

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**ANMORAN CARDOSO MARTINS**

**ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METANO POR DIGESTÃO ANAERÓBIA DE  
MACRÓFITA DO GÊNERO *Typha domingensis* POR MEIO DE PRÉ-  
TRATAMENTOS ALCALINO E ÁCIDO**

**MEDIANEIRA**

**2021**

**ANMORAN CARDOSO MARTINS**

**ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METANO POR DIGESTÃO ANAERÓBIA DE  
MACRÓFITA DO GÊNERO *Typha domingensis* POR MEIO DE PRÉ-  
TRATAMENTOS ALCALINO E ÁCIDO**

**ANALYSIS OF METHANE PRODUCTION BY ANAEROBIC DIGESTION OF  
MACROPHYTE OF THE GENUS *Typha domingensis* BY ALKALINE AND ACID  
PRETREATMENTS**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Ambientais do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais – PPGTAMB - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Dr. Laercio Mantovani Frare.

**MEDIANEIRA**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



ANMORAN CARDOSO MARTINS

**ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METANO POR DIGESTÃO ANAERÓBIA DE MACRÓFITAS DO GÊNERO TYPHA DOMINGENSIS POR MEIO DE PRÉ-TRATAMENTOS ALCALINO E ÁCIDO**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Ambientais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias Ambientais.

Data de aprovação: 21 de Setembro de 2021

Prof Laercio Mantovani Frare, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Daniel Tait Vareschini, Doutorado - Universidade Estadual de Maringá (Uem)

Prof Thiago Edwiges, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 21/09/2021.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus pelo fôlego da vida, pela saúde e força que me tem dado, em um cenário tão complicado, bem como por todas as experiências e oportunidades que tem me concedido, as quais tem me proporcionado crescimento intelectual e pessoal.

Aos meus pais, Antônio e Ângela, e ao meu irmão, Davi, por serem minha base, meu alicerce, minha fonte de motivação, além de todo o amor envolvido que me moldou e me tornou uma pessoa de caráter. Sou privilegiado por ter esses exemplos de pessoas em minha vida, gratidão eterna por ter vocês em minha vida.

Meus agradecimentos ao meu orientador professor Dr. Laércio Mantovani Frare por me conceder a honra de ser orientado por sua persona que sempre me motivou e me auxiliou em minhas dificuldades relacionadas a pesquisa e mesmo da vida.

Aos Amigos incansáveis e verdadeiros exemplos de pesquisadores Jhenifer Bastos, João Alino, Matheus Marchesi e Paula Remor. Sem vocês esse trabalho nem se quer existiria, muito obrigado por participarem ativamente de todas as etapas realizadas, por toda paciência e por partilharem de seus conhecimentos comigo.

Agradeço ainda, a todos os coordenadores e professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais (PPGTAMB) em especial ao Professor Dr. Eduardo Eyng por sua incondicional disponibilidade em prestar auxílios pertinentes a pesquisa e didática de ensino.

Sou grato à instituição de ensino, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Medianeira, não somente pelo PPGTAMB, mas pela estrutura e aparatos que proporciona aos seus alunos, tornando apto o desenvolvimento de trabalhos de pesquisa.

Também necessito agradecer a todos os familiares, amigos, colegas, entidades e todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração e execução desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 (Bolsa Demanda Social – Processo 88887.487283/2020-00).

Os homens encontram sucesso quando eles  
percebem que seus fracassos são uma  
preparação para suas vitórias.  
(RALPH WALDO EMERSON).

## RESUMO

Macrófitas aquáticas possuem uma vasta distribuição mundial podendo ser encontradas em quase todas as regiões biogeográficas do planeta. A *Typha domingensis* (Taboa), macrófita aquática com grande potencial de proliferação e crescimento, pode produzir até 7 toneladas de rizomas por hectare, tornando essa espécie um potencial substrato lignocelulósico para a produção de biogás por digestão anaeróbia. Para favorecer a digestão anaeróbia, torna-se interessante a utilização de pré-tratamentos químicos de modo a quebrar a lignocelulose e aumentar o volume de metano produzido. No entanto, a dificuldade em determinar parâmetros ótimos de operação, como a concentração e o tempo de contato entre solução e substrato, limitam a aplicação desses pré-tratamentos em escala industrial. Neste estudo foi analisado o pré-tratamento alcalino (NaOH) e ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) da Taboa em concentrações variando de 1% - 10% (m/v) com tempos de contato variando entre 1 h e 12 h, baseando-se nos resultados obtidos com o potencial bioquímico de metano (PBM). Foi avaliado o PBM das macrófitas sem pré-tratamento químico (MSPQ) e pré-tratadas (MP) em ensaios cinéticos em batelada, com frascos de 125 ml e relação inóculo substrato de 3:1. As condições ótimas de pré-tratamento foram estimadas por modelagem estatística empírica, e o modelo gerado foi validado a partir da comparação dos valores preditos com os resultados dos ensaios apresentando ajuste adequado com erro médio percentual de 0,825%. O PBM da MSPQ foi de 228 (±1,8) LN CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, e dos pré-tratamentos explorados, aqueles utilizando NaOH apresentaram os melhores PBMs, excedendo em mais de 30% do valor sem tratamento químico. Nesses ensaios, a condição operacional ótima foi utilizando 7,7% de NaOH, na qual o tempo de contato não apresentou significância estatística. Apesar dos resultados obtidos torna-se necessário a avaliação econômica do uso da *Typha domingensis* e seu processamento para o seu uso como substrato lignocelulósico.

