.6.	RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NOS ENSAIOS EXPERIMENTAIS .....	67
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	69
5.1.	PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM FUNÇÃO DA RELAÇÃO I/S.....	69
5.1.1.	SUBSTRATO SEM PRÉ-TRATAMENTO – ENSAIO 1 .....	69
5.1.2.	SUBSTRATO PRÉ-TRATADO – ENSAIO 2 .....	74
5.1.3.	ANÁLISE COMPARATIVA DOS RESULTADOS EM FUNÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO .....	77
5.1.4.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS AMOSTRAS DOS ENSAIOS 1 E 2.....	79
5.2.	PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA – SUBSTRATO SEM PRÉ-TRATAMENTO.....	85
5.2.1.	TEMPERATURA DE VERÃO SEM PRÉ-TRATAMENTO DO SUBSTRATO – ENSAIO 3.....	85
5.2.2.	ANÁLISE COMPARATIVA DOS RESULTADOS EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA.....	89
5.2.3.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS AMOSTRAS DO ENSAIO 3 .....	90
5.3.	PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA – SUBSTRATO PRÉ-TRATADO.....	93
5.3.1.	SUBSTRATO PRÉ-TRATADO – ENSAIO 4 .....	93
5.3.2.	ANÁLISE COMPARATIVA DOS RESULTADOS EM FUNÇÃO DO PRÉ-	



<b>TRATAMENTO .....</b>	<b>97</b>
<b>5.3.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS AMOSTRAS DO ENSAIO 4 .....</b>	<b>99</b>
<b>5.4. PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM FUNÇÃO DO REGIME DE MISTURA .....</b>	<b>101</b>
<b>5.4.1. TEMPERATURA DE VERÃO, SUBSTRATO PRÉ-TRATADO E REGIME DE MISTURA.....</b>	<b>101</b>
<b>5.4.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS AMOSTRAS DO ENSAIO 5 .....</b>	<b>106</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>109</b>
<b>7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>111</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>112</b>
<b>ANEXO A – TESTES CALIBRAÇÃO MEDIDORES DE VAZÃO DE BIOGÁS.....</b>	<b>125</b>
<b>ANEXO B – TESTES GRANULOMÉTRICOS DA MACRÓFITA .....</b>	<b>126</b>
<b>ANEXO C – CALIBRAÇÃO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA ANÁLISE DE AGVS E CROMATOGRAMA .....</b>	<b>129</b>
<b>ANEXO D – SERIES HISTÓRICAS MONITORAMENTO PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS ENSAIOS 1, 2, 3 E 4 .....</b>	<b>133</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A disposição de efluentes domésticos ou industriais sem tratamento em corpos hídricos é um dos principais problemas ambientais brasileiros. Segundo o SNIS (Sistema Nacional de Informações Sobre Saneamento), no ano de 2019, a média no Brasil de coleta de esgoto sanitário produzido atingiu o 54,1% e somente 49,1% recebiam tratamento.

Os índices do SNIS de coleta (rede) e tratamento do esgoto sanitário mostraram que o cenário no ano de 2018 para o Rio Grande do Sul foi diferente ao nacional, sendo que dos 496 municípios do estado eram coletados 32,1% do total do esgoto gerado e só 26,2% recebiam tratamento. O lançamento dos efluentes sem tratamento faz com que a concentração de nutrientes, especialmente o nitrogênio e fosforo aumentem consideravelmente nos corpos hídricos receptores.

A Agência Nacional de Águas (ANA) cita um estudo realizado por (Lamparelli 2004) em todas as regiões brasileiras, no qual foram analisados 114 corpos hídricos lênticos, sendo que 79% desses corpos se encontravam eutrofizados, super eutrofizados ou hiper eutrofizados. Também foram analisados nesse estudo corpos lóticos, dos quais 11% dos 950 corpos hídricos estudados apresentavam valores excessivos de nutrientes.

Alternativas para o tratamento de efluentes domésticos eficazes e de baixo custo seriam soluções adequadas para a proteção ambiental dos países da América Latina, devido à limitada capacidade econômica de investimento dos governos para o saneamento básico. As tecnologias para os países em desenvolvimento devem ser confiáveis e simples no seu desenho estrutural e operativo (Lansdell 1996).

As tecnologias anaeróbias são alternativas viáveis e com aplicação massiva em países em desenvolvimento devido a diversas vantagens tais como o fato que são configurações tecnicamente simples. Apresentam eficiência satisfatória de remoção de matéria orgânica, produzem quantidade baixa de excesso de lodo já estabilizado, requerem consumo mínimo de energia para sua operação e promovem a geração de biogás, o qual é uma fonte renovável de energia (de Lemos Chernicharo 2007).

O biogás gerado no processo de digestão anaeróbia é uma alternativa factível que poderia atender parte das necessidades globais de energia. Destaca-se que na Itália em 2011 foi gerado um total de 3405 GWh de eletricidade a partir de biogás (Bacenetti et al. 2013). Na China em 2010, a produção de biogás gerado a partir de lixo doméstico, resíduo agroindustrial, resíduos de animais e resíduos de cultivos chegou aos 248 bilhões de m<sup>3</sup>/ano (Deng et al. 2014). Na Europa no ano de 2014 a capacidade total instalada de geração de

energia elétrica chegou a 7.857 MW com 14.563 plantas de biogás em operação. Na Alemanha atualmente são operadas mais de 8.000 plantas de biogás com capacidade de geração de energia de 4 GW (Ertem et al. 2016).

A digestão anaeróbia tradicionalmente é realizada com um único substrato e com um único propósito, mas percebeu-se que com a aplicação de outros substratos para serem digeridos ao mesmo tempo o processo de digestão anaeróbia pode ser mais favorável. Sendo essa mistura de dois ou mais substratos para digestão anaeróbia simultânea conhecida como co-digestão anaeróbia (Maragkaki et al. 2017).

A co-digestão anaeróbia demonstrou ser benéfica do ponto de vista econômico, de produção de biogás e pelo fato de ajudar a mitigar alguns dos problemas como desbalanço de nutrientes e minimização dos efeitos de substâncias tóxicas ou recalcitrantes encontrados no processo de monodigestão anaeróbia. (Hagos et al. 2017; Pavi et al. 2017; Rabii et al. 2019).

Diversos aspectos são considerados no momento da escolha de um co-substrato, sendo a disponibilidade e o custo de transporte os fatores determinantes na tomada de decisões. Além da escolha do melhor co-substrato, devem ser definidas as melhores condições operacionais, tais como a melhor proporção de mistura dos substratos que possibilita maior sinergia entre os resíduos, diluição de compostos inibitórios, otimização da produção de metano e melhora da qualidade e estabilidade do digerido (Long et al. 2012; Mata-Alvarez et al. 2014; Hagos et al. 2017; Pavi et al. 2017; Maragkaki et al. 2017).

Mata-Alvarez et al. (2014), mencionam que os resíduos comumente utilizados como substratos em processos de co-digestão são fezes de animais (54%), lodos de estações de tratamento (22%) e a fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (11%). Os co-substratos misturados com os substratos são: resíduos industriais (41%), resíduos agrícolas (23%) e os resíduos urbanos (20%).

Nos últimos anos as plantas aquáticas da família lemnácea despertaram interesse na área do aproveitamento energético como material promissor para a produção de etanol, metano e hidrogênio (Cheng and Stomp 2009; Ge et al. 2012; Alzate et al. 2014; Xu and Deshusses 2015; Shen et al. 2016). No entanto, as plantas aquáticas, incluindo macrófitas flutuantes, emergentes e submersas, foram excessivamente cultivadas e causaram vários problemas ambientais em lagos, barragens e reservatórios em todo o mundo (Abbasi et al. 1990; Moorhead and Nordstedt 1993; O'Sullivan et al. 2010; Haga and Ishikawa 2011; Muñoz Escobar et al. 2011).

Uma opção de gerenciamento desta biomassa gerada em excesso no tratamento de águas residuárias poderia ser a co-digestão (Koyama et al. 2014; Gaur and Suthar 2017; Pena

et al. 2017; Yadav et al. 2017; Ren et al. 2018). No entanto, a co-digestão ainda se encontra em processo de desenvolvimento desde a década de 1980 e os adequados resultados do processo dependem das características do material utilizado (Mehariya et al. 2018a). Além disso, o processo de co-digestão é afetado por diferentes parâmetros operacionais, como temperatura, pH, configuração do sistema de digestão (um ou dois estágios), conteúdo de umidade e o teor de sólidos, segundo resultados de diferentes pesquisas (Sánchez Hernández and Travieso Córdoba 1993; Schievano et al. 2010, 2012; Yi et al. 2014; Li et al. 2017b; Krishnan et al. 2017).

Esta pesquisa teve como objetivo principal explorar o potencial da produção de biogás obtido no processo de co-digestão de lodo anaeróbio com macrófitas da família *lemnáceae* (*Lemna minor*, *Spirodela intermedia*, *Spirodela polyrrhiza*, *Wolffia columbiana*) cultivadas em lagoas aplicadas ao tratamento de efluente doméstico. Para atendimento ao objetivo proposto, foram realizados ensaios empregando biodigestores operados em batelada com diferentes valores da relação inóculo/substrato (I/S), temperatura, efeito da mistura do conteúdo dos digestores e pré-tratamento mecânico sobre a biomassa.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Avaliar o potencial de geração de biogás por co-digestão anaeróbia da biomassa flutuante produzida em lagoas de alta taxa com lodo anaeróbio proveniente de reator UASB tratando efluente doméstico.

### **2.2. Específicos**

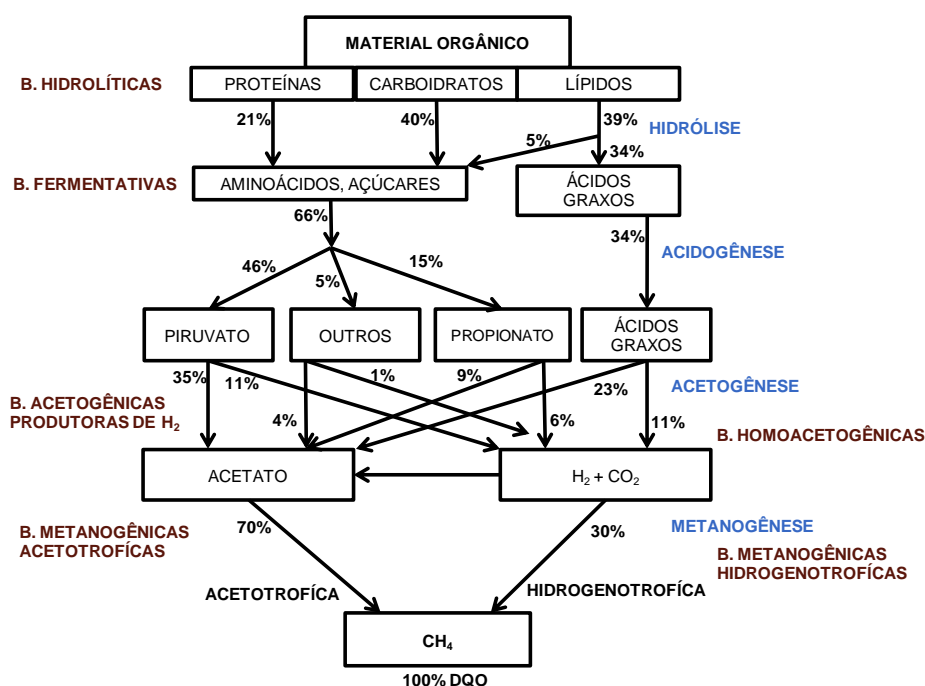
- Avaliar a produção de biogás em função da relação inóculo (I) e substrato (S).
- Determinar o efeito do pré-tratamento físico da biomassa sobre potencial de produção de biogás.
- Identificar o efeito da temperatura de operação sobre a produção de biogás.
- Avaliar a produção de biogás em função do regime de mistura.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Digestão Anaeróbia

O processo da digestão anaeróbia consiste principalmente na conversão da matéria orgânica por um conjunto de microrganismos na ausência de oxigênio molecular. O principal subproduto desta degradação é o biogás, composto usualmente de 70% por gás metano e 30% de uma mistura de dióxido de carbono e de outros gases como Nitrogênio, Hidrogênio, Nitrogênio amoniacal e Sulfetos de hidrogênio, sendo este último o responsável dos maus odores durante o processo (Moreno Jiménez and Orozco J. 1996).

A conversão requer a produção de intermediários adequados para transformar a matéria orgânica em substratos simples fermentáveis pelas bactérias metanogênicas. O processo de digestão anaeróbia pode ser subdividido em quatro fases principais incluindo hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese como apresentado na Figura 1.



**Figura 1.** Etapas do metabolismo anaeróbio e os principais compostos de cada fase: (1) hidrólise de material orgânico complexo, (2) acidogênese de açúcar e aminoácidos, (3) acetogênese de ácidos graxos de cadeia longa, (4) acetogênese do propionato, piruvato, butirato e valerato, (5) metanogênese acetotrófica e hidrogenotrófica.

Fonte: Adaptado de (Campos 1999; Mata-Alvarez 2003a)

A hidrólise é a primeira fase da degradação anaeróbia, sendo sua função principal transformar moléculas orgânicas complexas (lipídios, proteínas e carboidratos) em compostos

orgânicos simples, tais como aminoácidos, açúcares, ácidos graxos, (Peña Toro 1996).

O processo de fracionamento da matéria orgânica ocorre no exterior das células das bactérias devido à ação de catalisadores biológicos, chamados exoenzimas que podem ser produzidas por bactérias acidogênicas ou fermentativas. Os monômeros formados nesta etapa ficaram disponíveis para seu aproveitamento por outros microrganismos (Mata-Alvarez 2003b).

Na acidogênese são produzidos diferentes compostos no interior das células dos microrganismos a partir dos produtos gerados na hidrólise, sendo que os produtos do processo da acidogênese ou fermentação incluem os ácidos intermediários mais relevantes para o processo de digestão anaeróbia: os ácidos graxos voláteis (AGV) como acético, propiônico, butírico e valérico. As concentrações dos produtos formados variam de acordo com o tipo de bactérias e as condições do meio de reação tais como, temperatura e pH (Liu 2003). Além dos ácidos, a acidogênese produz dióxido de carbono e hidrogênio como subproduto, sendo a concentração do hidrogênio no meio um elemento regulador do metabolismo do processo, influenciando as vias de formação do metano (Azevedo 2010).

A etapa acetogênica consiste principalmente na formação de ácido acético, um dos processos é conhecido como acetogênese acidoclástica que ocorre a partir da oxidação de compostos reduzidos (álcoois, ácido butírico e propiônico) formados na acidogênese a dióxido de carbono e acetato. Nesta fase as bactérias podem transformar a mistura de dióxido de carbono e hidrogênio e açúcares (glicose e frutose) em acetato num processo conhecido como homoacetogênese (Mata-Alvarez 2003a). Cerca de 70% da DQO presente no afluente se converte em ácido acético (Haandel and Lettinga 1994).

A metanogênese é a última etapa da digestão anaeróbia, a qual é desenvolvida pelas bactérias metanogênicas. A metanogênese tem duas vias principais para a produção do gás metano. A primeira via é a metanogênese acetotrófica que consiste na quebra de ácido acético pelas bactérias acetotróficas, e a outra via é a metanogênese hidrogenotrófica que consiste na redução de dióxido de carbono (McCarty 1964; Khanal 2008; Grady Jr et al. 2011). Na digestão anaeróbia a via principal da conversão da matéria orgânica em metano é a metanogênese acetotrófica com aproximadamente 70% da remoção. A metanogênese hidrogenotrófica aporta quase 30% na conversão da matéria orgânica em metano. Portanto, uma condição necessária para obter uma ótima remoção da matéria orgânica num sistema anaeróbio seria que a metanogênese acetotrófica tivesse um desenvolvimento superior ou mais eficiente (Haandel and Lettinga 1994; Madigan et al. 1997).

A digestão anaeróbia é um processo complexo em que os diferentes substratos

orgânicos são digeridos simultaneamente dentro de um único sistema. Diferentes parâmetros influenciam a eficiência e a composição dos produtos gerados no processo, deste modo, é importante manter parâmetros como temperatura, AGVs, pH, Nitrogênio amoniacal, nutrientes, oligoelementos entre outros, dentro da faixa apropriada ao longo do tempo de corrida do reator anaeróbio (Zhang et al. 2014).

### **3.2. Parâmetros do processo da digestão anaeróbia (DA)**

A DA é um processo complexo que envolve consórcios de microrganismos agindo em cada etapa específica, para manter as reações bioquímicas que permitam ter as condições propícias para a conversão da matéria orgânica em biogás. Por ser um processo sequencial que depende de interações microbianas é preciso avaliar continuamente parâmetros do processo que permitam comprovar as condições favoráveis da digestão anaeróbia.

#### **3.2.1. Parâmetros de controle DA**

A boa operação dos biodigestores anaeróbios está baseada no monitoramento de vários parâmetros operacionais, nem todos proporcionam dados confiáveis para poder tomar decisões que permitam evitar desequilíbrio nos biodigestores anaeróbios. A seguir estão descritos os parâmetros mais utilizados como indicadores da estabilidade e da evolução do processo anaeróbio.

##### **3.2.1.1. Alcalinidade**

A alcalinidade é uma medida da capacidade da água ou de uma solução aquosa para neutralizar ácidos. Esta capacidade tampão é vital para os processos de digestão anaeróbia já que neutraliza eventual produção de ácidos graxos (acético, propiônico, butírico) em excesso (de Lemos Chernicharo 2007).

A forma de alcalinidade de interesse para os processos anaeróbios é a alcalinidade de bicarbonatos, a qual é a principal fonte de capacidade tampão na faixa de pH neutro (Ward et al. 2008).

A alcalinidade é devida principalmente à presença de íons bicarbonato e carbonato, sendo a alcalinidade parcial medida a pH 5,75, a qual depende especialmente da concentração do bicarbonato, a que consiste em maior utilidade para o controle do processo biológico



(Björnsson et al. 2000; Jantsch and Mattiasson 2004).

### **3.2.1.2. pH**

O pH é um dos parâmetros que tem incidência direta sobre a evolução do processo biológico de digestão anaeróbia devido ao efeito que pode ter sobre a flora microbiana atuante. No processo de degradação anaeróbia existem diversos tipos de bactérias acidogênicas e metanogênicas, sendo que o estabelecimento de um equilíbrio ecológico entre espécies de microrganismos anaeróbios é de essencial importância para a eficiência do sistema de tratamento (Angelidaki et al. 2009).

Os diferentes grupos bacterianos apresentam níveis de atividade satisfatórios em valor de pH próximos ao neutro, nas etapas de hidrólise e acidogênese, o pH ótimo deve estar em torno de 5,5 e 6,5 (Ward et al. 2008; Ogejo et al. 2009). Na acetogênese o pH recomendado situa-se na faixa de 4,0 a 8,5 e na metanogênese o pH ideal para os microrganismos é próximo a 7,0 (Kwietniewska and Tys 2014). Contudo, a faixa de pH mais favorável para a produção máxima de biogás é de 6,8 a 7,2 (Appels et al. 2008).

As bactérias metanogênicas diminuem sua atividade em valores de pH acima de 7,8 ou abaixo de 6,3; se o pH do reator continua diminuindo até 5,5 a atividade desse grupo cessa completamente. Com um pH próximo de 4,5 a atividade microbiana dos outros grupos microbianos é interrompida (Yadvika et al. 2004).

O pH é um parâmetro prático na sua determinação quando comparado com outros parâmetros e, embora a medição seja simples e rápida, em alguns casos o parâmetro não resulta um indicador efetivo (Björnsson et al. 2000). A produção volumétrica e/ou a avaliação da qualidade do biogás são exemplos de parâmetros indicativos da condição do processo.

Com a avaliação contínua deste parâmetro é possível determinar a toxicidade de determinados compostos presentes no meio, pois um aumento significativo dos AGVs e nitrogênio amoniacal, especialmente na forma não ionizada, pode afetar o metabolismo dos microrganismos e alteração da atividade enzimática (Ward et al. 2008).

### **3.2.1.3. AGV**

Os AGVs (ácido acético, propiônico, butírico) são os produtos intermédios mais importantes do processo de digestão anaeróbia da matéria orgânica degradável (Smith 1973). Valores elevados dentro do sistema podem provocar o decréscimo do pH se o sistema não

tiver capacidade tampão (alcalinidade) adequada para neutralizar os ácidos acumulados. Os AGVs desempenham um papel importante no monitoramento da estabilidade dos biodigestores anaeróbicos, mostrando uma resposta rápida nas alterações no sistema, por exemplo, no caso de sobrecargas orgânicas (Ahring 1995), ou, no caso da introdução de um tóxico.

Os AGVs são indicadores de equilíbrio entre as bactérias acetogênicas e as bactérias metanogênicas principais grupos de microrganismos responsáveis pela biometanização. É recomendável o monitoramento periódico deste parâmetro para detectar possíveis desbalanceamentos do processo. Foi relatado que os processos de digestão anaeróbica opera numa ampla gama de concentrações de AGV (100 mg / L a mais de 5.000 mg / L) desde que a faixa do pH adequada seja mantida (Droste 1997).

Existem diversos métodos para a medição dos AGVs, entre os mais comuns estão os de separação cromatográfica, destilação e titulométricos. Novas técnicas e tecnologias têm sido estudadas nos últimos anos orientadas para a estimativa total e parcial dos ácidos orgânicos empregando novos sensores, espectroscopia de infravermelho e técnicas de cromatografia para a análises individual dos mesmos (Pind. et al. 2003; Jacobi et al. 2011). O emprego de cada técnica para determinação dos AGVs depende da disponibilidade, em certos casos, de equipamentos especializados e de pessoal qualificado o que pode representar altos custos operacionais para controle do processo (Cavalcanti and van Haandel 2000).

#### **3.2.1.4. Biogás**

Biogás é o produto da digestão anaeróbia constituído principalmente por metano e dióxido de carbono, e dependendo do tipo de substrato, do pH e da temperatura, pode conter outros gases como hidrogênio, Nitrogênio amoniacal, vapor de água, gás sulfídrico e outros gases ou compostos evaporáveis (Angelidaki et al. 2018).

O biogás é uma fonte de energia renovável e em geral, a composição do biogás varia de 55 a 80% de metano e de 20 a 45% de dióxido de carbono. Do biogás, o metano é o composto que tem poder calorífico e que pode ser queimado para gerar calor, eletricidade ou ambos (Ogejo et al. 2009).

O biogás tem vantagens em relação a outras fontes de energia renovável. Como por exemplo, pode ser produzido segundo a demanda ou necessidade, pode ser facilmente armazenado e distribuído através da infraestrutura existente e usado nas mesmas aplicações que o gás natural, e pode substituir os combustíveis fósseis no setor de transportes

(biometano) (Holm-Nielsen et al. 2009).

A produção de biogás está relacionada com a concentração de AGVs que são os principais produtos intermediários durante a digestão anaeróbia e, segundo Siegert e Banks (2005), em concentrações superiores a 6.000 mg/L ocorre diminuição considerável na produção de biogás. A diminuição na produtividade específica de CH<sub>4</sub> e acumulação de ácido propiônico causa uma extinção completa da atividade metanogênicas no processo anaeróbio (Wang et al. 2009).

O monitoramento da produção de biogás é um indicador do estado do processo de degradação anaeróbia. Mas para poder ter informações mais precisas para tomada de decisões é necessário conhecer os níveis de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> (Parajuli 2011).

De igual forma, o monitoramento da composição do biogás permite prever um aumento ou diminuição na concentração da alcalinidade no sistema pela maior ou menor concentração de CO<sub>2</sub> (Lue-Hing 1998).

### **3.2.1.5. Inibidores**

Segundo Lettinga (1995), os compostos mais inibidores do sistema anaeróbio são os AGVs produzidos em excesso, sulfeto de hidrogênio e nitrogênio amoniacal. Na literatura é relatada uma ampla variedade de compostos que podem afetar o processo de conversão anaeróbia, da mesma forma, não existe um consenso sobre os valores mínimos e máximos em que ocorre desbalanceamento do processo anaeróbio.

Os inibidores causam alterações adversas na população microbiana ou limita o crescimento bacteriano, sendo que as mudanças microbiológicas do processo anaeróbio geralmente são indicadas pela redução na produção de biogás e pelo acúmulo de ácidos orgânicos (Chan et al. 2009).

O nitrogênio amoniacal é um dos compostos mais pesquisados na degradação anaeróbia como agente inibidor (Calli et al. 2005). O nitrogênio amoniacal em ambiente aquoso encontra-se em equilíbrio na forma livre (gasosa - NH<sub>3</sub>) e íon amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). O pH e a temperatura da água são os principais fatores que afetam a proporção entre as duas formas de nitrogênio. Contudo o nitrogênio amoniacal na forma livre (NH<sub>3</sub>) é tóxico em concentrações muito mais baixas do que comparado com o íon amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (McCarty 1964; de Lemos Chernicharo 2007).

Embora seja considerado um composto problema para o processo, o nitrogênio é também um nutriente essencial na atividade metabólica dos microrganismos, sendo que

concentrações de nitrogênio amoniacal abaixo de 200 mg/L tem um efeito benéfico sobre o processo (McCarty 1964; Khanal 2008). São identificados três tipos de mecanismos pela inibição do nitrogênio amoniacal: alteração do pH intracelular, incremento no requerimento energético para manutenção e a inibição de reações enzimáticas específicas (Wittmann et al. 1995).

Sutaryo et al. (2014), estudaram o efeito de cinco diferentes concentrações de nitrogênio amoniacal e amônia livre no rendimento de metano e no desempenho do biodigestor em condições termofílicas (50 °C). O resultado do estudo mostrou que o rendimento de metano diminuiu em 24, 30, 52 e 66% nos biodigestores que apresentaram concentrações de 2,9, 3,6, 4,4 e 5,1 g/L de nitrogênio amoniacal, respectivamente. Acúmulo de AGVs (isobutírico e isovalérico) e o rendimento de metano foram indicadores da inibição por nitrogênio amoniacal no processo.

Existe uma ampla gama de concentrações de nitrogênio amoniacal total reportadas na literatura que causa efeito inibidor no processo anaeróbio, com redução de 50% na produção de metano em concentrações de 1,7 a 14 g/L de nitrogênio amoniacal total (Chen et al. 2008). A diferença nas concentrações de inibição do nitrogênio amoniacal reportadas pode estar relacionada com os tipos de inóculo e substrato utilizados no processo de digestão, ao período de aclimação e às condições ambientais (pH e temperatura) (van Velsen 1979; de Baere et al. 1984; Hashimoto 1986; Angelidaki and Ahring 1994).

Para McCarty (1964), concentrações superiores de 3 g/L de Nitrogênio amoniacal total inibe o processo de digestão anaeróbia para qualquer valor de pH. Para concentrações inferiores de 3 g/L o efeito inibidor é efetivo apenas para a faixa de pH de 7,4 a 7,6.

Liu and Sung (2002), realizaram testes de toxicidade anaeróbica para concentrações de 0,40, 1,20 e 3,05 g/L de nitrogênio amoniacal total, sendo que biomassa aclimatada com concentrações maiores de nitrogênio amoniacal pode suavizar o efeito inibidor sobre o processo. Também foi determinado que 10 g/L nitrogênio amoniacal foi a concentração letal para organismos metanogênicos independentemente da concentração de aclimação da biomassa e a faixa de pH de 7,0 e 7,5 foi a que apresentou maior atividade metanogênica mostrando que a aclimação pode aumentar a faixa de tolerância ao pH dos microrganismos metanogênicos.

Mata-Alvarez et al. 2000, citando diferentes autores, especifica que para a faixa de pH de 6,5 a 8,5 a atividade metanogênica sofre alterações por aumento na concentração de nitrogênio amoniacal ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ). Perda de 10% na atividade metanogênica para concentrações de 1.670 a 3.720 mg  $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$ , de 50% com concentrações de 4.090 a 5.550

mg  $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$  e de 100% para concentrações de 5.880 a 6.600  $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$ . Do mesmo modo, quando a concentração de  $\text{NH}_3$  foi superior a 500 mg  $\text{NH}_3\text{-N/L}$  o desbalanço do processo anaeróbio foi notável, confirmado que a concentração de  $\text{NH}_3$  tem maior incidência sobre os microrganismos que a concentração de  $\text{NH}_4^+$ .

Outras substâncias que podem afetar o processo em concentrações elevadas são os metais alcalinos como o magnésio, cálcio, sódio e o potássio e alguns metais pesados como o zinco, cromo e o cobre (Ogejo et al. 2009). Alguns destes elementos são importantes para o crescimento da biomassa e outros ajudam na manutenção da atividade enzimática ou de coenzimas (Ward et al. 2008).

### **3.2.2. Parâmetros de operação**

A revisão da bibliografia teve seu foco na apresentação dos parâmetros de operação de maior interesse para processos operados em bateladas e estão apresentados a seguir:

#### **3.2.2.1. Relação Inóculo/Substrato (I/S)**

A literatura atual tem demonstrado que o rendimento e a taxa de produção de metano dependem especificamente do substrato e do inóculo (Eskicioglu and Ghorbani 2011). A relação I/S faz referência à quantidade de inóculo usada com relação à quantidade de substrato ou resíduo, os quais são parâmetros normalmente quantificados em termos de massa de SV. Na relação de I/S em que a massa de inóculo é maior, pode ser obtida atividade microbiana satisfatória, baixo risco de sobrecarga no sistema e baixo risco de inibição e que seja alcançada maior produtividade específica de metano (Angelidaki and Sanders 2004).

O efeito da relação de I/S (ou S/I) tem sido objeto de estudo por diferentes autores que indicam incidência direta na produção de biogás (Hashimoto 1989; Nallathambi Gunaseelan 1995; Neves et al. 2004; Raposo et al. 2006, 2009; González-Fernández and García-Encina 2009; Liu et al. 2009a; Zhou et al. 2011; Xu et al. 2012b; Dechruga et al. 2013; Benito and Greger 2017; Li et al. 2018). González-Fernández e García-Encina (2009), advertem sobre a importância do uso adequado da relação S/I para obter um melhor controle do processo de digestão anaeróbia.

Raposo et al. (2009), determinaram a influência da relação I/S no processo de digestão anaeróbia de torta de óleo de girassol utilizada como substrato e lodo granular de reator anaeróbio com inóculo, e os resultados do estudo demonstraram estabilidade no processo para

relações de I/S de 3.0, 2.0, 1.5, 1.0, 0.8 e 0.5. As constantes cinéticas aparentes para a degradação de sólidos voláteis e produção de metano diminuíram quando os valores da relação de I/S passaram de 3.0 a 0.5, evidenciando a ocorrência de uma condição desfavorável à medida que a quantidade de substrato foi incrementada.

Benito e Greger (2017), testaram cinco relações S/I (0.17, 0.35, 0.53, 0.70 e 1.88) para a co-digestão de *Lolium perenne* e lodo anaeróbio. Os resultados do estudo mostraram que o sistema em bateladas não apresentou inibição permanente nem cessação na produção de metano nas diferentes relações S/I. Não obstante, foram observados sinais de instabilidade e um rendimento de metano 28% menor para a relação 1,88.

Hobbs et al. 2018, avaliaram o potencial de produção de biogás utilizando quatro relações S/I=0.42, 1.42 e 3.0 (g resíduos alimentares em termos de DQO/g lodo de digestor anaeróbio em termos de SV). O estudo demonstrou que a relação S/I afeta a remoção de DQO como CH<sub>4</sub>. No caso, a relação 0.42 apresentou 69% de eficiência na conversão da DQO para CH<sub>4</sub>, de 90% para a relação 1.42 e de 57% para a relação 3.0, resultando em um menor rendimento de metano para a relação 3.0. A relação 1.42 proporcionou melhor equilíbrio entre alto desempenho metanogênico e tempo de produção do biogás.

### **3.2.2.2. Temperatura**

A temperatura afeta diretamente a atividade dos diferentes microrganismos encarregados da conversão da matéria orgânica, sendo que a produtividade de biogás tende a decrescer com temperaturas abaixo de 15°C (Mills 1979; Safley and Westerman 1992).

Os microrganismos são classificados dentro de categorias com base na temperatura ideal no intervalo no qual as espécies são capazes de crescerem e metabolizarem o substrato orgânico (Lettinga et al. 2001). Os ambientes anaeróbios em relação à temperatura podem subdividir-se em três categorias: psicrófila (0 a 20°C), mesófila (20 a 45°C), termófila (45 a 60°C) (Safley and Westerman 1992). Mudanças acentuadas da temperatura no interior do reator podem gerar problemas críticos de desequilíbrio operacional podendo inclusive levar a perda completa da flora microbiana metanogênica.

Para McCarty (1964), a eficiência de tratamento anaeróbio aumenta com temperaturas na faixa de 35 a 37 °C (temperatura mesófila) e para temperatura termófila próxima de 55 °C é possível atingir eficiências de tratamento mais elevadas. Mas considerações práticas indicam que a operação dos biodigestores é mais confiável a temperatura mesófila de 35 °C.

Haandel e Lettinga (1994), distinguem uma região de digestão mesófila, abaixo de

45°C, e uma região termofílica acima desta temperatura. Em geral são distinguidos dois intervalos ótimos de temperatura para a digestão anaeróbia: mesofílica: 25 a 40 °C e termofílica: 50-60°C (Hammad et al. 1999).

### 3.2.2.3. Carga orgânica

A conversão da matéria orgânica em biogás está diretamente relacionada com a carga orgânica de operação do biodigestor. O termo habitual utilizado na digestão anaeróbia é carga orgânica volumétrica (COV) que relaciona a quantidade de resíduo aplicado ao reator diariamente expresso em quilogramas de SV ou de DQO (kg SV/m<sup>3</sup>.d ou kg DQO/m<sup>3</sup>.d) (Ogejo et al. 2009).

Normalmente esta terminologia é aplicada em biodigestores de fluxo contínuo. Em biodigestores descontínuos (ou batch) a COV deve ser calculada em relação ao tempo total de operação de cada batelada.

A produção de biogás aumenta conforme o incremento da COV, mas esse incremento atinge um valor determinado e o sistema é susceptível de sofrer perturbações no equilíbrio e na produtividade devido a COV elevadas (Lim et al. 2008).

A adição de um volume grande de substrato ao sistema diariamente pode resultar em inibição bacteriana da metanogênese causada por uma alta atividade bacteriana das fases iniciais de hidrólise/acidogênese. Esta alta atividade pode causar um aumento na produção de AGVs que as baterias metanogênicas não conseguem converter na sua totalidade em metano induzindo o sistema a acidificação irreversível do processo anaeróbio (Mao et al. 2015).

A carga orgânica e a temperatura influenciam os consórcios de bactérias do processo anaeróbio. Zielińska et al. 2013 encontrou um aumento de 9,7% para 17,7% na quantidade de *Archaea* quando a carga orgânica aplicada passou de 1 para 2 kg DQO/m<sup>3</sup>.d de água residual de laticínios a 35 °C de aplicação do teste. O experimento foi realizado em um reator anaeróbio híbrido de 100 L de volume útil operado a 35 e 55 °C.

Existem diferentes faixas de COV recomendadas para operação de biodigestores anaeróbios, sendo que o valor da carga orgânica aplicada depende de fatores como o tipo de tecnologia empregada no reator e das características do resíduo que será tratado. Para biodigestores úmidos, com concentração de ST menor que 10%, a COV recomendada de operação se situa na faixa 1-4 kg SV/m<sup>3</sup>.d. Para biodigestores a seco, com conteúdo de ST entre 20 e 40%, a COV aplicada é maior de 7 a 15 kg SV/m<sup>3</sup>.d.

Comino et al. (2010), investigaram o aumento da taxa de carga orgânica em uma

estação piloto de biogás. O experimento de co-digestão foi realizado com estrume de vaca e silagem de capim. Os resultados mostraram que a produção específica de metano foi afetada quando a proporção de co-substrato foi aumentando. Ao final do monitoramento, o rendimento específico de metano foi de 273, 249 e 61,6 L CH<sub>4</sub>/kg SV para as cargas de 4,45, 5,15 e 7,78 g SV/L.d, respectivamente.

#### **3.2.2.4. Tempo de detenção**

O tempo de detenção afeta diretamente a eficiência do reator em relação a degradação de matéria orgânica e produção específica de metano. São usualmente empregados dois termos: o TDH (tempo de detenção hidráulica) e o TDS (tempo de detenção de sólidos). O primeiro se refere ao tempo que a fase líquida fica no reator e o TDS faz referência ao tempo médio que a biomassa é retida no sistema.

Em biodigestores operados em bateladas para o tratamento de resíduos sólidos orgânicos a seco ou úmido, com ou sem mistura, o TDH e o TDS são iguais devido que a remoção de todo o conteúdo do reator é feita ao final de cada batelada.

A NBR 12209 e a VDI 4630 alemã, sugerem diferentes tempo de digestão do processo dependendo do tipo de tecnologia do biodigestor, do tipo de substrato, do escopo da pesquisa etc.

#### **3.2.2.5. Tamanho de partícula**

A biodegradação de substratos particulados pode ser significativamente aumentada pela redução do tamanho das partículas. A hidrólise é uma fase limitante no processo de digestão anaeróbia, sendo que alguns autores destacam que o fenômeno tem lugar na superfície dos substratos complexos e outros afirmam que para uma digestão completa da matéria orgânica é preciso a formação de biofilmes na superfície das partículas (Raposo et al. 2011).

O controle do tamanho de partícula em biodigestores não só afeta a área específica disponível dos substratos com baixa biodegradabilidade, mas também beneficia a operação dos biodigestores prevenindo possíveis entupimentos e uma possível diminuição do tempo de detenção de sólidos, como foi demonstrado por Mshandete et al. (2006). Os citados autores avaliaram o efeito do tamanho de partícula de resíduos de fibra de sisal (*Agave sisalana*) sobre o grau de biodegradação e sobre o potencial de produção de biogás. Os tamanhos



testados no estudo variaram de 2 a 100 mm. A biodegradabilidade das fibras incrementou em de 31 a 70% para o menor tamanho de partícula e, da mesma forma, os valores do rendimento de metano tiveram um comportamento inverso ao diâmetro de partícula.

Hajji e Rhachi (2013) determinaram a influência do tamanho de partícula no desempenho da digestão anaeróbia de resíduos sólidos urbanos. Para tal fim, foram avaliados diferentes diâmetros de partícula (10, 20, 30 e 100 mm) num reator operado em batelada com um TDH de 21 dias e 40°C. Os resultados obtidos evidenciaram uma alta correlação entre o tamanho de partícula do substrato e a produção de biogás, sendo que o melhor resultado de desempenho foi obtido para partículas de tamanho 10 mm, com 20% a mais na produção de biogás em comparação com os outros diâmetros de partícula.

Angelidaki et al. (2000), obtiveram 25% de incremento na produção de biogás devido ao pré-tratamento mecânico (maceração) do material particulado do esterco. Os autores recomendam este método devido ao seu baixo custo operacional e pelos resultados obtidos na degradação do material fibroso. Raposo et al. (2012), sugere um tamanho de partícula de  $\leq 10$  mm, de igual maneira é recomendado reduzir o tamanho do material orgânico até alcançar o tamanho desejado.

Mas nem todas as pesquisas reportaram benefícios no processo anaeróbio pela redução do tamanho de partícula. No caso, Chynoweth et al. (1993) e Gunaseelan et al. (1997) determinaram que a fragmentação extensiva do material pode ser antieconômica devido ao uso excessivo de energia. Na digestão seca da fração de resíduos sólidos urbanos em biodigestores com alimentação contínua e descontínua sem mistura, o reduzido tamanho de partícula permite o acúmulo do material orgânico no fundo do reator o que dificulta o manuseio do mesmo (Vandevivere et al. 2003).

Embora na literatura exista uma ampla faixa de tamanhos de partícula recomendada é preciso avaliar o tamanho de partícula ótimo para cada caso em função da tecnologia empregada e o tipo de substrato (Zhang and Banks 2013).

### **3.3. Macrófitas da família *Lemnaceae***

A *Lemnaceae* (Duckweed) é uma macrófita morfológicamente de tamanho reduzido, e dependendo da espécie, o tamanho pode variar de menos de um a vários milímetros de diâmetro. Esta planta é comumente conhecida como “lentilha d’água”, e possui 37 espécies e cinco gêneros (*Spirodela*, *Lemna*, *Wolffiella*, *Wolffia* e *Landolita*) (Cheng and Stomp 2009).

São monocotiledôneas aquáticas endêmicas de lagos, lagoas e corpos de água salobros

na maioria dos continentes (Appenroth et al. 2013). Estas angiospermas têm uma taxa de crescimento alta, dobrando sua biomassa em questão de dois ou três dias.

A produção de biomassa dependerá principalmente da disponibilidade de nutrientes, da temperatura e da luminosidade (Journey et al. 1993). A *Lemna gibba*, *Wolffia brasiliensis*, *Landoltia punctata*, *Spirodella polyrrhiza*, *Wolffiella lingulata* são algumas espécies deste grupo.