**Palavras-chave:** biogás; batelada; lignocelulósico; químico.

## ABSTRACT

Aquatic macrophytes have a large worldwide distribution and can be found in most of the biogeographic regions of the planet. *Typha domingensis*, an aquatic macrophyte with great potential for proliferation and growth, can produce up to 7 tons of rhizomes per hectare, making this species a potential lignocellulosic substrate for biogas production by anaerobic digestion. To improve the anaerobic digestion, it becomes advantageous to apply chemical pre-treatments to break the lignocellulose structure and increase the volume of methane produced. However, the difficulty in the determination of optimal parameters of operation, such as concentration and exposure time between solution and substrate, limit the application of these pre-treatments on an industrial scale. In this study, the alkaline (NaOH) and acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pre-treatments of *Typha domingensis* at concentrations ranging from 1% - 10% (w/v) and exposure time between 1 h to 12 h was analyzed based on the results obtained with the biochemical methane potential (BMP). The BMP of the macrophytes without chemical pretreatment (MSPQ) and pretreated (MP) was evaluated in batch kinetic tests using 125 ml bottles and inoculum-substrate ratio of 3:1. The optimal pretreatment conditions were estimated by empirical statistical modelling, and the generated model was validated by the comparison of the predicted values with experimentation results, presenting an adequate fit with a percentage error of 0.825%. The BMP of MSPQ was 228 ( $\pm 1.8$ ) LN CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, and of the pre-treatments explored in this study, those using NaOH presented the best BMP, exceeding by more than 30% the values without chemical treatment. In these tests, the optimal operational condition was using 7.7% of NaOH, in which the contact time did not show statistical significance. Despite the results obtained it becomes necessary the economic evaluation of the use of *Typha domingensis* and its processing to verify its potential use as lignocellulosic substrate.

**Keywords:** biogas; batch; lignocellulosic; chemical.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Componentes estruturais da biomassa lignocelulósica.....	16
Figura 2 - Fórmula estrutural da celulose .....	16
Figura 3 - Principais estruturas químicas da hemicelulose .....	17
Figura 4 - Estrutura química da lignina.....	18
Figura 5 - Principais monômeros da lignina .....	18
Figura 6 - Cinco grupos de macrófitas aquáticas .....	20
Figura 7 - Representação gráfica <i>Typha domingensis</i> .....	22
Figura 8 - Efeito do pré-tratamento sobre a biomassa lignocelulósica .....	23
Figura 9 - Diagrama genérico das etapas da digestão anaeróbia .....	27
Figura 10 - Ponto de coleta das macrófitas .....	33
Figura 11 - Localização do município de Serranópolis do Iguaçu .....	34
Figura 12 - Representação das etapas da coleta ao armazenamento da macrófita ..	35
Figura 13 - Etapas para execução do pré-tratamento químico das macrófitas .....	38
Figura 14 - Etapas para a realização do teste de PBM .....	39
Figura 15 - Produção acumulada de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com NaOH.....	48
Figura 16 - Produção diária de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com NaOH .....	49
Figura 17 - Produção acumulada de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	50
Figura 18 - Produção diária de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	51
Figura 19 - a) Superfície de resposta; b) Gráfico de contorno para produção de metano para o pré-tratamento com NaOH .....	54
Figura 20 - Produção acumulada de biogás em função do tempo com macrófita pré-tratadas com NaOH no teste de validação .....	55



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporções de concentração e tempo para cada ensaio .....	37
Tabela 2 - Níveis de codificação das variáveis trabalhadas .....	40
Tabela 3 - Matriz completa do DCCR.....	41
Tabela 4 - Caracterização da macrófita utilizada .....	43
Tabela 5 - Produção e teor de metano para os ensaios realizados .....	45
Tabela 6 - Efeitos dos pré-tratamentos utilizados para a macrófita.....	51
Tabela 7 - ANOVA dos pré- tratamentos.....	52
Tabela 8 - Coeficientes de regressão do modelo para pré-tatamento com NaOH ....	53

## LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Metodologias para caracterização das amostras .....	36
--	----

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
2.1	BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA .....	15
2.1.1	Celulose .....	16
2.1.2	Hemicelulose .....	17
2.1.3	Lignina .....	17
2.2	MACRÓFITAS AQUÁTICAS .....	19
2.2.1	Características das Macrófitas .....	19
2.2.2	Relevância Ambiental e Antrópica .....	20
2.2.3	Distribuição e Seleção das Macrófitas .....	21
2.3	PRÉ-TRATAMENTOS .....	22
2.3.1	Pré-tratamento Biológico .....	23
2.3.2	Pré-tratamento Físico .....	24
2.3.3	Pré-tratamento Químico .....	25
2.4	DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	26
2.4.1	Hidrólise .....	27
2.4.2	Acidogênese .....	28
2.4.3	Acetogênese .....	29
2.4.4	Metanogênese .....	30
2.4.5	Produção de Metano com Macrófitas .....	30
<b>3</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>32</b>
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL E SUBSTRATO .....	33
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO .....	35
4.3	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA .....	36
4.4	PRÉ-TRATAMENTOS .....	36
4.5	POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO .....	38
4.6	DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	40
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>43</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO .....	43
5.2	ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METANO .....	44