As *Lemnáceas* estão sendo utilizadas principalmente na remediação de águas residuais domésticas e industriais. A utilização de lagoas de cultivo de macrófitas pode aliar o controle da poluição dos recursos hídricos mediante o tratamento de efluentes a nível secundário e terciário, além da geração de biomassa que pode ser aproveitada como matéria-prima para a geração de energias renováveis, agregando valor à biomassa produzida através do tratamento de efluentes (Oswald 1988; Grobbelaar 2009; Powell et al. 2011; Hadiyanto and Soetrisnanto 2013). As macrófitas são também uma fonte viável de biomassa para a geração de uma variedade de energias renováveis como combustão, gaseificação, biometanização, biodiesel, bioetanol e pirólise (International Energy Agency 2010; International Renewable Energy Agency 2012).

Estudos recentes visam identificar alternativas sustentáveis para sua aplicação em escala real, visando à valorização dos subprodutos gerados no processo, tais como a alimentação animal, compostagem e produção de bioenergia.

Alimentação animal: Devido ao seu alto valor nutricional as macrófitas se tornam uma boa alternativa de alimentação ou suplemento de alimentação para animais (peixes, patos, galinhas, porcos, cavalos e ruminantes, caracóis, camarão de água doce) e possivelmente para humanos (Iqbal 1999). Ainda apresentando fatores que restringem seu uso para fins de alimentação a alternativa mais estudada e aplicada é na piscicultura.

Produção de etanol por fermentação: O sucesso do processo de fermentação para converter a biomassa vegetal em etanol depende principalmente do conteúdo de amido na planta. A fermentação do amido é um pouco mais complexa do que a fermentação dos açúcares porque o amido deve primeiro ser transformado em açúcar e depois em etanol. A produção de etanol a partir de amido envolve uma série de processos, especificamente; gelatinização, hidrólise e liquefação de amido e fermentação da dextrose resultante (Lin Shuzo Tanaka 2006).

Digestão Anaeróbia: A digestão anaeróbia é uma das tecnologias de recuperação de bioenergia eficaz e de baixo custo das plantas aquáticas (Abbasi et al. 1990; O'Sullivan et al. 2010). Na digestão anaeróbia além de gerar biogás com propriedades caloríficas para ser

usado, os subprodutos como o digestato e o fluido digerido podem ser aproveitados como fertilizantes ou em diversas aplicações como na recuperação de áreas degradadas. Estudos anteriores reportaram que a produção de metano de plantas aquáticas flutuantes, emergentes e submersas variou muito dependendo da espécie. Como por exemplo, de 66 mL/gSV para a emergente *Scirpus sp.*, de 333 mL/gVS para a *Elodea nuttallii* (submersa) e de 173 mL/gVS para a *Cabomba caroliniana* aquática do tipo flutuante (Abbasi et al. 1990; O'Sullivan et al. 2010; Muñoz Escobar et al. 2011).

A biomassa vegetal é geralmente rica em materiais lignocelulósicos, lipídios, proteínas, amido e fibras, o que a torna um recurso apropriado de matéria-prima não agrícola para a produção sustentável de biocombustível (Farrell and Gopal 2008; Verma and Suthar 2014; Vassilev et al. 2015).

A *Spirodella polyrrhiza* tem um alto valor nutritivo e segundo o estudo de Ansal e Dhawan (2007), esta espécie apresenta 30,52% de proteína, 1,97 de gordura, 17% de fibras e 9,45% de cinzas, resultado que viabiliza seu uso na geração de bioenergias. As características químicas da Lemna (seca) têm revelado a presença de carboidratos (17,6-35%), amido (21-38%), proteína bruta (16-41,7%), fibra bruta (8,8-15,6%) e lipídios (4,5-9%) (Cheng and Stomp 2009; Xu and Shen 2011; Xiao et al. 2013; Zhao et al. 2015).

Bergmann et al. (2000), no estudo que avaliaram o desempenho de 12 espécies de macrófitas aplicadas ao tratamento de dejetos suínos, encontraram que espécies como a *Spirodela punctata*, *Lemna gibba* e a *Lemna minor* apresentaram alta produção de proteína em um período de 11 dias. Outros autores (Landolt and Kandeler 1987; Leng et al. 1995) descreveram aumento e diferença entre a composição de proteína e fibra produzida em lagoas de tratamento de efluentes quando comparada com lagoas naturais.

Pesquisas recentes com macrófitas apresentam valores de remoção de nutrientes como fósforo (50-90 %) e nitrogênio (30-60 %), do meio líquido, proporcionando um efluente de baixa concentração de nutrientes (Porath and Pollock 1982; Lin Shuzo Tanaka 2006; Henry-Silva and Camargo 2006; Sindilariu et al. 2009; Gómez et al. 2016).

Em climas temperados, a utilização de *lemnáceas* no tratamento secundário de efluentes demonstrou altas taxas de remoção de DBO e sólidos suspensos (Bonomo et al. 1987). A densa manta de *Lemnáceae* inibe a atividade fotossintética realizada por organismos fitoplanctônicos devido à baixa penetração de luz, o que impede o crescimento e proliferação de algas (Journey et al. 1993; Leng et al. 1995; Iqbal 1999; Steen et al. 1999).

As *Lemnáceae* apresentam elevada taxa de remoção e recuperação de nitrogênio e fósforo no efluente de suínos (Cheng and Stomp 2009; Zhao et al. 2015; Gómez et al. 2016;

Li et al. 2017a), obtendo valores de remoção de nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) de até 96% e 89% (Mohedano et al. 2012).

### **3.4. Co-digestão como alternativa para potencializar a digestão anaeróbia**

A co-digestão é o tratamento conjunto de dois ou mais resíduos de diferente natureza, sendo que uma das principais aplicações é quando um substrato básico como lodo anaeróbio é misturado com outro substrato simples ou uma mistura de substratos (Braun and Wellinger 2002). A co-digestão de dois ou mais substratos surge como alternativa para potencializar a monodigestão visando superar as limitações econômicas e operacionais deste processo (Comino et al. 2012; Bertin et al. 2013).

Alguns dos benefícios do processo de co-digestão comprovados em diversos estudos são: o aumento na produção de biogás, maior estabilidade do processo, incremento do balanço de nutrientes e taxas de digestão, diluição de compostos tóxicos e possibilidade de aumento da carga orgânica aplicada no reator (Angelidaki and Ahring 1997; Mata-Alvarez et al. 2000; Pereira et al. 2005; Alatraste-Mondragón et al. 2006; Ağdağ and Sponza 2007; Buendía et al. 2009; Álvarez et al. 2010; Astals et al. 2012; Dai et al. 2013).

A co-digestão pode incrementar a produção de metano em digestores que utilizam estrume como co-substrato em até 25-400%, sendo que a porcentagem de incremento de biogás dependerá das condições de operação, das características e da quantidade dos substratos utilizados (Callaghan et al. 2002; Murto et al. 2004; Alatraste-Mondragón et al. 2006; Amon et al. 2006; Ferreira and Duarte 2008; Shah et al. 2015). Os benefícios citados da co-digestão podem estar relacionados com o fato da possibilidade de mistura de resíduos com características complementares (Fernández et al. 2005).

Um exemplo da interação positiva é a co-digestão de um resíduo de difícil degradação como a matéria orgânica recalcitrante junto com um resíduo com abundante matéria orgânica facilmente biodegradável. Esse sinergismo permite ajustar parâmetros como o pH, a umidade, a relação C/N, a capacidade tampão do sistema, diluição de óleo e graxa (Liu et al. 2009b; Creamer et al. 2010; Wang et al. 2011; Chiu et al. 2013; Silvestre et al. 2014; Yong et al. 2015; Pavi et al. 2017).

Mas nem todas as combinações de resíduos trazem resultados positivos. Devem ser considerados diversos fatores na escolha dos co-resíduos a tratar, sendo de crucial importância conhecer a composição química dos mesmos, a biodegradabilidade, a biodisponibilidade e a bioacessibilidade (Hagos et al. 2017). Sendo em alguns casos a acessibilidade e a

disponibilidade os critérios de seleção mais importantes devido aos custos de transporte do resíduo desde o ponto de geração até as unidades de digestão.

Mata-Alvarez et al. (2000) menciona algumas desvantagens do processo de co-digestão, pois o pré-tratamento físico ou químico do substrato pode ser requerido dependendo do tipo de resíduo a se utilizar no processo. A mistura interna do reator se faz necessária em alguns casos gerando um incremento nos custos operacionais e o requerimento de tratamento do subproduto gerado no final do processo pode ser imperativo.

A co-digestão anaeróbia tem sido amplamente utilizada para melhorar a produção de biogás dos digestores. Inúmeros trabalhos de pesquisa têm se dedicado ao estudo da co-digestão de diferentes combinações de resíduos urbanos municipais, industriais e agrícolas (Álvarez et al. 2010; Cavinato et al. 2010; Banks et al. 2011; Comino et al. 2012; Kafle and Kim 2013; Sahito et al. 2014; Elsayed et al. 2015; Hubenov et al. 2015; Abudi et al. 2016; Pavi et al. 2017; Mehariya et al. 2018b; Wei et al. 2019).

No trabalho de revisão bibliografia científica entre os anos 2010 e 2013 de co-digestão anaeróbia de Mata-Alvarez et al. (2014), foi identificado que os principais substratos utilizados no processo de co-digestão são estrume de diferentes origens (gado e suíno principalmente) (54%), lodo de estações de tratamento (22%), fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (FORSU) (11%) e outros (13%). Os co-substratos frequentemente misturados com esses resíduos são resíduos indústrias (41%), resíduos da agroindústria (23%) e resíduos urbanos (20%), outros (14%).

Cavinato et al. (2010) obtiveram um incremento de 15% de produção de biogás resultante da co-digestão de estrume bovino (sólido e líquido) e resíduos da agroindústria (milho, pão e frutas processadas), sendo que o aumento foi gerado pela alteração da temperatura de operação do digestor de mesofílica (47°C) para termofílica (55°C). A porcentagem de metano e a produção específica de biogás aumentou de 58 para 62% e de 0,54 para 0,62 m<sup>3</sup>/kgSV respectivamente, com o aumento da temperatura operacional.

Um estudo em escala piloto de Hubenov et al. (2015) utilizou uma mistura de rejeitos de vegetais (batata, tomate e pepino) e fruta (maçã) junto com esterco suíno para o processo de co-digestão, sendo o experimento realizado em um bioreator com agitação contínua e volume total de 100 L na temperatura mesofílica (34°C). Segundo os resultados a relação ótima para co-digestão de esterco suíno e os resíduos de vegetais e fruta foi de 70:30 respectivamente, reportando um aumento na produção de biogás e específica de metano quando comparado com a monodigestão de esterco. A produção de biogás e de metano foi de 1,09 m<sup>3</sup>/kgSV.d e 0,65 m<sup>3</sup>/kgSV.d respectivamente.

Elsayed et al. (2015) estudaram as possibilidades para melhorar o rendimento na produção de metano em um sistema de co-digestão anaeróbia dos substratos lodo ativado de uma ETE municipal e palha de trigo, empregando como inóculo esterco fresco de gado. O experimento foi conduzido sob condições mesofílicas (37°C) e foram estudadas cinco relações C/N (35, 25, 20, 15 e 10). A relação C/N de 15 maximizou a produção específica acumulada de metano (333,9 mL CH<sub>4</sub>/g SV<sub>ad</sub>) o que representou um aumento de 37 e 144% em comparação da digestão individual da palha de trigo e do lodo respectivamente.

Abudi et al. (2016) investigaram o efeito sinérgico entre os co-substratos FORSU (fração orgânica de resíduos sólidos urbanos), lodo ativado espessado sem tratamento e com pré-tratamento (térmico e termo-alcálico) e palha de arroz sem tratamento e com pré-tratamento químico (NaOH e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). O experimento em bateladas foi realizado com três diferentes relações de resíduos (base volume) 1:1.5:1.5; 1:0.5:0.5 e 3:0.5:0.5, respectivamente. O maior rendimento de biogás e remoção de sólidos voláteis foi obtido com a relação 3:0.5:0.5 na co-digestão de FORSU, lodo ativado com pré-tratamento termo-alcálico e palha de arroz pré-tratada quimicamente com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Foi atingida produção de biogás de 558,5 L/kgSV<sub>ad</sub>, efetivando remoção de 79,8% de SV.

Cabbai et al. (2016) testaram em um reator com agitação contínua em escala piloto (3,4 m<sup>3</sup>) a viabilidade do processo de co-digestão entre FORSU segregado na fonte e lodo de esgoto. O teste foi realizado em temperatura mesofílica (37–38°C) com seis (6) diferentes taxas de carregamento orgânico (0,8 até 3,2 kgSV/m<sup>3</sup>.d). A mistura dos resíduos favoreceu o processo de digestão anaeróbia mediante um alto conteúdo biodegradável e baixa presença de material inerte, o que permitiu alcançar elevados valores de desempenho anaeróbio e produção de biogás. O sistema alcançou uma taxa de produção de biogás de 0,95 Nm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>.d e produção específica de biogás de 0,49 Nm<sup>3</sup>/kgSV, sendo que a redução de VS foi de 67,3%.

Maragkaki et al. (2018), compararam o uso de diferentes co-substratos nomeadamente resíduo de uva, esterco de ovelha, soro de queijo, glicerol bruto e resíduos alimentares, em proporções de 5 a 10% em volume. O efeito da co-digestão de lodo primário de ETE com os co-substrato foi estudada em biodigestores em escala laboratorial sob condições termofílicas e com TDH de 24 dias. Os pesquisadores determinaram que o glicerol bruto (5% v/v) com 95% de lodo foi o melhor co-substrato com 1.751 mL biogás/L<sub>reator</sub>.d, seguido pelos resíduos de alimentos (5% v/v) com 572 mL biogás/L<sub>reator</sub>.d, soro de queijo (10% v/v) com 406 mL biogás/L<sub>reator</sub>.d, o resíduo de uva (5% v/v) com 313 mL biogás/L<sub>reator</sub>.d e, por último, o esterco de ovelha (5% v/v) com 259 mL biogás/L<sub>reator</sub>.d. Como conclusão do estudo, os autores sugerem a adição de outros resíduos (glicerol bruto, resíduos de comida e soro de queijo) ao

lodo de esgoto para aumentar a produção de biogás sem afetar a operação dos digestores existentes e sem a necessidade de instalações adicionais.

Szaja and Montusiewicz (2019), analisaram o impacto da adição de grãos residuais utilizados na produção de cerveja num processo de co-digestão de soro ácido da produção de queijo e lodo do tratamento primário e secundário de uma ETE. O estudo foi realizado em três biodigestores, operados em paralelo e 40L de capacidade, com alimentação semi-contínua operado a 35°C. Foram testados três TDH (16.7d, 18d e 20d) durante 90 dias como tempo de corrida de cada experimento. Segundo os resultados, a adição de grãos residuais da indústria cervejeira aumentou significativamente a produção de biogás e melhorou a cinética do processo. Da mesma forma, o balanço energético do processo da co-digestão dos três componentes mostrou que a produção de energia foi significativamente maior que do sistema de dois componentes (lodo de esgoto e soro ácido de queijo).

### **3.5. Co-digestão de macrófitas da família *lemnáceae* com outros resíduos**

Cornelissen et al. (2012), analisaram diferentes cenários para avaliar a possibilidade de suprir a demanda energética global com biodigestores sustentáveis de bioenergias com diversas biomassas como resíduos biológicos, resíduos agrícolas, culturas com potencial energético e espécies de microalgas. As simulações permitiram concluir que é possível contribuir com aproximadamente 95% da demanda de energia de maneira sustentável para o ano de 2050, reduzindo assim em 75-85% as emissões de gases efeito estufa quando comparado com o cenário 100% de combustíveis fósseis.

As plantas aquáticas são uma fonte alternativa de biomassa com potencial energético importante e promissor para a geração de biocombustíveis (Cheng and Stomp 2009; Xu et al. 2011; Chen et al. 2012; Cu et al. 2015; Xu and Deshusses 2015; Pena et al. 2017; Yadav et al. 2017; Gaur and Suthar 2019). Parte das macrófitas utilizadas no tratamento de águas residuárias são biomassa em excesso que precisa gerenciamento adequado. A fermentação ou a digestão anaeróbia seriam alternativas sustentáveis que auxiliariam na gestão dos subprodutos gerados no tratamento de efluentes.

Diversas tecnologias e procedimentos vêm sendo testados para o tratamento e disposição final de macrófitas, sendo que os mais aplicados são: incineração, disposição final em aterro sanitário e a digestão anaeróbia. A digestão anaeróbia é considerada a alternativa mais atraente, comparativamente ao processo de incineração e aterro sanitário devido aos custos energéticos envolvidos na incineração e pelos possíveis impactos causados pela

disposição da macrófita no aterro, principalmente o incremento na produção de lixiviado (United Nation 2003).

A maioria dos estudos sobre o uso de macrófitas como substrato na digestão anaeróbia tem como objetivo melhorar o processo num sistema de co-digestão principalmente. Clark and Hillman (1996) investigaram o impacto da adição de lentilha de água com alto conteúdo de ferro como co-substrato junto ao esterco de galinha em digestores anaeróbios de 25 L operados em modo descontínuo e semi-contínuo. Os autores observaram melhora do equilíbrio nutricional e aumento na taxa de produção de gás de 44% nos biodigestores semi-contínuos e nos descontínuos. Sendo que o pico de produção de metano com adição da macrófita ocorreu no décimo quinto dia e nos biodigestores sem alimentação de macrófitas demoraram quarenta dias.

Jiang et al. (2014), exploraram o potencial de produção de biogás de 7 espécies de plantas aquáticas (*Acorus calamus* Linn, *Typha orientalis* Presl, *Pontederia cordata*, *Canna indica*, *Colocasia tonoiimo Nakai*, *Thalia dealbata* e *Hydrocotyle vulgaris*). Os experimentos foram realizados em escala laboratorial a 37 °C em biodigestores modo batch e relação substrato inóculo de 1:1 base ST. O inóculo utilizado nos testes foi coletado de um biodigestor anaeróbio tratando efluente de sinuocultura. De modo geral, as plantas aquáticas apresentaram resultados promissores para aproveitamento energético, sendo que os valores mais altos de rendimento específico de metano foram de 629,4 e 578 mL CH<sub>4</sub>/g SV para a *Colocasia tonoiimo Nakai* e a *Thalia dealbata*, respectivamente. O rendimento de biogás mais baixo foi para a *Pontederia cordata* com 473,1 mL/g SV. Os pesquisadores concluíram que a variação no potencial de produção específica de biogás está relacionada com a composição química das plantas, principalmente com o conteúdo de hemicelulose e carboidratos de amido.

Mathew et al. (2015), avaliaram o rendimento e a qualidade do biogás gerado pela digestão anaeróbia do aguapé (*Eichhornia crassipes*) e da salvinia (*Salvinia cucullata*). Esterco de vaca foi usado como inóculo na relação inóculo:substrato de 2:1 em base SV. Os testes anaeróbios em batelada foram avaliados durante 60 dias a 37 °C. O aguapé apresentou uma produção específica de biogás de 552 L/kg SV com conteúdo máximo de metano de 62% e a salvinia apresentou rendimento menor de produção provavelmente relacionado com à menor biodegradabilidade dela, sendo que a produção de biogás e conteúdo de metano foi de 221 L/kg SV com 63% respectivamente.

Outro estudo de co-digestão anaeróbia de Yadav et al. (2017), avaliou a sinergia entre a lentilha de água (duckweed) e esterco de gado (cattle dung), sendo o experimento realizado



a 37 °C por 55 dias em um biodigestor em bateladas operado com diferentes razões de carga (lentilha:esterco = 90:10, 75:25 e 50:50, respectivamente). A produção acumulada de biogás para as razões de operação foi de 305, 11.695 e 12.070 mL. Os resultados obtidos demonstraram que a macrófita pode ser utilizada como co-substrato no processo de co-digestão com esterco bovino em uma proporção ótima de 1:1.

Pena et al. (2017) determinaram o potencial da *Lemna minor* na remoção de nutrientes em efluentes de suinocultura e a valorização da biomassa na co-digestão anaeróbia. Foi observada uma maior absorção de nitrogênio e fósforo devido ao uso de macrófitas e os resultados da co-digestão mostraram incremento na taxa de produção de biogás e na taxa de produção específica de metano de 40% e 41%, respectivamente, quando comparado com a monodigestão do efluente de suinocultura. O meio de reação do teste de co-digestão foi constituído com 100 g de *Lemna minor* por litro de efluente.

### 3.6. Co-digestão de macrófitas e lodo anaeróbio

As macrófitas desempenham um papel importante nos ecossistemas aquáticos, sendo a produção de oxigênio, remoção de poluentes, ciclagem de nutrientes alguns dos benéficos atribuídos para elas. No entanto, devido ao crescimento excessivo podem prejudicar os corpos de água. Atividades de lazer como banho, pesca, esporte e atividades econômicas como transporte e usinas hidroelétricas podem ficar significativamente comprometidas (Moeller et al. 2018).

As macrófitas também podem afetar a biodiversidade devido a sua alta competitividade e capacidade de expansão que no caso, em um ambiente favorável para sua reprodução geraria em casos extremos deslocamento total de algumas espécies ocasionando assim, redução da população nativa (Meier et al. 2014).

O uso de material vegetal para a produção de biogás via digestão anaeróbia tem sido pouco aplicado devido à complexidade na estrutura da parede celular das plantas. Uma alternativa que está suprindo essa deficiência é o uso de plantas aquáticas, e as macrófitas são adequadas para este fim devido ao baixo conteúdo de lignina que, de outro modo, dificultariam a degradação microbiana (Yadav et al. 2017). No entanto, os processos de pré-tratamento podem ser usados para quebrar a celulose, melhorando a biodegradabilidade e aumentando o rendimento do biogás.

A literatura sobre o uso de macrófitas como substrato no processo de co-digestão ainda é limitada, sendo o número de publicações relacionadas com os tópicos (*lemnáceae*+co-

digestion, duckweed+digestion anaerobic, *lemnácea*+digestion anaerobic, duckweed+co-digestion) na base de dados Web of Science muito reduzido (27 referências). A busca foi feita em agosto de 2021 e o período pesquisado foi de 1945-2021.

Informação sobre a capacidade de produção de biogás das macrófitas é incipiente considerando que são 37 espécies de *lemnácea*. Dados científicos sobre o potencial de produção de biogás de cada espécie, o efeito do tipo de água residual utilizada para o cultivo delas, condições operacionais dos biodigestores de digestão anaeróbia, entre outros, são aspectos pouco estudados até hoje.

O estudo de Toyama et al. (2018) avaliou o potencial de 4 espécies de macrófitas (*Spirodela polyrrhiza*, *Lemna minor*, *Lemna gibba* e *Landoltia punctata*) como matéria prima para a geração de biocombustíveis (etanol e metano). Para testar a biometanização das plantas foi desenvolvido um experimento de co-digestão anaeróbia misturando cada uma das macrófitas com lodo de um biodigestor anaeróbio de uma ETE. O experimento anaeróbio foi realizado a 30 °C por um período de 28 dias. O potencial de produção de metano das macrófitas foi superior ou semelhante ao de culturas tais como milho, batata, beterraba e trigo de inverno. O potencial de produção de metano foi de 413, 375, 370 e 408 NL CH<sub>4</sub>/kg SV para *Spirodela polyrrhiza*, *Lemna minor*, *Lemna gibba* e *Landoltia punctata*.

Gaur et al. (2017) avaliaram a produção de biogás do processo de co-digestão anaeróbia entre a lentilha d'água (*Lemna gibba*), lodo ativado aeróbio e lodo anaeróbio granular para a produção de biogás. Para o desenvolvimento da pesquisa foram estabelecidas cinco diferentes razões de (S/I) com e sem pré-tratamento térmico. As combinações de biomassa e lodo foram (70:20, 60:20, 50:20, 40:20 e 30: 20). O rendimento total de metano obtido foi superior para a biomassa pré-tratada em comparação com a biomassa sem pré-tratamento. A produção de CH<sub>4</sub> variou entre 60 e 468 mL CH<sub>4</sub>/g SV biomassa tratada e de 9 a 76 mL CH<sub>4</sub>/g SV para a biomassa sem pré-tratamento. O rendimento máximo de metano atingido na pesquisa foi obtido com a relação Lemna:Lodo de (50:20).

Koyama et al. (2015) investigaram o efeito do pré-tratamento alcalino-termoquímico a em duas espécies de macrófitas no desempenho da co-digestão anaeróbia utilizando como inóculo lodo anaeróbio. O rendimento obtido das espécies (*Potamogeton maackianus* e *Egeria densa*) foi de 51% e de 24% respectivamente, em comparação com as macrófitas não tratadas. Estes resultados indicaram que o pré-tratamento termoquímico alcalino poderia ser um método efetivo para a digestão anaeróbia de macrófitas ricas em lignina, mas os autores recomendam que a dose de NaOH não deve ser alta devido ao risco de inibição do processo de DA. O substrato foi pré-tratado com NaOH 0,10 e 0,20 g/g ST<sub>substrato</sub> e temperatura de 80

°C durante 3h, seguidamente de neutralização com HCl até atingir pH de 7. A proporção de substrato:inóculo foi ajustada para 1:2 com base nos SV.

No estudo de Cu et al. (2015), os autores estudaram o BPM (potencial bioquímico de metano) de 18 diferentes biomassas para a produção de biogás e uma espécie de lentilha de água a *Spirodela polyrrhiza*. A macrófita apresentou o segundo valor mais alto com 340 NL CH<sub>4</sub>/kg SV, sendo apenas menor que o de estrume de porco que alcançou o valor de 443,5 NL CH<sub>4</sub>/kg SV.

Em Bangladesh as macrófitas são consideradas como culturas energéticas não comestíveis de segunda geração, com potencial energético para produção de biocombustível, etanol e biogás, principalmente. Nahar and Sunny (2020) concluíram que a dependência do uso de combustíveis fósseis com petróleo e gás natural pode ser reduzida com o desenvolvimento de tecnologias eficientes e rentáveis para a produção de biocombustíveis utilizando as macrófitas como matéria prima.

## 4. MATERIAS E MÉTODOS

A pesquisa foi baseada no desenvolvimento de 5 ensaios com o fim de avaliar diferentes variáveis de interesse do processo de co-digestão lignocelulósico, conforme sumarizado a seguir:

- Ensaio 1: Avaliação da relação I/S empregando substrato sem pré-tratamento na condição de inverno ( $18\pm 2,4^{\circ}\text{C}$ ).
- Ensaio 2: Avaliação da relação I/S empregando substrato pré-tratado na condição de inverno ( $19\pm 1,4^{\circ}\text{C}$ ).
- Ensaio 3: Avaliação do efeito da temperatura de verão ( $26,6\pm 1,1^{\circ}\text{C}$ ) no processo de co-digestão empregando substrato sem pré-tratamento.
- Ensaio 4: Avaliação do efeito da temperatura de verão ( $25,8\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) no processo de co-digestão empregando substrato com pré-tratamento.
- Ensaio 5. Avaliação do regime de mistura dos biodigestores na produção de biogás empregando substrato com pré-tratamento, temperatura de verão ( $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e relação I/S igual a 1.0.

Ao longo dos diferentes ensaios foi monitorado a estabilidade e o desempenho do processo de digestão anaeróbia mediante a medição de parâmetros como o pH, alcalinidade, ST, SV, DQO, AGVs NTK, nitrogênio amoniacal, a produção diária volumétrica de biogás e o conteúdo de  $\text{CH}_4$ .

O desenvolvimento desta pesquisa requereu a montagem dos biodigestores, construção e calibração dos medidores de biogás, desenvolvimento dos métodos cromatográficos e caracterização física e química do inóculo, macrófitas e análises do digestato ao longo do experimento e resultante do processo de co-digestão anaeróbia.

### 4.1. Materiais

Neste item são descritos os materiais utilizados na pesquisa, tais como o reator UASB, lagoas de macrófitas, triturador, biodigestores em escala de laboratório e equipamentos e acessórios para realização das análises físicas e químicas.

O reator UASB e lagoas de macrófitas estão localizados na área experimental de

tratamento de efluentes do IPH/UFRGS, na Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) São João Navegantes do Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre, RS (DMAE). Os experimentos de co-digestão e as análises físicas e químicas foram realizadas no Laboratório de Saneamento e Tecnologias Ambientais (LADETEC) do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (IPH/UFRGS).

#### 4.1.1. Biodigestores

Para realizar os testes exploratórios de co-digestão foram construídos 15 biodigestores de 50 L de volume, empregando tubos cilíndricos de PVC com 30 cm de diâmetro e altura útil de 70 cm. Na parte lateral superior de cada biodigestor foi acoplado um Tê e válvula registro para coleta do biogás, conexão com medidor de vazão do biogás e monitoramento da pressão interna do sistema. Na parte inferior do biodigestor foi instalada uma válvula registro para coleta de amostras do meio de reação. Todos os biodigestores foram adaptados com sistema de agitação interna manual.

Os biodigestores foram testados previamente para verificação de vazamentos injetando ar com bomba peristáltica até atingir a pressão máxima de 6 cm (valor limitado pela altura do selo hídrico instalado na tampa superior dos biodigestores). A pressão do manômetro foi registrada como pressão inicial e monitorada por um período de 24h.

Na Figura 2 é apresentado o biodigestor utilizado nesta pesquisa destacando os detalhes construtivos mais importantes.



**Figura 2.** Biodigestor empregados nos testes co-digestão anaeróbia de macrófitas e lodo anaeróbio.

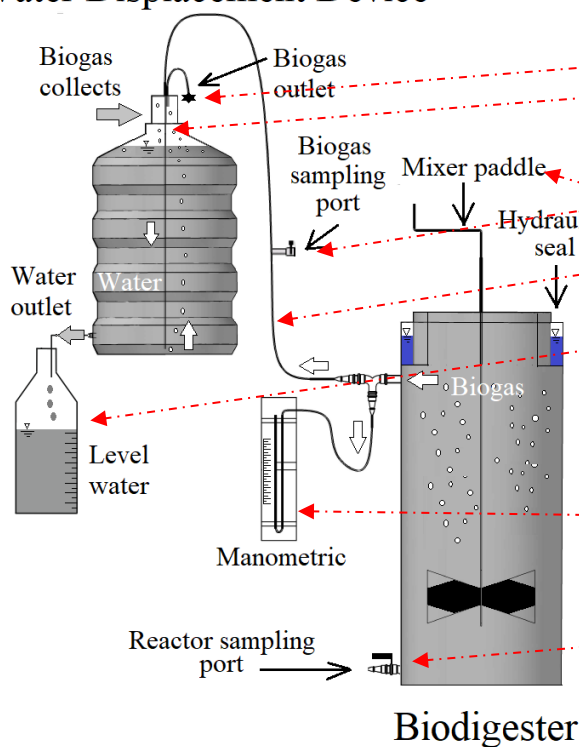
A medição da vazão de biogás produzido no processo de co-digestão foi quantificada diariamente com o método de deslocamento de volume de água utilizando o frasco de *Mariotte* modificado, utilizando-se garrações de água mineral de 20 L e acoplados em cada biodigestor.

O garrafão de 20 L permitiu operar o medidor de biogás continuamente por cerca de 3 a 4 dias sem necessidade da reposição da água deslocada, mesmo na ocorrência de taxas elevadas de fluxo de biogás nos testes de co-digestão. Na Figura 3 é apresentado o esquema do sistema experimental completo de co-digestão utilizado neste trabalho.

Os medidores de volume de biogás foram calibrados mediante injeção de 1,5 litros de água em uma coluna calibrada de vidro que conseqüentemente deslocou o ar para o medidor de biogás. O volume de ar que entrou no medidor deslocou o volume de água que foi coletado para sua medição e pesagem. Os testes de calibração foram realizados a temperatura controlada de 25 °C e pressão atmosférica média do dia de 1010,4 hPa.

A análise estatística dos dados dos testes de calibração resultou em  $r^2$  na faixa de 0,92 a 0,98 (ANEXO A), mostrando confiabilidade dos equipamentos na medição do ar injetado e posteriormente do biogás gerado nos ensaios.

### Water Displacement Device



**Figura 3.** Esquema de montagem do biodigestor e do medidor de biogás.

#### 4.1.2. Substrato

O substrato foi obtido do sistema de lagoas de alta taxa, operadas em série e empregadas para pós-tratamento de efluente de reator UASB alimentado com esgoto sanitário. A primeira lagoa do sistema piloto continha microalgas e a segunda macrófitas. O volume útil de cada lagoa foi de 80 m<sup>3</sup> e foram operadas com vazão de 1,01 m<sup>3</sup>/h, correspondendo ao valor de TDH de 3,3 dias em cada uma das lagoas.

As macrófitas foram retiradas da segunda lagoa por uma esteira automatizada controlada por inversor de frequência e timer, sendo que a retirada da biomassa foi ajustada para manter a densidade de macrófitas na faixa de 30-60 g/m<sup>2</sup> (base seca), valores recomendados por Gómez et al. (2016). A retirada das macrófitas empregadas como substrato dos ensaios de co-digestão foi realizada três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira) com 4 a 5 horas de duração.

O substrato foi coletado no dia anterior dos ensaios de co-digestão e transportado em caixa térmica até o LADETEC e refrigeradas a 3 °C para preservar suas características físicas e químicas. A Figura 4 mostra o sistema piloto de lagoas e o sistema automatizado para retirada da planta aquática.



**Figura 4.** Unidades piloto de lagoas (esquerda) e sistema de retirada da macrófita (direita).

Na lagoa de macrófitas foram identificados os gêneros *Spirodela*, *Lemna* e *Wolffia* da família *Lemnáceae*, sendo a *Lemna minor*, *Wolffia columbiana*, *Spirodela polyrrhiza* e *Spirodela intermedia* as espécies predominantes.

A *Lemna minor* é uma planta de aproximadamente 2 mm de diâmetro e tem potencial para o tratamento de águas residuais devido a elevada taxa de crescimento em águas ricas em

nutrientes.

A *Spirodela polyrrhiza* e *Spirodela intermedia* são plantas com estrutura taloide oval de 4 a 10 mm e atuam na remoção de poluentes orgânicos por via biológica pela presença de bactérias rizosféricas associadas a suas raízes.

A *Wolffia columbiana* é uma planta de pequeno porte e corpo quase esférico com cerca de 0,8 a 1,3 mm. A planta flutua logo abaixo da superfície da água com a superfície superior arredondada apenas tocando o filme de superfície. Na Figura 5 são mostradas as espécies de *Lemnáceae* identificadas na lagoa de macrófitas.



**Figura 5.** Família *Lemnáceae* e tamanho das diferentes espécies predominantes na lagoa

A mistura de macrófitas foi caracterizada no laboratório de nutrição animal do Departamento de Zootecnia da UFRGS. Os resultados da composição elementar, física e química das macrófitas são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Resumo dos resultados físicos e químicos e elementares da macrófita

<b>Composição física e química</b>		
<b>Determinações</b>	<b>Matéria Seca (%)</b>	<b>Seco ao Ar (%)</b>
Matéria Seca	100,00	5,92
Umidade		94,08
Matéria Orgânica	77,43	72,85
Proteína Bruta	37,40	35,19
Fibra Bruta	15,14	14,24
Extrato Etéreo	2,32	2,18
Cinzas	22,57	21,23
Extrato Não Nitrogenado	26,33	21,56
NDT	66,12	62,21
<b>Minerais</b>		
<b>Determinações</b>	<b>Valor</b>	<b>Metodologia aplicada/Limite de detecção</b>
Nitrogênio (NTK) - % (m/m)*	5,30	Kjeldahl / 0,01 %
Fósforo Total - % (m/m)*	0,80	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/0,01%
Potássio Total - % (m/m)*	3,60	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/0,01%



### Composição física e química

Determinações	Matéria Seca (%)	Seco ao Ar (%)
Cálcio Total - % (m/m)*	1,10	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/0,01%
Magnésio Total - % (m/m)*	0,30	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/0,01%
Enxofre Total - % (m/m)*	0,44	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/0,01%
Cobre Total - mg/kg*	3,00	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/0,3 mg/kg
Zinco Total - mg/kg*	44,00	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/ 1 mg/kg
Ferro Total - mg/kg*	479,00	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/ 2 mg/kg
Manganês Total - % (m/m)*	0,14	Digestão úmida nitro-perclorica/ICP-OES/ 2 mg/kg
Boro Total - mg/kg*	164	Ingestão seca/ICP-OES/ 1 mg/kg

\*Obs.: Resultados expressos no material seco 65°C

Os valores encontrados de proteína, fibra e umidade encontram-se na faixa de valores reportados na literatura, os quais variam de 16-41,7 % de proteína, fibra 8,8-15,6 %, carboidratos 17,6-35 % e 94-96% de umidade (Skillicorn et al. 1993; Cheng and Stomp 2009; Xu et al. 2012a; Zhao et al. 2014; Verma and Suthar 2015; Gaur and Suthar 2017).

#### 4.1.3. Pré-tratamento mecânico

O processo de pré-tratamento mecânico das *Lemnáceae* foi realizado com um triturador comercial de resíduos orgânicos TR 200 (Trapp), operado na velocidade de rotação de 3600 rpm, com passagem do material lignocelulósico uma única vez pelo equipamento.

Embora o equipamento seja recomendado para triturar materiais orgânicos de tamanho de partícula consideravelmente maior que as macrófitas como galhos de árvores, troncos, restos de vegetais e frutas, foi prático utilizá-lo devido ao alto requerimento de massa de plantas aquáticas necessária para os ensaios de co-digestão anaeróbia.

O pré-tratamento mecânico teve por objetivo aumentar a superfície específica e destruir a parede celular das macrófitas, aumentando a acessibilidade do substrato às bactérias anaeróbias. O triturador TR 200 e o resultado do pré-tratamento físico na macrófita são mostrados na Figura 6.



**Figura 6.** Triturador TR 200 (esquerda) e macrófitas trituradas (direita).

#### **4.1.4. Reator UASB**

A biomassa ativa utilizada na pesquisa foi coletada no reator UASB existente na área experimental do IPH, localizado na ETE São Joao Navegantes, alimentado com esgoto sanitário, após gradeamento e desarenação.

O reator tem volume útil de  $18,3 \text{ m}^3$ , altura de 4m e diâmetro de 2,5m. A vazão de alimentação foi de  $1,6 \text{ m}^3/\text{h}$ , resultando em TDH de 11,8h. A CHV média aplicada no sistema foi de  $2,0 \text{ m}^3/\text{m}^3.\text{d}$ . A Figura 7 mostra o reator UASB e amostra do lodo anaeróbio empregado como inóculo nos ensaios de co-digestão.

O lodo foi coletado no mesmo dia com as macrófitas, transportado em bombonas fechadas até o LADETEC do IPH e refrigerado a  $3 \text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura. No dia da montagem dos testes de co-digestão o inóculo e o substrato foram retirados do refrigerador com antecedência para atingirem a temperatura ambiente de operação de cada experimento.



**Figura 7.** Reator UASB e lodo anaeróbio utilizado como inóculo.

Os valores dos parâmetros físicos e químicos do lodo anaeróbio antes de cada ensaio de co-digestão são mostrados na Tabela 2, o qual apresentou característica física flocculenta devido à grande variabilidade na concentração de matéria orgânica do efluente bruto (Hoyos et al. 2019).

**Tabela 2.** Características físicas e químicas do inóculo

Parâmetro	Ensaio				
	1	2	3	4	5
<b>pH</b>	7,2	6,7	6,8	6,8	6,9
<b>Temperatura* (°C)</b>	16,6	19,3	25,6,	24,4	20,6
<b>DQO<sub>T</sub> (mg/L)**</b>	41675±2304	33300±1200	24708±1200	38900±700	35700±1200
<b>DQO<sub>F</sub> (mg/L)**</b>	500±100	2100±300	3700±1400	700±400	2900±300
<b>ST (mg/L)</b>	30446	32358	32562	34322	26706
<b>SV (mg/L)</b>	12704	14054	15734	15182	11247
<b>Alcalinidade Total (mg/L)</b>	895	870	738	724	466
<b>Alcalinidade Parcial (mg/L)</b>	445	342	298	328	167
<b>NTK (mg/L)</b>	877	1166	1004	1016	773
<b>Nitrogênio amoniacal (mg/L)</b>	90	58	57	58	44

\*Temperatura no início do teste de co-digestão, \*\*Valor médio e desvio padrão triplicata

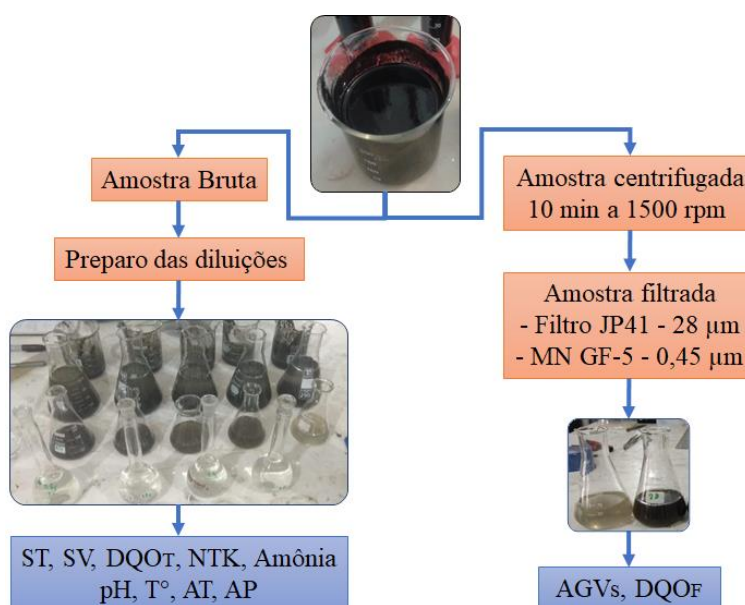
Observa-se que o pH do lodo situou-se na faixa neutra e a fração de SV (relacionada à biomassa ativa) situou-se na faixa de 42 a 48 % para os ensaios de co-digestão. Os valores determinados de SV/ST indicaram que o lodo anaeróbio utilizado como inóculo apresentou uma baixa concentração de matéria volátil devido a sua estabilização parcial no reator UASB e possivelmente, com fração reduzida de biomassa ativa.

## 4.2. Métodos

Neste capítulo são descritos os diferentes métodos analíticos empregados para coleta e análise do inóculo, o substrato, do meio de reação (mistura substrato e inóculo), do biogás e da avaliação do processo de co-digestão. Igualmente são descritas as técnicas empregadas para a tomada das amostras líquidas, gasosa e sólidas que foram submetidas a análises físicas e químicas.

### 4.2.1. Inóculo (Lodo Anaeróbio)

Os procedimentos e parâmetros utilizados para caracterização do inóculo são apresentados na Figura 8. A caracterização do lodo foi feita separando a fase sólida e líquida, centrifugando a amostra bruta a 1500 rpm durante 15 minutos. Em sequência, a fração sobrenadante foi filtrada a vácuo utilizando filtro quantitativo de tamanho de poro 28  $\mu\text{m}$  e após filtrada através da membrana acetato celulose de tamanho de poro 0,45  $\mu\text{m}$ .

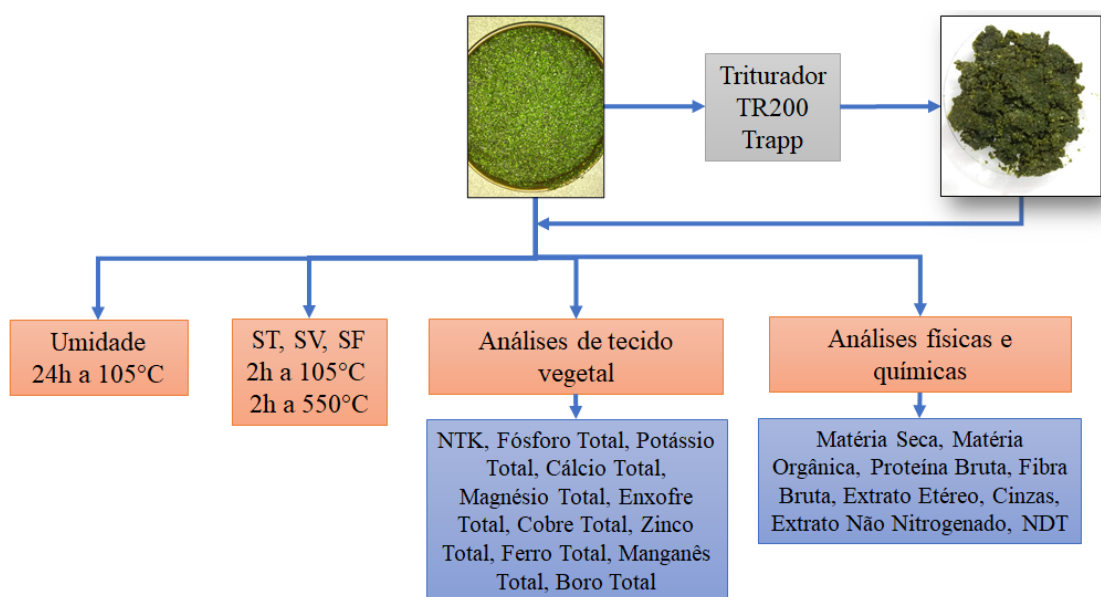


**Figura 8.** Esquema de processamento da amostra de lodo.

As análises físicas e químicas foram realizadas na amostra bruta e na amostra filtrada para melhor caracterização do inóculo.

#### 4.2.2. Macrófitas família *Lemnáceae*

A composição do substrato é o principal fator que pode afetar a produção de metano. A caracterização do substrato incluiu a determinação do teor de umidade, sólidos totais e voláteis, teor de cinzas, fibras, proteínas, lignina, minerais e outros constituintes. Na Figura 9 é apresentado o protocolo proposto de caracterização do substrato.



**Figura 9.** Protocolo de análises e caracterização da *Lemnáceae*.

A porcentagem de umidade foi determinada em amostras de macrófitas fresca conforme metodologia 2540B e 2540E do Standard Methods (APHA-AWWA-WEF 2017). A secagem da planta foi realizada na temperatura de 105°C por um período de 24h, para determinar o conteúdo de ST. Após, a amostra foi submetida à volatilização em mufla a 550°C por 2h. O cálculo da umidade, sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) foi determinada pelas equações 1 e 2:

$$ST (\%) = ((A - B)/C) * 100 \quad (1)$$

$$SV (\%) = ((A - D)/C) * 100 \quad (2)$$

Onde:

A: Peso resíduo seco 105°C.

B: Peso cadinho.

C: Peso amostra fresca.

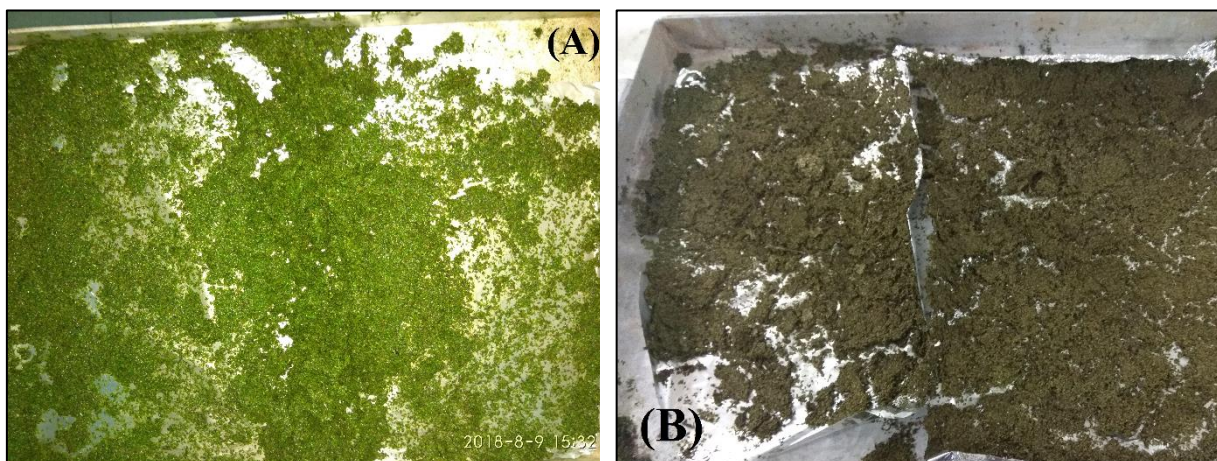
D: Peso resíduo seco 550°C.

### 4.2.3. Tamanho de partícula

Para avaliar o efeito do pré-tratamento mecânico sobre a granulometria das macrófitas aquáticas foi preciso adaptar a metodologia de avaliação granulométrica para solos, adicionando água ao material a ser peneirado com a finalidade de facilitar a passagem dele através das malhas de peneiramento.

Desta forma foi possível elaborar uma curva de distribuição granulométrica que permitiu classificar e agrupar os diferentes tamanhos de partículas presentes na amostra.

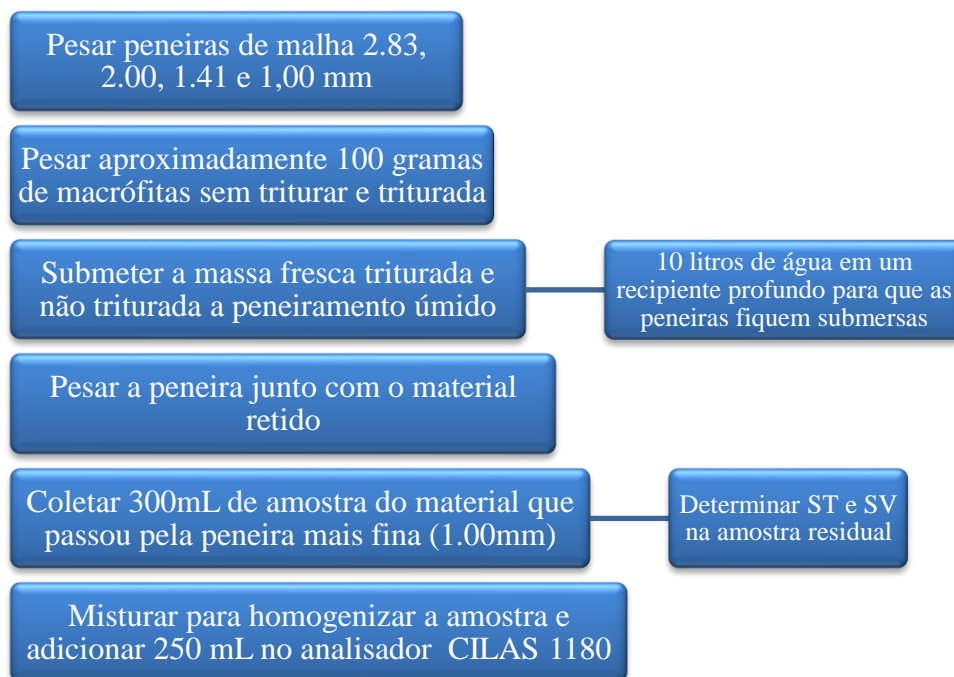
A Figura 10 mostra macrófita fresca (a) e após secagem a 70°C por 24h (b) na qual é possível visualizar a formação de conglomerados de diferentes espécies, principalmente para o caso das macrófitas secas.



**Figura 10.** Imagem da macrófita fresca (A) e após secagem a 70 °C (B).

A classificação granulométrica foi realizada com peneiras de aço inox de 25 cm de diâmetro e malha de 2.83, 2.00, 1.41 e 1,00 mm para as partículas de maior tamanho. A granulometria das partículas com tamanho menor que 1 mm foi determinada pelo analisador de partículas CILAS 1180. O teste granulométrico no analisador de partículas foi realizado em triplicata para amostra *in natura* e triturada.

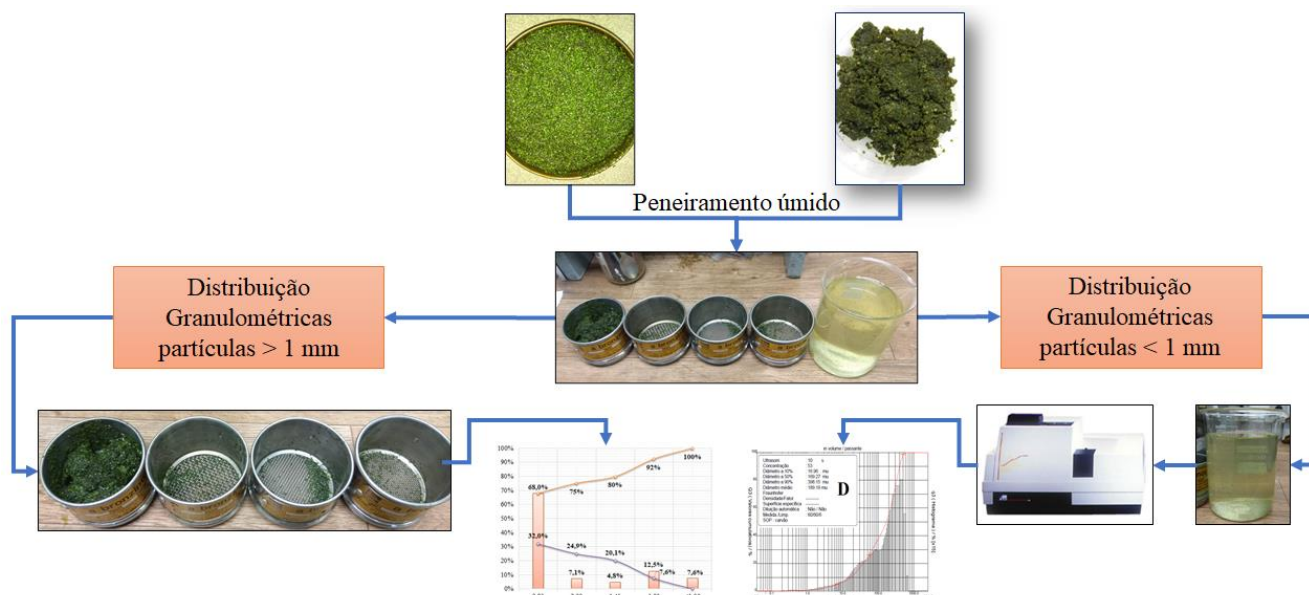
A Figura 11 apresenta as etapas de laboratório utilizadas para separação das partículas do substrato com tamanho superior e inferior a 1 mm.



**Figura 11.** Etapas de laboratório para análise granulométrica da macrófita.

A classificação granulométrica foi realizada com peneiras de aço inox de 25 cm de diâmetro e malha de 2.83, 2.00, 1.41 e 1,00 mm para as partículas de maior tamanho. A granulometria das partículas com tamanho menor que 1 mm foi determinada pelo analisador de partículas CILAS 1180. O teste granulométrico no analisador de partículas foi realizado em triplicata para amostra *in natura* e triturada.

Com as informações obtidas em massa úmida e curvas de distribuição granulométrica do material, foi possível analisar o efeito do pré-tratamento mecânico sobre a estrutura da macrófita e sua influência no processo de co-digestão anaeróbia. Na Figura 12 é apresentado o protocolo proposto para a análise do tamanho de partícula da macrófita com e sem pré-tratamento.

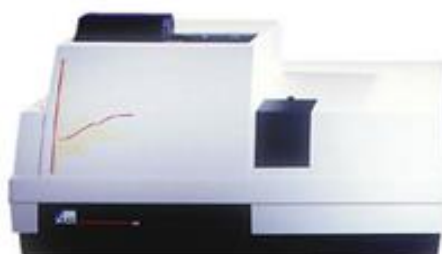


**Figura 12.** Protocolo testes granulométricos da *Lemnáceae*.

A granulometria das partículas do substrato com tamanho menor que 1 mm com e sem pré-tratamento foi determinado com o analisador de partículas a laser, modelo CILAS 1180 (Figura 13). O equipamento serve para a diferenciação de partículas com diâmetros variando entre 0,04 e 2.500 $\mu\text{m}$ , e permite a análise do material em estado úmido ou seco.

O equipamento utiliza-se dos fenômenos da difração e da difusão de um feixe de raio laser. Duas teorias distintas são utilizadas para a análise da granulometria, sendo que a escolha de uma ou outra é feita em função do tamanho das partículas que se deseja medir.

Os testes de granulometria do material vegetal foram realizados no laboratório do Núcleo de Estudos em Correntes de Densidade (NECOD), vinculado ao Setor de Hidráulica Aplicada do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



**Figura 13.** Analisador de partículas a laser (CILAS 1180).

Os resultados das análises granulométricas estão apresentados no ANEXO B.

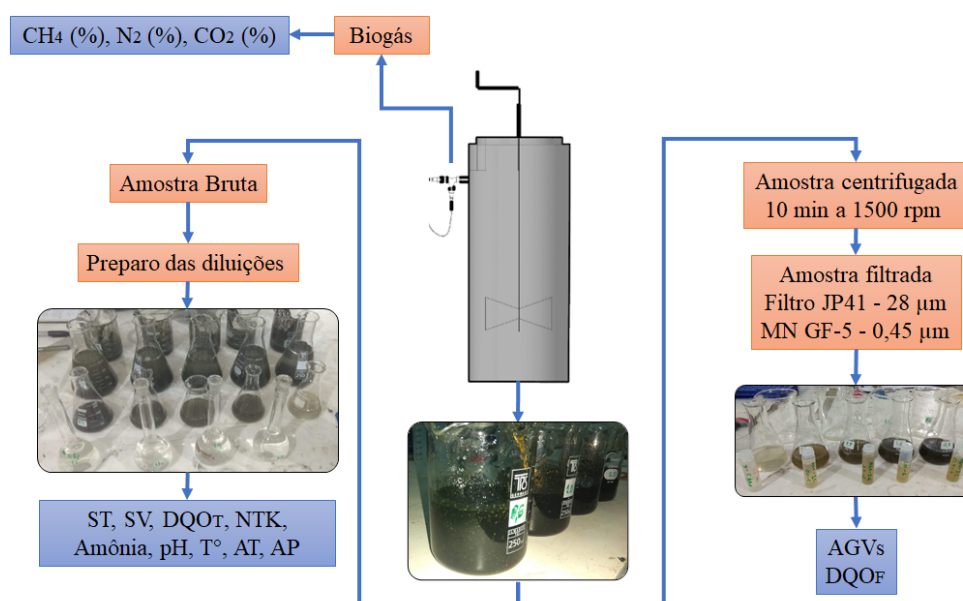


#### 4.2.4. Meio de reação (inóculo – substrato)

Foi coletado um volume de 300 mL do meio reacional dos biodigestores após mistura mecânica de aproximadamente 1 minuto de duração. Foram realizadas análises para caracterização da amostra bruta e filtrada conforme Figura 14.

Para obtenção da fase líquida do meio de reação foi empregada a mesma metodologia de separação de fases (sólido/líquido) do lodo. A amostra foi centrifugada por 10 minutos e depois filtrada a vácuo empregando filtro quantitativo (JP-41), seguido de um microfiltro de tamanho de retenção de partícula 0,45  $\mu\text{m}$ .

Na fração líquida filtrada foi realizada a análise para identificação de compostos intermediários que estão dissolvidos como os AGVs e a medição da matéria orgânica solúvel DQO<sub>F</sub>.



**Figura 14.** Esquema de processamento da amostra do processo de co-digestão.

#### 4.2.5. Composição e qualidade do biogás produzido

A qualidade do biogás produzido no processo anaeróbio foi monitorada diariamente ao longo de cada ensaio de co-digestão em cada um dos 15 biodigestores.

A composição do biogás foi determinada por cromatografia gasosa empregando cromatógrafo DANI GC 1000 com TCD e coluna capilar SUPELCO Carboxen-1006 PLOT. A injeção da amostra de biogás foi realizada de forma manual no equipamento.

As condições ótimas operacionais do cromatógrafo para a análise do biogás estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Parâmetros operacionais do cromatógrafo gasoso para análise de gases.

<b>CG – Equipamento</b>	
Marca:	Dani Instrument
Modelo:	GC - 1000
<b>Coluna</b>	
Marca:	Supelco
Modelo:	Nukol Fused Silica 25461
Dimensões:	30m x 0,53mm x 0,25µm
Gás de arraste:	Hélio
<b>Forno</b>	
Temperatura:	50°C
Tempo total:	4 min
<b>Injetor S/SL</b>	
Volume de injeção:	1 mL
Temperatura:	40°C
Modo:	Split
Fluxo:	3,0 mL/min
<b>Detector TCD</b>	
Temperatura:	180°C
CH1:	0,8
CH2:	2,0

O método cromatográfico acima descrito foi validado injetando amostras de uma mistura de gás padrão com a seguinte composição: CH<sub>4</sub>:30%, H<sub>2</sub>:20%, N<sub>2</sub>:20%, CO<sub>2</sub>:Balanço. Como não é possível mudar as concentrações da mistura padrão, a validação foi realizada avaliando a precisão do método com base na repetitividade.

Para avaliar a precisão foram feitas 10 injeções do gás padrão pelo mesmo analista nas mesmas condições operacionais. O equipamento foi calibrado periodicamente injetando amostras do gás padrão certificado pela White Martins.

Os valores médios e os resultados da validação do método para os compostos CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> são apresentados na Tabela 4. O tipo de coluna utilizada para a separação do biogás não detecta a concentração de H<sub>2</sub>.

**Tabela 4.** Resultados de precisão, curva analítica e valores de R<sup>2</sup> do método cromatográfico para o CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>.

Composto	Curva Analítica	R <sup>2</sup>	Concentração Padrão (%)	Medido (%)	DP	Recuperação (%)	Precisão (%)
CH <sub>4</sub>	Y=77,96127*X	0,9785	29,92	29,91	0,069	99,98%	0,231%
N <sub>2</sub>	Y=46,94406*X	0,9693	20,47	20,39	0,157	99,61%	0,769%
CO <sub>2</sub>	Y=102,45396*X	0,9776	29,54	29,55	0,092	100,04%	0,310%

As curvas de calibração apresentaram coeficientes de correlação entre 0,969 e 0,978 para os três compostos. A resposta de recuperação média do método foi de 99,98% para o CH<sub>4</sub>, de 99,61% para o N<sub>2</sub> e de 100% para o CO<sub>2</sub>. Os valores determinados de recuperação ficaram próximos a 100% e estão de acordo com os sugeridos pela AOAC (2016), que estabelece um intervalo de recuperação média de 98 a 102% para concentrações de analito de 10 a 100%.

Os valores obtidos dos coeficientes de variação ou precisão, para os gases padrão apresentaram valores menores que 1%, indicando que o método é confiável para análise de biogás gerado em processos de digestão anaeróbia. Logo, métodos que quantificam compostos em macro quantidades requerem um coeficiente de variação de 1 a 2% (Ribani et al. 2004).

#### 4.2.6. Normalização da produção de biogás e de metano

O volume de biogás produzido nas condições experimentais dos ensaios foi convertido a condições padrão de temperatura e pressão com a Equação 3, utilizando as referências padrão de 1013 hPa (1 atm) e 0 °C (273,15 K) de pressão e temperatura respectivamente.

$$V_N = V \cdot \frac{(P - P_W) \cdot T_N}{P_N \cdot T} \quad (3)$$

Onde:

V<sub>N</sub>: Volume seco de biogás normalizado (NmL ou STP mL)

V: Volume de biogás produzido (mL)

P: Pressão do biogás no dia da leitura ou medição (hPa)

P<sub>W</sub>: Pressão de vapor da água em função da temperatura ambiente (hPa)

T<sub>N</sub>: Temperatura normal (273 K)

P<sub>N</sub>: Pressão normal (1013 hPa)

T: Temperatura do experimento (K)

O cálculo da pressão do vapor de água foi realizado com a equação modificada de Buck (1996) (Equação 4):

$$P_W = 6,1121 \cdot e^{\left( \left( 18,678 - \frac{T_C}{234,5} \right) \cdot \frac{T_C}{257,14 + T_C} \right)} \quad (4)$$

Em que:

$P_W$ : Pressão de vapor da água em função da temperatura ambiente em hPa (1 hPa = 0,1 kPa)

$T_C$ : Temperatura ambiente do experimento ( $^{\circ}\text{C}$ )

Outras definições para a interpretação dos resultados do biogás foram feitas com os seguintes parâmetros:

#### **4.2.6.1. Produção bruta de biogás**

Volume de biogás produzido pelo inóculo e substrato diário e acumulado ao longo do tempo experimental expresso em NmL Biogás ou STP mL Biogás.

#### **4.2.6.2. Produção bruta de $\text{CH}_4$**

Volume de metano produzido pelo inóculo e substrato diário e acumulado ao longo do tempo experimental expresso em NmL  $\text{CH}_4$  ou STP mL  $\text{CH}_4$ . O volume de metano foi convertido utilizando os resultados da cromatografia (%  $\text{CH}_4$ ).

#### **4.2.6.3. Produção líquida de biogás**

Volume de biogás produzido exclusivamente pelo substrato de referência. O volume de biogás gerados pelas macrófitas foi calculado subtraindo a fração de biogás produzido pelo inóculo da produção de biogás bruto. Expresso como NmL ou STP mL.

#### **4.2.6.4. Produção líquida de $\text{CH}_4$**

Volume de metano produzido exclusivamente pelo substrato de referência. Do mesmo modo, o volume específico de metano proveniente do substrato lignocelulósico foi determinado descontando a fração de metano produzido pelo inóculo da produção bruta de metano. Expresso como NmL  $\text{CH}_4$  ou STP mL  $\text{CH}_4$ .

#### 4.2.6.5. Rendimento específico de metano ( $Y_{CH_4}$ )

Quantidade de metano diária ou acumulada dividido pela massa de substrato utilizada. Normalmente expresso como NmL  $CH_4/g$  SV.

#### 4.2.7. Detecção e quantificação de Ácidos Graxos Voláteis (AGVs)

O monitoramento das concentrações de AGVs foi realizada empregando o cromatógrafo a gás modelo Master GC da DANI Instrument, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar GC Nukol 24107 com temperatura do forno de 105°C.

O cromatógrafo estava equipado com amostrador automático o que permitiu fazer a injeção do volume da amostra (1 $\mu$ l) com muita precisão. Para otimização do método foram avaliadas diferentes condições operacionais, variando diferentes rampas de temperatura do forno e condições de injeção como o fluxo e modo de injeção split/splitless. As melhores condições cromatográficas encontradas segundo as respostas de recuperação dos ácidos graxos voláteis do método encontram-se descritas na Tabela 5.

O tempo total de execução do método foi de 7 min e a rampa de temperatura iniciou em 80°C e finalizou em 200°C.

**Tabela 5.** Parâmetros operacionais do cromatógrafo gasoso para análise de AGVs.

<b>CG – Equipamento</b>	
Marca:	Dani Instrument
Modelo:	Master GC
<b>Coluna</b>	
Marca:	Supelco
Modelo:	Nukol 24107
Dimensões:	30m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m
Gás de arraste:	Hélio
<b>Forno</b>	
Temperatura:	80°C
Temperatura programada (Rampa):	80°C – 2min – 40°C/min 200°C – 2min – 0°C/min
Tempo total:	7 min
<b>Injetor S/SL</b>	
Volume de injeção:	1 $\mu$ m
Temperatura:	250°C
Modo:	Split
Fluxo:	1,0 mL/min
Split flow:	10 mL/min

Split ratio:	1:10
Septum purge:	5 mL/min
<b>Detector FID</b>	
Temperatura:	250°C
Aux:	25 mL/min
H <sub>2</sub> :	40 mL/min
Ar:	280 mL/min

O método de detecção e recuperação dos AGVs foi validado utilizando soluções padrões de concentrações conhecidas dos seguintes ácidos graxos voláteis: ácido acético (99,8%), ácido propiônico (99,5%), ácido butírico (99%) e ácido valérico (99%). Os ácidos escolhidos para preparação dos analitos são de alta pureza (P.A.) das marcas Sigma Aldrich, Merck e Neon.

Foi preparada uma solução padrão de 2.000 mg/L com cada um dos ácidos em água deionizada que foi injetada no cromatógrafo para identificar o tempo de retenção de cada composto. Os tempos de retenção para o acético, propiônico, butírico e valérico foram: 5,565, 5,903, 6,272 e 6,777 min, respectivamente.

De igual maneira foi constituída a faixa de trabalho preparando soluções padrão da mistura dos quatro ácidos graxos em água deionizada com diferentes concentrações. A faixa de trabalho definida teve os seguintes níveis de concentração: 50, 100, 200, 400, 800, 1.500 e 2.000 mg/L.

Cada solução padrão foi injetada em triplicata com o fim de analisar o comportamento dos picos, confirmar a linearidade, detectar a existência de outliers, construção do gráfico analítico e aplicar a regressão linear para o cálculo do coeficiente de correlação.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados das curvas de calibração para os 4 compostos. Verifica-se que todas as curvas apresentaram linearidade com coeficientes de correlação entre 0,9795 e 0,9982. Os cromatogramas de identificação dos tempos de retenção e os gráficos de calibração do ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e ácido valérico são apresentados no ANEXO C.

**Tabela 6.** Curva analítica, coeficiente de correlação e faixa linear para o ácido acético, propiônico, butírico e valérico.

Composto	Curva analítica	R <sup>2</sup>	Fixa linear (mg/L)
Acético	Y = 0,17825*X	0,9976	50-2000
Propiônico	Y = 0,32258*X	0,9982	50-2000
Butírico	Y = 0,41755*X	0,9911	50-2000
Valérico	Y = 0,40177*X	0,9795	50-2000

#### 4.2.8. Experimentos de co-digestão

O meio reacional dos experimentos de co-digestão foi definido pela relação (I/S) sendo I a massa de sólidos voláteis (SV) do inóculo (lodo anaeróbio) e S a massa de sólidos voláteis (SV) do substrato lignocelulósico (*Lemnáceae*).

Os valores da relação (I/S) foram ajustados em 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0 com o objetivo de determinar a melhor relação (I/S) de operação de acordo com o desempenho do processo anaeróbio em termos de produção de biogás e metano.

O tempo de duração de cada batelada foi de 30 dias acrescido de parcela de tempo adicional requerida atingir valores estáveis da produção diária de metano.

Doze biodigestores foram agrupados em quatro conjuntos, sendo cada conjunto composto por três biodigestores (triplicatas) para atendimento das relações de carga I/S 0.5, 1.0, 1.5 e 2.0. Os três biodigestores remanescentes foram utilizados como o branco correspondendo ao inóculo utilizado no processo anaeróbio. A finalidade do branco foi determinar o volume de biogás produzido pelo inóculo e subtrair do total de biogás gerado nos biodigestores contendo as diferentes relações I/S, sendo desta maneira determinada a produção líquida de biogás e metano proveniente apenas do substrato.

Previamente ao início de cada ensaio o inóculo e o substrato foram caracterizados em relação aos ST e SV, como também de outros parâmetros físicos e químicos de interesse. Para reduzir a heterogeneidade entre o inóculo e o substrato os biodigestores foram misturados manualmente uma vez por dia com agitador de eixo vertical construído e instalado em cada biodigestor.

##### 4.2.8.1. Ensaio 1

Este ensaio inicial teve como objetivo avaliar o efeito da relação I/S sobre a produção de biogás e metano na condição de inverno ( $18\pm 2,4^{\circ}\text{C}$ ) empregando substrato sem pré-tratamento, o qual teve duração de 66 dias.

Doze biodigestores foram carregados com 10 L de lodo anaeróbio e diferentes quantidades de massa fresca de substrato para obter as quatro relações I/S (0.5, 1.0, 1.5 e 2.0) conforme valores apresentados na Tabela 7. Os demais biodigestores (três) foram alimentados com lodo anaeróbio (branco).

Fixando a massa de inóculo em termos de SV, foi preparada e pesada em uma balança a massa de substrato necessário para cada conjunto de biodigestores de acordo com a relação

I/S.

Foram realizadas seis coletas do meio de reação para caracterização física e química no início, ao decorrer do experimento e no final dele. As condições de alimentação e outros parâmetros dos biodigestores e do branco são mostrados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Dados básico de alimentação dos biodigestores - Ensaio 1

Parâmetros operacionais	Biodigestores				
	Branco	Relação I/S			
		Lodo	0.5	1.0	1.5
ST Inóculo (g/L)	30,4	30,4	30,4	30,4	30,4
SV Inóculo (g/L)	12,7	12,7	12,7	12,7	12,7
Volume Inóculo (L)	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Total SV Inóculo (g)	127,0	127,0	127,0	127,0	127,0
Massa úmida substrato (g)	0,0	5.800,0	2.900,0	1.940,0	1.450,0
ST Substrato (g)	0,0	290,0	145,0	97,0	72,5
SV Substrato (g)	0,0	249,4	124,7	83,4	62,3
pH	7,2	7,1	7,2	7,1	7,1

#### 4.2.8.2. Ensaio 2

O objetivo principal deste ensaio foi avaliar o efeito do pré-tratamento físico do substrato sobre a produção de biogás e metano na temperatura ambiente de inverno ( $19\pm 1,4^{\circ}\text{C}$ ).

O substrato fresco foi submetido à trituração mecânica com a finalidade de alterar o tamanho das partículas.

As condições de carregamento (relações I/S) e a operação dos biodigestores foram similares as do ensaio 1, conforme mostrado na Tabela 8.

**Tabela 8** Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 2

Parâmetros operacionais	Biodigestores				
	Branco	Relação I/S			
		Lodo	0.5	1.0	1.5
ST Inóculo (g/L)	32,4	32,4	32,4	32,4	32,4
SV Inóculo (g/L)	14,1	14,1	14,1	14,1	14,1
Volume Inóculo (L)	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Total SV Inóculo (g)	141,0	141,0	141,0	141,0	141,0
Massa úmida substrato (g)	0,0	5300,0	2600,0	1750,0	1320,0
ST Substrato (g)	0,0	328,6	161,2	108,5	81,8
SV Substrato (g)	0,0	283,9	139,3	93,7	70,7
pH	6,7	6,6	6,6	6,7	6,7



#### 4.2.8.3. Ensaio 3

O objetivo principal deste ensaio foi avaliar o efeito da temperatura de verão ( $26,6 \pm 1,1^\circ\text{C}$ ) na produção de biogás e metano.

O substrato não teve pré-tratamento mecânico e foi aplicado o mesmo protocolo para o carregamento (I/S) e operação dos biodigestores do ensaio 1.

Foram realizadas seis coletas do meio de reação para avaliar o comportamento dos parâmetros físicos e químicos durante o experimento. Na Tabela 9 estão descritas as configurações experimentais do ensaio 3.

**Tabela 9.** Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 3

Parâmetros operacionais	Branco Lodo	Biodigestores			
		Relação I/S			
		0.5	1.0	1.5	2.0
ST Inóculo (g/L)	32,6	32,6	32,6	32,6	32,6
SV Inóculo (g/L)	15,7	15,7	15,7	15,7	15,7
Volume Inóculo (L)	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Total SV inóculo (g)	157,0	157,0	157,0	157,0	157,0
Massa úmida substrato (g)	0,0	5720,0	2820,0	1890,0	1410,0
ST Substrato (g)	0,0	377,5	186,1	124,7	93,0
SV Substrato (g)	0,0	317,1	156,3	104,8	78,2
pH	6,8	7,0	6,8	6,8	6,7

#### 4.2.8.4. Ensaio 4

A finalidade deste ensaio foi avaliar o efeito do pré-tratamento mecânico sobre a produção de biogás no verão. Para os ensaios de co-digestão o substrato foi triturado como descrito no ensaio 2 e a temperatura média de operação dos biodigestores foi de  $25,8 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Foi mantido o procedimento operacional descrito no ensaio 1 em relação ao branco, substrato e meio de reação. Na Tabela 10 são apresentadas as condições de alimentação dos biodigestores no ensaio 4.

**Tabela 10.** Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 4

Parâmetros operacionais	Branco Lodo	Biodigestores			
		Relação I/S			
		0.5	1.0	1.5	2.0
ST Inóculo (g/L)	34,3	34,3	34,3	34,3	34,3
SV Inóculo (g/L)	15,2	15,2	15,2	15,2	15,2
Volume Inóculo (L)	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0

Parâmetros operacionais	Biodigestores				
	Branco Lodo	Relação I/S			
		0,5	1,0	1,5	2,0
Total SV Inóculo (g)	152,0	152,0	152,0	152,0	152,0
Massa úmida substrato (g)	0,0	6100,0	3050,0	2050,0	1530,0
ST Substrato (g)	0,0	353,8	176,9	118,9	88,7
SV Substrato (g)	0,0	302,5	151,2	101,6	75,9
pH	6,8	7,0	6,8	6,8	6,7

#### 4.2.8.5. Ensaio 5

Neste ensaio foi avaliado o efeito do regime de mistura sobre a produção de biogás do processo de co-digestão anaeróbia. Para cumprir com o objetivo do ensaio a metade dos biodigestores empregados foram misturados mecanicamente uma vez por dia durante 1 minuto ao longo do tempo de duração do experimento.

A relação I/S=1.0, o pré-tratamento mecânico do substrato e a temperatura de operação de verão foram escolhidos como parâmetros operacionais para o desenvolvimento dos testes experimentais.

Utilizaram-se doze biodigestores, seis deles carregados com inóculo e substrato nas proporções requeridas para a relação I/S=1.0. Nos demais biodigestores (6) foi adicionado somente inóculo. As condições de carregamento dos biodigestores estão resumidas na Tabela 11.

Os seis biodigestores com substrato dividiram-se em dois conjuntos, o conjunto 1.0 CM referente a triplicata de biodigestores com mistura e o conjunto 1.0-SM referente a triplicata sem mistura. Da mesma maneira, o inóculo foi avaliado em triplicatas com mistura (In-CM) e sem mistura (In-SM).

**Tabela 11.** Dados básicos de alimentação dos biodigestores - Ensaio 5

Parâmetros operacionais	Biodigestores			
	1.0 CM	1.0 SM	In-CM	In-SM
ST Inóculo (g/L)	26,7	26,7	26,7	26,7
SV Inóculo (g/L)	11,2	11,2	11,2	11,2
Volume Inóculo (L)	10,0	10,0	10,0	10,0
Total SV Inóculo (g)	112,0	112,0	112,0	112,0
Massa úmida substrato (g)	1820,0	1820,0	0,0	0,0
ST Substrato (g)	127,8	127,8	0,0	0,0
SV Substrato (g)	112,6	112,6	0,0	0,0
pH	6,7	6,8	6,9	6,9

#### 4.2.8.6. Resumo das atividades desenvolvidas nos ensaios experimentais

A tabela 12 apresenta resumo das atividades de preparação dos ensaios relacionadas à preparação do substrato e procedimentos básicos para atendimento as diferentes relações entre inóculo (lodo anaeróbio) e substrato (macrófitas).

**Tabela 12.** Parâmetros e atividades de controle do processo de co-digestão anaeróbia.

Parâmetro	Frequência	Observação
Trituração macrófitas	Início de cada ensaio	Teste com pré-tratamento do substrato
Massa do substrato	Início de cada ensaio	Pesagem das macrófitas retiradas e/ou trituradas
Umidade macrófita	Início de cada ensaio	Determinação umidade da planta
Massa do inóculo	Início de cada ensaio	Retiradas do excesso de lodo do reator UASB
Carregamento dos biodigestores	Início de cada ensaio	Corrida experimental com 15 biodigestores, 12 com carregamento de lodo e macrófitas e 3 só com lodo anaeróbio por um período de 30 ou 60 dias.
Temperatura	1/Semana	Controle semanal da temperatura no meio de reação
pH	1/Semana	Controle semanal do pH no meio de reação
ST, SV	Início de cada ensaio	Determinação dos ST, SV para as macrófitas e para o lodo anaeróbio.
Relação (I/S)	Início de cada ensaio	Com as concentrações de SV do lodo e da macrófita foram determinadas as diferentes relações
Caracterização do digestato	No final de cada ensaio	Um biodigestor de cada triplicata foi submetido a análises do digestato

De igual forma a avaliação da eficiência de tratamento dos ensaios de co-digestão foi baseada no monitoramento de um conjunto de parâmetros físicos e químicos realizados segundo metodologias descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA-AWWA-WEF 2017) com periodicidade e método de análise apresentados na Tabela 13

**Tabela 13.** Parâmetros de avaliação da eficiência do processo de digestão anaeróbia.

Parâmetro	Unidade	Periodicidade	Análises
Produção de Biogás	mL/dia	5/semana	Deslocamento de água
Teor de Metano	%	5/semana	Cromatografia gasosa
Sólidos totais	mg/L	1/Semana	Método 2540D
Sólidos voláteis	mg/L	1/Semana	Método 2540E
DQO <sub>T</sub>	mg/L	1/Semana	Método 5220C
DQO <sub>F</sub>	mg/L	1/Semana	Método 5220C
AGVs	mg/L	1/Semana	Cromatografia líquida
COT	mg/L	1/Semana	Innovox-TOC
AP, AI	mg/L	1/Semana	Titulométricos
NTK	mg/L	Início e no fim do ensaio	Macro-Kjeldahl
Nitrogênio amoniacal	mg/L	Início e no fim do ensaio	Destilação e titulometria

Também foi determinada a Alcalinidade Parcial (AP) e Alcalinidade Intermediária (AI), segundo o método de Ripley et al. (1986) para avaliação da estabilidade do processo de digestão anaeróbia.

Sendo o experimento de caráter exploratório, não foi estabelecido delineamento experimental nem planejamento estatístico.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Neste capítulo são apresentados os resultados e discussão da produção de biogás e análises físicas e químicas do conteúdo dos biodigestores.

A fase inicial dos testes experimentais de co-digestão anaeróbia foi fundamental para ajustar metodologias de coleta e preparação do substrato, carregamento dos biodigestores e tomada de amostras para análises laboratoriais.

### **5.1. Produção de biogás em função da relação I/S**

Os ensaios tiveram por objetivo avaliar o efeito da relação I/S empregando substrato (macrófitas) sem pré-tratamento (ensaio 1) e pré-tratado (ensaio 2) sobre a produção de biogás e metano em temperaturas usuais de inverno na região sul do Brasil.