5.3	DIGESTÃO ANAERÓBIA DOS PRÉ-TRATAMENTOS.....	47
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	51
5.4.1	Análise dos Efeitos e Significância das Variáveis Independentes .....	51
5.4.2	ANOVA.....	52
5.4.3	Modelo Matemático e Validação.....	53
5.5	ANÁLISE DE CUSTO PRELIMINAR PARA PRÉ-TRATAMENTO COM NaOH	55
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>57</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento de pesquisas que buscam alternativas ao uso dos combustíveis fósseis tem se tornado cada vez mais recorrente, principalmente pelos estudos voltados à utilização de diferentes tipos de biomassa com intuito de alcançar um aproveitamento energético desse material. Uma possível alternativa consiste na degradação da biomassa, por digestão anaeróbia (DA). A DA é um processo bioquímico que pode ser utilizado como um tratamento de diferentes substratos orgânicos. Nela microrganismos degradam e estabilizam a maior parcela da carga orgânica do substrato e a convertem, basicamente, em biofertilizante e biogás. O biogás, é um composto gasoso formado, majoritariamente, por metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), e, posteriormente, pode ser convertido em energia por meio da combustão direta ou após um processo de purificação.

Em relação aos substratos disponíveis, muitos estudos têm mostrado a viabilidade quanto à produção de biogás a partir do uso de plantas *in natura*. No entanto, uma característica estrutural inerente aos vegetais é a lignocelulose (substância que confere rigidez às plantas) que acaba dificultando o processo de DA, reduzindo o potencial de produção de biogás. Ainda assim, estudos com esse tipo de substrato ressaltam o interesse de tornar ativo econômico o que antes era visto como passivo ambiental.

Entre as diversas plantas disponíveis para produção de biogás pode-se citar as macrófitas. Entre as razões para se trabalhar com macrófitas está o fato de apresentarem ampla faixa de distribuição mundial, além de elevado potencial de proliferação e crescimento, o que permite que muitas espécies apresentem efeitos deletérios que acabam corroborando em processos de eutrofização de rios ou lagos. Um exemplo de macrófita é a *Typha domingensis* (Taboa), considerada por muitos uma espécie invasora por dificultar o estabelecimento de espécies nativas. A taboa é facilmente encontrada em regiões tropicais e temperadas quentes em lagos, represas ou regiões pantanosas e pode produzir até 7 mil quilogramas de rizomas por hectare o que suscitabiliza sua utilização como substrato.

O problema para a utilização desse substrato, além de grande parte dos organismos vegetais, é a composição lignocelulósica que dificulta a DA por conta da recalcitrância da lignina. Uma maneira de amenizar essa problemática é a utilização

de pré-tratamentos visando uma maior produção de biogás e conseqüentemente metano.

Existem vários tipos de pré-tratamentos, tais como biológico, físico e químico. O pré-tratamento biológico faz uso de fungos, bactérias ou enzimas como agentes facilitadores na degradação do substrato da digestão anaeróbia. O pré-tratamento físico realiza modificações estruturais no substrato, sem comprometer sua composição bioquímica, um exemplo seria o aumento da superfície de contato do substrato, por meio da diminuição do tamanho de sua partícula. Por fim, um dos que apresenta maior utilização, seja em sinergia com outro, ou não, é o pré-tratamento químico que utiliza reagentes ácidos, alcalinos ou solventes orgânicos que alteram as características do substrato, quebram parte da lignina e potencializam a produção de biogás e metano.

Portanto, utilização de diferentes pré-tratamentos são de elevada importância na tentativa de melhorar o processo e garantir maior eficiência na conversão de biomassa lignocelulósica em biogás.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

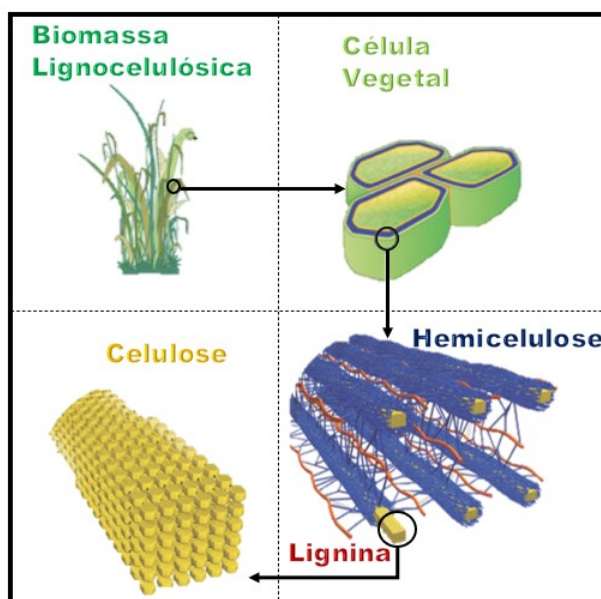
Em termos gerais, pode-se entender biomassa como uma matéria orgânica biodegradável que inclui produtos, subprodutos e resíduos gerados na silvicultura, atividades agrícolas e/ou pecuarista, além de frações orgânicas biodegradáveis de resíduos sólidos (SABA et al., 2017). A biomassa lignocelulósica ou, simplesmente, lignocelulose, por sua vez, é o material biorrenovável mais abundante da terra, sendo, em termos mais específicos, uma matriz complexa composta, principalmente, de polissacarídeos, polímeros fenólicos e proteínas que constituem a parte essencial da parede celular das plantas (YOUSUF et al., 2020).