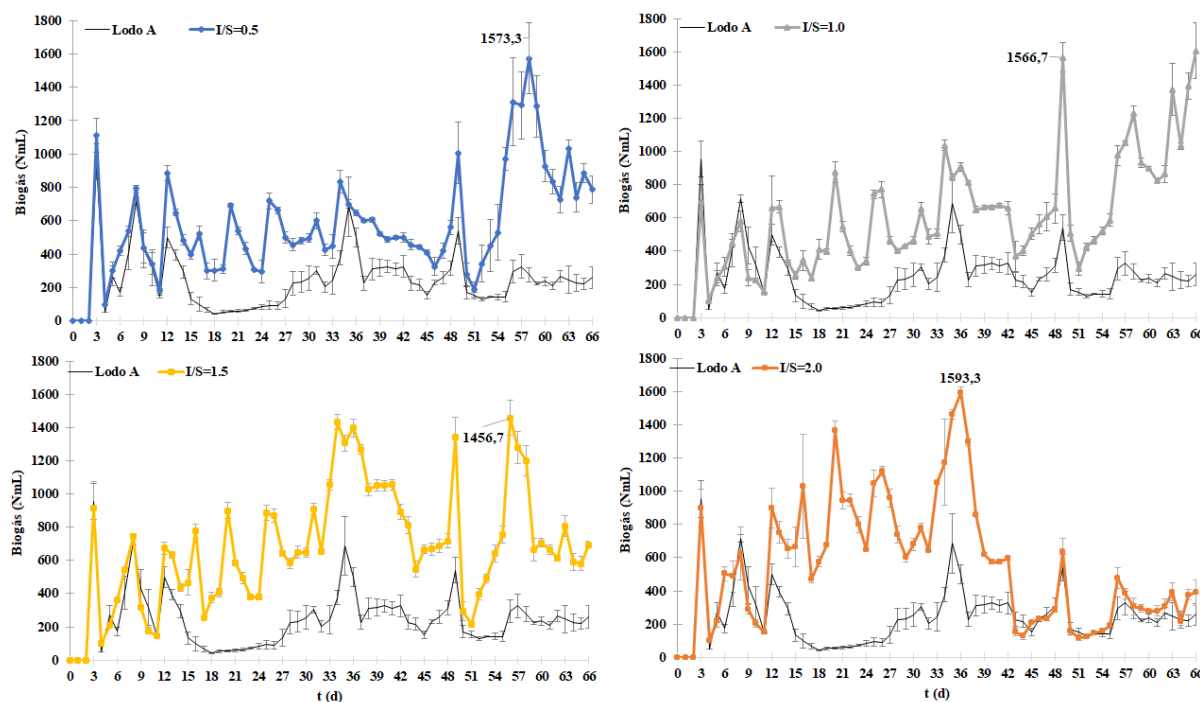
#### **5.1.1. Substrato sem pré-tratamento – Ensaio 1**

A duração do experimento foi de 66 dias e a temperatura média de operação dos biodigestores foi de  $18 \pm 2,4^\circ\text{C}$ . As proporções de lodo e de substrato foram descritas anteriormente na Tabela 7.

O conteúdo de água da macrófita foi de 95% com fração de SV de 86% e o lodo anaeróbio apresentou concentrações de ST e SV de 30.446 e de 12.704 mg/L.

Foram elaboradas as curvas de produção bruta diária de biogás, volume acumulado de biogás e metano, curvas de evolução de metano e de rendimento específico de metano ( $Y_{\text{CH}_4}$ ) para as diferentes relações I/S.

O Gráfico 1 mostra o volume de biogás produzido (NmL) por dia (produção bruta diária) nos biodigestores e no branco (inóculo).

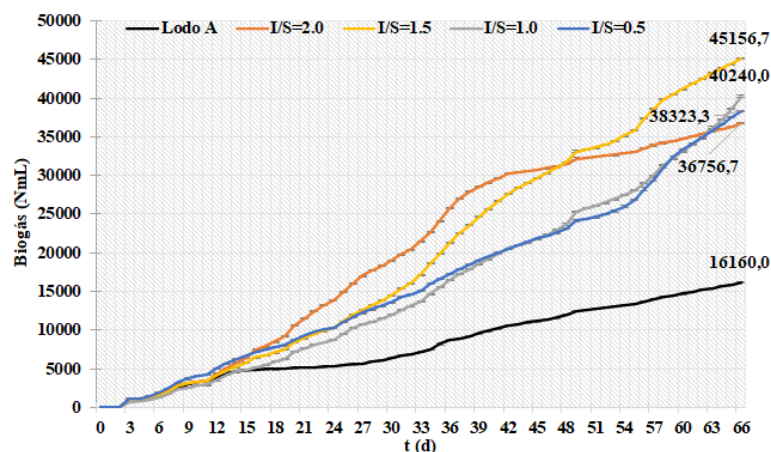


**Gráfico 1.** Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 1

Os valores da produção bruta diária de biogás em função da relação I/S estão apresentados de forma individualizada devido à grande variação ao longo do tempo (Gráfico 1). A produção foi nula nas primeiras 48 horas devido a uma possível adaptação dos microrganismos ao ambiente e/ou desenvolvimento das enzimas necessárias para a hidrólise do novo substrato. Nos nove dias subsequentes a produção de biogás deveu-se principalmente à degradação da matéria orgânica residual contida no branco (inóculo), fato observado pela sobreposição da curva do branco sobre as curvas das relações I/S durante este período.

Observa-se um aumento gradual na produção diária de biogás proveniente do substrato após o dia 11, porém sem tendência definida em relação aos valores de I/S devido a elevada variação dos resultados da produção diária de biogás. No caso da relação I/S=2.0 ocorreu queda abrupta da produção de biogás a partir do dia 45 (valores quase similares à do branco) o que permitiu inferir um esgotamento da matéria orgânica biodegradável proveniente do substrato sem chegar a acabar completamente.

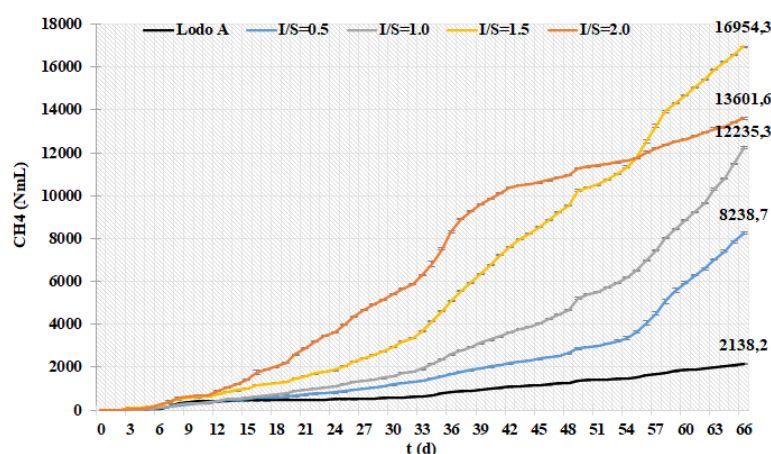
O Gráfico 2 apresenta valores crescentes da produção acumulada de biogás ao longo do tempo, sendo que o valor mais elevado foi obtido para a relação I/S=1.5. Entretanto resultados próximos foram observados para as demais relações I/S empregadas neste estudo. Observa-se que os biodigestores atingiram a produção máxima de biogás (80-90%) na faixa de 58-62, 59-63, 55-59 e 40-55 dias para I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.



**Gráfico 2.** Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 1

As demais relações I/S apresentaram tendência de aumento ao longo do tempo similares ao da relação I/S=1.5. Porém as variações na produção de biogás ocorridas neste ensaio dificultaram a identificação do valor da relação I/S recomendada para a produção de biogás.

O Gráfico 3 permite elucidar o efeito do parâmetro I/S, no qual é observado que a produção volumétrica de metano foi inversa à massa de substrato alimentado nos biodigestores, ou seja, as relações I/S=1.5, seguida da relação I/S=2.0, resultaram em valores mais elevados do volume de metano para o experimento com substrato sem pré-tratamento e temperatura média de  $18 \pm 2,4^\circ\text{C}$ . Por sua parte, os biodigestores alimentados com relação I/S (0.5 e 1.0) foram os que produziram volumes acumulados menores de metano.

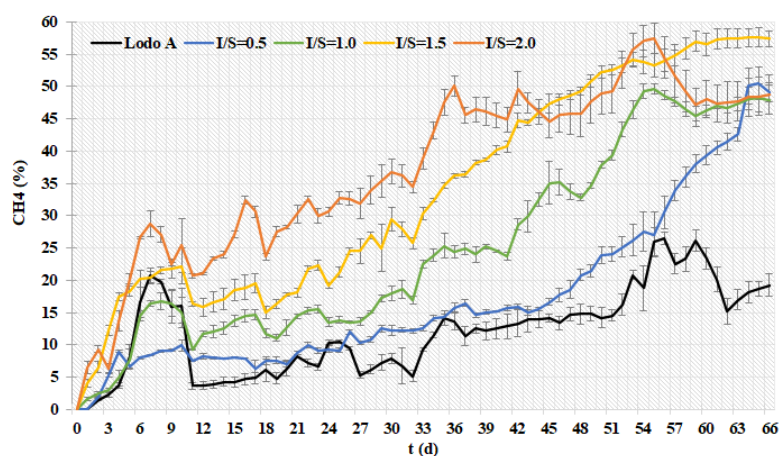


**Gráfico 3.** Produção bruta acumulada de CH<sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 1

Ainda em relação ao Gráfico 3 observa-se uma fase de produção de metano reduzida nos primeiros 12 dias, posteriormente os valores cresceram gradualmente indicando possível

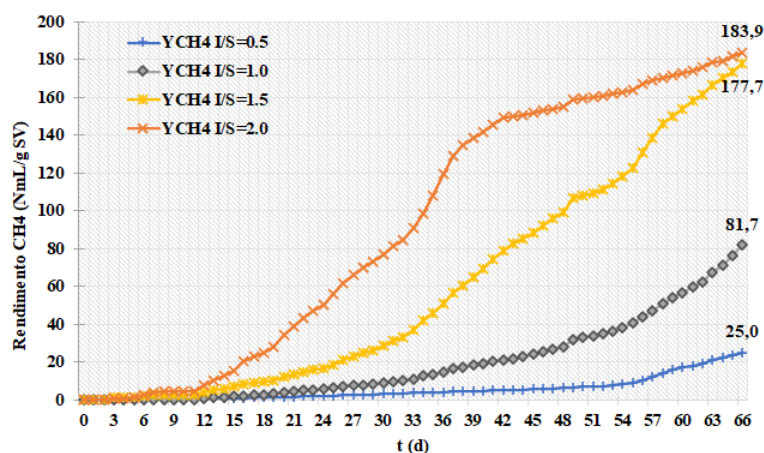
adaptação do metabolismo das bactérias metanogênicas (*Archaeas*) ao substrato adicionado aos biodigestores.

A evolução da proporção de metano no biogás para os sistemas de co-digestão e o branco podem ser visualizadas no Gráfico 4, observando-se que o aumento na porcentagem de metano em relação ao tempo foi influenciada pela massa de substrato contida em cada biodigestor, com valor máximo de 57,4% no final do ensaio, para a I/S=1.5 e valor próximo a 50% para as demais relações I/S. O conteúdo máximo de metano alcançado pelo branco foi de 26,5%.



**Gráfico 4.** Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 1

No Gráfico 5 foram plotadas as curvas de rendimento de metano ( $Y_{CH_4}$ ) para as relações I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, referente ao volume acumulado de metano ( $NmLCH_4$ ) por unidade de massa de substrato (g SV) adicionado aos biodigestores.



**Gráfico 5.** Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 1



Conforme o gráfico 5 verifica-se que o rendimento específico de metano para as quatro relações I/S variou entre 25 e 184 NmL CH<sub>4</sub>/g SV, com valores crescentes para os valores mais elevados da relação I/S, ou seja, para menores valores da massa de substrato.

Analisando as curvas de Y<sub>CH<sub>4</sub></sub>, foi constatado um período inicial de baixo rendimento específico de metano. Após o dia 11 as relações I/S=1.5 e 2.0 apresentaram um crescimento mais pronunciado em comparação com as relações I/S=0.5 e 1.0. Tal fato pode indicar que nos biodigestores com menor massa de macrófitas a comunidade microbiana apresentou uma melhor adaptação ao substrato lignocelulósico o que refletiu em uma maior produção de metano. A maior massa de substrato lignocelulósico (I/S=0.5 e 1.0) pode eventualmente ter liberado maior quantidade de intermediários adversos aos microrganismos da digestão anaeróbia.

Os resultados de rendimento específico de metano obtidos no Ensaio 1 foram comparados com pesquisas que empregaram lentilha de água (macrófita) como substrato sem pré-tratamento e lodo anaeróbio como inóculo.

Os valores de Y<sub>CH<sub>4</sub></sub> das quatro relações I/S foram inferiores aos reportados por Toyama et al. 2018, provavelmente pela diferença de temperatura de aplicação do teste. Os rendimentos determinados pelos autores para a *Spirodela polyrrhiza* e a *Lemna minor* foram de 413 e 375 NL CH<sub>4</sub>/kg SV, respectivamente. Os experimentos de co-digestão foram conduzidos a 30°C durante 28 dias sem nenhum tipo de pré-tratamento aplicado no substrato.

Calicioglu et al. 2019 determinaram o potencial bioquímico de metano da lentilha de água (*Lemna obscura*) utilizando como inóculo lodo de um digestor anaeróbio secundário de uma ETE, na temperatura de operação de 35°C. A macrófita fresca apresentou rendimento específico de metano de 227 NmL CH<sub>4</sub>/g SV no final dos 42 dias de teste.

Segundo Ren et al. (2018), o rendimento específico de metano obtido para a *Lemna minor* durante 30 dias de teste foi de 169 NmL/g SV, sendo o melhor rendimento obtido pela relação substrato/inóculo 1:1. O teste foi realizado a 37°C e foi utilizado lodo anaeróbio como inóculo.

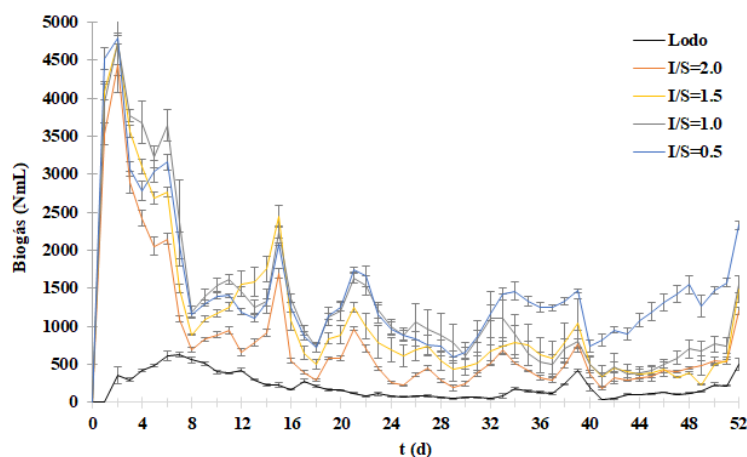
Os valores de rendimento específico de metano da Etapa 1 foram superiores aos obtido por Gaur et al. (2017). Os autores reportaram variação do rendimento de biometano entre 9 e 76 NmL CH<sub>4</sub>/g SV para 5 diferentes combinações de *Lemna gibba*, lodo ativado e lodo anaeróbio granular como inóculo. O teste de BMP foi realizado sob condição mesofílica durante 35 dias.

### 5.1.2. Substrato pré-tratado – Ensaio 2

O substrato foi submetido a pré-tratamento mecânico para alterar o tamanho de partícula e/ou a estrutura da macrófita. A duração do ensaio 2 foi de 52 dias e a temperatura média de operação dos biodigestores foi de  $19 \pm 1,4^\circ\text{C}$ . As características de carregamento dos biodigestores foram descritas na Tabela 8.

O inóculo apresentou concentrações de ST e SV de 32.358 e de 14.054 mg/L, e o substrato triturado apresentou umidade de 93,8% e fração de SV de 86,4%.

A produção diária dos biodigestores e do branco podem ser visualizadas no Gráfico 6, no qual é observado elevada produção de biogás nos primeiros oito dias do ensaio com valores similares para todas as relações I/S.



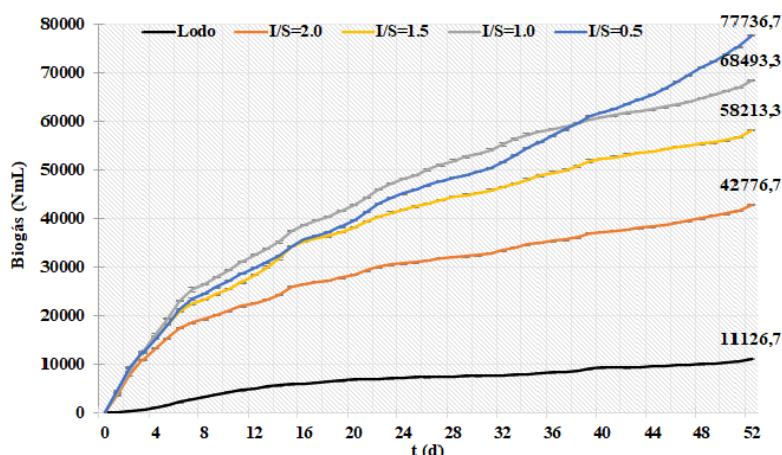
**Gráfico 6.** Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 2

Este comportamento indica que as bactérias conseguiram adaptar-se rapidamente ao novo substrato, o que está em oposição ao identificado no ensaio 1.

No gráfico 7 são apresentados os valores das curvas de biogás bruto acumulado que indicam valores mais elevados para menores valores da relação I/S. Este comportamento foi atribuído a maior disponibilidade inicial de compostos solúveis como proteínas e lipídios que ficaram acessíveis depois do processo de trituração das macrófitas.

As curvas de biogás bruto acumulado, após o período inicial de oito dias, apresentaram tendência de crescimento estável até o final do ensaio, o que poderia estar relacionado a presença de substrato de degradação mais lenta, como material fibroso lignocelulósico (hemicelulose, celulose e a lignina).

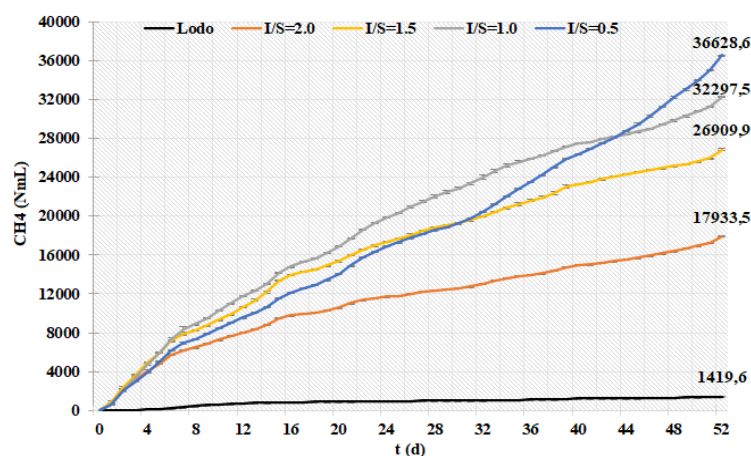
Observa-se que os biodigestores atingiram a produção máxima de biogás (80-90%) na faixa de 40-47, 32-41, 32-40 e 33-44 dias para I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.



**Gráfico 7.** Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 2

No caso de trituração do substrato, os valores menores da relação I/S (maior quantidade de macrófitas) resultaram em maior produção de biogás, o que está em oposição aos resultados obtidos no ensaio 1.

Os dados de produção bruta acumulada de metano foram plotados no Gráfico 8, no qual é observado que os valores crescentes da relação I/S resultaram em decréscimo do volume acumulado de metano. A relação I/S=0.5 apresentou a maior produção total de metano em todo o ensaio com 36.628 NmL.



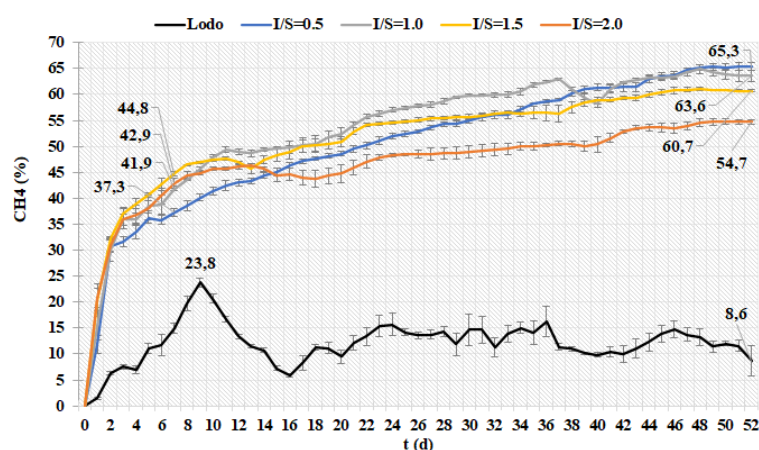
**Gráfico 8.** Produção bruta acumulada de CH<sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 2

As curvas de produção acumulada de metano mostram tendência a fase de estabilização na produção de metano após o rápido aumento observado na primeira semana do ensaio, com exceção da relação I/S=0.5 que apresentou um segundo pico de produção de metano após do dia 32 como mostrado no Gráfico 8.

As curvas que ilustram a evolução do conteúdo de metano são mostradas no Gráfico 9, no qual é observado aumento significativo na primeira semana e valores mais estáveis até o

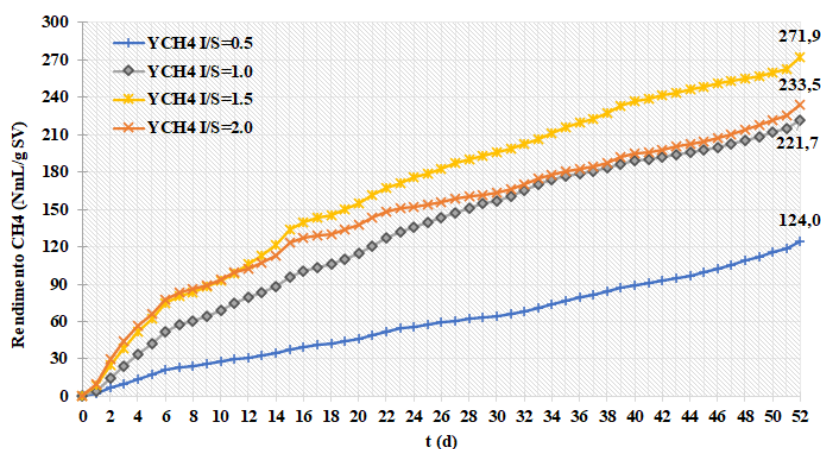
término do ensaio 2. O rápido incremento da concentração de metano pode ser destacada como efeito positivo da trituração do substrato, pois substâncias internas presentes na macrófita ficaram acessíveis para bioconversão pelos microrganismos.

O conteúdo máximo de metano alcançado nos biodigestores foi de 65,3%, 64,9%, 61,1% e de 54,8% para as relações I/S=0,5, 1,0, 1,5 e 2,0, respectivamente e de aproximadamente 24% atingida pelo branco.



**Gráfico 9.** Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 2

O Gráfico 10 apresenta as curvas de rendimento específico de metano ( $Y_{CH_4}$ ) para cada grupo de biodigestores de co-digestão durante os 52 dias de monitoramento. Foram observados valores crescentes do rendimento ao longo do tempo, notadamente nos primeiros sete dias e tendência de estabilidade até o final do experimento.



**Gráfico 10.** Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 2

Os resultados do ensaio com a trituração do substrato na temperatura de inverno indicaram que valores maiores da relação I/S (menor quantidade de substrato) contribuíram

para aumento do rendimento específico de metano, embora sejam resultados similares aos obtidos no ensaio 1 para as relações I/S de 1.5 e 2.0, as tendências dos gráficos são diferentes.

Estes valores de  $Y_{CH_4}$  (ensaio 2) são comparáveis com os valores obtidos em outros estudos utilizando biomassa lignocelulósica em processos de co-digestão anaeróbia.

Num estudo a escala laboratorial desenvolvido por Li et al. (2014), foi avaliado o rendimento específico de metano da co-digestão dos substratos esterco de galinha e palha de milho triturada em tamanho menor de 3 cm. Lodo anaeróbio de ETE foi utilizado como inóculo. Os autores obtiveram um rendimento específico de metano de  $281 \pm 12$  mL  $CH_4$ /gSV para esta mistura. O ensaio foi conduzido durante 30 dias em batelada a  $37^\circ C$ .

Condições ótimas operacionais dos parâmetros A/M, pH e relação C/N para a co-digestão de palha de arroz e uma planta aquática *hydrilla verticillata* determinadas por Kainthola et al. (2019), utilizando um modelo de superfície de resposta, gerou um rendimento de metano de 287,6 mL  $CH_4$ /gSV. O experimento foi realizado em bateladas em biodigestores de 1 L de volume durante 50 dias a  $pH=7,34$ , relação A/M=2,15 e relação C/N=29,7. Esterco de vaca desgaseificado foi utilizado como fonte de microrganismos anaeróbios.

Kang et al. (2019), aplicaram pré-tratamento mecânico sobre a *hydrilla verticillata* para avaliar o efeito do tamanho de partícula sobre o rendimento específico de metano deste substrato. Foram avaliados diferentes tamanhos de partícula (0,18 e 1,0 mm) para o processo de co-digestão da planta aquática e lodo anaeróbio de um digestor alimentado com celulose e grama. A faixa de 0,25-0,38 mm apresentou o maior rendimento específico de metano com  $291 \pm 4$  mL  $CH_4$ /gSV. Os ensaios de BMP foram realizados a  $37^\circ C$  durante 30 dias e relação de carregamento S/I foi de 1.0 base SV.

Shen et al. (2019), avaliaram o potencial de biometano da casca de durião (*Durio zibethinus*) num processo de co-digestão anaeróbia utilizando três tipos de co-substratos: esterco de galinha, esterco de gado e esterco de porco. A melhor resposta em termos de produção volumétrica de metano foi para o teste de co-digestão que usou o esterco de porco e resíduo da fruta na proporção de 1:1 com 224,8 mL  $CH_4$ /gSV. O BMP foi aplicado por 30 dias e a temperatura de digestão foi de  $37^\circ C$ , lodo anaeróbio foi utilizado como inóculo e a relação de carregamento dos biodigestores foi de S/I=0.5 base SV.

### **5.1.3. Análise comparativa dos resultados em função do pré-tratamento**

Na Tabela 14 são apresentados os resultados consolidados da produção acumulada bruta e líquida de biogás e metano em função dos valores da relação I/S para os ensaios 1 e 2.

Comparando os resultados da produção líquida de biogás e metano com a produção bruta (Tabela 14), verifica-se que as macrófitas (substrato) produziram a maior fração de biogás e metano, com valores médios de 60 e 82% para o ensaio 1 e de 81 e 95% para o ensaio 2.

**Tabela 14.** Produção acumulada de biogás e metano para as relações I/S dos ensaios 1 e 2

Ensaio	Resultado	I/S 0.5			I/S 1.0			I/S 1.5			I/S 2.0		
		Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%
1	NmL Biogás	38323	22163	58	40240	24080	60	45156	28996	64	36756	20596	56
	NmL CH <sub>4</sub>	8238	6100	74	12235	10098	83	16954	14821	87	13601	11463	84
2	NmL Biogás	77737	66610	86	68493	57367	84	58213	47087	81	42777	31650	74
	NmL CH <sub>4</sub>	36629	35209	96	32298	30878	96	26910	25490	95	17933	16514	92

De acordo com a Tabela 14, observa-se que a produção de biogás e metano variou em função da quantidade de substrato alimentado nos biodigestores, sendo a relação I/S=1.5 a que apresentou maior produção líquida de metano no ensaio 1 (substrato não triturado) e I/S=0.5 no ensaio 2 (substrato triturado). Estes resultados demonstram a influência do pré-tratamento mecânico e indicam a necessidade de avaliação econômica para determinação da viabilidade da trituração da biomassa.

O substrato com pré-tratamento apresentou valores de produção líquida de metano superiores aos obtidos sem pré-tratamento com incrementos percentuais de 477, 205, 72 e 44% para os valores crescentes da relação I/S.

Verifica-se aumento na produção de biogás e metano nos biodigestores quando comparado com o produzido pelo branco. Os acréscimos no volume de biogás e metano no ensaio 1 foram de 137 e 285% para a relação I/S=0.5, de 149 e 472% para a relação I/S=1.0, de 179 e 693% para a relação I/S=1.5 e de 127 e 536% para a relação I/S=2.0.

No ensaio 2 o incremento no volume de biogás e metano foi visivelmente superior nos biodigestores de co-digestão comparativamente com o gerado pelo branco, com aumento de 598 e 2.479% para a relação I/S=0.5, de 515 e 2.175% para a relação I/S=1.0, de 423 e 1.795% para a relação I/S=1.5 e de 284 e 1.163% para a relação I/S=2.0.

Valores crescentes da relação I/S contribuíram para aumento do rendimento específico de metano conforme mostrado na Tabela 15.

Cabe também destacar que os valores do rendimento específico de metano no ensaio 2 foram superiores aos obtidos no ensaio 1, o que demonstra o efeito positivo causado pelo pré-

tratamento mecânico do substrato.

**Tabela 15.** Comparativo dos valores de  $Y_{CH_4}$  dos ensaios 1 e 2.

Ensaio	Macrófitas	Temperatura (°C)	TDS (dias)	$Y_{CH_4}$ (NmL/g SV)			
				I/S 0.5	I/S 1.0	I/S 1.5	I/S 2.0
1	Não triturada	18,2±2,4	66	25,0	81,7	177,8	184,0
2	Triturada	19,1±1,4	52	124,0	221,7	272,0	233,6

O incremento dos valores  $Y_{CH_4}$  do ensaio 2 foram de 396% para a I/S=0.5, de 171% para a I/S=1.0, de 53% para a I/S=1.5 e de 27% para a I/S=2.0 comparativamente ao ensaio 1. Observa-se que nos dois ensaios a maior adição de massa de macrófitas nos biodigestores (I/S=0.5) acarretou menores valores do rendimento específico de metano.

Comparando as curvas evolutivas de metano dos ensaios 1 e 2 (Gráfico 4 e Gráfico 9), é possível observar aumento do teor de metano no ensaio 2, aspecto positivo que pode ser atribuído ao pré-tratamento mecânico do substrato.

A relação I/S=0.5 apresentou o menor rendimento específico de metano nos ensaios 1 e 2, sendo que o baixo desempenho pode estar relacionado com excesso de compostos de difícil degradação por parte dos microrganismos envolvidos no processo.

Nas condições experimentais planejadas dos ensaios 1 e 2, na temperatura de inverno no sul do Brasil, seria recomendado realizar avaliação econômica (custo/benefício) levando em conta o adicional de metano produzido em relação ao custo de trituração do substrato do jeito que foi realizado neste estudo. Se a avaliação apresentar resultados favoráveis recomenda-se a adoção da relação I/S=1.5 para maximizar a produção de  $Y_{CH_4}$ .

#### 5.1.4. Caracterização física e química das amostras dos ensaios 1 e 2

Os resultados da caracterização física e química das amostras iniciais e finais e do carregamento orgânico (TCO) do ensaio 1 são apresentados na Tabela 16. Os dados das series históricas dos parâmetros físicos e químicos monitorados nos ensaios 1 e 2 são apresentados no ANEXO D.

No fim do ensaio 1, o branco apresentou remoções de ST e SV próximas de 30%, porém nos biodigestores de co-digestão os valores de remoção de ST e SV foram inferiores a 20%, evidenciando dificuldade por parte dos microrganismos em hidrolisar os componentes lignocelulósicos da estrutura da macrófita. Segundo Nizami et al. (2009) a biodegradabilidade deste material é limitada pela cristalinidade da celulose e pelo conteúdo de lignina.

É possível observar que a redução dos SV nos biodigestores foi proporcional ao carregamento orgânico TCO, assim, quando o carregamento diminuiu nos biodigestores a remoção de SV do meio de reação também decresceu.

**Tabela 16.** Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 1

Parâmetros		Biodigestores				
		Branco	I/S=0.5	I/S=1.0	I/S=1.5	I/S=2.0
ST (mg/L)	Inicial	30446	38208	36980	36210	35851
	Final	20408	31015	29888	30564	31521
SV (mg/L)	Inicial	12704	13084	13225	12780	13420
	Final	8907	10548	10955	11796	12732
DQO <sub>T</sub> (mg/L)	Inicial	41675±2304	37236±135	39526±832	38638±389	28634±455
	Final	29166±1691	29064±1327	28783±720	25492±734	29833±912
DQO <sub>F</sub> (mg/L)	Inicial	498±135	13733±1107	6292±540	6791±675	3641±321
	Final	2610±566	9197±485	5179±121	1057±363	3692±201
NTK (mg/L)	Inicial	1020	748	619	531	649
	Final	903	1951	1427	1485	1136
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	Inicial	90	382	404	322	295
	Final	29	757	728	553	408
AT (mg/L)	Inicial	895	1300	1770	1823	1481
	Final	1076	4649	3725	3314	3002
AP (mg/L)	Inicial	445	895	1173	934	885
	Final	572	2806	2293	2356	2048
(AI/AT)	Inicial	0,50	0,31	0,34	0,49	0,40
	Final	0,47	0,40	0,38	0,29	0,32
pH	Inicial	7,18	7,10	7,15	7,11	7,14
	Final	6,79	7,20	7,22	7,25	7,19
TCO (g SV/L.d)	Inicial	-	0,20	0,12	0,09	0,07

A análise da DQO<sub>T</sub> apresentou dificuldades devido à natureza heterogênea das amostras, pois no momento da coleta o conteúdo de macrófitas variava de uma amostra para outra (observação visual), possivelmente refletindo no resultado analítico. Amostras com alto teor de sólidos em suspensão são de difícil caracterização do conteúdo orgânico (DQO) empregando os métodos analíticos utilizados para água e esgoto, devido à dificuldade de homogeneização e adequada diluição (Raposo et al. 2011).

Contudo, os biodigestores apresentaram diminuição na concentração da DQO<sub>T</sub> com exceção da relação I/S=2.0, sendo os percentuais de remoção atingidos pelas relações I/S=0.5, 1.0 e 1.5 de 22, 27 e 34%, respectivamente.

Os valores da concentração de NTK e nitrogênio amoniacal aumentaram ao longo do tempo de duração do experimento de co-digestão conforme mostrado na Tabela 16. O



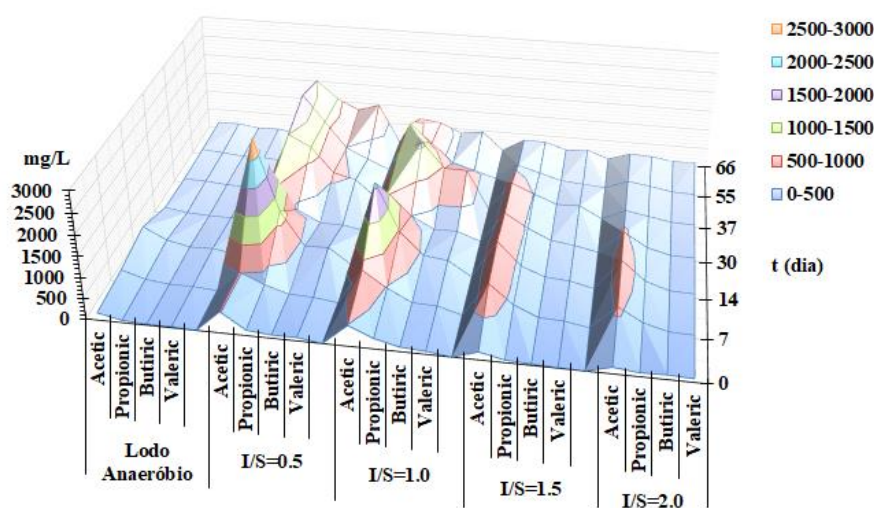
aumento na concentração do nitrogênio nos biodigestores com macrófitas está provavelmente relacionado com a solubilização dos compostos nitrogenados presentes no substrato. Os valores de concentração de nitrogênio amoniacal nos biodigestores, excetuando o branco, estiveram dentro da faixa de concentração 200-1.000 mg/L, faixa que vários autores identificaram como sem efeito adverso para processos anaeróbios (McCarty 1964; Angelidaki and Ahring 1994; Hammad et al. 1999; Mata-Alvarez et al. 2000; Khanal 2008).

Fatores como a temperatura ( $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ) e o pH próximo da faixa neutra, provavelmente beneficiaram o processo anaeróbio e reduziram o potencial risco inibidor causado pelo nitrogênio amoniacal como relatado nos estudos de Gallert and Winter (1997) e Lay et al. (1998).

A alcalinidade no branco e nos biodigestores aumentou indicando melhoria da capacidade tampão do pH na faixa neutra, o que é recomendável ao processo anaeróbio. Em geral os valores da alcalinidade para o ensaio 1 ficaram dentro da faixa normal para processos anaeróbios, que segundo (Metcalf et al. 2004), varia de 1.000 a 5.000 mg/L.

Os valores verificados de pH do branco e dos biodigestores ficaram dentro da faixa ideal para o processo anaeróbio. A relação AI/AT, com exceção do branco, se manteve dentro da faixa recomendada. Alguns autores consideram que o processo anaeróbio é estável quando o pH está na faixa 6,5-7,5 e a relação AI/AT é  $< 0.4$  (Jenkins et al. 1991; Callaghan et al. 1999; Fernández, J. M., Omil, F., Méndez, R., & Lema 2001; Khanal 2008; Ferrer et al. 2010; W. Wilawan, P. Pholchan 2014; Bres et al. 2018).

A produção de AGVs durante o ensaio 1 são mostrados no Gráfico 11. Os AGVs avaliados foram ácido acético, propiônico, butírico e valérico.



**Gráfico 11.** Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 1

Observa-se que o ácido acético e propiônico foram de maior predominância dos AGVs avaliados. As concentrações máximas de acético e propiônico para o inóculo e para as relações I/S de 0.5, 1.0, 1.5 e 2.0 foram: 480,6 e 195,2 mg/L, 2.900,0 e 1.193,3 mg/L, 2.096,1 e 960,4 mg/L, 936,4 e 387,6 mg/L e 754,2 e 303,9 mg/L, respectivamente.

Verificou-se aumento na concentração de AGVs nas relações I/S nas primeiras semanas, após houve redução provavelmente causado pelo equilíbrio dinâmico entre a produção dos ácidos graxos e seu posterior consumo para a formação de metano e outros gases.

Na Tabela 17 são apresentados os resultados da caracterização física e química das amostras iniciais e finais e do carregamento orgânico (TCO) do ensaio 2.

Quando comparado os valores de início e final dos ST verificou-se a baixa degradação nos ensaios de digestão, sendo que as relações I/S e o branco não superaram o percentual de remoção de 10% e 4%, respectivamente. Os SV apresentaram um percentual de remoção levemente superior em comparação com os ST, sendo as porcentagens de degradação de SV alcançadas pelos biodigestores de 21,1% para a I/S=0.5, de 14,8% para a I/S=1.0, de 11,2% para a I/S=1.5 e de 8,7% para a I/S=2.0.

A remoção de SV nos biodigestores com macrófitas aumentou em função dos valores mais elevados do carregamento orgânico aplicado, resultando em maior produção de biogás e metano como visualizado nos Gráficos 7 e 8.

As maiores eficiências de remoção da DQOT foram verificadas nas relações I/S=1.5 e 2.0 com 27% e 51%, respectivamente. Os biodigestores I/S=0.5 e 1.0 com maior carregamento orgânico, atingiram remoções de 2% e 6%, respectivamente. O branco alcançou uma remoção de 10% da DQOT, resultado esperado considerando que o inóculo utilizado nos ensaios apresentou maior conteúdo de sólidos fixos (aproximadamente 60%). Foi verificada diminuição da DQOF durante o experimento, mostrando que o material solúvel produzido no processo anaeróbio foi degradado na fermentação e posteriormente utilizado como fonte de carbono para produzir principalmente metano e dióxido de carbono (Appels et al. 2011; Ren et al. 2018).

**Tabela 17.** Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 2

Parâmetros		Biodigestores				
		Branco	I/S=0.5	I/S=1.0	I/S=1.5	I/S=2.0
ST (mg/L)	Inicial	32358	40136	36927	34328	34209
	Final	31046	37324	33395	32680	32354
SV (mg/L)	Inicial	14054	14467	14010	13993	14154
	Final	14003	11422	11938	12426	12920
DQO <sub>T</sub> (mg/L)	Inicial	33303±1176	26913±915	27786±798	29734±579	28673±1121
	Final	29857±3349	26486±2884	26213±539	21716±1461	24060±3525
DQO <sub>F</sub> (mg/L)	Inicial	2086±261	6456±161	3416±308	3060±784	2053±784
	Final	1817±108	3554±1068	1964±221	2012±829	1174±180
NTK (mg/L)	Inicial	1166	1311	1078	1370	1137
	Final	1249	1946	1510	1452	1336
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	Inicial	58	204	233	204	146
	Final	116	842	552	494	378
AT (mg/L)	Inicial	870,2	1877,2	1613,2	1510,5	1488,2
	Final	928,8	3979,2	3309,5	2771,8	2517,6
AP (mg/L)	Inicial	342,2	669,7	689,3	718,6	659,9
	Final	444,9	2732,7	2669,1	1989,6	1603,4
(AI/AT)	Inicial	0,61	0,64	0,57	0,52	0,55
	Final	0,48	0,31	0,19	0,28	0,36
pH	Inicial	6,71	6,57	6,64	6,72	6,71
	Final	6,79	7,13	7,12	7,04	6,98
TCO (g SV/L.d)	Inicial	-	0,29	0,17	0,13	0,10

O acréscimo de NTK e nitrogênio amoniacal principalmente nos biodigestores com substrato lignocelulósicos deveu-se provavelmente à decomposição de substâncias orgânicas nitrogenadas, como por exemplo as proteínas (Grady Jr et al. 2011; Möller and Müller 2012; Chen 2014). O mesmo comportamento do aumento do nitrogênio em processos anaeróbios utilizando macrófitas como substrato foi descrito por Calicioglu et al. (2019).

O substrato utilizado neste estudo apresentou valores superiores a 35% de proteína bruta, os quais são comparáveis com os obtidos em outros trabalhos da literatura, tais como os de Xiu et al. (2010); Ge et al. (2012); Verma and Suthar (2016) e Gaur et al. (2017).

Em geral, as concentrações de NTK e nitrogênio amoniacal observadas nos biodigestores durante o ensaio 2 não comprometeram a estabilidade do processo. Nitrogênio amoniacal como NH<sub>4</sub>-N pode ser tolerada em concentrações de 1.500-3.000 mg/L com pH acima de 7,4 (Metcalf et al. 2004) destacam que valores acima de 3.000 mg/L pode inibir o processo de digestão para qualquer valor de pH.

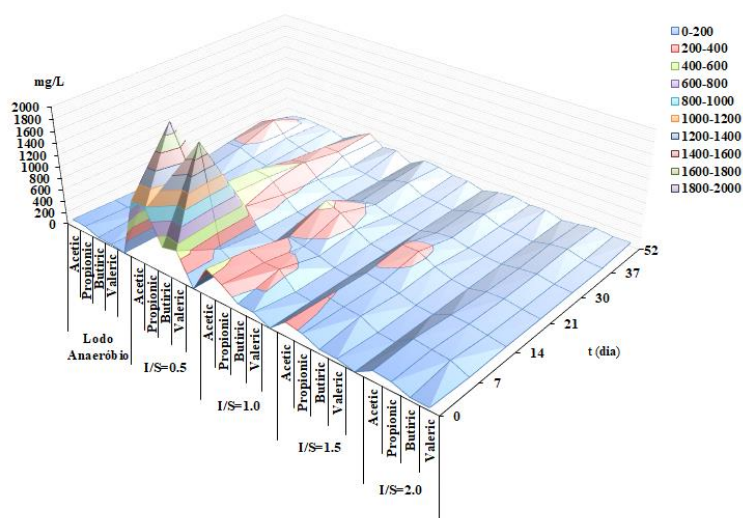
Verificou-se aumento da AT e AP, indicando que os biodigestores melhoraram a capacidade tampão do meio reacional minimizando o risco de acidificação gerado pelo

eventual acúmulo dos AGVs.

A relação AI/AT se manteve abaixo de 0,40 nos biodigestores, indicando que o processo anaeróbio alcançou condições de estabilidade (Ferrer et al. 2010; Astals et al. 2012; Zhang and Banks 2013; W. Wilawan, P. Pholchan 2014; Bres et al. 2018). No branco a relação AI/AT ficou acima do valor 0,40 durante todo o experimento.

Os valores do pH das diferentes relações I/S evidenciaram condições ótimas para o desenvolvimento dos microrganismos produtores de metano, sendo a faixa de variação para a relação I/S=0.5 de 6,50-7,14, para I/S=1.0 de 6,64-7,18, para I/S=1.5 de 6,72-7,04 e para I/S=2.0 de 6,71-6,98. Conforme alguns autores, a faixa ótima recomendada para o crescimento conjunto dos grupos de bactérias acidogênicas e metanogênicas é de 6,6-7,4, sendo o pH neutro o recomendado para o processo (Khanal 2008; Grady Jr et al. 2011).

O Gráfico 12 apresenta a evolução dos AGVs no branco e nos biodigestores de co-digestão. As concentrações de AGVs não provocaram distúrbios no processo anaeróbio que comprometesse a produção de biogás e metano.



**Gráfico 12.** Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 2

Observa-se que as concentrações dos AGVs diminuíram no decorrer do experimento, indicando que as bactérias acetogênicas degradaram os ácidos graxos produzidos, dando continuidade à sequência de conversão da matéria orgânica em biogás.

Foi observado em todos os biodigestores que a partir da terceira semana do processo de digestão anaeróbia, a concentração de propiônico passou a ser predominante no meio de reação, evidenciando uma possível limitação das bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio para degradar o ácido propiônico. Embora tenha acontecido um pequeno acúmulo

de ácido propiônico, ele não foi determinante para a inibição do processo anaeróbico.

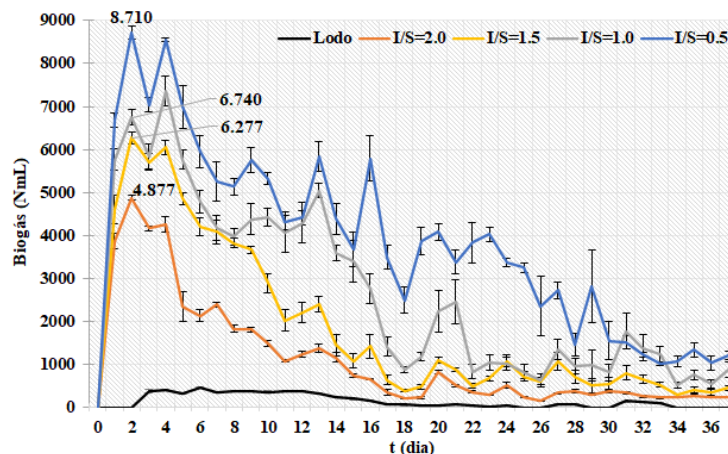
## 5.2. Produção de biogás em função da temperatura – Substrato sem pré-tratamento

Neste item são apresentados os resultados da produção de biogás e metano obtidos a partir do ensaio empregando substrato sem pré-tratamento no inverno (ensaio 1) e no verão (ensaio 3).

### 5.2.1. Temperatura de verão sem pré-tratamento do substrato – Ensaio 3

A temperatura do experimento foi mantida na faixa de  $26,6 \pm 1,2^\circ\text{C}$  (verão) e o tempo experimental foi de 37 dias. O substrato apresentou 93,4% de umidade e 84% de SV e o lodo anaeróbico apresentou concentrações de ST e SV de 32.562 e 15.734 mg/L. As configurações dos biodigestores estão descritas na Tabela 9 (item 4.2.8.3).

As curvas de biogás bruto produzido pelos biodigestores e pelo branco podem ser visualizadas no Gráfico 13.

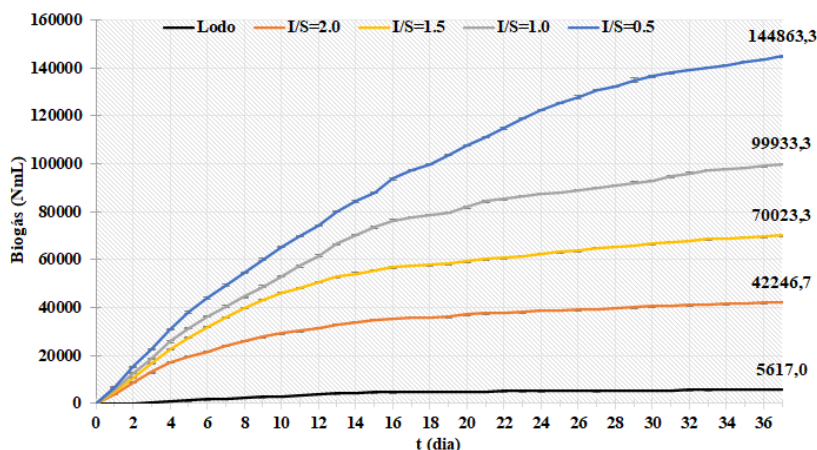


**Gráfico 13.** Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 3

No caso do substrato não triturado e temperatura do experimento de verão, observou-se uma produção elevada de biogás no início do ensaio, notadamente para as relações I/S=0.5 e 1.0, com tendência de decréscimo ao longo do tempo. Entretanto, os valores finais da produção de biogás nos biodigestores de co-digestão foram superiores aos do branco mostrando que não houve esgotamento da matéria orgânica biodegradável proveniente do substrato.

No Gráfico 14 podem ser visualizadas as curvas de produção acumulada de biogás as

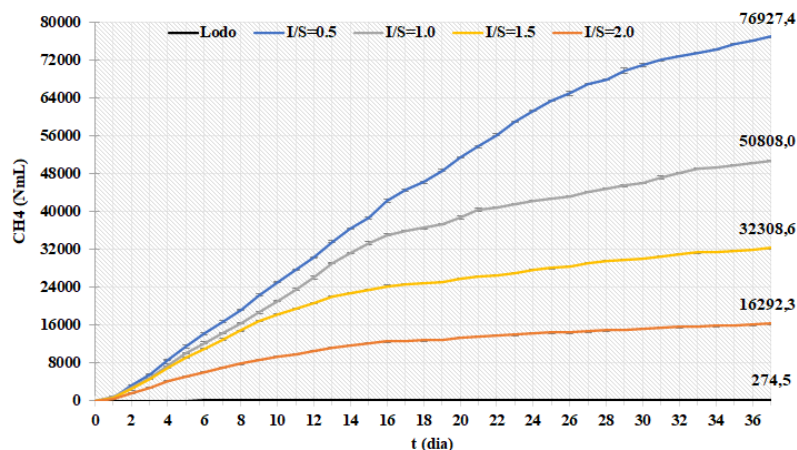
quais mostram que valores crescentes da relação I/S resultaram em menores valores da produção volumétrica de biogás. Observa-se que os biodigestores atingiram a produção máxima de biogás entre o 80-90% na faixa de 23-28, 19-27, 16-25 e 15-23 dias para I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.



**Gráfico 14.** Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 3

Nestas condições operacionais de temperatura ( $26,6 \pm 1,1^\circ\text{C}$ ) e substrato sem pré-tratamento físico, a relação I/S=0.5 apresentou a maior produção de biogás (144.863 NmL), com aumento de 2.479% em relação ao branco. O ganho percentual das demais relações I/S foi de 1.679% para I/S=1.0, de 1.147% para I/S=1.5 e de 652% para I/S=2.0.

As curvas de produção bruta acumulada de metano podem ser visualizadas no Gráfico 15, as quais indicam que valores crescentes da relação I/S resultaram em decréscimo da produção bruta acumulada de metano. A relação I/S=0.5 apresentou a maior produção de metano com aproximadamente 77.000 NmL.

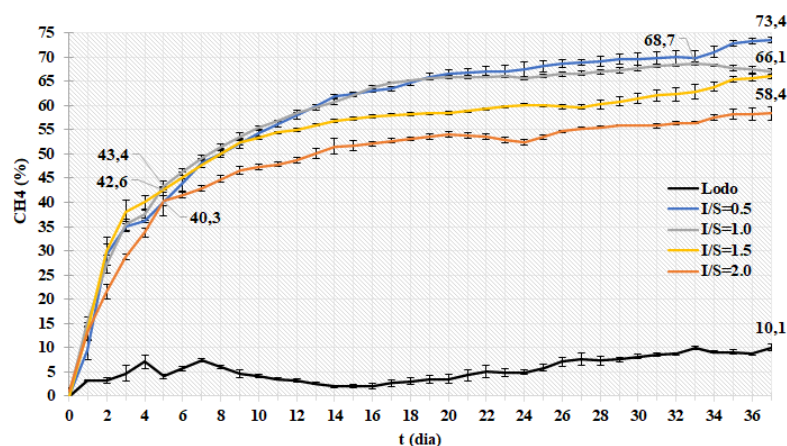


**Gráfico 15.** Produção bruta acumulada de CH<sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 3

Os resultados obtidos no ensaio 3 indicam o efeito positivo da temperatura sobre a produção de biogás e metano nos experimentos de co-digestão. Os valores menores de I/S (maior massa de macrófitas) resultaram em maior produção de metano evidenciando que os microrganismos envolvidos no processo conseguiram converter uma maior quantidade de matéria orgânica do substrato a biogás, o que está em oposição aos resultados obtidos no ensaio 1 (substrato sem pré-tratamento e temperatura média de  $18 \pm 2,4^\circ\text{C}$ ).

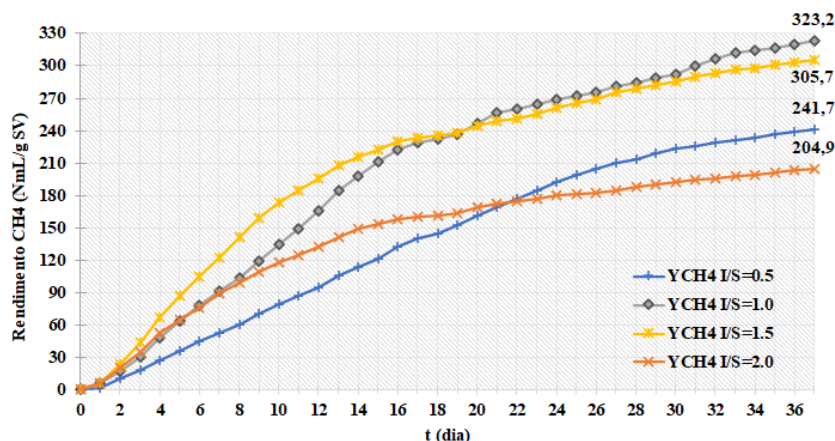
Segundo a produção volumétrica máxima acumulada de metano (Gráfico 15) foi verificado que do total de biogás produzido nos ensaios de co-digestão (Gráfico 14) a fração volumétrica de metano alcançada foi de 53, 51, 46 e 39% para as relações I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente. No branco a produção volumétrica total de metano foi de 275 NmL que corresponde ao 5% do total de biogás.

O Gráfico 16 mostra que a fração de metano no biogás aumentou ao longo do tempo, notadamente nos primeiros oito dias do ensaio com valores próximos de 50% para todas as relações I/S. Ao final do ensaio, os valores máximos foram de 73,4% para a I/S=0.5, de 68,7% para a I/S=1.0, de 66,1% para a I/S=1.5 e de 58,4% para a I/S=2.0.



**Gráfico 16.** Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 3

As curvas de rendimento específico de metano para os biodigestores podem ser visualizadas no Gráfico 17, destacando-se os valores intermediários da relação I/S (1.0 e 1.5) que atingiram os valores de 305 e 323 NmL  $\text{CH}_4/\text{g SV}$ , respectivamente.



**Gráfico 17.** Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 3

De acordo com os resultados obtidos no ensaio 3, os valores de  $Y_{CH_4}$  (204-323 NmL  $CH_4/g$  SV) são superiores os descritos por Pena et al. (2017). Os citados autores obtiveram produção específica de metano de 193 NmL  $CH_4/g$  SV na co-digestão da macrófita (*lemna minor*) e esgoto suíno pré-tratado. O meio de reação do processo de co-digestão foi composto por 100 g de biomassa úmida por litro de esgoto. O experimento foi realizado a 37°C durante 40 dias.

Os valores do rendimento específico de metano ( $Y_{CH_4}$ ) reportados por Kist et al. (2020) foram superiores aos obtidos neste estudo. Os autores realizaram ensaios BMP para avaliar a biodegradabilidade de três macrófitas (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta*). Os ensaios BMP foram realizados a 35°C durante 46 dias e lodo de digestor anaeróbio de uma ETE foi utilizado como inóculo. Inicialmente os substratos foram submetidos a dois tipos de acidificação e posteriormente foram aplicadas duas energias de sonicação (40.000 e 80.000 kJ/kgTS). A *Salvinia* sem e com pré-tratamento (40.000 kJ/kgTS) alcançou  $Y_{CH_4}$  de 404 e 432 NmL/g SV. A *Pistia* sem e com pré-tratamento (80.000 kJ/kgTS) atingiu  $Y_{CH_4}$  de 397 e 417 NmL/g SV e a *Eichhornia* sem e com pré-tratamento (40.000 kJ/kgTS) atingiu  $Y_{CH_4}$  de 371 e 422 NmL/g SV. A aplicação do pré-tratamento com ultrassom aumentou a taxa máxima de produção de metano, porém o processo de pré-tratamento mostrou-se insustentável em termos de custo envolvido.

Num experimento de co-digestão anaeróbia entre resíduos de alimentos e esterco bovino realizado por de Moraes Andrade et al. (2020), foi obtido rendimento específico de metano máximo de 273 NmL/g SV alcançado com uma taxa de carregamento de 1:2 equivalente a proporção de 33% de resíduo de comida e 67% de esterco. O experimento laboratorial de co-digestão foi realizado a 36°C por 65 dias. Concentrações elevadas de ácidos graxos voláteis superiores a 8.000 mg/L inibiram a produção de metano. Os resultados



obtidos das relações I/S=1.0 e 1.5 no ensaio 3 foram superiores aos reportados pelos autores supracitados.

### 5.2.2. Análise comparativa dos resultados em função da temperatura

Na Tabela 18 são apresentados os resultados consolidados da produção acumulada bruta e líquida de biogás e metano em função dos valores da relação I/S para os ensaios 1 (inverno) e 3 (verão) os quais empregam substrato sem pré-tratamento. Observa-se que a temperatura alterou o desempenho dos biodigestores, sendo que no ensaio 1 os maiores valores de produção bruta e líquida de metano foram obtidos para I/S=1.5 e no ensaio 3 ocorreu para I/S=0.5 (maior quantidade de macrófitas).

**Tabela 18.** Produção acumulada de biogás e metano para as relações I/S dos ensaios 1 e 3

Ensaio	Resultado	I/S 0.5			I/S 1.0			I/S 1.5			I/S 2.0		
		Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%
1	NmL Biogás	38323	22163	58	40240	24080	60	45156	28996	64	36756	20596	56
	NmL CH <sub>4</sub>	8238	6100	74	12235	10098	83	16954	14821	87	13601	11463	84
3	NmL Biogás	144863	139246	96	99933	94316	94	70023	64406	92	42246	36629	86
	NmL CH <sub>4</sub>	76927	76652	99	50808	50533	99	32308	32034	99	16292	16017	98

O biogás e metano gerados no ensaio 3 provêm principalmente da biodegradação do substrato, com aportes médios líquidos de biogás e metano de 92 e 99%, respectivamente. Esta elevada contribuição por parte do substrato demonstra a importância da temperatura sobre o sinergismo entre o substrato lignocelulósico e o lodo anaeróbio.

Quando comparados os valores da produção acumulada líquida de metano do ensaio 3 com o ensaio 1, verificou-se que o experimento que operou na temperatura de verão apresentou incrementos percentuais de 1.157, 400, 116 e 40% para I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.

Observa-se que a relação I/S=0.5 do ensaio 3 apresentou um acréscimo na produção de metano de aproximadamente cinco vezes em relação ao valor obtido pela relação I/S=1.5 no ensaio 1, o que indica maior biodegradação anaeróbia da biomassa adicionada na condição de verão.

A Tabela 19 apresenta um comparativo do rendimento específico de metano obtido nos ensaios 1 e 3.

**Tabela 19.** Comparativo dos valores de  $Y_{CH_4}$  dos ensaios 1 e 3

Ensaio	Macrófitas	Temperatura (°C)	TDS (dias)	$Y_{CH_4}$ (NmL/g SV)			
				I/S 0.5	I/S 1.0	I/S 1.5	I/S 2.0
1	Não triturada	18,2±2,4	66	25,0	81,7	177,8	184,0
3	Não triturada	26,6±1,2	37	241,7	323,3	305,7	204,8

A análise comparativa dos resultados do  $Y_{CH_4}$  (Tabela 19) permite identificar que o valor mais elevado de  $Y_{CH_4}$  na condição de inverno (ensaio 1) ocorreu para I/S= 2.0, enquanto na condição de verão (ensaio 3) o valor mais elevado de  $Y_{CH_4}$  foi obtido para a relação I/S=1.0. Mediante comparação desses valores verifica-se um incremento de 76% para a condição de verão, evidenciando assim a influência da temperatura na conversão anaeróbia do substrato lignocelulósico (macrófitas) a metano.

O percentual de incremento de  $Y_{CH_4}$  no ensaio 3 foi de 867, 496, 72 e 11% para as relações I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente, em relação ao ensaio 1.

Os ensaios do efeito da temperatura (1 e 3) para substrato não triturado apresentam valores significativamente diferentes de  $Y_{CH_4}$ , porém faz-se necessário a avaliação econômica (relação benefício/custo) da viabilidade do aquecimento do processo de co-digestão, especialmente no inverno.

Cabe também destacar o menor tempo requerido no ensaio 3 (37 dias) o que permite o processamento de maior quantidade de biomassa por unidade de volume dos biodigestores na condição de verão.

### 5.2.3. Caracterização física e química das amostras do ensaio 3

Os resultados da caracterização física e química das amostras iniciais e finais e do carregamento orgânico (TCO) do ensaio 3 são apresentados na Tabela 20. Os dados das series históricas dos parâmetros físicos e químicos monitorados neste ensaio são apresentados no ANEXO D.

**Tabela 20.** Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 3

Parâmetros		Biodigestores				
		Branco	I/S=0.5	I/S=1.0	I/S=1.5	I/S=2.0
ST (mg/L)	Inicial	32562	34830	34420	33101	34119
	Final	31792	28392	29618	30982	30538
SV (mg/L)	Inicial	15734	14472	14982	14566	14995
	Final	14876	11852	13172	14130	13866
DQO <sub>T</sub> (mg/L)	Inicial	29734±2207	28703±2631	26204±1673	31778±1314	25533±1165
	Final	278956±3691	23057±2373	20065±1934	21421±1243	19414±1436

Parâmetros		Biodigestores				
		Branco	I/S=0.5	I/S=1.0	I/S=1.5	I/S=2.0
DQO <sub>F</sub> (mg/L)	Inicial	3650±575	3610±907	2496±621	2681±352	3344±376
	Final	2003±235	428±107	440±103	610±112	414±98
NTK (mg/L)	Inicial	1004	1406	1033	1015	976
	Final	900	2004	1655	1510	1278
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	Inicial	57	201	115	86	86
	Final	145	958	697	581	436
AT (mg/L)	Inicial	738	1115	1056	1198	1027
	Final	1027	4776	3818	3226	2904
AP (mg/L)	Inicial	298	596	440	709	528
	Final	504	3813	2918	2171	2024
(AI/AT)	Inicial	0,60	0,46	0,58	0,41	0,49
	Final	0,51	0,20	0,24	0,33	0,30
pH	Inicial	6,77	7,02	6,80	6,83	6,73
	Final	6,62	7,42	7,24	7,11	6,99
TCO (g SV/L.d)	Inicial	-	0,45	0,27	0,20	0,16

De acordo com a Tabela 20, os percentuais de remoção de ST e SV alcançados foram de 18,5 e 18,1%, de 14 e 12,1%, de 6,4 e 3% e de 10,5 e 7,5% para I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente. O branco alcançou uma redução de ST e SV de 2,4 e 5,5%.

As eficiências de remoção da DQO<sub>T</sub> foram de 20, 23, 33 e 24% para as relações I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente. A remoção da DQO solúvel do meio de reação (DQO<sub>F</sub>) foi de 88% para as relações I/S=0.5, 1.0 e 2.0 e de 77% para a I/S=1.5. A eficiência de remoção da DQO<sub>F</sub> do branco foi de 45%.

A amonificação do meio de reação dos biodigestores foi proporcional a quantidade de substrato alimentado. A faixa de concentração de NTK e de nitrogênio amoniacal nos biodigestores de co-digestão foi de 1.278-2.004 e 436-958 mg/L, valores que não afetaram negativamente o processo biológico e que se encontram abaixo das concentrações que podem causar inibição referidas anteriormente.

A presença de nitrogênio amoniacal pode ser benéfica para a digestão anaeróbia devido a sua contribuição com a manutenção da alcalinidade pela formação de bicarbonato de amônio produzido pela reação com o dióxido de carbono (Khanal 2008).

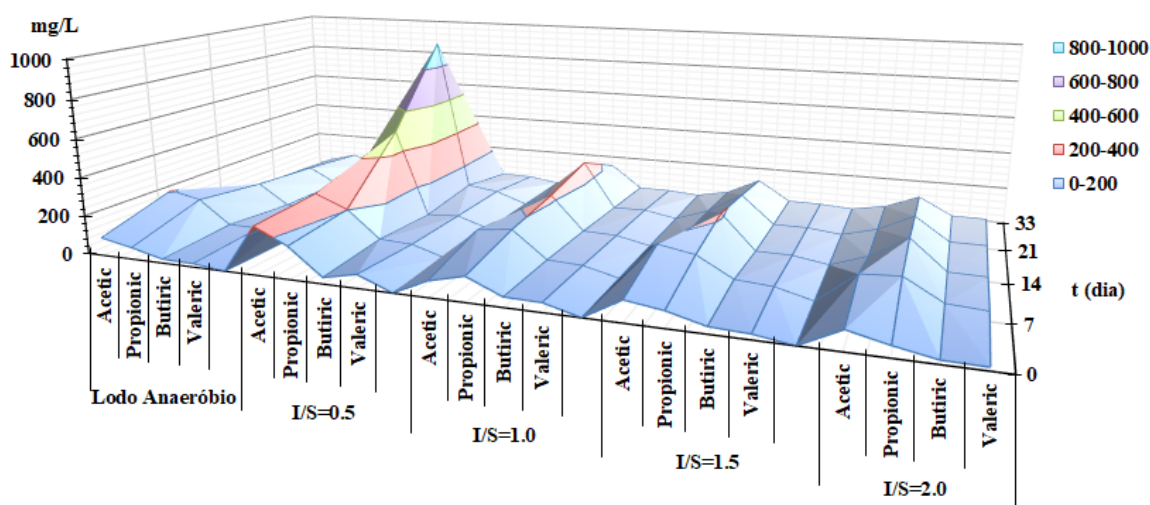
As concentrações de AT e AP apresentaram incremento ao longo do tempo no ensaio 3, sendo que as maiores concentrações foram verificadas no fim do experimento e seu incremento ocorreu em função da quantidade de substrato adicionado nos biodigestores. O aumento da alcalinidade favorece a estabilidade do processo anaeróbio, pois reduz o risco de acidificação devido a sobrecargas orgânicas (Khanal 2008).

Os valores de pH situarem-se na faixa entre 6,5 e 7,5, a qual é considerada como ótima para as bactérias metanogênicas (Li et al. 2019).

O indicador de estabilidade do processo, a relação AI/AT, no início do ensaio apresentou valores acima do máximo recomendado (0,4) para todos os biodigestores, porém não foram observados episódios de acidificação que comprometessem a estabilidade do processo anaeróbio.

Após uma semana de operação, foram verificados valores decrescentes e inferiores a 0,4 até o final do experimento para todas as relações I/S.

As evoluções dos AGVs podem ser observadas no Gráfico 18. A maior concentração de AGVs foi verificada na relação I/S=0.5. Ditos biodigestores apresentaram um aumento considerável de ácido acético e propiônico na segunda semana com 358 mg/L de acético e 930 mg/L de propiônico. No entanto, no final do teste as concentrações de acético e propiônico diminuíram para 115 e 314 mg/L indicando que houve consumo pelas bactérias acetogênicas.



**Gráfico 18.** Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 3

Os valores máximos de ácido acético e propiônico verificados nas relações I/S=1.0, 1.5 e 2.0 foram de 167 e 282 mg/L, de 191 e 212 mg/L e de 151 e 178 mg/L, respectivamente. As concentrações máximas de acético e propiônico do branco foram de 206 e 170 mg/L.

Mesmo com concentrações na faixa de 25-400 mg/L de acético e de 53-1000 mg/L de propiônico, não foi observado desequilíbrio no processo anaeróbio.

### 5.3. Produção de biogás em função da temperatura – Substrato pré-tratado

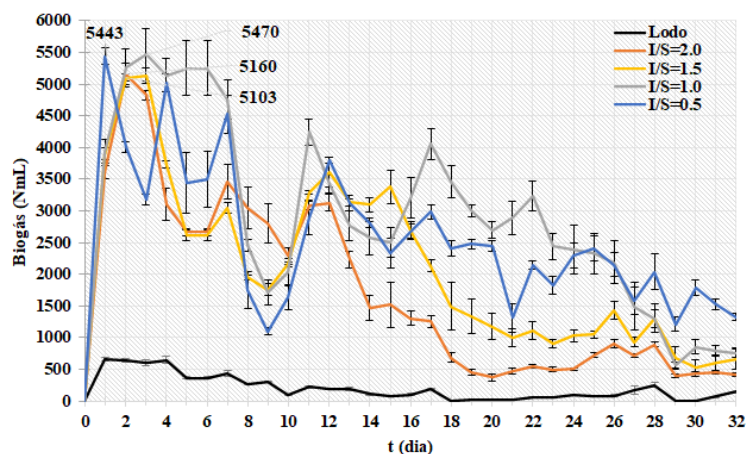
Neste caso, foram comparados os resultados de produção de biogás e metano obtidos com substrato pré-tratado na condição de temperatura de verão (ensaio 4) e no inverno (ensaio 2).

#### 5.3.1. Substrato pré-tratado – Ensaio 4

Neste ensaio a temperatura de operação dos biodigestores foi de  $25,8 \pm 1,0^\circ\text{C}$  e o tempo de duração do ensaio de 32 dias.

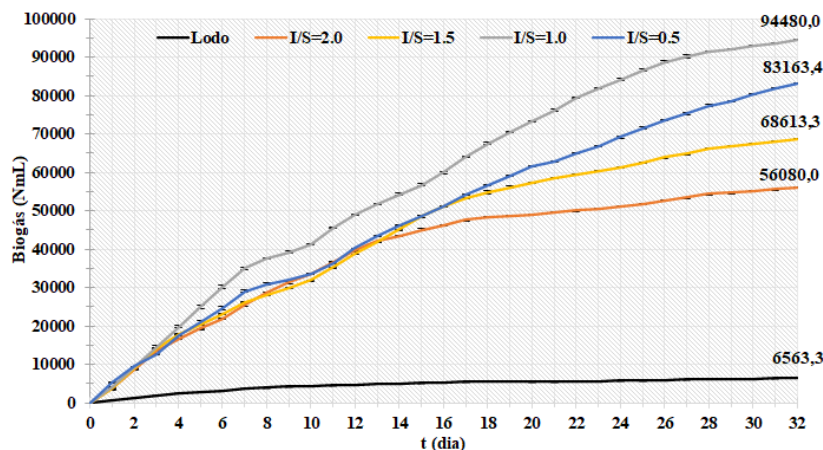
O substrato apresentou 94,2% de umidade, 5,8% de ST e 85,5% de SV, e as concentrações de ST e SV do inóculo foram de 34.322 e 15.182 mg/L, respectivamente. As condições de alimentação dos biodigestores estão descritas na Tabela 10 (item 4.2.8.4).

As curvas de produção bruta de biogás para os biodigestores são apresentadas no Gráfico 19, no qual pode ser observado alta produção de biogás (5.500 NmL/dia) nos primeiros sete dias e decréscimo posterior devido provavelmente a menor disponibilidade de matéria orgânica facilmente biodegradável ao longo do tempo.



**Gráfico 19.** Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 4

As curvas de produção acumulada de biogás dos biodigestores do ensaio 4 podem ser visualizadas no gráfico 20. No caso de substrato triturado e temperatura de verão observou-se que as menores relações I/S=0.5 e 1.0 (maior quantidade de substrato) obtiveram os valores mais elevados de biogás, enquanto as relações I/S=1.5 e 2.0 (menor quantidade de substrato) produziram menor volume de biogás, resultados similares aos obtidos no ensaio 2 (substrato com pré-tratamento e temperatura de operação de inverno).

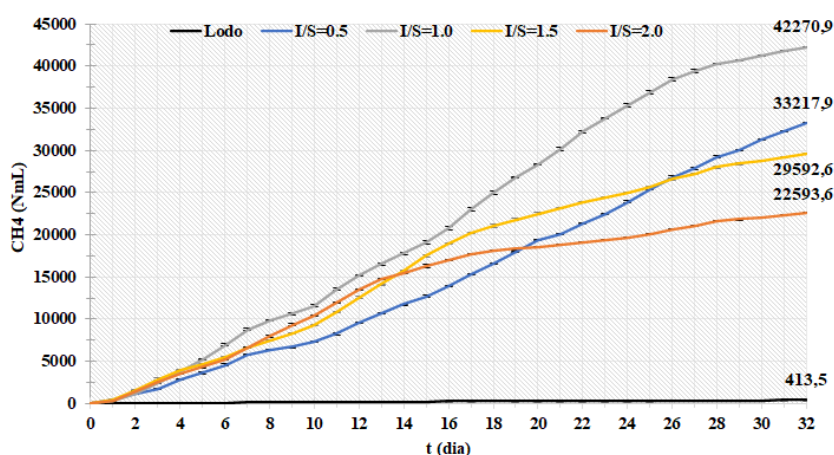


**Gráfico 20.** Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 4

A trituração do substrato provavelmente disponibilizou maior quantidade de matéria orgânica biodegradável o que contribuiu para a maior produção de biogás nos primeiros oito dias do ensaio. Os ganhos percentuais alcançados pelas relações I/S=1.0, 0.5, 1.5 e 2.0 quando comparado com o volume produzido pelo branco foram de 1.339, 1.167, 945 e 754%, respectivamente.

Observa-se que os biodigestores atingiram a produção máxima de biogás (80-90%) na faixa de 23-27, 21-25, 18-24 e 15-23 dias para I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.

As curvas da produção bruta acumulada de metano do ensaio 4 podem ser visualizadas no Gráfico 21, no qual é possível observar que valores superiores da relação I/S (1.5 e 2.0) resultaram em diminuição do volume acumulado de metano.

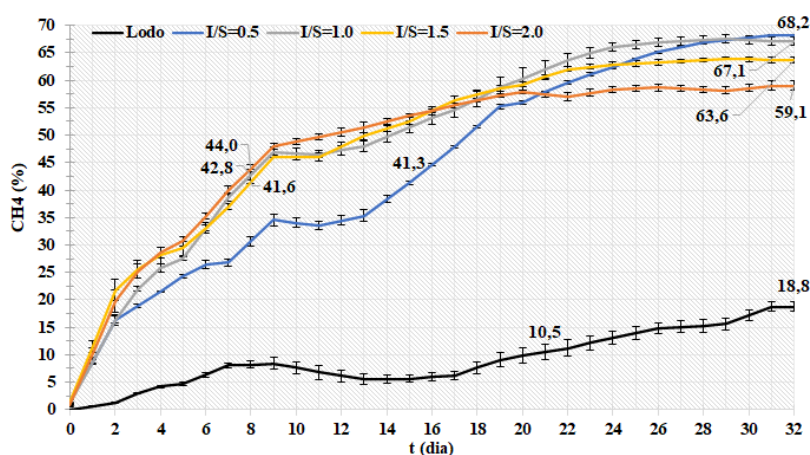


**Gráfico 21.** Produção bruta acumulada de CH<sub>4</sub> em relação ao tempo - Ensaio 4

No caso do substrato com pré-tratamento mecânico e temperatura média de  $25,8 \pm 1,0^\circ\text{C}$ , a relação I/S=1.0 resultou no valor mais elevado do volume de metano com aproximadamente 43.000 NmL, significativamente superior ao produzido pelo branco,

corroborando a vantagem do processo de co-digestão nas condições operacionais supracitadas sobre o processo de monodigestão.

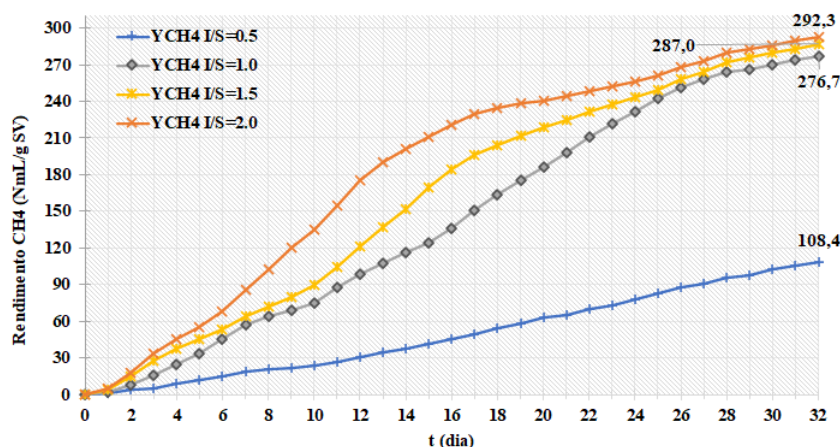
As curvas da evolução do teor de metano no ensaio 4 são apresentadas no Gráfico 22, no qual são observados valores similares de % metano, atingindo valores máximos de 68,2; 67,1; 63,6 e 59,1% para I/S=0.5; 1.0; 1.5 e 2.0. O branco atingiu 18,8% de concentração máxima de metano.



**Gráfico 22.** Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 4

O aumento da concentração de metano no biogás deste ensaio foi um pouco mais lento em comparação com o Ensaio 3. Possivelmente influenciado pela temperatura, embora tenha se mantido sob condições de verão, o valor médio ( $25,8 \pm 1,0^\circ\text{C}$ ) e a faixa ( $23-27^\circ\text{C}$ ) foram menores quando comparado com o ensaio 3 (substrato sem pré-tratamento mecânico e temperatura média de  $26,6 \pm 1,2^\circ\text{C}$ ).

O Gráfico 23 apresenta as curvas de rendimento específico de metano ( $Y_{\text{CH}_4}$ ), sendo que o menor valor foi obtido para a relação I/S=0.5, ou seja, com comportamento similar ao do ensaio 2. Neste caso, não é recomendado a utilização da quantidade mais elevada de substrato (I/S=0.5) no verão ou no inverno.



**Gráfico 23.** Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 4

Observa-se que as relações I/S=2.0, 1.5 e 1.0 apresentaram valores similares de rendimentos específicos de metano, em torno de 300 NmL CH<sub>4</sub>/g SV.

Os resultados de Y<sub>CH<sub>4</sub></sub> produzidos no ensaio 4 são comparáveis aos descritos em diferentes estudos que empregaram macrófitas ou outro tipo de substrato lignocelulósico com ou sem pré-tratamento em processos de co-digestão anaeróbia.

No trabalho de Cu et al. (2015), os autores reportaram rendimentos específicos de metano obtido em testes de BMP de 340,67±50,5 NmL/g SV para as macrófitas e de 220,5±30,9 NmL/g SV para o espinafre de água. O teste BPM foi realizado em biodigestores tipo batch de 1,1 L de volume e a relação I/S foi ajustada para 1:1 com base na concentração de SV. O teste foi operado a temperatura mesofílica (37°C) durante 70 dias e como inóculo foi utilizado lodo de digestor que trata rejeitos da suinocultura.

Os resultados de Y<sub>CH<sub>4</sub></sub> do ensaio 4 foram superiores aos descritos por Dell’Omo and Spena (2020). Os autores realizaram testes BPM para avaliar o rendimento específico de metano de palha de milho e da cana do reino (*Arundo donax*). Os substratos foram pré-tratados mecanicamente com auxílio de um moinho industrial e a faixa granulométrica alcançada foi de 0,075-1,4 mm. Os rendimentos atingidos pelos substratos pré-tratados foram de 250,3 NmL CH<sub>4</sub>/g SV para a palha, 49% acima da palha de trigo sem pré-tratamento e de 212 NmL CH<sub>4</sub>/g SV para a cana do reino, com 137% de aumento em comparação com a cana sem pré-tratamento. Os testes foram realizados a 38°C e duraram 28 dias. A relação I/S foi ajustada para 0.5 (base SV) e foi utilizado lodo de um digestor anaeróbio mesofílico como inóculo.

Dima et al. (2020) obtiveram rendimentos específicos de metano na faixa de 105,3-356,1 mL CH<sub>4</sub>/g SV em um processo de co-digestão anaeróbia composto por três tipos de resíduos: resíduos de beterraba, esterco de gado e esterco de aves. Os substratos foram pré-



tratados mecanicamente alcançando um tamanho de partícula de aproximadamente 10 mm e a relação S/I foi fixada em 0.5 (base SV). A proporção de esterco de gado variou na faixa 0,146-0,854 na mistura de resíduos de origem animal. O ensaio foi realizado por 30 dias a 37°C utilizando inóculo de usina de biogás que trata resíduos da indústria agroalimentar.

Mu et al. (2020), avaliaram o potencial de rendimento específico de metano da co-digestão de três resíduos de origem urbana, nomeadamente, resíduos de jardinagem, resíduos de alimentos e de lodo de ETE. A mistura que proporcionou maior confiabilidade do processo foi para a relação 3:9:4 (base SV) de resíduos de jardinagem, de alimentos e lodo de ETE, respectivamente. O rendimento específico de metano alcançado foi de  $314,9 \pm 17,1$  NmL/g SV. Os resíduos de comida foram triturados e peneirados padronizando o tamanho de partícula de aproximadamente 1,4 mm. As folhas de árvores foram secas a 40°C e após foram trituradas e peneiradas com orifício de poro de 0,8 mm. A temperatura foi de 37°C e o tempo de operação dos biodigestores de 60 dias.