A produção anual de biomassa lignocelulósica é de cerca de 180 milhões de toneladas, envolvendo agricultura e outras fontes, com uma correspondência de 50% da biomassa total existente no planeta, sendo, no entanto, subvalorizada, comumente descartada ou submetida aos métodos convencionais de gestão de resíduos, como compostagem ou aterro mesmo apresentando potencial para produção de biogás (KUMAR et al., 2008; HALDAR; PURKAIT, 2020; SABA et al., 2017; PAUL; DUTTA, 2018).

O subsequente potencial para produção de metano da biomassa lignocelulósica pode ser observado através da digestão anaeróbia, no entanto a complexidade estrutural desse substrato pode inibir o processo. Esta biomassa é constituída por uma estrutura rígida composta basicamente por três componentes principais: celulose (40 – 50%); hemicelulose (20 – 30%); e lignina (10 – 25%). No entanto essa composição varia conforme o tipo de biomassa lignocelulósica utilizada (SAWATDEENARUNAT et al., 2015; SINGHVI; GOKHALE, 2019, YOUSUF et al., 2020).

Na maioria dos casos, a celulose e a hemicelulose constituem cerca de dois terços da lignocelulose e são a principal fonte de açúcares fermentáveis, enquanto a lignina é desprovida de açúcar (SINGH et al., 2021). Uma representação dos constituintes estruturais da biomassa lignocelulósica seguem expressos na Figura 1.

Figura 1 - Componentes estruturais da biomassa lignocelulósica

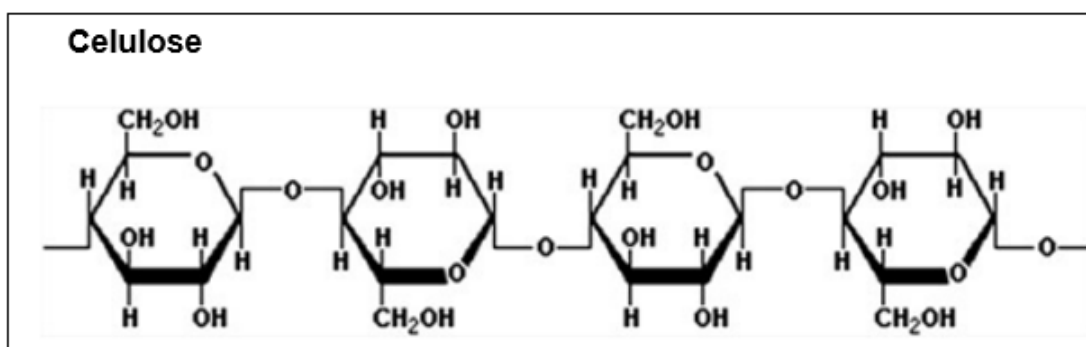


Fonte: Adaptado de Santos et al. (2012).

### 2.1.1 Celulose

A celulose é heterogênea e compreende várias regiões amorfas (desorganizadas) e cristalinas (organizadas), onde a maior porção de celulose da biomassa encontra-se na parte cristalina, parcela que apresenta a maior dificuldade de degradação (HIMMEL et al, 2010; BAJPAI, 2016; KOUPAIE et al., 2019). A estrutura química da celulose representada pela fórmula  $(C_6H_{12}O_6)_n$  é constituída por uma cadeia linear de moléculas de D-glicose com ligações  $\beta$ -(1-4) glicosídicas (MOOD et al., 2013), como exemplificado na Figura 2.

Figura 2 - Fórmula estrutural da celulose



Fonte: Adaptado de Bajpai (2016).