### 5.3.2. Análise comparativa dos resultados em função do pré-tratamento

Na Tabela 21 são apresentados os valores da produção acumulada bruta e líquida de biogás e metano em função dos valores da relação I/S empregando substrato pré-tratado na condição de verão (ensaio 4), comparativamente ao substrato com pré-tratamento (ensaio 2) na condição de inverno.

Conforme os resultados da tabela abaixo, verifica-se que a digestão do substrato gerou a maior parcela de biogás e metano, contribuindo com 88-93% de biogás e 99% do metano produzidos no ensaio 4.

De acordo com a Tabela 21, observa-se que a produção de biogás e metano dos ensaios 2 e 4 foram condicionadas pela quantidade de substrato adicionado nos biodigestores.

**Tabela 21.** Produção acumulada de biogás e metano para as relações I/S dos ensaios 2 e 4

Ensaio	Resultado	I/S 0.5			I/S 1.0			I/S 1.5			I/S 2.0		
		Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%	Bruta	Líquida	%
2	NmL Biogás	77737	66610	86	68493	57367	84	58213	47087	81	42777	31650	74
	NmL CH <sub>4</sub>	36629	35209	96	32298	30878	96	26910	25490	95	17933	16514	92
4	NmL Biogás	83163	76600	92	94480	87917	93	68613	62050	90	56080	49517	88
	NmL CH <sub>4</sub>	33218	32804	99	42271	41857	99	29593	29179	99	22594	22180	98

No caso do ensaio 2 (substrato pré-tratado e temperatura  $19,1\pm 1,4^{\circ}\text{C}$ ) a relação I/S=0.5 apresentou a maior produção de biogás e metano e no caso do ensaio 4 (substrato pré-tratado e temperatura  $25,8\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) foi a relação I/S=1.0. Estes resultados mostram que para substrato lignocelulósico triturado visando o aproveitamento térmico (calor) ou a geração de energia, recomenda-se adotar a relação I/S=0.5 para a condição de inverno e a relação I/S=1.0 para o verão.

Quando comparadas as produções líquidas de metano entre os ensaios 2 e 4, ressalta-se que o pré-tratamento físico e a temperatura de verão potencializaram o processo de codigestão anaeróbia. Foi verificado aumento na produção de metano de 35, 15 e 34% para as relações I/S=1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente. Entretanto, ocorreu redução de 7% na produção de metano para a relação I/S=0.5.

O incremento no volume de biogás e metano não foi tão relevante entre o ensaio 2 e 4, mas deve-se ter em consideração que na temperatura de verão empregando substrato triturado permitiu obter produções elevadas de biogás e metano em menor tempo.

De acordo com a Tabela 21, observa-se que a produção de biogás e metano dos ensaios 2 e 4 foram condicionadas pela quantidade de substrato adicionado nos biodigestores.

**Tabela 22.** Comparativo dos valores de  $Y_{\text{CH}_4}$  dos ensaios 2 e 4.

Ensaio	Macrófitas	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	TDS (dias)	$Y_{\text{CH}_4}$ (NmL/g SV)			
				I/S 0.5	I/S 1.0	I/S 1.5	I/S 2.0
2	Triturada	$19,1\pm 1,4$	52	124,0	221,7	272,0	233,6
4	Triturada	$25,8\pm 1,0$	32	108,4	276,8	286,9	292,2

A análise comparativa dos rendimentos  $Y_{\text{CH}_4}$  (Tabela 22) evidenciaram que o ensaio 4 obteve melhores resultados que o ensaio 2 com exceção da relação I/S=0.5. As relações I/S de 1.0, 1.5 e 2.0 do ensaio 4 apresentaram aumento percentual no rendimento específico de metano de 25, 5,5 e 25%, respectivamente.

Baseado nos resultados deste estudo, o pré-tratamento físico do substrato é recomendável para uma faixa ampla de temperaturas de operação dos biodigestores, oferecendo rendimentos específicos de metano elevados para as relações mais elevadas de I/S (1.0, 1.5 e 2.0), sendo que a escolha do parâmetro operacional de carregamento I/S deverá levar em conta a disponibilidade da planta aquática.

Avaliando a viabilidade energética do pré-tratamento mecânico recomenda-se a adoção da relação I/S de 1.5 para qualquer período estacional próprio da região sul do Brasil, considerando-se que o máximo rendimento  $Y_{\text{CH}_4}$  seria alcançado para a condição de

temperatura de verão.

Os resultados obtidos de rendimentos específicos de biogás e metano podem variar de acordo com o tipo de inóculo e o substrato utilizado, principalmente em termos de conteúdo de água, proteínas e matéria orgânica, entre outras.

### 5.3.3. Caracterização física e química das amostras do ensaio 4

Os resultados da caracterização física e química das amostras iniciais e finais e do carregamento orgânico (TCO) do ensaio 4 são apresentados na Tabela 23. Os dados das series históricas dos parâmetros físicos e químicos monitorados neste ensaio são apresentados no ANEXO D.

**Tabela 23.** Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 4

Parâmetros		Biodigestores				
		Branco	I/S=0.5	I/S=1.0	I/S=1.5	I/S=2.0
ST (mg/L)	Inicial	34322	41704	38186	37250	36890
	Final	32568	33216	30826	30053	29848
SV (mg/L)	Inicial	15182	11512	12278	12802	12996
	Final	14242	11298	11834	12029	12132
DQO <sub>T</sub> (mg/L)	Inicial	38921±1207	38675±641	42234±1937	34823±1785	36041±4179
	Final	28900±986	37547±873	35112±2919	32332±1439	31763±1489
DQO <sub>F</sub> (mg/L)	Inicial	1200±413	7571±535	5695±790	2692±236	2038±395
	Final	831±195	6122±129	1071±179	727±163	466±96
NTK (mg/L)	Inicial	1016	2904	2120	1801	1888
	Final	2152	4706	4046	3730	3386
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	Inicial	58	319	232	203	232
	Final	143	918	631	545	516
AT (mg/L)	Inicial	724	2131	1779	1468	1359
	Final	1028	4117	3608	3119	2874
AP (mg/L)	Inicial	328	870	880	709	660
	Final	489	1383	2542	2444	1916
(AI/AT)	Inicial	0,55	0,59	0,51	0,52	0,51
	Final	0,52	0,35	0,30	0,22	0,33
pH	Inicial	6,79	7,04	6,81	6,76	6,74
	Final	6,63	7,24	7,28	7,16	7,06
TCO (g SV/L.d)	Inicial	-	0,50	0,30	0,22	0,18

Os valores da concentração inicial e final de sólidos podem ter sido afetados pela dificuldade de amostragem pois a remoção de ST nos biodigestores foi de aproximadamente 20%, entretanto a remoção de SV foi menor com valores de 2, 4, 6 e 7% para as relações

I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.

A remoção de  $DQO_T$  apresentou valores de 3, 19, 7 e 12% para as relações I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente. A eficiência de remoção de  $DQO_F$  apresentou valores mais elevados, evidenciando que os microrganismos conseguiram consumir a matéria orgânica dissolvida para produzir biogás como visualizado nos gráficos 16 e 17. As porcentagens de remoção alcançadas foram de 18, 81, 73 e 77% para as relações I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.

O balanço de nitrogênio mostrou um acréscimo de NTK e nitrogênio amoniacal de 62% e 187% para a I/S=0.5, de 91% e 172% para a I/S=1.0, de 107 e 168% para a I/S=1.5 e de 79 e 122% para a I/S=2.0. A amonificação dos biodigestores I/S foi proporcional a quantidade de substrato alimentado nos biodigestores. Uma maior quantidade de substrato lignocelulósico proporciona maior disponibilidade de proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos que serão transformados em nitrogênio amoniacal (Hagos et al. 2017), entretanto não foram identificados efeitos adversos ao processo de biodigestão anaeróbia.

Contudo, os valores máximos de nitrogênio amoniacal determinados no ensaio 4 foram inferiores a 1.000 mg/L e poderiam contribuir para o processo de digestão pela produção de alcalinidade de bicarbonatos, segundo o (McCarty 1964) e referido por (Khanal 2008).

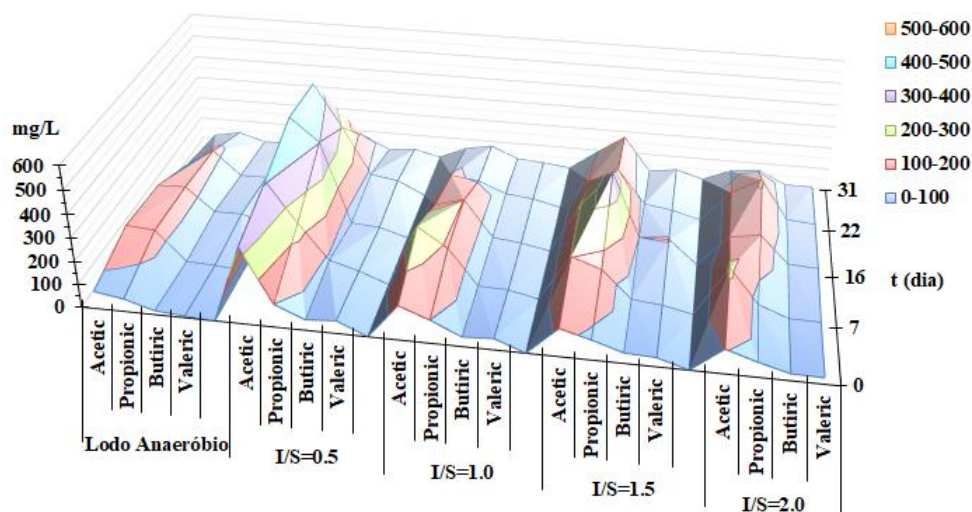
Os valores de pH verificados durante o experimento ficaram próximos da fase neutra, atingindo o valor máximo de 7,31. O pH do branco apresentou valores menores que 7,0, com variação no intervalo de 6,54 a 6,80.

As relações I/S apresentaram valores superiores de AT e AP quando comparado com o branco, contribuição gerada possivelmente pela degradação de compostos orgânicos nitrogenados (proteínas) provenientes do substrato (Cui and Cheng 2015).

Os biodigestores anaeróbios apresentaram valores de AI/AT entre 0,51 e 0,59 no início do ensaio 4. Posteriormente atingiram valores inferiores de 0,4, limite estabelecido como ideal para biodigestores anaeróbios em condição de estabilidade operacional.

Mesmo com valores acima de 0,4 nos primeiros nove dias do ensaio, não foram verificados problemas operacionais, com valores estáveis do pH a AT.

A evolução nas concentrações do ácido acético, propiônico, butírico e valérico no ensaio 4 se mostram no Gráfico 24. Observa-se que as concentrações dos AGVs aumentaram na primeira semana, comportamento esperado pelo desenvolvimento normal do processo anaeróbio devido a fermentação da biomassa pelos microrganismos hidrolítico e posteriormente pelas baterias acidogênicas.



**Gráfico 24.** Produção de AGVs em relação ao tempo - Ensaio 4

Os valores máximos de ácido acético e propiônico verificados no ensaio foram de 501 e 402 mg/L para a relação I/S=0.5, de 270 e 199 mg/L para a I/S=1.0, de 222 e 376 mg/L para a I/S=1.5 e de 216 e 208 mg/L para a I/S=2.0.

Na última semana a concentração de AGVs diminuiu, indicando que parte dos ácidos produzidos foram convertidos em acetato pelas bactérias acetogênicas e posteriormente em gás metano e dióxido de carbono pelas bactérias metanogênicas.

#### 5.4. Produção de biogás em função do regime de mistura

O efeito do regime de mistura sobre a produção de biogás foi avaliado adotando-se as seguintes condições básicas operacionais dos biodigestores:

- Substrato pré-tratado
- Temperatura na condição de verão
- Relação I/S igual a 1.0

##### 5.4.1. Temperatura de verão, substrato pré-tratado e regime de mistura

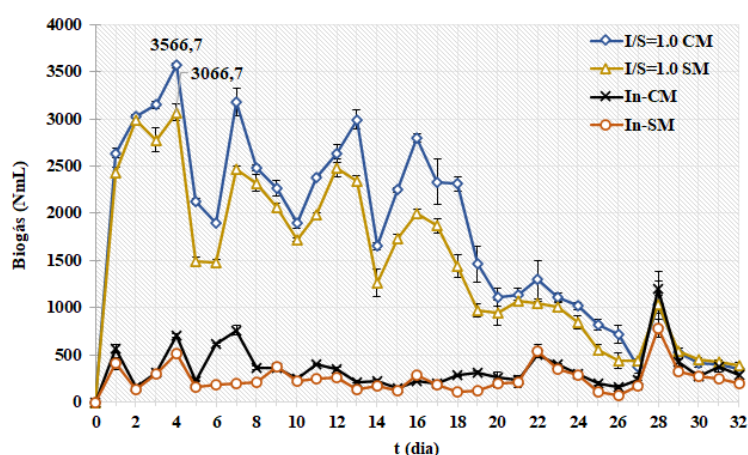
A temperatura média de operação dos biodigestores foi de  $23 \pm 2.0^\circ\text{C}$  e o tempo de duração do ensaio foi de 32 dias. As características operacionais e de alimentação dos 12 biodigestores estão descritas na Tabela 11 (item 4.2.8.5).

O conteúdo de umidade, ST e SV para o substrato foi de 93%, 7,0%, e 88,1%,

respectivamente. A concentração de ST e SV do inóculo foi de 26.706 mg/L e 11.247 mg/L, indicando que a fração de biomassa ativa no inóculo foi de aproximadamente 40% e possivelmente com fração reduzida de biomassa ativa.

A produção bruta de biogás nos biodigestores com e sem mistura podem ser observadas no Gráfico 25, no qual se observa que a produção de biogás foi elevada nos primeiros quatro dias e decrescente durante o restante do ensaio atingindo valores similares do inóculo no período final (dia 26 o 32) evidenciando esgotamento da matéria orgânica biodegradável proveniente do substrato.

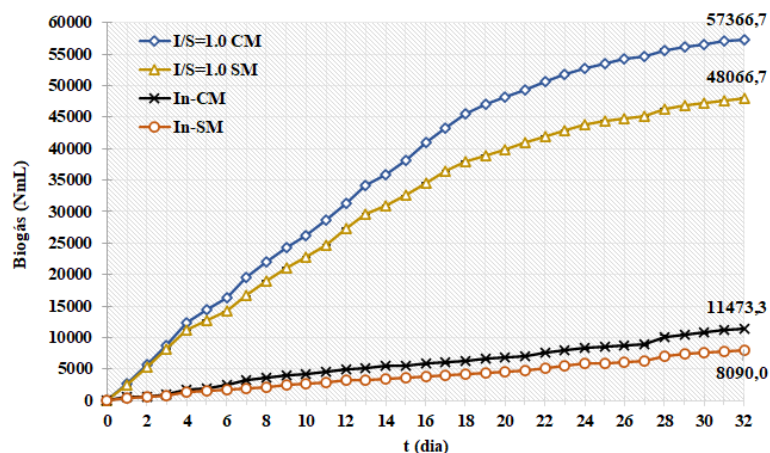
Nos biodigestores de co-digestão observa-se que o substrato incrementou a produção de biogás quando comparado com a produção do branco, além disso foi possível observar que existiu diferenças de produção volumétrica nos mesmos conjuntos de biodigestores devido ao efeito da mistura.



**Gráfico 25.** Produção bruta diária de biogás em relação ao tempo - Ensaio 5

As curvas de produções brutas acumuladas de biogás podem ser visualizadas no Gráfico 26, no qual se observa que a partir do dia 4 nos biodigestores com mistura a produção de biogás incrementou comparativamente com os biodigestores sem mistura, demonstrando que o regime de mistura aplicado sobre o processo anaeróbio causou aumento da produção e facilitou a sua liberação.

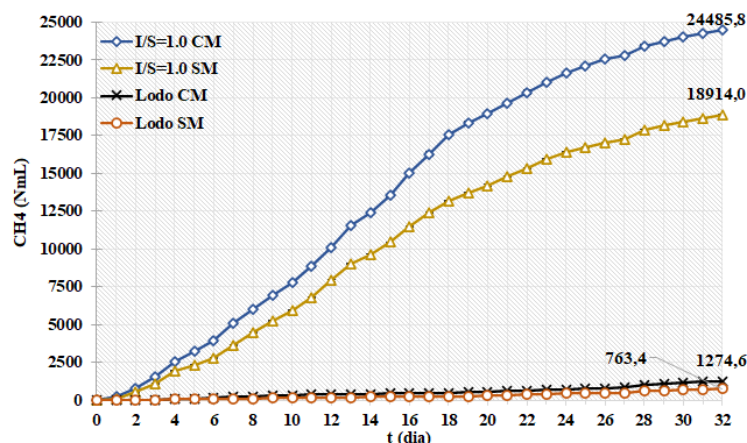
Observa-se que os biodigestores atingiram a produção máxima de biogás (80-90%) na faixa de 19-23, 19-24 e 27-29 dias para I/S=1.0 CM, I/S=1.0 SM e In CM e SM, respectivamente.



**Gráfico 26.** Produção bruta acumulada de biogás em relação ao tempo - Ensaio 5

De acordo com o Gráfico 25 foi verificado um incremento percentual de aproximadamente 20 e 42% nos biodigestores 1.0-CM e In-CM (com mistura) quando comparado com os biodigestores 1.0-SM e In-SM (sem mistura).

O mesmo padrão foi observado no Gráfico 27 que apresenta as produções volumétricas acumuladas de metano do ensaio 5. Os biodigestores com mistura apresentaram incrementos na produção de metano de 29% para o 1.0-CM e de 67% para o In-CM.

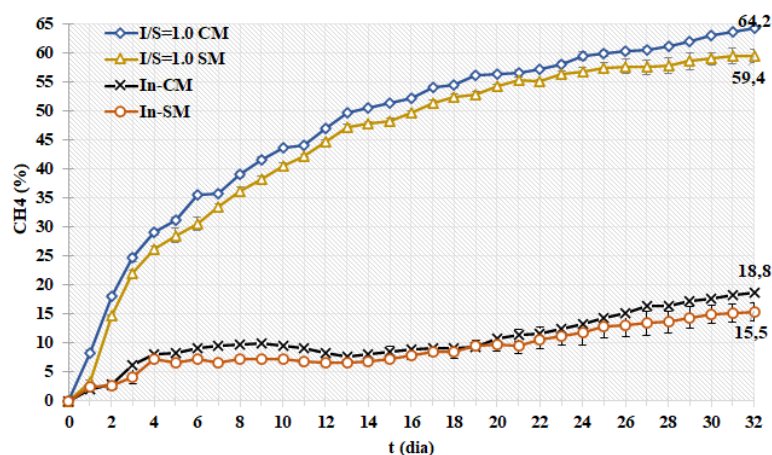


**Gráfico 27.** Produção bruta acumulada de metano em relação ao tempo - Ensaio 5

De acordo com a produção total acumulada de biogás e metano nos biodigestores, verifica-se que o conteúdo volumétrico de metano no final do ensaio foi de 43%, 39%, 11% e de 9,5% para 10-CM, 10-SM, In-CM e In-SM, respectivamente.

Analisando a evolução da concentração do metano no biogás (Gráfico 28), verifica-se que o regime de mistura aplicado nos biodigestores (1.0-CM e In-CM) alterou a proporção de metano quando comprado com os biodigestores sem mistura (1.0-SM e In-SM), demonstrando que a mistura provavelmente provocou maior contato entre as bactérias metanogênicas

(*Archaeas*), as enzimas e o substrato e aprimorou a liberação do metano.



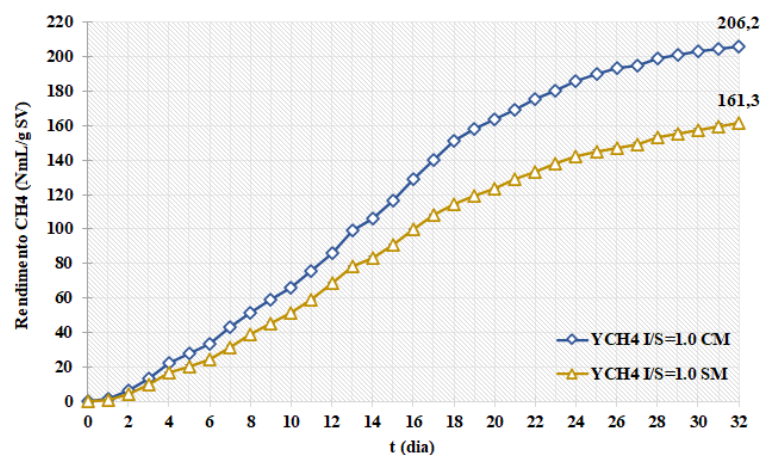
**Gráfico 28.** Conteúdo de metano no biogás em relação ao tempo - Ensaio 5

No final do ensaio a diferença no conteúdo de metano foi de 8,1% superior para os biodigestores de co-digestão com mistura (1.0-CM) comparativamente com os biodigestores sem mistura (1.0-SM), e de 21% maior para os biodigestores de monodigestão com mistura (In-CM) sobre os biodigestores de monodigestão sem mistura (In-SM).

O Gráfico 29 apresenta as curvas de rendimento específico de metano ( $Y_{CH_4}$ ) dos biodigestores de co-digestão com e sem mistura ao longo dos 32 dias do experimento. Observa-se que os biodigestores com regime de mistura (diário) apresentaram um incremento no rendimento  $Y_{CH_4}$  de 28% superior ao obtido pelos biodigestores sem mistura (1.0-SM).

As curvas mostram um período inicial de degradação lenta do substrato, caracterizado pela adaptação dos microrganismos com o novo alimento. Com as bactérias aclimatadas e possivelmente multiplicadas observa-se uma aceleração na taxa de degradação do substrato até atingir os valores máximos do  $Y_{CH_4}$  onde se observa a chegada à fase de estabilização por parte dos biodigestores.





**Gráfico 29.** Rendimento específico de metano em relação ao tempo - Ensaio 5

Na Tabela 24 são apresentados os resultados obtidos no ensaio 5, no qual foi verificado aumento de 15% na produção líquida de biogás e de 28% na produção líquida de metano nos biodigestores com mistura (1.0-CM) comparativamente com os biodigestores sem mistura (1.0-SM).

Para os ensaios de monodigestão, os biodigestores com mistura (In-CM) apresentaram produções superiores de biogás e metano equivalente a um acréscimo de 45 e 69% quando comparado com o produzido nos biodigestores sem mistura (In-SM).

Não obstante, como o regime de mistura foi feito manualmente não envolvendo custos energéticos e de acordo com os resultados obtidos no ensaio 5, se recomenda a adoção deste parâmetro operacional para o processo de co-digestão de lodo anaeróbico e macrófitas para biodigestores de volume igual ou similar do operado neste estudo.

**Tabela 24.** Comparativo dos resultados dos biodigestores - Ensaio 5

Ensaio 5	1.0-CM	1.0-SM	In-CM	In-SM
NmL Biogás	46118,7*	40171,5*	11473,3	7895,2
NmL CH <sub>4</sub>	23211,2*	18157,7*	1274,6	756,3
Conteúdo de CH <sub>4</sub> (%)	47±2	44±2	11±4	9±4
Fração de CH <sub>4</sub> (%)	50,3	45,2	11,1	9,6
Y <sub>Biogás</sub> NmL Biogás/g SV	409,7	356,9	-	-
Y <sub>CH<sub>4</sub></sub> NmL CH <sub>4</sub> /g SV	206,2	161,3	-	-
NmL Biogás/d	1441,2	1255,4	358,5	246,7
NmL CH <sub>4</sub> /d	725,3	567,4	39,8	23,6
NmL CH <sub>4</sub> /g SV.d	6,4	5,0	-	-

\*Produção líquida

Estes resultados indicam a importância da mistura do conteúdo dos digestores para aumento da produção de biogás no processo de co-digestão anaeróbia da biomassa de

macrófitas e lodo anaeróbio proveniente de reator UASB.

#### 5.4.2. Caracterização física e química das amostras do ensaio 5

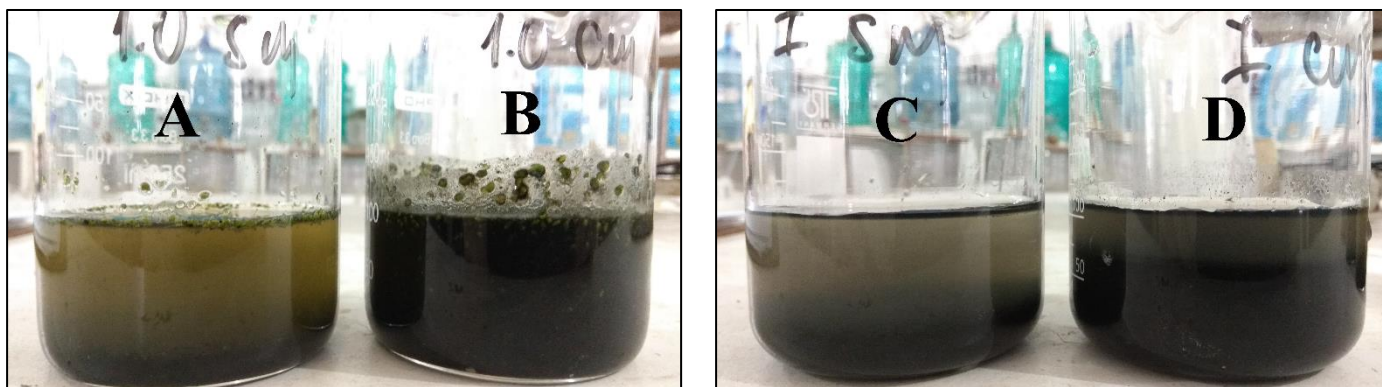
Na Tabela 25 são apresentados os resultados dos parâmetros físicos e químicos monitorados no meio de reação dos biodigestores no início e no final do ensaio.

**Tabela 25.** Caracterização física e química dos biodigestores - Ensaio 5

Parâmetros		Biodigestores			
		1.0-CM	1.0-SM	In-CM	In-SM
ST (mg/L)	Inicial	33701	32219	26706	25952
	Final	27646	14038	23356	22890
SV (mg/L)	Inicial	11701	11758	11247	9724
	Final	8624	4438	9488	9188
DQO <sub>T</sub> (mg/L)	Inicial	37252±417	37205±666	35706±1.428	30986±6.396
	Final	35776±351	11866±1.291	34031±373	15249±1157
DQO <sub>F</sub> (mg/L)	Inicial	2224±171	2611±293	2863±324	3163±67
	Final	1102±96	876±56	692±42	410±30
NTK (mg/L)	Inicial	432	650	760	786
	Final	1834	964	870	373
Nitrogênio amoniacal (mg/L)	Inicial	213	177	42	47
	Final	777	591	124	187
AT (mg/L)	Inicial	1183	1173	466	452
	Final	3233	2426	773	586
AP (mg/L)	Inicial	544	523	167	162
	Final	2372	1725	393	313
(AI/AT)	Inicial	0,54	0,55	0,64	0,64
	Final	0,27	0,29	0,49	0,47
AGVs (mg/L)	Inicial	298	346	241	237
	Final	393	441	427	665
pH	Inicial	6,74	6,76	6,90	6,88
	Final	7,27	7,08	6,80	6,71

Em virtude das incertezas das amostras coletadas no final do experimento dos biodigestores sem mistura optou-se pela não comparação dos resultados da caracterização física e química entre os biodigestores com e sem mistura. O problema de estratificação (Figura 15) acarretou resultados incoerentes como os apresentados na Tabela 25, em que se verifica que os biodigestores sem mistura (1.0-SM e In-SM) apresentaram maiores remoções de sólidos e DQO, resultados que estão em desacordo com os de produção de biogás e metano obtidos por esses biodigestores.

A seguir são apresentadas duas imagens (Figura 15) das amostras coletadas no final do ensaio 5 em que é possível observar a estratificação das amostras. À esquerda amostras dos biodigestores de co-digestão sem e com mistura e à direita amostras dos biodigestores de monodigestão sem e com mistura.



**Figura 15.** Amostra estratificadas: A- 1.0-SM; B- 1.0-CM; C- In-SM; D- In-CM

O balanço de sólidos nos biodigestores de co-digestão com mistura (1.0-CM) mostrou que houve diminuição da fração sólida, a remoção alcançada de ST foi de 18% e de SV de 26%. Comportamento similar foi constatado para a  $DQO_T$  e  $DQO_F$ , os percentuais de remoção verificados para as amostras de 1.0-CM no final do ensaio foram de 4% e 50%. Estes resultados são similares aos obtidos no ensaio 4 que foi aplicado nas mesmas condições operacionais de pré-tratamento mecânico, regime de mistura e temperatura de verão.

Para a monodigestão, a maior remoção de ST e SV foi atingida pelos biodigestores com mistura (In-CM) com porcentagens de 13 e 16%, respectivamente. Os biodigestores sem mistura (In-SM) conseguiram remoções de 12% de ST e 6% de SV.

Foi observado um aumento na concentração do nitrogênio (NTK e nitrogênio amoniacal) em maior percentual nos biodigestores com substrato (macrófitas) e com mistura (1.0-CM), provavelmente causado pela solubilização de compostos nitrogenados do substrato lignocelulósico. As concentrações máximas de NTK e nitrogênio amoniacal alcançadas pelos biodigestores de co-digestão com e sem mistura não afetaram a estabilidade do processo anaeróbio, estas concentrações foram menores de 1.900 mg/L para NTK e 800 mg/L de nitrogênio amoniacal.

Os biodigestores de monodigestão com mistura (In-CM) apresentaram valores de NTK e nitrogênio amoniacal com tendencias similares aos ensaios anteriores (1, 2, 3 e 4), onde o inóculo apresenta um leve incremento na concentração de NTK e nitrogênio amoniacal. A amonificação do inóculo se deve principalmente à liberação de compostos nitrogenados ao

interior das células da biomassa ativa que morrem pelo esgotamento da matéria orgânica biodegradável.

Ao longo do ensaio foi verificado aumento na concentração de AT em maior magnitude nos biodigestores de co-digestão. O incremento da AT e AP reduz o risco de acidificação do processo anaeróbio pelo possível acúmulo de AGVs e ajuda na manutenção do pH na faixa recomendada para o desenvolvimento dos microrganismos metanogênicos.

No final do ensaio verificou-se que pelo menos o 70% da AT estava na forma AP para os biodigestores de co-digestão (1-0CM e 1.0-SM), e para os biodigestores de monodigestão (In-CM e In-SM) a concentração de AP não superou o 54% do total de AT. Segundo (Rozzi 1986) e referido por (Pérez and Torres 2008), recomenda-se que pelo menos o 60% da AT deve estar na forma de AP para não afetar a estabilidade do processo anaeróbio.

O processo biológico mostrou-se estável, embora a relação AI/AT no início do experimento foram superiores de 0,5. No fim do ensaio os valores da relação AI/AT ficaram abaixo de 0,3 e 0,5 para os biodigestores de co-digestão e de monodigestão, respectivamente.

O pH se manteve próximo do neutro para todos os biodigestores, ficando dentro da faixa (6,6-7,4) recomendada para a multiplicação dos grupos de bactérias acidogênicas e metanogênicas (Khanal 2008; Grady Jr et al. 2011). Os valores máximos de pH atingidos pelos biodigestores 1.0-CM, 1.0-SM, In-CM e In-SM foram de 7,27, 7,08, 6,80 e de 6,71, respectivamente.

## 6. CONCLUSÕES

- O emprego de substrato lignocelulósico (*Lemnáceae*) contribuiu significativamente para aumento da produção biogás, metano e rendimento específico de metano no processo de co-digestão anaeróbia, empregando como inóculo o excesso de lodo proveniente de reator UASB. Destaca-se a importância de parâmetros operacionais, tais como a relação entre inóculo e substrato I/S (0.5, 1.0, 1.5 e 2.0), pré-tratamento do substrato e temperatura de operação dos bioreatores.

- Valores crescentes da relação I/S, na faixa de valores 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0 (g inóculo/g substrato) contribuíram para aumento dos valores do rendimento específico de metano ( $Y_{CH_4}$ ). Entretanto, foi observada tendência de menores valores da produção volumétrica acumulada de biogás e metano devido provavelmente a menor disponibilidade de substrato.

- Na temperatura de inverno ( $18 \pm 2,4^\circ C$ ) e substrato sem pré-tratamento (ensaio 1) o valor mais elevado do rendimento específico de metano foi de 184 NmLCH<sub>4</sub> para a relação I/S= 2.0. O incremento na produção de metano proveniente da macrófita foi de 285, 472, 693 e de 536% para a relação I/S=0.5, 1.0, 1.5 e 2.0, respectivamente.

- No ensaio 2 (inverno) e relação I/S=1.5, o pré-tratamento mecânico das macrófitas potencializou o processo de co-digestão anaeróbia atingindo o maior rendimento específico de metano (272 mL CH<sub>4</sub>/g SV). Os valores de  $Y_{CH_4}$  obtiveram incrementos de 27% (I/S=2.0), 53% (I/S=1.5), 71% (I/S=1.0) e 396% (I/S=0.5), comparativamente aos valores ensaio 1.

- A temperatura beneficiou a conversão do substrato lignocelulósico em biogás e metano. No ensaio 3, empregando macrófitas sem trituração e temperaturas de verão, os biodigestores apresentaram os valores mais elevados da produção volumétrica de biogás e de metano. O incremento percentual da produção líquida de metano, quando comparado com o ensaio 1 (macrófitas sem trituração e temperatura de inverno) foram de 1.157% para a relação I/S=0.5, de 400% para a relação I/S=1.0, de 116% para a relação I/S=1.5 e de 40% para a relação I/S=2.0.

- O valor mais elevado do  $Y_{CH_4}$  (323,2 NmLCH<sub>4</sub>/gSV) medido neste estudo ocorreu no ensaio 3 (I/S= 1.0, verão) com aumento de 76% em relação ao ensaio 1 (I/S=2.0, inverno)

empregando substrato triturado em ambos os casos.

- No ensaio 4 (verão) os valores das relações I/S=1.0, 1.5 e 2.0 apresentaram  $Y_{CH_4}$  elevados, próximos de 300 NmL  $CH_4/g$  SV e com aumento de 25%, 6% e 25%, quando comparados com os respectivos valores do ensaio 2 (inverno) empregando substrato triturado em ambos os casos.

- Em temperaturas típicas do inverno a relação I/S=1.5 foi a mais favorável para a produção de metano. Em condições de verão, a trituração mecânica acelerou o processo de digestão anaeróbia com a possibilidade de optar por três relações I/S (1.0, 1,5 e 2.0) de carregamento orgânico.

- Os resultados do rendimento específico de metano para os ensaios de co-digestão anaeróbia com substrato triturado foram mais elevados e atingidos com tempos de digestão menores que os obtidos com macrófitas sem trituração, entretanto devem ser considerados os custos energéticos envolvidos no processo de pré-tratamento. No balanço energético final, o total produzido deve compensar o gasto energético utilizado para alterar a estrutura ou o tamanho das macrófitas.

- Foi identificado que a relação I/S=1.5 apresentou resultados de rendimento  $Y_{CH_4}$  mais consistentes nos ensaios 1, 2, 3 e 4, resultando na maioria dos casos o valor máximo obtido, situando-se na faixa de 177,8-305,7 mL  $CH_4/g$  SV.

- O regime de mistura nos biodigestores contribuiu para o aumento da produção de biogás e metano, na composição do biogás e no rendimento específico de metano. Os biodigestores de co-digestão com mistura apresentaram um incremento de 20% de biogás, 30% de metano e 28% quanto ao rendimento específico de metano ( $Y_{CH_4}$ ). Nos biodigestores de monodigestão com mistura o acréscimo na produção de biogás e específica de metano foi de 42 e 67%.