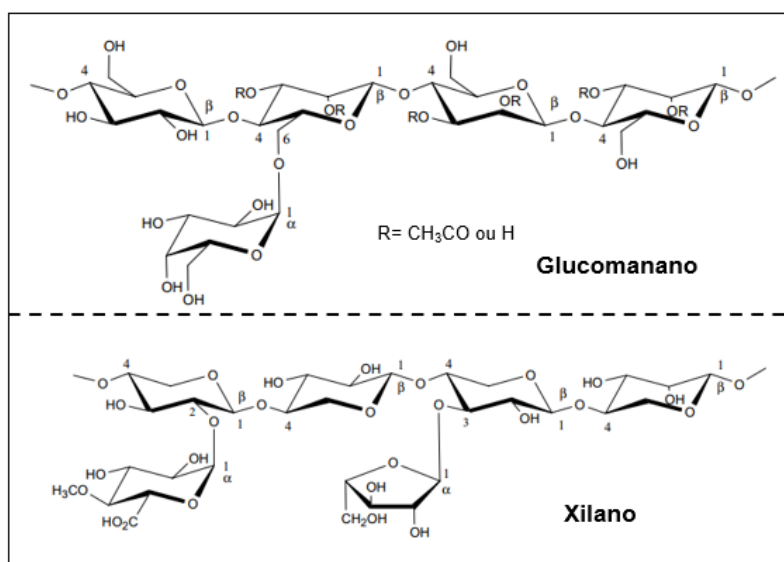


### 2.1.2 Hemicelulose

A estrutura da hemicelulose apresenta semelhanças quando comparada à celulose, apesar de ter uma maior variabilidade de açúcares, trata-se de um heteropolímero ramificado que compreende diferentes hexoses (glicose, galactose e manose), pentoses (xilose e arabinose) e ácidos de açúcar. Possui uma estrutura amorfa aleatória com pouca resistência mecânica relativamente fácil de hidrolisar (CANN et al., 2020).

Espécies de plantas coníferas tendem a apresentar como parte principal de hemicelulose o glucumano, já plantas folhosas e agrícolas o xilano, ambas as estruturas seguem representadas na Figura 3.

**Figura 3 - Principais estruturas químicas da hemicelulose**

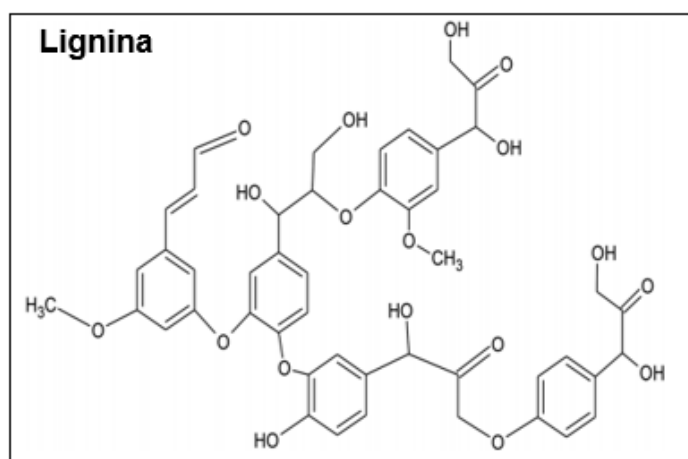


Fonte: Adaptado de Laine (2005).

### 2.1.3 Lignina

A lignina, por sua vez, é o maior componente não-carboidrato na biomassa lignocelulósica, fornece força e hidrofobicidade às paredes celulares da planta enquanto protege os polissacarídeos da degradação microbiana (VANHOLME et al., 2010). Sua estrutura química pode ser observada na Figura 4.

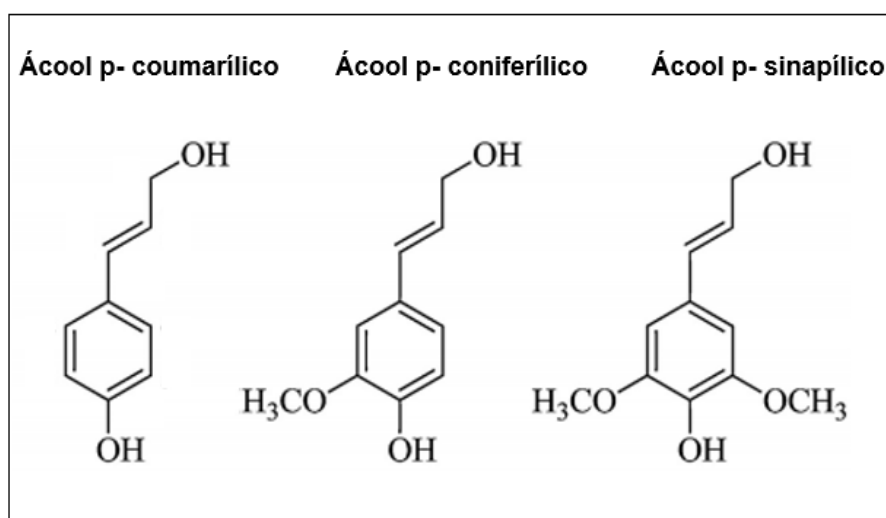
Figura 4 - Estrutura química da lignina



Fonte: Adaptado de Mahmood et al. (2018).

Estruturalmente a lignina é, basicamente, constituída por três monômeros fenilpropiônicos: álcool p-coumarílico (dominante em gramíneas e resíduos agrícolas), álcool coniferílico (dominante em coníferas) e álcool sinapílico (dominante em plantas folhosas) (Figura 5) que agem como uma cola e envolvem o núcleo de celulose e hemicelulose por meio de fortes ligações covalentes. A combinação destes três faz da lignina um polímero robusto de difícil degradação (BAJPAI, 2016; HIMMEL et al., 2010; TOOR et al., 2019).

Figura 5 - Principais monômeros da lignina



Fonte: Adaptado de Laurichesse e Avérous (2014).

Ao considerar a utilização da biomassa lignocelulósica para produção de metano, pode-se dizer que a lignina é uma das grandes desvantagens relacionadas

ao processo, por ter caráter recalcitrante, isto é, protege a celulose e a hemicelulose de ataques enzimáticos e microbianos (Taherzadeh & Karimi, 2008).

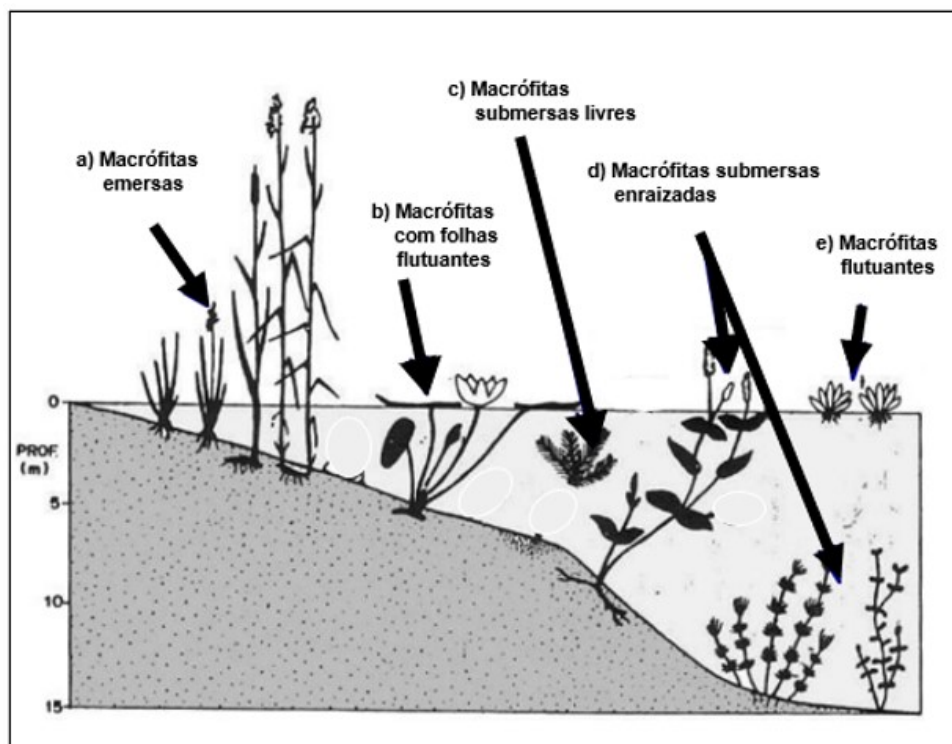
## 2.2 MACRÓFITAS AQUÁTICAS

As macrófitas aquáticas tendem a apresentar lignina em sua composição, sendo organismos fotossintéticos aquáticos macroscópicos que crescem de forma ativa, permanente ou periódica, e podem ser encontradas submersas, flutuando ou atravessando a superfície de água doce ou salobra (CHAMBERS et al., 2008). Os primeiros pesquisadores a fazerem menção ao termo macrófitas aquáticas, de acordo com Esteves (1988, p.102), foram Weaver e Clements (1938) que as definiram, sinteticamente, como plantas herbáceas que crescem na água, ou em solos cobertos ou saturados por esse elemento vital.

### 2.2.1 Características das Macrófitas

Acredita-se que as macrófitas aquáticas apresentam amplas faixas de distribuição mundial (MURPHY, 2019). Os principais fatores que influenciam na riqueza de espécies e na composição das macrófitas são a área, a altitude, a concentração de nutrientes na água, a luminosidade e as flutuações hidrológicas (ROLON et al., 2008; HEEGAARD et al., 2001; LACOUL; FREEDMAN, 2006; VAN GEEST et al., 2005). Segundo Esteves (1988), por apresentarem larga heterogeneidade filogenética e taxonômica em relação ao seu biótipo, as macrófitas aquáticas podem ser identificadas em 5 grupos ecológicos: a) macrófitas aquáticas emersas; b) com folhas flutuantes; c) submersas livres; d) submersas enraizadas; e) flutuantes, como segue ilustrado na Figura 6.

Figura 6 - Cinco grupos de macrófitas aquáticas



Legenda: a) Enraizadas com folhas que crescem para fora da água (Junco, Taboa); b) Enraizadas com folhas flutuando na superfície da água (Lírio d'água, Vitória-régia); c) Permanecem flutuando debaixo d'água (Utriculária); d) Enraizadas, crescem totalmente debaixo d'água (Elódea, Cabomba); e) Flutuam livremente na superfície da água (Alface d'água, Aguapé, Orelha-de-rato)

Fonte: Adaptado de UFSCar (2020).

### 2.2.2 Relevância Ambiental e Antrópica

As macrófitas podem desempenhar várias funções, influenciando desde as características hidrológicas de um corpo d'água, reduzindo sua vazão, aumentando a sedimentação de partículas em suspensão (ROLLAND et al., 2015), e até servindo como base de alimento e abrigo para vários animais entre pássaros, mamíferos, répteis, peixes e alguns outros invertebrados (WOOD et al., 2016).