## 7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar experimentos de co-digestão de substrato lignocelulósico e inóculo anaeróbio ampliando a faixa de valores de I/S ( $< 0.5$  e  $> 2.0$ ) para identificar a relação mais favorável para a produção de biogás.
- Avaliar diferentes inóculos, preferivelmente com elevada AME.
- Avaliar a co-digestão de macrófitas desidratadas e lodo anaeróbio para comparar com os resultados obtidos com macrófitas frescas.
- Realizar o balanço energético dos ensaios sem e com pré-tratamento mecânico do substrato.
- Aplicar outros tipos de pré-tratamento sobre a macrófita, baseados em operações físicas, processos químicos, biológicos ou combinados.
- Realizar ensaios com alimentação contínua ou bateladas sequenciais do substrato.
- Utilizar outro parâmetro de seguimento operacional diferente da DQO total para avaliar o conteúdo de matéria orgânica nos biodigestores. O COT para amostra sólida e/ou líquida é uma alternativa.
- Avaliar outros regimes de mistura (frequência, intensidade e duração) para otimizar as condições operacionais dos biodigestores.
- Realizar a caracterização física, química e microbiológica do lodo digerido com vistas a avaliar o potencial de reaproveitamento na aplicação no solo ou na agricultura.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasi SA, Nipanay PC, Schaumberg GD (1990) Bioenergy potential of eight common aquatic weeds. *Biological Wastes* 34:359–366. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(90\)90036-R](https://doi.org/10.1016/0269-7483(90)90036-R)
- Abudi ZN, Hu Z, Sun N, et al (2016) Batch anaerobic co-digestion of OFMSW (organic fraction of municipal solid waste), TWAS (thickened waste activated sludge) and RS (rice straw): Influence of TWAS and RS pretreatment and mixing ratio. *Energy* 107:131–140. <https://doi.org/10.1016/J.ENERGY.2016.03.141>
- Ağdağ ON, Sponza DT (2007) Co-digestion of mixed industrial sludge with municipal solid wastes in anaerobic simulated landfilling bioreactors. *Journal of Hazardous Materials* 140:75–85. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2006.06.059>
- Ahring BK (1995) Methanogenesis in thermophilic biogas reactors. *Antonie van Leeuwenhoek* 67:91–102. <https://doi.org/10.1007/BF00872197>
- Alatríste-Mondragón F, Samar P, Cox HHJ, et al (2006) Anaerobic Codigestion of Municipal, Farm, and Industrial Organic Wastes: A Survey of Recent Literature. *Water Environment Research* 78:607–636. <https://doi.org/10.2175/106143006X111673>
- Álvarez JA, Otero L, Lema JM (2010) A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. *Bioresource Technology* 101:1153–1158. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.061>
- Alzate ME, Muñoz R, Rogalla F, et al (2014) Biochemical methane potential of microalgae biomass after lipid extraction. *Chemical Engineering Journal* 243:405–410. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.07.076>
- Amon Th, Amon B, Kryvoruchko V, et al (2006) Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. *International Congress Series* 1293:217–220. <https://doi.org/10.1016/J.ICS.2006.03.007>
- Angelidaki I, Ahring BK (1994) Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: Effect of temperature. *Water Research* 28:727–731. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90153-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90153-8)
- Angelidaki I, Ahring BK (1997) Codigestion of olive oil mill wastewaters with manure, household waste or sewage sludge. *Biodegradation* 8:221–226. <https://doi.org/10.1023/A:1008284527096>
- Angelidaki I, Ahring BK, Hartmann H (2000) Increase of anaerobic degradation of particulate organic matter in full-scale biogas plants by mechanical maceration. *Water Science and Technology* 41:145–153. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0187041>
- Angelidaki I, Alves M, Bolzonella D, et al (2009) Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology* 59:927–934. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.040>
- Angelidaki I, Sanders W (2004) Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 3:117–129. <https://doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3>
- Angelidaki I, Treu L, Tsapekos P, et al (2018) Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. *Biotechnology Advances* 36
- Ansal MD, Dhawan A (2007) Spirodela for low cost carp feed Formulation. In: Abstract In: 8th Asian Fisheries Forum, Kochi, India. pp 20–23
- AOAC (2016) Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. AOAC Official Methods of Analysis 1–17
- APHA-AWWA-WEF (2017) The Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st edn. Washington DC
- Appels L, Assche A van, Willems K, et al (2011) Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Bioresource*



- Technology 102:4124–4130. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.070>
- Appels L, Baeyens J, Degrève J, Dewil R (2008) Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science* 34:755–781
- Appenroth KJ, Borisjuk N, Lam E (2013) Telling duckweed apart: Genotyping technologies for the Lemnaceae. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* 19:1–10. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1145.2013.00001>
- Astals S, Nolla-Ardèvol V, Mata-Alvarez J (2012) Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate. *Bioresource Technology* 110:63–70. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.01.080>
- Azevedo FG (2010) Estudo das condições ambientais para produção de Biogás a partir de glicerol co-produto do Biodiesel
- Bacenetti J, Negri M, Fiala M, González-García S (2013) Anaerobic digestion of different feedstocks: Impact on energetic and environmental balances of biogas process. *Science of the Total Environment* 463–464:541–551. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.058>
- Banks CJ, Salter AM, Heaven S, Riley K (2011) Energetic and environmental benefits of co-digestion of food waste and cattle slurry: A preliminary assessment. *Resources, Conservation and Recycling* 56:71–79. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.09.006>
- Benito PC, Greger M (2017) Influence of the Substrate/Inoculum Ratio on Process Stability and Performance during Batch Digestion of Grass Silage. *Chemie Ingenieur Technik* 89:724–732. <https://doi.org/10.1002/cite.201600008>
- Bergmann BA, Cheng J, Classen J, Stomp AM (2000) In vitro selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation. *Bioresource Technology* 73:13–20. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00137-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00137-6)
- Bertin L, Grilli S, Spagni A, Fava F (2013) Innovative two-stage anaerobic process for effective codigestion of cheese whey and cattle manure. *Bioresource Technology* 128:779–783. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.118>
- Björnsson L, Murto M, Mattiasson B (2000) Evaluation of parameters for monitoring an anaerobic co-digestion process. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54:844–849. <https://doi.org/10.1007/s002530000471>
- Bonomo L, Casato M, Afeltra A, Caccavo D (1987) Treatment of idiopathic mixed cryoglobulinemia with alpha interferon. *The American journal of*
- Braun R, Wellinger A (2002) Potential of Co-digestion. IEA Bioenergy (Task 37)
- Bres P, Beily ME, Young BJ, et al (2018) Performance of semi-continuous anaerobic co-digestion of poultry manure with fruit and vegetable waste and analysis of digestate quality: A bench scale study. *Waste Management* 82:276–284. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.041>
- Buck AL (1996) *Buck Research Manual*
- Buendía IM, Fernández FJ, Villaseñor J, Rodríguez L (2009) Feasibility of anaerobic co-digestion as a treatment option of meat industry wastes. *Bioresource Technology* 100:1903–1909. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2008.10.013>
- Cabbai V, de Bortoli N, Goi D (2016) Pilot plant experience on anaerobic codigestion of source selected OFMSW and sewage sludge. *Waste Management* 49:47–54. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.12.014>
- Calicioglu O, Richard TL, Brennan RA (2019) Anaerobic Bioprocessing of Wastewater-Derived Duckweed: Maximizing Product Yields in a Biorefinery Value Cascade. *Bioresource Technology* 289:121716. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121716>
- Callaghan FJ, Wase DAJ, Thayanithy K, Forster CF (1999) Co-digestion of waste organic solids : batch studies. 0:117–122

- Callaghan FJ, Wase DAJ, Thayanithy K, Forster CF (2002) Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *Biomass and Bioenergy* 22:71–77. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(01\)00057-5](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(01)00057-5)
- Calli B, Mertoglu B, Inanc B, Yenigun O (2005) Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors. *Process Biochemistry* 40:1285–1292. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2004.05.008>
- Campos JR (1999) Tratamento de Esgoto Sanitário por Processo Anaeróbico e Disposição Controlada no Solo, 1ª. Rio de Janeiro
- Cavalcanti PF, van Haandel AC (2000) Comparação entre os métodos titrimétricos Kapp e DiLallo para a determinação da alcalinidade e AGV. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental* 5:47–52
- Cavinato C, Fatone F, Bolzonella D, Pavan P (2010) Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: Comparison of pilot and full scale experiences. *Bioresource Technology* 101:545–550. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.043>
- Chan YJ, Chong MF, Law CL, Hassell DG (2009) A review on anaerobic–aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal* 155:1–18. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.06.041>
- Chen H (2014) *Biotechnology of Lignocellulose*
- Chen Q, Jin Y, Zhang G, et al (2012) Improving production of bioethanol from duckweed (*Landoltia punctata*) by pectinase pretreatment. *Energies* 5:3019–3032. <https://doi.org/10.3390/en5083019>
- Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS (2008) Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology* 99:4044–4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>
- Cheng JJ, Stomp AM (2009) Growing Duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed. *Clean - Soil, Air, Water* 37:17–26. <https://doi.org/10.1002/clen.200800210>
- Chiu SF, Chiu JY, Kuo WC (2013) Biological stoichiometric analysis of nutrition and ammonia toxicity in thermophilic anaerobic co-digestion of organic substrates under different organic loading rates. *Renewable Energy* 57:323–329. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2013.01.054>
- Chynoweth DP, Turick CE, Owens JM, et al (1993) Biochemical methane potential of biomass and waste feedstocks. *Biomass and Bioenergy* 5:95–111. [https://doi.org/10.1016/0961-9534\(93\)90010-2](https://doi.org/10.1016/0961-9534(93)90010-2)
- Clark PB, Hillman PF (1996) Enhancement of Anaerobic Digestion Using Duckweed (*Lemna minor*) Enriched with Iron. *Water and Environment Journal* 10:92–95. <https://doi.org/10.1111/j.1747-6593.1996.tb00015.x>
- Comino E, Riggio VA, Rosso M (2012) Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey. *Bioresource Technology* 114:46–53. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.090>
- Comino E, Rosso M, Riggio V (2010) Investigation of increasing organic loading rate in the co-digestion of energy crops and cow manure mix. *Bioresource Technology* 101:3013–3019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.025>
- Cornelissen S, Koper M, Deng YY (2012) The role of bioenergy in a fully sustainable global energy system. *Biomass and Bioenergy* 41:21–33. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.12.049>
- Creamer KS, Chen Y, Williams CM, Cheng JJ (2010) Stable thermophilic anaerobic digestion of dissolved air flotation (DAF) sludge by co-digestion with swine manure. *Bioresource Technology* 101:3020–3024. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.029>
- Cu TTT, Nguyen TX, Triolo JM, et al (2015) Biogas production from vietnamese animal

- manure, plant residues and organic waste: influence of biomass composition on methane yield. *Asian-Australasian journal of animal sciences* 28:280–9. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0312>
- Cui W, Cheng JJ (2015) Growing duckweed for biofuel production: A review. *Plant Biology* 17:16–23. <https://doi.org/10.1111/plb.12216>
- Dai X, Duan N, Dong B, Dai L (2013) High-solids anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste in comparison with mono digestions: Stability and performance. *Waste Management* 33:308–316. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2012.10.018>
- de Baere LA, Devocht M, van Assche P, Verstraete W (1984) Influence of high NaCl and NH<sub>4</sub>Cl salt levels on methanogenic associations. *Water Research* 18:543–548. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(84\)90201-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(84)90201-X)
- de Lemos Chernicharo CA (2007) *Anaerobic Reactors*
- de Moraes Andrade MM, Alencar BRA, Leite NP, et al (2020) Biogas production from co-digestion of different proportions of food waste and fresh bovine manure. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00833-8>
- Dechruga S, Kantachote D, Chairapat S (2013) Effects of inoculum to substrate ratio, substrate mix ratio and inoculum source on batch co-digestion of grass and pig manure. *Bioresource Technology* 146:101–108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.051>
- Dell’Omo PP, Spena VA (2020) Mechanical pretreatment of lignocellulosic biomass to improve biogas production: Comparison of results for giant reed and wheat straw. *Energy* 203:117798. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117798>
- Deng Y, Xu J, Liu Y, Mancl K (2014) Biogas as a sustainable energy source in China: Regional development strategy application and decision making. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 35:294–303
- Dima AD, Pârvulescu OC, Mateescu C, Dobre T (2020) Optimization of substrate composition in anaerobic co-digestion of agricultural waste using central composite design. *Biomass and Bioenergy* 138:8–10. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105602>
- Droste RL (1997) *Theory and Practice of Water and Wastewater Management Systems*
- Elsayed M, Andres Y, Blel W, Gad A (2015) Methane Production By Anaerobic Co-Digestion Of Sewage Sludge And Wheat Straw Under Mesophilic Conditions. *International Journal of Scientific Research & Engineering Technology (IJSET)* 4:
- Ertem FC, Martínez-Blanco J, Finkbeiner M, et al (2016) Life cycle assessment of flexibly fed biogas processes for an improved demand-oriented biogas supply. *Bioresource Technology* 219:536–544. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.123>
- Eskicioglu C, Ghorbani M (2011) Effect of inoculum/substrate ratio on mesophilic anaerobic digestion of bioethanol plant whole stillage in batch mode. *Process Biochemistry* 46:1682–1687. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2011.04.013>
- Farrell AE, Gopal AR (2008) Bioenergy Research Needs for Heat, Electricity, and Liquid Fuels. *MRS Bulletin* 33:373–380. <https://doi.org/10.1557/mrs2008.76>
- Fernández A, Sánchez A, Font X (2005) Anaerobic co-digestion of a simulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. *Biochemical Engineering Journal* 26:22–28. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2005.02.018>
- Fernández, J. M., Omil, F., Méndez, R., & Lema JM (2001) Anaerobic treatment of fibreboard manufacturing wastewaters in a pilot scale hybrid USBF reactor. *Water research* 35:4150–4158
- Ferreira L, Duarte E (2008) Pilot scale experience of anaerobic co-digestion of pig slurry with fruit wastes - on site operation in a pig farm with a mobile plant. 100–104
- Ferrer I, Vázquez F, Font X (2010) Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor : Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. *Bioresource*

- Technology 101:2972–2980. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.006>
- Gallert C, Winter J (1997) Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic wastes: Effect of ammonia on glucose degradation and methane production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48:405–410. <https://doi.org/10.1007/s002530051071>
- Gaur RZ, Khan AA, Suthar S (2017) Effect of thermal pre-treatment on co-digestion of duckweed (*Lemna gibba*) and waste activated sludge on biogas production. *Chemosphere* 174:754–763. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.133>
- Gaur RZ, Suthar S (2017) Nutrient scaling of duckweed (*Spirodela polyrhiza*) biomass in urban wastewater and its utility in anaerobic co-digestion. *Process Safety and Environmental Protection* 107:138–146. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.02.005>
- Gaur RZ, Suthar SS (2019) Impact of Varied Ratio of Duckweed (*Spirodela polyrhiza*) and Waste-Activated Sludge on Anaerobic Digestion. In: *Waste Management and Resource Efficiency*. Springer Singapore, Singapore, pp 651–658
- Ge X, Zhang N, Phillips GC, Xu J (2012) Growing *Lemna minor* in agricultural wastewater and converting the duckweed biomass to ethanol. *Bioresource Technology* 124:485–488. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.08.050>
- Gómez EF, Monteggia LO, Barroso Júnior JCA, et al (2016) Estudo Comparativo Entre Lagoas de Alta Taxa de Produção de Algas e de Macrófita no Tratamento Secundário de Esgoto Sanitário. In: *5to Congresso Internacional de Tecnologia para o Meio Ambiente*. FIEMABRASIL, Caxias do Sul
- González-Fernández C, García-Encina PA (2009) Impact of substrate to inoculum ratio in anaerobic digestion of swine slurry. *Biomass and Bioenergy* 33:1065–1069. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.03.008>
- Grady Jr CL, Daigger GT, Love NG, Filipe CD (2011) *Biological Wastewater Treatment*, 3rd edn. CRC Press
- Grobbelaar JU (2009) Upper limits of photosynthetic productivity and problems of scaling. *Journal of Applied Phycology* 21:519–522. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9372-y>
- Gunaseelan VN (1997) Anaerobic digestion of biomass for methane production: A review. *Biomass and Bioenergy* 13:83–114. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(97\)00020-2](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(97)00020-2)
- Haandel AC van, Lettinga G (1994) Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate. *Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate*
- Hadiyanto M, Soetrisnanto D (2013) Phytoremediations of Palm Oil Mill Effluent (POME) by using aquatic plants and microalge for biomass production. *Journal of Environmental Science*
- Haga H, Ishikawa K (2011) Spatial distribution of submerged macrophytes in the southern basin of Lake Biwa in the summer of 2007, in comparison with that in 2002. *Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi)* 72:81–88. <https://doi.org/10.3739/rikusui.72.81>
- Hagos K, Zong J, Li D, et al (2017) Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 76:1485–1496. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.184>
- Hajji A, Rhachi M (2013) The Influence of Particle Size on the Performance of Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste. *Energy Procedia* 36:515–520. <https://doi.org/10.1016/J.EGYPRO.2013.07.059>
- Hammad M, Badarneh D, Tahboub K (1999) Evaluating variable organic waste to produce methane. *Energy Conversion and Management* 40:1463–1475. [https://doi.org/10.1016/S0196-8904\(99\)00024-2](https://doi.org/10.1016/S0196-8904(99)00024-2)
- Hashimoto AG (1986) Ammonia inhibition of methanogenesis from cattle wastes.

- Agricultural Wastes 17:241–261. [https://doi.org/10.1016/0141-4607\(86\)90133-2](https://doi.org/10.1016/0141-4607(86)90133-2)
- Hashimoto AG (1989) Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and production rate from straw. *Biological Wastes* 28:247–255. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(89\)90108-0](https://doi.org/10.1016/0269-7483(89)90108-0)
- Henry-Silva GG, Camargo AFM (2006) Efficiency of aquatic macrophytes to treat Nile tilapia pond effluents. *Scientia Agricola* 63:433–438. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000500003>
- Hobbs SR, Landis AE, Rittmann BE, et al (2018) Enhancing anaerobic digestion of food waste through biochemical methane potential assays at different substrate: inoculum ratios. *Waste Management* 71:612–617. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.029>
- Holm-Nielsen JB, al Seadi T, Oleskowicz-Popiel P (2009) The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource Technology* 100:5478–5484. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.046>
- Hoyos NLM, Barroso\_Junior JC, Leal FK, et al (2019) Proposta de nova configuração de reator anaeróbico híbrido aplicado ao tratamento de esgoto sanitário. *Revista DAE* 67:73–88. <https://doi.org/10.4322/dae.2019.046>
- Hubenov VN, Mihaylova SN, Simeonov IS (2015) Anaerobic co-digestion of waste fruits and vegetables and swine manure in a pilot-scale bioreactor. *Bulgarian Chemical Communications* 47:788–792
- International Energy Agency (2010) *Energy Balances of Non-OECD Countries*. Paris, France
- International Renewable Energy Agency (2012) *Renewable Energy Cost Analysis - Biomass for Power Generation*. /publications/2012/Jun/Renewable-Energy-Cost-Analysis---Biomass-for-Power-Generation
- Iqbal S (1999) Duckweed Aquaculture. Potentials, Possibilities and Limitations for Combined Wastewater Treatment and Animal Feed Production in Developing Countries. SANDEC Report No 6/99 1–89. <https://doi.org/10.1097/00010694-199403000-00012>
- Jacobi HF, Moschner CR, Hartung E (2011) Use of near infrared spectroscopy in online-monitoring of feeding substrate quality in anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 102:4688–4696. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2011.01.035>
- Jantsch TG, Mattiasson B (2004) An automated spectrophotometric system for monitoring buffer capacity in anaerobic digestion processes. *Water Research* 38:3645–3650. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2004.05.010>
- Jenkins SR, Morgan JM, Zhang X (1991) Measuring the usable carbonate alkalinity of operating anaerobic digesters. 63:28–34
- Jiang X, Song X, Chen Y, Zhang W (2014) Research on biogas production potential of aquatic plants. *Renewable Energy* 69:97–102. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.03.025>
- Journey WK, Skillicorn P, Spira W (1993) *A NEW AQUATIC FARMING SYSTEM wp6,, FOR DEVELOPING COUNTRIES*. Washington, D. C.
- Kafle GK, Kim SH (2013) Anaerobic treatment of apple waste with swine manure for biogas production: Batch and continuous operation. *Applied Energy* 103:61–72. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.10.018>
- Kainthola J, Kalamdhad AS, Goud V v. (2019) Optimization of methane production during anaerobic co-digestion of rice straw and hydrilla verticillata using response surface methodology. *Fuel* 235:92–99. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.07.094>
- Kang X, Zhang Y, Song B, et al (2019) The effect of mechanical pretreatment on the anaerobic digestion of Hybrid Pennisetum. *Fuel* 252:469–474. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.04.134>
- Khanal SK (2008) *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production - Principles and Applications*

- Kist DL, Cano R, Sapkaite I, et al (2020) Macrophytes as a Digestion Substrate. Assessment of a Sonication Pretreatment. *Waste and Biomass Valorization* 11:1765–1775. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0502-8>
- Koyama M, Yamamoto S, Ishikawa K, et al (2014) Anaerobic digestion of submerged macrophytes: Chemical composition and anaerobic digestibility. *Ecological Engineering* 69:304–309. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.05.013>
- Koyama M, Yamamoto S, Ishikawa K, et al (2015) Enhancing anaerobic digestibility of lignin-rich submerged macrophyte using thermochemical pre-treatment. *Biochemical Engineering Journal* 99:124–130. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.03.013>
- Krishnan S, Singh L, Sakinah M, et al (2017) Role of organic loading rate in bioenergy generation from palm oil mill effluent in a two-stage up-flow anaerobic sludge blanket continuous-stirred tank reactor. *Journal of Cleaner Production* 142:3044–3049. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.165>
- Kwietniewska E, Tys J (2014) Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 34:491–500
- Lamparelli MC (2004) Graus de trofia em corpos d'água do Estado de São Paulo
- Landolt E, Kandeler R (1987) Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae), Vol. 4: The family of Lemnaceae - a monographic study, Vol. 2 (phytochemistry, physiology, application, bibliography). *Veroeffentlichungen des Geobotanischen Instituts der ETH, Stiftung Ruebel (Switzerland)*
- Lansdell M (1996) 15 Years of practical sewage treatment in Venezuela. *Water Science and Technology* 33:39–46. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00299-5](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00299-5)
- Lay J-J, Li Y-Y, Noike T (1998) The influence of pH and ammonia concentration on the methane production in high-solids digestion processes. *Water Environment Research* 70:1075–1082. <https://doi.org/10.2175/106143098x123426>
- Leng R, Stambolie J, Bell R (1995) Duckweed-a potential high-protein feed resource for domestic animals and fish. *Livestock Research for Rural Development*
- Lettinga G (1995) Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antonie van Leeuwenhoek* 67:3–28
- Lettinga G, Rebac S, Zeeman G (2001) Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in Biotechnology* 19:363–370. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(01\)01701-2](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(01)01701-2)
- Li L, Liu M, Wu M, et al (2017a) Effects of duckweed (*Spirodela polyrrhiza*) remediation on the composition of dissolved organic matter in effluent of scale pig farms. *Journal of*
- Li Q, Li H, Wang G, Wang X (2017b) Effects of loading rate and temperature on anaerobic co-digestion of food waste and waste activated sludge in a high frequency feeding system, looking in particular at stability and efficiency. *Bioresource Technology* 237:231–239. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.045>
- Li Y, Chen Y, Wu J (2019) Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. *Applied Energy* 240:120–137. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.01.243>
- Li Y, Jin Y, Borrión A, Li J (2018) Influence of feed/inoculum ratios and waste cooking oil content on the mesophilic anaerobic digestion of food waste. *Waste Management* 73:156–164. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.12.027>
- Li Y, Zhang R, He Y, et al (2014) Anaerobic co-digestion of chicken manure and corn stover in batch and continuously stirred tank reactor (CSTR). *Bioresource Technology* 156:342–347. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.054>
- Lim SJ, Kim BJ, Jeong CM, et al (2008) Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresource Technology* 99:7866–7874.

- <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.028>
- Lin Shuzo Tanaka Y (2006) MINI-REVIEW Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol* 69:627–642. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0229-x>
- Liu G, Zhang R, El-Mashad HM, Dong R (2009a) Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes. *Bioresource Technology* 100:5103–5108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.081>
- Liu J (2003) Instrumentation, control and automation in anaerobic digestion
- Liu K, Tang YQ, Matsui T, et al (2009b) Thermophilic anaerobic co-digestion of garbage, screened swine and dairy cattle manure. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 107:54–60. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2008.09.007>
- Liu T, Sung S (2002) Ammonia inhibition on thermophilic aceticlastic methanogens. *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research* 45:113–120. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0304>
- Long JH, Aziz TN, Reyes FLDL, Ducoste JJ (2012) Anaerobic co-digestion of fat, oil, and grease (FOG): A review of gas production and process limitations. *Process Safety and Environmental Protection* 90:231–245. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2011.10.001>
- Lue-Hing Cecil (1998) Municipal sewage sludge management: a reference text on processing, utilization, and disposal. Technomic Pub. Co
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1997) Brock biology of microbiology
- Mao C, Feng Y, Wang X, Ren G (2015) Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 45:540–555. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.032>
- Maragkaki AE, Fountoulakis M, Gypakis A, et al (2017) Pilot-scale anaerobic co-digestion of sewage sludge with agro-industrial by-products for increased biogas production of existing digesters at wastewater treatment plants. *Waste Management* 59:362–370. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2016.10.043>
- Maragkaki AE, Fountoulakis M, Kyriakou A, et al (2018) Boosting biogas production from sewage sludge by adding small amount of agro-industrial by-products and food waste residues. *Waste Management* 71:605–611. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.04.024>
- Mata-Alvarez J (2003a) Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA
- Mata-Alvarez J (2003b) Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA
- Mata-Alvarez J, Dosta J, Romero-Güiza MS, et al (2014) A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 36:412–427. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.039>
- Mata-Alvarez J, Macé S, Llabrés P (2000) Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology* 74:3–16. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00023-7)
- Mathew AK, Bhui I, Banerjee SN, et al (2015) Biogas production from locally available aquatic weeds of Santiniketan through anaerobic digestion. *Clean Technologies and Environmental Policy* 17:1681–1688. <https://doi.org/10.1007/s10098-014-0877-6>
- McCarty PL (1964) Anaerobic waste treatment fundamentals. *Public works* 95:107–112
- Mehariya S, Patel AK, Obulisamy PK, et al (2018a) Co-digestion of food waste and sewage sludge for methane production: Current status and perspective. *Bioresource Technology* 265:519–531. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.030>
- Mehariya S, Patel AK, Obulisamy PK, et al (2018b) Co-digestion of food waste and sewage sludge for methane production: Current status and perspective. *Bioresource Technology* 265:519–531. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.030>

- Meier EJ, Waliczek TM, Abbott ML (2014) Composting Invasive Plants in the Rio Grande River. *Invasive Plant Science and Management* 7:473–482. <https://doi.org/10.1614/ipsm-d-13-00089.1>
- Metcalf L, Eddy HP, Tchobanoglous G (2004) *Wastewater energy: treatment and reuse*, 4th edn. McGraw-Hill, New York
- Mills PJ (1979) Minimisation of energy input requirements of an anaerobic digester. *Agricultural Wastes* 1:57–66. [https://doi.org/10.1016/0141-4607\(79\)90007-6](https://doi.org/10.1016/0141-4607(79)90007-6)
- Moeller L, Bauer A, Wedwitschka H, et al (2018) Crop Characteristics of Aquatic Macrophytes for Use as a Substrate in Anaerobic Digestion Plants—A Study from Germany. *Energies* 11:3016. <https://doi.org/10.3390/en11113016>
- Mohedano R, Velho V, Costa R (2012) Nutrient recovery from swine waste and protein biomass production using duckweed ponds (*Landoltia punctata*): southern Brazil. *Water Science and Technology* 65:2042–8. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.111>
- Möller K, Müller T (2012) Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review. *Engineering in Life Sciences* 12:242–257
- Moorhead KK, Nordstedt RA (1993) Batch anaerobic digestion of water hyacinth: Effects of particle size, plant nitrogen content, and inoculum volume. *Bioresource Technology* 44:71–76. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(93\)90211-S](https://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90211-S)
- Moreno Jiménez H, Orozco J. A (1996) Optimización de diseño del sistema de alimentación de reactores UASB. CIFI memos de investigación 284:
- Mshandete A, Björnsson L, Kivaisi AK, et al (2006) Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. *Renewable Energy* 31:2385–2392. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2005.10.015>
- Mu L, Zhang L, Zhu K, et al (2020) Anaerobic co-digestion of sewage sludge, food waste and yard waste: Synergistic enhancement on process stability and biogas production. *Science of the Total Environment* 704:135429. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135429>
- Muñoz Escobar M, Voyevoda M, Fühner C, Zehnsdorf A (2011) Potential uses of *Elodea nuttallii*-harvested biomass. *Energy, Sustainability and Society* 1:4. <https://doi.org/10.1186/2192-0567-1-4>
- Murto M, Björnsson L, Mattiasson B (2004) Impact of food industrial waste on anaerobic co-digestion of sewage sludge and pig manure. *Journal of Environmental Management* 70:101–107. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2003.11.001>
- Nahar K, Sunny SA (2020) Duckweed-based clean energy production dynamics (ethanol and biogas) and phyto-remediation potential in Bangladesh. *Modeling Earth Systems and Environment* 6:1–11. <https://doi.org/10.1007/s40808-019-00659-y>
- Nallathambi Gunaseelan V (1995) Effect of inoculum/substrate ratio and pretreatments on methane yield from *Parthenium*. *Biomass and Bioenergy* 8:39–44. [https://doi.org/10.1016/0961-9534\(94\)00086-9](https://doi.org/10.1016/0961-9534(94)00086-9)
- Neves L, Oliveira R, Alves MM (2004) Influence of inoculum activity on the biomethanization of a kitchen waste under different waste/inoculum ratios. *Process Biochemistry* 39:2019–2024. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.10.002>
- Nizami AS, Korres NE, Murphy JD (2009) Review of the integrated process for the production of grass biomethane. *Environmental Science and Technology* 43:8496–8508. <https://doi.org/10.1021/es901533j>
- Ogejo JA, Wen Z, Ignosh J, et al (2009) *Biomethane technology*. Virginia Cooperative Extension
- O’Sullivan C, Rounsefell B, Grinham A, et al (2010) Anaerobic digestion of harvested aquatic weeds: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), cabomba (*Cabomba Caroliniana*) and salvinia (*Salvinia molesta*). *Ecological Engineering* 36:1459–1468. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2010.06.027>



- Oswald WJ (1988) Micro-algae and waste-water treatment. In: M.A. Borowitzka LJB (Eds. ) (ed) Micro-algae and waste-water treatment. Micro-Algal Biotechnology, Cambridge University Press, Cambridge, pp 305–328
- Parajuli P (2011) Biogas measurement techniques and the associated errors. University of Jyväskylä Department of Biological and Environmental Science Renewable Energy Programme M:43
- Pavi S, Kramer LE, Gomes LP, Miranda LAS (2017) Biogas production from co-digestion of organic fraction of municipal solid waste and fruit and vegetable waste. *Bioresource Technology* 228:362–367. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.003>
- Pena L, Oliveira M, Fragoso R, Duarte E (2017) Potential of Duckweed for Swine Wastewater Nutrient removal and Biomass Valorisation through Anaerobic Co-digestion. *J sustain dev energy water environ syst* 5:127–138. <https://doi.org/10.13044/j.sdewes.d5.0137>
- Peña Toro JA (1996) diseño y montaje de un reactor anaerobio de tipo uasb para el tratamiento de las aguas residuales y pruebas piloto de lombricultivo para el tratamiento de residuos de café sa Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Facultad de Ingeniería y Arquitectura 83:
- Pereira MA, Pires OC, Mota M, Alves MM (2005) Anaerobic biodegradation of oleic and palmitic acids: Evidence of mass transfer limitations caused by long chain fatty acid accumulation onto the anaerobic sludge. *Biotechnology and Bioengineering* 92:15–23. <https://doi.org/10.1002/bit.20548>
- Pérez A, Torres P (2008) Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables (Alkalinity indices for control of anaerobic treatment of readily acidifiable wastewaters). *Ingeniería y Competitividad* 10:41–52
- Pind. PF, Irimi A, K. AB (2003) A new VFA sensor technique for anaerobic reactor systems. *Biotechnology and Bioengineering* 82:54–61. <https://doi.org/10.1002/bit.10537>
- Porath D, Pollock J (1982) Ammonia stripping by duckweed and its feasibility in circulating aquaculture. *Aquatic Botany* 13:125–131. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(82\)90046-8](https://doi.org/10.1016/0304-3770(82)90046-8)
- Powell N, Shilton A, Pratt S, Chisti Y (2011) Luxury uptake of phosphorus by microalgae in full-scale waste stabilisation ponds. *Water Science and Technology* 63:
- Rabii A, Aldin S, Dahman Y, Elbeshbishy E (2019) A review on anaerobic co-digestion with a focus on the microbial populations and the effect of multi-stage digester configuration. *Energies* 12:. <https://doi.org/10.3390/en12061106>
- Raposo F, Banks CJ, Siegert I, et al (2006) Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry* 41:1444–1450. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.012>
- Raposo F, Borja R, Martín MA, et al (2009) Influence of inoculum-substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation. *Chemical Engineering Journal* 149:70–77. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.10.001>
- Raposo F, de la Rubia MA, Fernández-Cegrí V, Borja R (2011) Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16:861–877. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2011.09.008>
- Ren H, Jiang N, Wang T, et al (2018) Enhanced Biogas Production in the Duckweed Anaerobic Digestion Process. *Journal of Energy Resources Technology* 140:. <https://doi.org/10.1115/1.4039782>
- Ribani M, Grespan Bottoli CB, Collins CH, et al (2004) Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quimica Nova* 27:771–780. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>

- Ripley LE, Boyle WC, Converse JC (1986) Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Water Pollution Control Federation* 58:406–411
- Rozzi A (1986) Parámetros de operación y control de los procesos anaerobios. Tercer Seminario sobre depuración anaeróbica de aguas residuales, Valladolid, España
- Safley LM, Westerman PW (1992) Performance of a low temperature lagoon digester. *Bioresource Technology* 41:167–175. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(92\)90188-4](https://doi.org/10.1016/0960-8524(92)90188-4)
- Sahito AR, Mahar RBUX, Brohi KM (2014) Anaerobic Co-Digestion of Canola Straw and Buffalo Dung: Optimization of Methane Production in Batch Experiments. 33:49–60
- Sánchez Hernández EP, Travieso Córdoba L (1993) Anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris* for energy production. *Resources, Conservation and Recycling*. [https://doi.org/10.1016/0921-3449\(93\)90037-G](https://doi.org/10.1016/0921-3449(93)90037-G)
- Schievano A, D'Imporzano G, Malagutti L, et al (2010) Evaluating inhibition conditions in high-solids anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 101:5728–5732. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.032>
- Schievano A, Tenca A, Scaglia B, et al (2012) Two-stage vs single-stage thermophilic anaerobic digestion: Comparison of energy production and biodegradation efficiencies. *Environmental Science and Technology* 46:8502–8510. <https://doi.org/10.1021/es301376n>
- Shah FA, Mahmood Q, Rashid N, et al (2015) Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 42:627–642. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.053>
- Shen J, Zhao C, Liu Y, et al (2019) Biogas production from anaerobic co-digestion of durian shell with chicken, dairy, and pig manures. *Energy Conversion and Management* 198:110535. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.06.099>
- Shen N, Wang Q, Zhu J, et al (2016) Succinic acid production from duckweed (*Landoltia punctata*) hydrolysate by batch fermentation of *Actinobacillus succinogenes* GXAS137. *Bioresource Technology* 211:307–312. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2016.03.036>
- Siegert I, Banks C (2005) The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry* 40:3412–3418. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.01.025>
- Silvestre G, Illa J, Fernández B, Bonmatí A (2014) Thermophilic anaerobic co-digestion of sewage sludge with grease waste: Effect of long chain fatty acids in the methane yield and its dewatering properties. *Applied Energy* 117:87–94. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.11.075>
- Sindilariu P, Brinker A, Reiter R (2009) Factors influencing the efficiency of constructed wetlands used for the treatment of intensive trout farm effluent. *Ecological Engineering*
- Skillicorn P, Spira W, Journey W (1993) Duckweed aquaculture: a new aquatic farming system for developing countries. *Duckweed aquaculture: a new aquatic farming system for developing countries*
- Smith RJ (1973) The anaerobic digestion of livestock wastes and the prospects for methane production. In: *Midwest Livestock Waste Management Conference*. pp 27–28
- Steen P van der, Brenner A, Buuren J van, Oron G (1999) Post-treatment of UASB reactor effluent in an integrated duckweed and stabilization pond system. *Water research*
- Sutaryo S, Ward AJ, Møller HB (2014) Ammonia inhibition in thermophilic anaerobic digestion of dairy cattle manure. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture* 39:83–90. <https://doi.org/10.14710/jitaa.39.2.83-90>
- Szaja A, Montusiewicz A (2019) Enhancing the co-digestion efficiency of sewage sludge and cheese whey using brewery spent grain as an additional substrate. *Bioresource Technology* 291:121863. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121863>

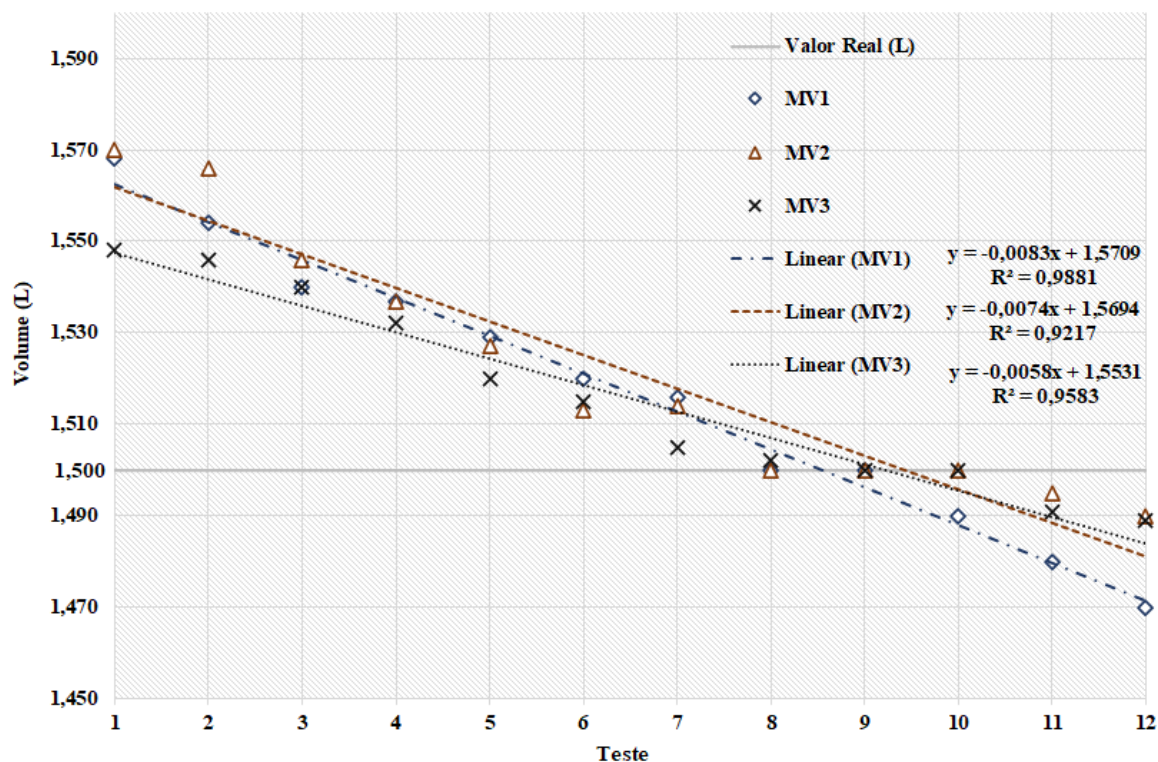
- Toyama T, Hanaoka T, Tanaka Y, et al (2018) Comprehensive evaluation of nitrogen removal rate and biomass, ethanol, and methane production yields by combination of four major duckweeds and three types of wastewater effluent. *Bioresource Technology* 250:464–473. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.054>
- United Nation (2003) Economic And Social Commission For Western Asia Waste-Water Treatment Technologies: A General Review
- van Velsen AFM (1979) Adaptation of methanogenic sludge to high ammonia-nitrogen concentrations. *Water Research* 13:995–999. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(79\)90194-5](https://doi.org/10.1016/0043-1354(79)90194-5)
- Vandevivere P, Baere L de, Verstraete W (2003) Types of anaerobic digester for solid wastes. In: Mata-Alvarez J (ed) *Biomethanisation of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. IWA Publishing, London (2003), pp 111–140
- Vassilev S v., Vassileva CG, Vassilev VS (2015) Advantages and disadvantages of composition and properties of biomass in comparison with coal: An overview. *Fuel* 158:330–350. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2015.05.050>
- Verma R, Suthar S (2014) Synchronized urban wastewater treatment and biomass production using duckweed *Lemna gibba* L. *Ecological Engineering* 64:337–343. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2013.12.055>
- Verma R, Suthar S (2015) Utility of Duckweeds as Source of Biomass Energy: a Review. *Bioenergy Research* 8:1589–1597
- Verma R, Suthar S (2016) Bioenergy potential of duckweed (*Lemna gibba* L.) biomass. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* 38:2231–2237. <https://doi.org/10.1080/15567036.2015.1098750>
- W. Wilawan, P. Pholchan PA (2014) Biogas Production from Co-digestion of *Pennisetum purpurem* cv . Pakchong 1 Grass and Layer Chicken Manure Using Completely Stirred Tank. *Energy Procedia* 52:216–222. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.07.072>
- Wang W, Xie L, Chen J, et al (2011) Biohydrogen and methane production by co-digestion of cassava stillage and excess sludge under thermophilic condition. *Bioresource Technology* 102:3833–3839. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.012>
- Wang Y, Zhang Y, Wang J, Meng L (2009) Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass and Bioenergy* 33:848–853. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2009.01.007>
- Ward AJ, Hobbs PJ, Holliman PJ, Jones DL (2008) Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*
- Wei L, Qin K, Ding J, et al (2019) Optimization of the co-digestion of sewage sludge, maize straw and cow manure: microbial responses and effect of fractional organic characteristics. *Scientific Reports* 9:. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38829-8>
- Wittmann C, Zeng AP, Deckwer WD (1995) Growth inhibition by ammonia and use of a pH-controlled feeding strategy for the effective cultivation of *Mycobacterium chlorophenolicum*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 44:519–525. <https://doi.org/10.1007/BF00169954>
- Xiao Y, Fang Y, Jin Y, et al (2013) Culturing duckweed in the field for starch accumulation. *Industrial Crops and Products* 48:183–190. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2013.04.017>
- Xiu SN, Shahbazi A, Croonenberghs J, Wang LJ (2010) Oil Production from Duckweed by Thermochemical Liquefaction. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* 32:1293–1300. <https://doi.org/10.1080/15567030903060408>
- Xu J, Cui W, Cheng JJ, Stomp A-M (2011) Production of high-starch duckweed and its conversion to bioethanol. *Biosystems Engineering* 110:67–72. <https://doi.org/10.1016/J.BIOSYSTEMSENG.2011.06.007>

- Xu J, Deshusses MA (2015) Fermentation of swine wastewater-derived duckweed for biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy* 40:7028–7036. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2015.03.166>
- Xu J, Shen G (2011) Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. *Bioresource Technology* 102:848–853. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2010.09.003>
- Xu J, Zhao H, Stomp AM, Cheng JJ (2012a) The production of duckweed as a source of biofuels. *Biofuels* 3:589–601. <https://doi.org/10.4155/bfs.12.31>
- Xu SY, Karthikeyan OP, Selvam A, Wong JWC (2012b) Effect of inoculum to substrate ratio on the hydrolysis and acidification of food waste in leach bed reactor. *Bioresource Technology* 126:425–430. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.059>
- Yadav D, Barbora L, Bora D, et al (2017) An assessment of duckweed as a potential lignocellulosic feedstock for biogas production. *International Biodeterioration and Biodegradation* 119:253–259. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.09.007>
- Yadvika, Santosh, Sreekrishnan TR, et al (2004) Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques - A review. *Bioresource Technology* 95:1–10
- Yi J, Dong B, Dai JJ (2014) Effect of Increasing Total Solids Contents on Anaerobic Digestion of Food Waste under Mesophilic Conditions: Performance and Microbial Characteristics Analysis. *PLoS ONE* 9:102548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102548>
- Yong Z, Dong Y, Zhang X, Tan T (2015) Anaerobic co-digestion of food waste and straw for biogas production. *Renewable Energy* 78:527–530. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.01.033>
- Zhang C, Su H, Baeyens J, Tan T (2014) Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 38:383–392. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.05.038>
- Zhang Y, Banks CJ (2013) Impact of different particle size distributions on anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste. *Waste Management* 33:297–307. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.09.024>
- Zhao Y, Fang Y, Jin Y, et al (2015) Microbial community and removal of nitrogen via the addition of a carrier in a pilot-scale duckweed-based wastewater treatment system. *Bioresource*
- Zhao Y, Fang Y, Jin Y, et al (2014) Potential of duckweed in the conversion of wastewater nutrients to valuable biomass: A pilot-scale comparison with water hyacinth. *Bioresource Technology* 163:82–91. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.018>
- Zhou Y, Zhang Z, Nakamoto T, et al (2011) Influence of substrate-to-inoculum ratio on the batch anaerobic digestion of bean curd refuse-okara under mesophilic conditions. *Biomass and Bioenergy* 35:3251–3256. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.04.002>
- Zielińska M, Cydzik-Kwiatkowska A, Zieliński M, Debowski M (2013) Impact of temperature, microwave radiation and organic loading rate on methanogenic community and biogas production during fermentation of dairy wastewater. *Bioresource Technology* 129:308–314. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.093>

## ANEXO A – TESTES CALIBRAÇÃO MEDIDORES DE VAZÃO DE BIOGÁS

Teste	Valor Real (L)	Medidor de Vazão		
		MV1 Valor Medido (L)	MV2 Valor Medido (L)	MV3 Valor Medido (L)
1	1,500	1,568	1,570	1,548
2	1,500	1,554	1,566	1,546
3	1,500	1,540	1,546	1,540
4	1,500	1,537	1,537	1,532
5	1,500	1,529	1,527	1,520
6	1,500	1,520	1,513	1,515
7	1,500	1,516	1,514	1,505
8	1,500	1,500	1,500	1,502
9	1,500	1,500	1,500	1,500
10	1,500	1,490	1,500	1,500
11	1,500	1,480	1,495	1,491
12	1,500	1,470	1,490	1,489
	<b>Média</b>	1,5170	1,5215	1,5157
	<b>DP</b>	0,0277	0,0238	0,0203
	<b>Máximo</b>	1,5680	1,5700	1,5480
	<b>Mínimo</b>	1,4700	1,4900	1,4890
	<b>N</b>	12	12	12

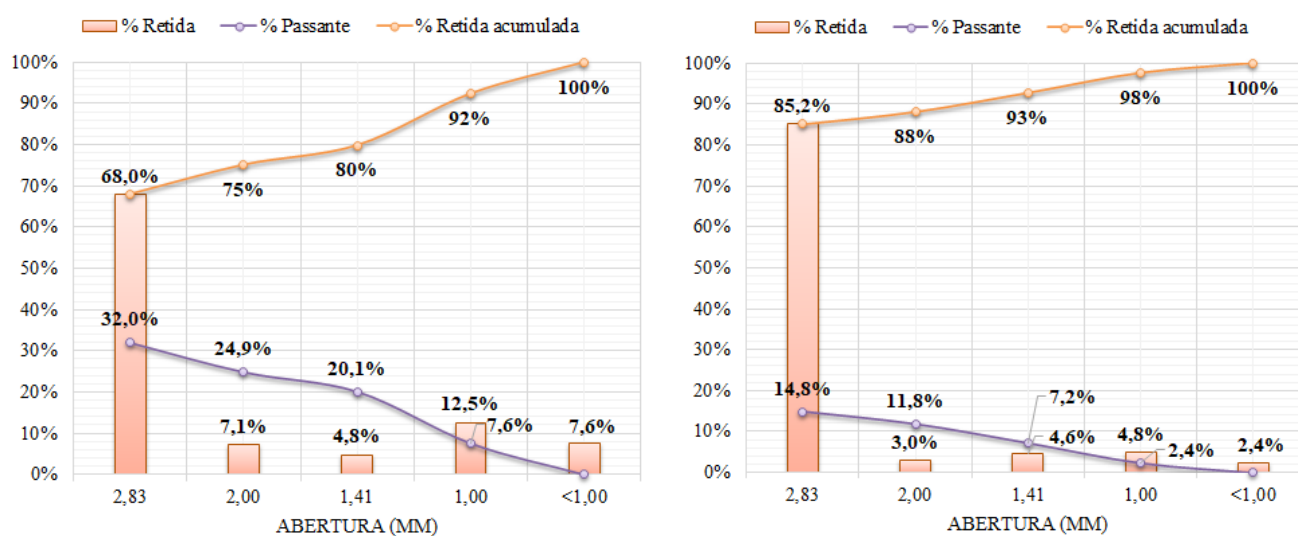
## REGRESSÃO LINEAR DOS DADOS EXPERIMENTAIS



## ANEXO B – TESTES GRANULOMÉTRICOS DA MACRÓFITA

Com os resultados do peneiramento úmido das macrófitas sem e com pré-tratamento mecânico, foram construídas curvas granulométricas para avaliar o efeito da trituração sobre a estrutura do substrato lignocelulósico.