No entanto, existem casos em que essas plantas podem provocar efeitos deletérios de ordem econômica, estética e ecológica, por sua proliferação exagerada, o que dificulta a navegação, pesca, promove a depleção de oxigênio dissolvido, além de muitos outros efeitos negativos, como o que ocorre no lago Biwa, situado no centro da ilha de Honshu, dentro do arquipélago japonês, o que tem levado o governo

japonês a instauração de medidas de controle a mais de uma década (POMPÊO, 2017; ISHIKAWA et al., 2020).

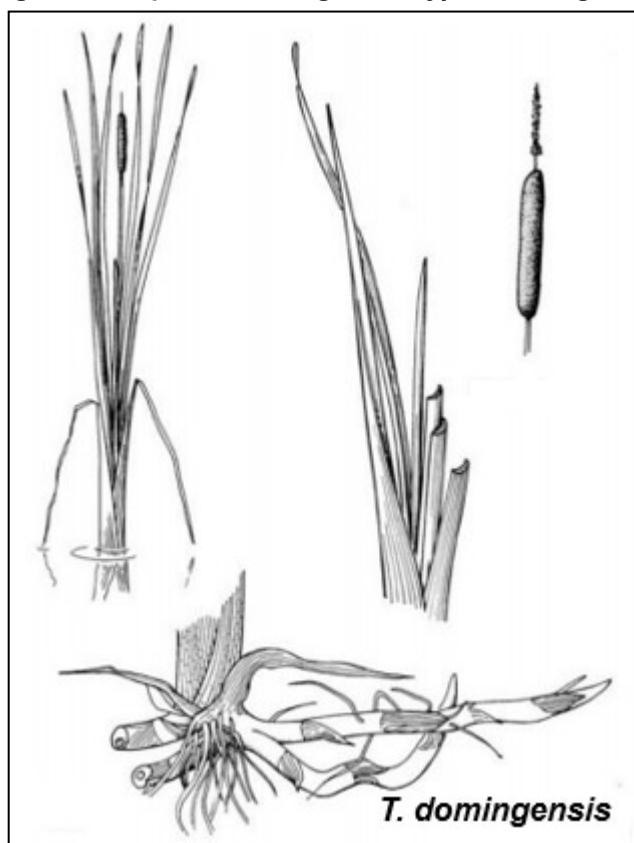
Em contrapartida, é válido mencionar as variadas utilidades antrópicas das macrófitas, com uso na produção de ração, fertilizante ou aditivos para o solo, para produção de papéis, possui fibras que podem ser utilizadas em atividades artesanais, ou construções e ainda como fonte de energia. Ultimamente, vem sendo utilizadas em processos de fitorremediação, tecnologia verde, de baixo custo, onde as plantas, auxiliam na remoção de algum elemento tóxico do solo ou da água, semelhante ao seu emprego em wetlands construídos no tratamento de águas residuárias (ROBSON, 1978; VIANA, 2020; AVELLÁN; GREMILLION, 2019).

### 2.2.3 Distribuição e Seleção das Macrófitas

Segundo Chambers et al. (2008) macrófitas aquáticas possuem uma vasta distribuição mundial e podem ser encontradas em quase todas as regiões biogeográficas do planeta, ocorrendo um endemismo de espécies em regiões tropicais, subtropicais e algumas regiões temperadas. Existem estudos que mostram 100 espécies endêmicas registradas em regiões que incluem o sul do Brasil, o Uruguai, o Paraguai e o norte da Argentina (IRGANG, GASTAL JR, 2003).

A planície de inundação do rio Paraná compreende um dos maiores sistemas úmidos da América do Sul. Nos ambientes de planície de inundação do Alto Rio Paraná tendem a ser encontradas espécies de macrófitas aquáticas de maior porte (maiores que 1 m), pertencentes ao grupo das emersas (MORANDEIRA; KANDUS, 2015; MONÇÃO et al., 2012). No que tange às macrófitas aquáticas emersas, a *Typha domingensis*, planta típica de regiões tropicais e temperadas quentes é encontrada em brejos, valas e locais pantanosos (EID et al., 2012). A representação desta macrófita pode ser visualizada na Figura 7.

Figura 7 - Representação gráfica *Typha domingensis*



Fonte: Adaptado de DAL PRÁ (2016).