Para a elaboração das curvas utilizou-se a massa de macrófitas retidas nas peneiras de tamanho de orifício de 2,83, 2,00, 1,41 e 1,00 mm. Os resultados dos ensaios de granulometria das macrófitas são apresentados no Gráfico 26.



**Gráfico 30.** Curvas granulométricas das macrófitas não triturada (esquerda) e triturada (direita)

De acordo com o Gráfico 26, observa-se predominância de partículas de tamanhos maiores de 2,83 mm, em parte relacionado com as espécies *Spirodela polyrrhiza* e *Spirodela intermedia*, as quais apresentam tamanho entre 4 e 10 mm.

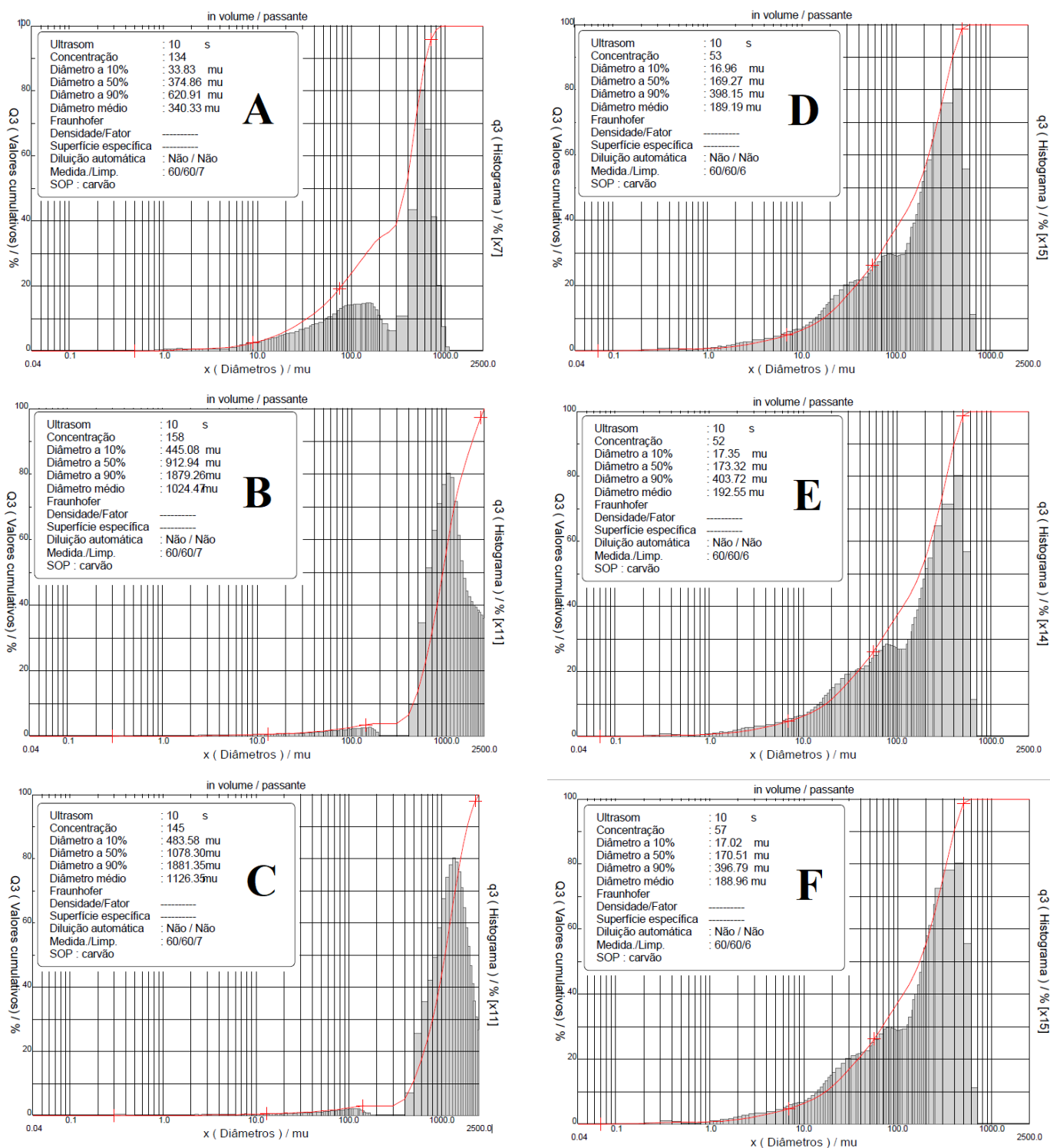
O acúmulo desta macrófita na primeira peneira (2,83 mm) foi devido também à ocorrência de aglomerações da planta aquática, situação observada visualmente, para as amostras sem e com pré-tratamento.

Verifica-se que 92% das partículas presentes na amostra do ensaio com macrófitas sem pré-tratamento mecânico foi retido nas quatro peneiras. No ensaio com pré-tratamento o valor de retenção de partículas nas quatro peneiras foi de 98%.

Embora a porcentagem da passagem de partículas na última peneira (1,00 mm) tenha sido maior no ensaio sem trituração (7,6%) que no ensaio com trituração (2,4%), verificou-se que a trituração alterou a distribuição granulométrica das partículas menores que 1 mm como

observado no Gráfico 27.

Os resultados da análise da distribuição de tamanhos de partículas menores que 1 mm nas amostras residuais sem e com trituração são apresentados no Gráfico 27.



**Gráfico 31.** Distribuição granulométrica da amostra residual do teste sem trituração (esquerda A, B, C) e triturada (direita D, E, F)

Como visualizado no Gráfico 27 a distribuição de partículas para a amostra residual de macrófitas sem trituração mecânica apresentou domínio de partículas médias e grandes, o tamanho médio de partícula para os testes A, B e C foi de 340,3, 1024,5 e 1126,4  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

Segundo os resultados dos testes B e C observa-se uma baixa concentração de partículas com tamanho inferiores de 32  $\mu\text{m}$ , sendo o limite máximo de tamanho de 2.500  $\mu\text{m}$ , limitado pela capacidade do analisador CILAS. O intervalo que concentra o 90% dos tamanhos de partículas dos testes A, B e C são 33,83-620,9  $\mu\text{m}$ , 445,1-1879,3  $\mu\text{m}$  e 483,6-1881,4  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

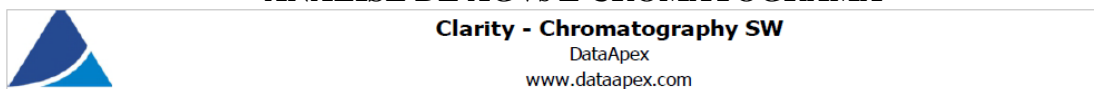
Como observado nos gráficos (D, E, F) a macrófita trituradas (direita) apresentou um maior intervalo de distribuição de tamanhos, que variou na faixa de 0,04 e 600  $\mu\text{m}$ , evidenciando assim a presença de partículas finas na amostra. Também se observa uma distribuição mais uniforme dos tamanhos que compõe a amostra como visualizado nas curvas dos testes D, E e F.

Os resultados da distribuição granulométrica mostraram que o tamanho médio de partícula para o teste com macrófitas sem pré-tratamento foram menores do que obtidos no teste com macrófitas sem trituração, demonstrando que a trituração conseguiu alterar o tamanho da planta aquática. O tamanho médio de partícula para o teste D foi de 189,2  $\mu\text{m}$ , para o teste E de 192,6  $\mu\text{m}$  e para o teste F e de 188,9  $\mu\text{m}$ .

Cabe também salientar que a trituração conseguiu alterar o tamanho das partículas e favorecer o processo de digestão anaeróbia sem comprometer a sua estabilidade.



## ANEXO C – CALIBRAÇÃO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA ANÁLISE DE AGVs E CROMATOGRAMA



Acetic - Señal 1 - 5,565 min

Criterio de cálculo : Área  
 Tipo de pico : Ordnr  
 Es ISTD : None  
 Usar Est.Int : Ninguno  
 Tipo de ajuste de la curva : Lineal  
 Origen : Curva pasa por origen  
 Método de ponderación : Ninguna  
 Aproximación lineal X : Ninguna  
 Aproximación lineal Y : Ninguna  
 Margen de búsqueda : Abs  
 Margen izquierdo : 0,200 min  
 Margen derecho : 0,200 min  
 Selección de pico : Más cercano  
 Factor de cálc. : 0  
 Factor de corrección : 1  
 Calcular según :  
 Ecuación :  $Y = 0,17825 * X$   
 Coeficiente de correlación : 0,9976911  
 Residuo : 8,98733 [mV.s]

	Resultado	Cantidad	Factor resp.	Nº rec.	Usado
1	15,8600	50,0000	3,1526	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	38,8887	400,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
3	15,3180	100,0000	6,5283	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	14,8264	200,0000	13,4894	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	65,6645	400,0000	6,0916	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	144,2463	800,0000	5,5461	1	<input checked="" type="checkbox"/>
7	277,3222	1500,0000	5,4089	1	<input checked="" type="checkbox"/>
8	218,6547	1500,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
9	336,2440	2000,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
10	351,5415	2000,0000	5,6892	1	<input checked="" type="checkbox"/>
11	411,9113	2000,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
BL	0,0000	Blanco	0,0000	0	<input type="checkbox"/>

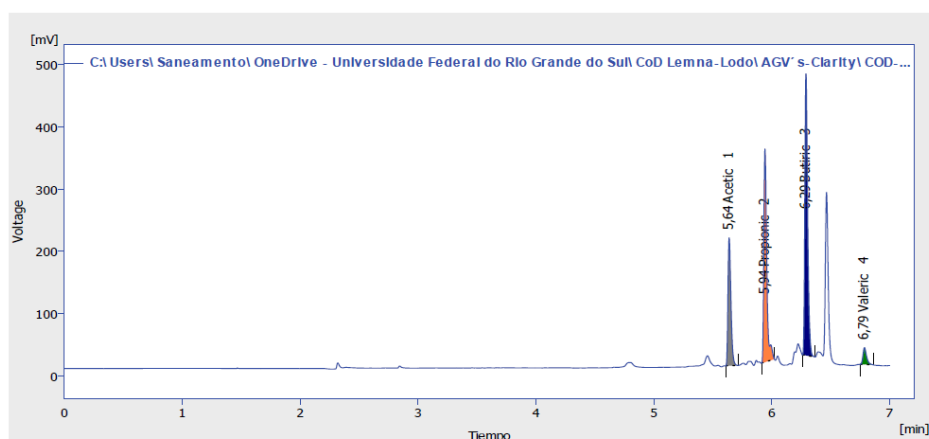
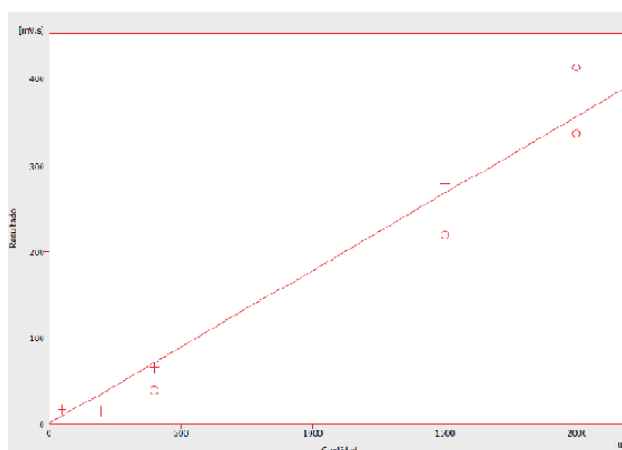


Tabla de resultados (ESTD - C:\Users\Saneamento\OneDrive - Universidade Federal do Rio Grande do Sul\CoD Lemna-Lodo\AGV's-Clarity\COD-1\26-11-18\IS-0.5-SL\_20\_11\_2018\_15\_34\_32\_1 - FID)

	Tiempo Retenc. [min]	Resultado	Cantidad [mg/L]	Cantidad% [%]	Tipo de pico	Nombre compuesto
1	5,639	359,159	2014,922	34,6	Ordnr	Acetic
2	5,943	595,460	1845,952	31,7	Ordnr	Propionic
3	6,291	761,052	1822,655	31,3	Ordnr	Butiric
4	6,787	57,955	144,247	2,5	Ordnr	Valeric
	Total		5827,777	100,0		



### Clarity - Chromatography SW

DataApex  
www.dataapex.com

Propionic - Señal 1 - 5,903 min

Criterio de cálculo : Área  
 Tipo de pico : Ordnr  
 Es ISTD : None  
 Usar Est.Int : Ninguno  
 Tipo de ajuste de la curva : Lineal  
 Origen : Curva pasa por origen  
 Método de ponderación : Ninguna  
 Aproximación lineal X : Ninguna  
 Aproximación lineal Y : Ninguna  
 Margen de búsqueda : Abs  
 Margen izquierdo : 0,200 min  
 Margen derecho : 0,200 min  
 Selección de pico : Más cercano  
 Factor de cálc. : 0  
 Factor de corrección : 1  
 Calcular según :  
 Ecuación :  $Y = 0,32258 * X$   
 Coeficiente de correlación : 0,9982130  
 Residuo : 15,20757 [mV.s]

	Resultado	Cantidad	Factor resp.	Nº rec.	Usado
1	23,7284	50,0000	2,1072	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	76,2769	400,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
3	26,6870	100,0000	3,7471	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	42,4650	200,0000	4,7098	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	123,5532	400,0000	3,2375	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	291,9191	800,0000	2,7405	1	<input checked="" type="checkbox"/>
7	489,5774	1500,0000	3,0639	1	<input checked="" type="checkbox"/>
8	318,5252	1500,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
9	628,1048	2000,0000	3,1842	1	<input checked="" type="checkbox"/>
10	647,7600	2000,0000	3,0876	1	<input checked="" type="checkbox"/>
11	794,0655	2000,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
BL	0,0000	Blanco	0,0000	0	<input type="checkbox"/>

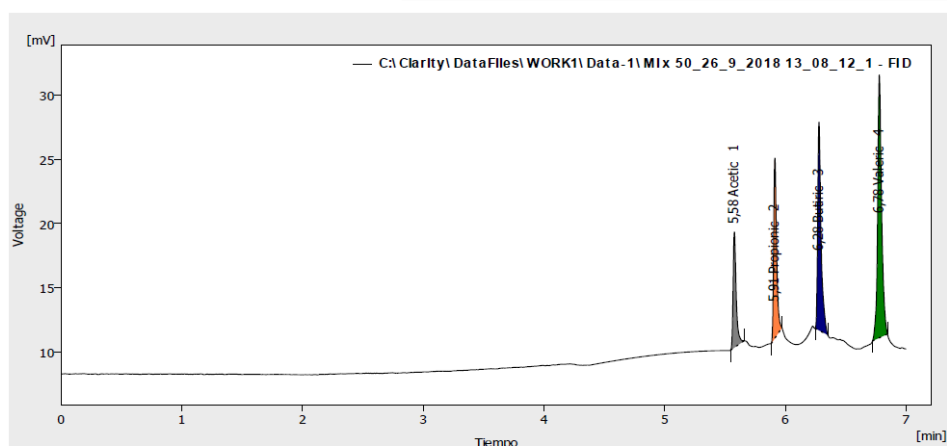
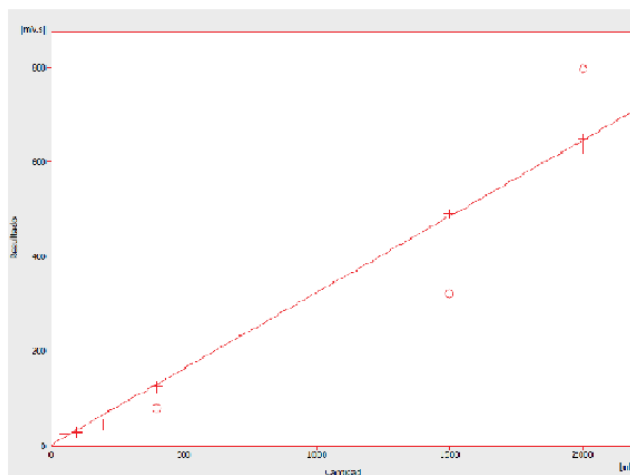


Tabla de resultados (ESTD - C:\Clarity\DataFiles\WORK1\Data-1\Mix 50\_26\_9\_2018 13\_08\_12\_1 - FID)

	Tiempo Retenc. [min]	Resultado	Cantidad [mg/L]	Cantidad% [%]	Tipo de pico	Nombre compuesto
1	5,577	15,860	88,976	25,1	Ordnr	Acetic
2	5,913	23,728	73,559	20,8	Ordnr	Propionic
3	6,279	31,599	75,561	21,3	Ordnr	Butiric
4	6,779	46,576	115,925	32,7	Ordnr	Valeric
	Total		354,042	100,0		



## Clarity - Chromatography SW

DataApex  
www.dataapex.com

Butiric - Señal 1 - 6,272 min

Criterio de cálculo : Área  
 Tipo de pico : Ordnr  
 Es ISTD : None  
 Usar Est.Intl : Ninguno  
 Tipo de ajuste de la curva : Lineal  
 Origen : Curva pasa por origen  
 Método de ponderación : Ninguna  
 Aproximación lineal X : Ninguna  
 Aproximación lineal Y : Ninguna  
 Margen de búsqueda : Abs  
 Margen izquierdo : 0,200 min  
 Margen derecho : 0,200 min  
 Selección de pico : Más cercano  
 Factor de cálc. : 0  
 Factor de corrección : 1  
 Calcular según :  
 Ecuación :  $Y = 0,41755 * X$   
 Coeficiente de correlación : 0,99113/2  
 Residuo : 39,44003 [mV.s]

	Resultado	Cantidad	Factor resp.	Nº rec.	Usado
1	31,5591	50,0000	1,5843	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	97,4683	400,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
3	33,6789	100,0000	2,9692	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	58,1767	200,0000	3,4378	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	158,8734	400,0000	2,5177	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	388,4379	800,0000	2,0595	1	<input checked="" type="checkbox"/>
7	544,6144	1500,0000	2,7542	1	<input checked="" type="checkbox"/>
8	216,1510	1500,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
9	739,9271	2000,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
10	878,9283	2000,0000	2,2755	1	<input checked="" type="checkbox"/>
11	1034,3930	2000,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
BL	0,0000	Blanco	0,0000	0	<input type="checkbox"/>

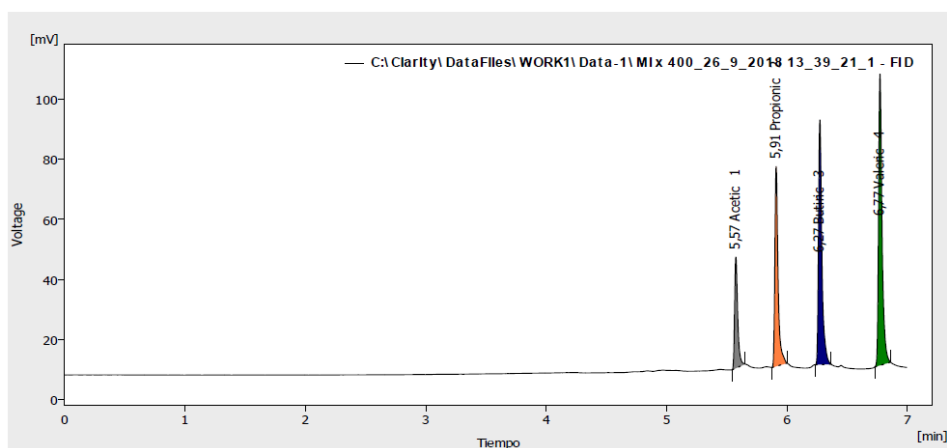
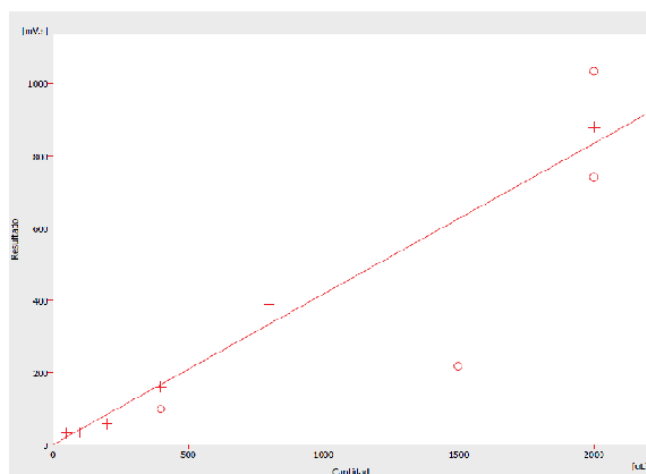


Tabla de resultados (ESTD - C:\Clarity\DataFiles\WORK1\Data-1\Mix 400\_26\_9\_2018 13\_39\_21\_1 - FID)

	Tiempo Retenc. [min]	Resultado	Cantidad [mg/L]	Cantidad% [%]	Tipo de pico	Nombre compuesto
1	5,575	65,665	368,385	22,8	Ordnr	Acetic
2	5,909	123,553	383,021	23,7	Ordnr	Propionic
3	6,272	158,873	380,488	23,6	Ordnr	Butiric
4	6,771	193,494	481,601	29,8	Ordnr	Valeric
	Total		1613,495	100,0		



## Clarity - Chromatography SW

DataApex  
www.dataapex.com

Valeric - Señal 1 - 6,777 min

Criterio de cálculo : Área  
 Tipo de pico : Ordnr  
 Es ISTD : None  
 Usar Est.Int : Ninguno  
 Tipo de ajuste de la curva : Lineal  
 Origen : Curva pasa por origen  
 Método de ponderación : Ninguna  
 Aproximación lineal X : Ninguna  
 Aproximación lineal Y : Ninguna  
 Margen de búsqueda : Abs  
 Margen izquierdo : 0,200 min  
 Margen derecho : 0,200 min  
 Selección de pico : Más cercano  
 Factor de cál. : 0  
 Factor de corrección : 1  
 Calcular según :  
 Ecuación :  $Y = 0,40177 * X$   
 Coeficiente de correlación : 0,9795199  
 Residuo : 58,54057 [mV.s]

	Resultado	Cantidad	Factor resp.	Nº rec.	Usado
1	46,5756	50,0000	1,0735	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	112,2648	400,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
3	46,0357	100,0000	2,1722	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	67,1540	200,0000	2,9782	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	193,4944	400,0000	2,0672	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	467,9843	800,0000	1,7095	1	<input checked="" type="checkbox"/>
7	543,1435	1500,0000	2,7617	1	<input checked="" type="checkbox"/>
8	154,0789	1500,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
9	783,3649	2000,0000	2,5531	1	<input checked="" type="checkbox"/>
10	1007,6060	2000,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
11	1189,0212	2000,0000	0,0000	0	<input type="checkbox"/>
BL	0,0000	Blanco	0,0000	0	<input type="checkbox"/>

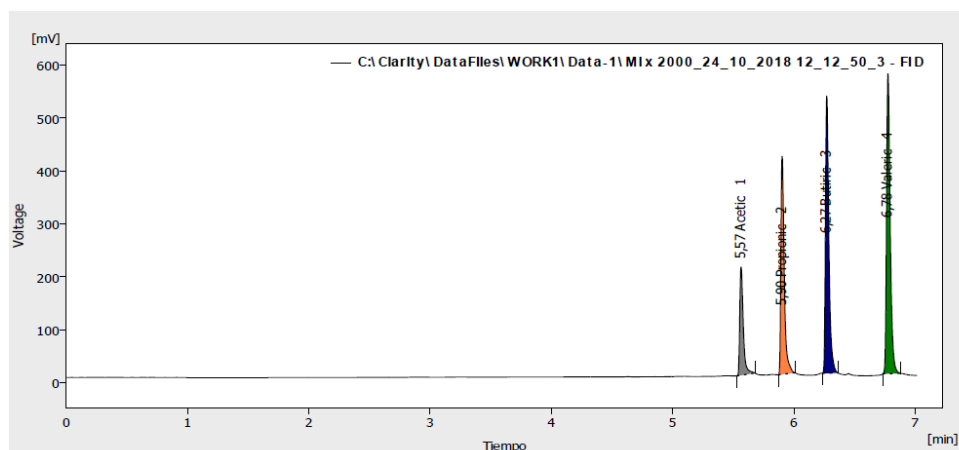
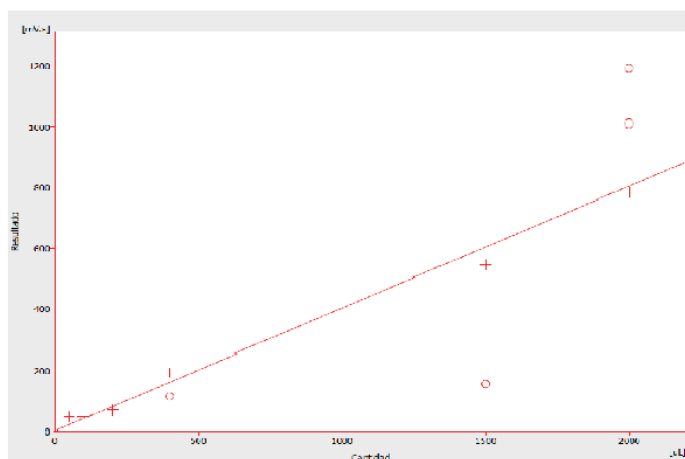


Tabla de resultados (ESTD - C:\Clarity\DataFiles\WORK1\Data-1\Mix 2000\_24\_10\_2018\_12\_12\_50\_3 - FID)

	Tiempo Retenc. [min]	Resultado	Cantidad [mg/L]	Cantidad% [%]	Tipo de pico	Nombre compuesto
1	5,565	411,911	2310,866	22,6	Ordnr	Acetic
2	5,903	794,065	2461,638	24,1	Ordnr	Propionic
3	6,272	1034,393	2477,283	24,3	Ordnr	Butiric
4	6,777	1189,021	2959,434	29,0	Ordnr	Valeric
	Total		10209,221	100,0		

**ANEXO D – SERIES HISTÓRICAS MONITORAMENTO PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS ENSAIOS 1, 2, 3 E 4**

**ENSAIO 1 – ST E SV**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV
16/08/2018	30446	12704	38208	13084	36980	13225	36210	12780	3585	13420
23/08/2018	26224	11054	37108	10872	36220	11958	36084	12426	35184	13030
30/08/2018	27120	11676	35048	10718	34852	12172	33154	11936	34726	13500
07/09/2018	33850	14582	34014	10662	33882	12288	27098	10354	33872	13140
14/09/2018	19168	8348	32976	10420	33376	11868	32258	11968	32924	13420
26/10/2018	20408	8908	31016	10548	29888	10956	30564	11796	31521	12732

**ENSAIO 1 – DQO<sub>T</sub> E DQO<sub>F</sub>**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>
16/08/2018	41675,4	498,6	37236,4	13733,4	39526,1	6292,7	38896,6	6786,2	28634,5	3641,4
23/08/2018	17411,8	470,6	26980,4	8941,2	37647,1	3294,1	34509,8	2509,8	41725,5	2980,4
30/08/2018	28396,4	11531,5	37045,0	10378,4	34450,5	5333,3	27675,7	4756,8	31279,3	4324,3
07/09/2018	25957,7	9136,0	32193,4	8410,9	28713,0	4350,5	21462,2	1305,1	14501,5	4930,5
14/09/2018	37704,7	6685,2	31153,2	4813,4	29682,5	8557,1	27944,3	935,9	29281,3	4813,4
26/10/2018	29166,2	2610,5	29064,4	9197,9	28783,6	5179,2	25492,1	1033,8	29833,8	3692,3

**ENSAIO 1 – NTK E NITROGÊNIO AMONIACAL**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal
16/08/2018	1020	90	748	382	619	404	531	322	649	295
23/08/2018	877	103	1675	483	1414	522	1393	428	1229	358
30/08/2018	853	117	1570	652	1384	546	1372	574	1177	321
07/09/2018	964	102	1686	645	1418	433	1325	490	1286	277
14/09/2018	1075	87	1801	639	1452	319	1278	407	1394	232
26/10/2018	903	29	1951	757	1427	728	1485	553	1136	408

**ENSAIO 1 – AT, AP E pH**

Data	Inóculo (mg/L)			I/S=0.5 (mg/l)			I/S=1.0 (mg/L)			I/S=1.5 (mg/L)			I/S=2.0 (mg/L)		
	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH
16/08/2018	444	894	7,18	894	1300	7,10	1173	1769	7,15	933	1823	7,11	884	1481	7,14
23/08/2018	596	977	7,05	1266	1862	7,00	1373	2224	7,12	977	2625	7,20	1114	2991	7,00
30/08/2018	528	1060	7,03	1085	3329	7,00	865	2610	6,88	1530	2346	6,71	1349	2229	6,70
07/09/2018	484	1002	6,66	1070	3373	6,51	1119	2718	6,65	1398	2776	6,92	2053	2527	7,22
14/09/2018	420	904	6,66	865	3329	6,42	982	2796	6,55	1520	2683	6,74	1774	2630	6,74
26/10/2018	572	1075	6,79	2806	4649	7,20	2292	3725	7,22	2356	3314	7,25	2048	3001	7,19

**ENSAIO 2 – ST E SV**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV
10/11/2018	32358	14054	40136	14468	36927	14010	34328	13993	34210	14154
17/11/2018	34328	15076	25128	9076	30486	11608	26830	10660	36028	14272
23/11/2018	37220	16214	28825	9190	36028	12590	34532	13047	35053	13568
28/11/2018	28624	12620	29542	8840	34692	11786	34068	12408	33124	12710
07/12/2018	30060	13360	38136	11438	34232	12014	33554	12606	33478	12888
26/12/2018	31046	14004	37324	11422	33396	11938	32680	12426	32354	12920

**ENSAIO 2 – DQO<sub>T</sub> E DQO<sub>F</sub>**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>
10/11/2018	33303,0	2086,0	26913,2	6456,3	27786,1	3416,3	29734,1	3060,1	28673,2	2053,5
17/11/2018	32627,5	2039,2	14274,5	6588,2	27451,0	3137,3	17098,0	2352,9	20705,9	2823,5
23/11/2018	28025,8	1858,1	33445,2	5574,2	30812,9	2477,4	27561,3	2477,4	29729,0	2477,4
28/11/2018	28000,0	2285,7	28571,4	7571,4	21714,3	1857,1	18714,3	2428,6	26714,3	2285,7
07/12/2018	30545,5	2776,9	35173,6	12694,2	33322,3	1983,5	29355,4	4495,9	35570,2	1851,2
26/12/2018	29857,2	1817,1	26486,6	3554,3	26213,1	1963,9	21716,6	2012,7	24060,6	1174,9

**ENSAIO 2 – NTK E NITROGÊNIO AMONIACAL**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal
10/11/2018	1166	58	1311	204	1078	233	1370	204	1137	146
28/11/2018	1210	102	1720	516	1389	405	1405	389	1298	278
26/12/2018	1249	116	1946	842	1510	552	1452	494	1336	378

**ENSAIO 2 – AT, AP E pH**

Data	Inóculo (mg/L)			I/S=0.5 (mg/l)			I/S=1.0 (mg/L)			I/S=1.5 (mg/L)			I/S=2.0 (mg/L)		
	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH
10/11/2018	342	870	6,71	670	1877	6,57	689	1613	6,64	719	1511	6,72	660	1488	6,71
17/11/2018	352	851	6,73	1017	2708	6,50	1535	2606	6,85	1335	2156	6,87	1188	2009	6,78
23/11/2018	342	733	6,63	1237	2845	6,73	1564	2405	6,92	1628	2381	6,86	1462	2014	6,80
28/11/2018	425	948	6,70	1535	3129	6,79	1921	2767	7,04	1599	2386	6,89	1325	2053	6,90
07/12/2018	513	1061	6,64	2430	3735	7,14	2234	3070	7,18	1853	2620	7,01	1677	2444	6,96
26/12/2018	445	929	6,79	2733	3979	7,13	2669	3310	7,12	1990	2772	7,04	1603	2518	6,98

**ENSAIO 3 – ST E SV**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV
20/02/2019	32562	15734	34830	14472	34420	14982	33100,5	14566,2	34118,9	14994,9
27/02/2019	33160	15270	17378	12047	33420	14782	30994	12744	32480	14328
07/03/2019	32924	15072	23416	9622	29766	12110	31184	13366	31072	13650
14/03/2019	32574	14916	24662	10078	29876	12728	31216	13728	30962	13912
21/03/2019	31200	14388	25596	9908	28130	11838	29138	12856	29460	13218
28/03/2019	31792	14876	28392	11852	29618	13172	30982	14130	30538	13866

**ENSAIO 3 – DQO<sub>T</sub> E DQO<sub>F</sub>**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>
20/02/2019	24734,2	3650,5	28703,2	3610,4	26204,8	2496,0	31778,4	2681,8	25533,6	3344,2
27/02/2019	24266,7	3269,1	25690,0	2537,7	26840,0	2196,7	27248,0	2437,1	26800,1	2700,2
07/03/2019	29128,2	2679,0	26410,9	1583,4	29807,7	1427,9	30601,1	1951,7	24882,2	2172,0
14/03/2019	29052,8	3100,2	29250,9	1767,7	31881,8	754,4	27310,8	1627,1	29636,9	1128,0
21/03/2019	33966,7	2724,8	28166,7	1152,8	26680,3	600,7	32226,7	920,3	28400,1	695,5
28/03/2019	27895,1	2003,5	23057,3	428,3	20065,8	440,5	21421,7	610,4	19414,2	414,8

**ENSAIO 3 – NTK E NITROGÊNIO AMONIACAL**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal
20/02/2019	1004	57	1406	201	1033	115	1015	86	976	86
07/03/2019	1100	102	1780	668	1337	422	1339	390	1077	287
28/03/2019	900	145	2004	958	1655	697	1510	581	1278	436

**ENSAIO 3 – AT, AP E pH**

Data	Inóculo (mg/L)			I/S=0.5 (mg/l)			I/S=1.0 (mg/L)			I/S=1.5 (mg/L)			I/S=2.0 (mg/L)		
	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH
20/02/2019	298	738	6,77	596	1115	7,02	440	1056	6,80	709	1198	6,83	528	1027	6,73
27/02/2019	323	792	6,60	1520	2640	6,94	1814	2694	7,01	1613	2415	7,00	1291	2058	6,90
07/03/2019	420	939	6,85	2288	3774	7,12	2444	3388	7,11	2053	2889	6,92	1672	2356	6,79
14/03/2019	469	1071	6,57	3266	4400	7,45	2625	3344	7,27	2034	3065	7,08	1515	2356	6,95
21/03/2019	548	1124	6,48	3432	4625	7,35	2723	3965	7,15	2175	3158	7,02	1696	2562	6,95
28/03/2019	504	1027	6,61	3813	4776	7,42	2918	3818	7,24	2170	3226	7,11	2024	2904	6,99

**ENSAIO 4 – ST E SV**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV	ST	SV
23/04/2019	34322	15182	41704	11512	38186	12278	37250	12802	36890	12996
02/05/2019	33848	14838	35980	11278	33706	12000	32856	12372	32584	12732
09/05/2019	33578	15238	34300	11374	32096	11656	31206	12200	31134	12558
15/05/2019	32736	14460	34708	11794	32382	12386	31882	12660	30098	12134
24/05/2019	32568	14242	33216	11298	30826	11834	30053	12030	29848	12132

**ENSAIO 4 – DQO<sub>T</sub> E DQO<sub>F</sub>**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>	DQO <sub>T</sub>	DQO <sub>F</sub>
23/04/2019	38921,4	1200,6	38675,6	7571,9	42234,1	5695,0	34823,1	2692,7	36041,4	2038,2
02/05/2019	31866,7	703,7	44748,8	7442,9	35398,5	3853,2	32746,9	2728,8	32793,3	1763,1
09/05/2019	35757,7	646,6	38102,0	8952,2	31733,5	3256,7	29908,8	1191,5	31592,5	760,3
15/05/2019	31337,9	832,9	41041,0	8098,3	33450,1	2293,4	30956,2	1121,4	28367,0	521,1
24/05/2019	28900,4	831,8	37547,0	6122,1	35122,6	1071,0	32332,6	727,0	31763,2	466,0

**ENSAIO 4 – NTK E NITROGÊNIO AMONIAICAL**

Data	Inóculo (mg/L)		I/S=0.5 (mg/l)		I/S=1.0 (mg/L)		I/S=1.5 (mg/L)		I/S=2.0 (mg/L)	
	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal	NTK	Nitrogênio amoniacal
23/04/2019	1016	58	2904	319	2120	232	1801	203	1888	232
09/05/2019	1980	110	3810,3	598,9	3668	420	3040	331	2772	378
24/05/2019	2152	143	4706	918	4046	631	3730	545	3386	516

**ENSAIO 4 – AT, AP E pH**

Data	Inóculo (mg/L)			I/S=0.5 (mg/l)			I/S=1.0 (mg/L)			I/S=1.5 (mg/L)			I/S=2.0 (mg/L)		
	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH	AP	AT	pH
23/04/2019	328	723	6,79	870	2131	7,04	880	1779	6,81	709	1467	6,76	660	1359	6,74
02/05/2019	411	860	6,80	1408	2742	6,51	1628	3016	6,83	1452	2488	6,82	1286	2210	6,90
09/05/2019	352	811	6,54	860	1936	7,12	1980	3109	7,10	1955	2894	7,11	1750	2645	7,14
15/05/2019	533	978	6,72	2439	3632	7,31	2395	3363	7,22	2126	2909	7,12	1735	2640	7,09
24/05/2019	489	1022	6,63	1383	4117	7,24	2542	3608	7,28	2444	3119	7,16	1916	2874	7,06