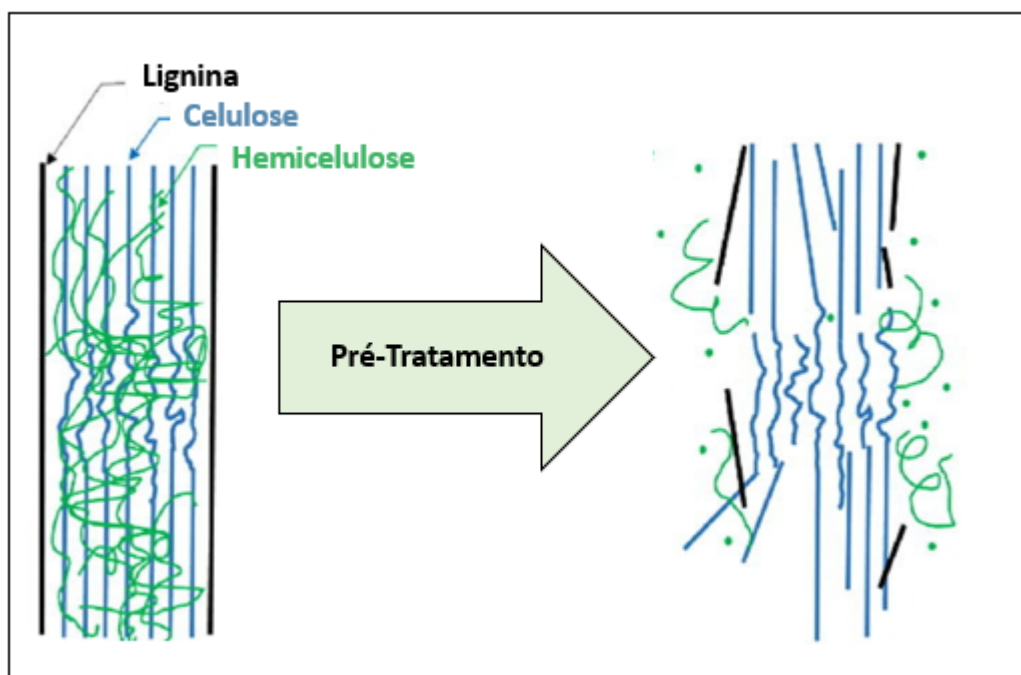
A *Typha domingensis*, possui grandes quantidades de tecidos de sustentação o que lhe confere elevado potencial para estocar carbono e nutrientes por longos períodos. A espécie apresenta uma ampla disponibilidade numa grande porção do Brasil com grande potencial de proliferação e crescimento, o que em alguns casos dificulta o crescimento de espécies nativas, chegando a produzir até 7 mil quilogramas de rizomas por hectare (FERREIRA, 1988; SATORELLI et al., 2018). Como a *Typha domingensis* tende a apresentar lignina em sua composição (NASCIMENTO et al., 2015), o interesse por usá-la como substrato na produção de biogás requer o estudo de pré-tratamentos adequados.

### 2.3 PRÉ-TRATAMENTOS

Segundo Singh et al. (2021), a conversão econômica da biomassa vegetal depende, principalmente, de uma tecnologia de pré-tratamento eficaz adequada para uma ampla gama de tipos de biomassa. Sabendo-se disso, faz-se necessário o pré-tratamento da matriz da biomassa lignocelulósica para diminuir a recalcitrância da

lignina, visto que essa estrutura apresenta resistência biológica, física e mecânica (SHENG et al., 2021; WOICIECHOWSKI et al., 2020). Dessa forma, os pré-tratamentos visam quebrar ou separar a lignina da celulose e da hemicelulose (SUN; CHENG, 2005), como pode ser visualizado na Figura 8.

**Figura 8 - Efeito do pré-tratamento sobre a biomassa lignocelulósica**



Fonte: Adaptado de Sheng et al. (2021).

Em geral, o pré-tratamento remove ou redistribui os componentes da parede celular da planta, interrompe a matriz carboidrato-lignina e, em última análise, aumenta a acessibilidade da celulose às enzimas (YOO et al., 2020). Existem vários tipos de pré-tratamentos, a seguir uma breve descrição de alguns dos principais.

### 2.3.1 Pré-tratamento Biológico

Os métodos de pré-tratamento biológico, visam decompor a hemicelulose e lignina por meio de fungos, bactérias e enzimas (KURCHARSKA et al., 2018). Este pré-tratamento, com microrganismos e/ou enzimas, requer menor consumo de energia em comparação ao pré-tratamento mecânico (item 2.3.2. Pré-Tratamento Físico) (VASCO-CORREA et al., 2016).

Fungos que são geralmente usados no método são *brown*, *white*, e *soft-rot fungi* (SÁNCHEZ, 2009), sendo o *white-rot fungi* um dos mais eficientes para a remoção de lignina em função de seu sistema lignolítico distinto (WAN; LI, 2012). Em todo o caso, em decorrência do consumo de celulose e hemicelulose nas reações metabólicas acabam ocorrendo perdas dessas componentes (ZHENG et al., 2014).

Julga-se a utilização de bactérias uma opção promissora para encurtar o tempo de tratamento visto que possuem uma rápida taxa de crescimento e alta atividade metabólica quando comparadas a fungos. Pode-se citar como exemplo o estudo realizado com *Cupriavidus basilensis* B-8 que removeu 41,5% de lignina após 7 dias de incubação (SANKARAN et al., 2019; SHI et al., 2017).

O tratamento enzimático envolve enzimas hidrolíticas e lignolíticas, havendo relatos de que a remoção de lignina da biomassa com a lignolítica é similar ao encontrado com o método fúngico (ZABED et al., 2019)

### 2.3.2 Pré-tratamento Físico

Este método de tratamento facilita o acesso à celulose sem comprometer a composição bioquímica da biomassa, por meio da alteração da superfície de contato (ALVIRA et al., 2010) e tende a ser realizado por vias mecânica e/ou térmica.

No pré-tratamento mecânico a superfície de contato da biomassa aumenta à medida que o tamanho das partículas diminui (LIU et al., 2020). Para tal fim, os métodos incluem moagem, trituração e picagem (ASLANZADEH, 2014).

No geral, estudos mostram que uma redução no tamanho das partículas produz um ganho de rendimento de metano, em contrapartida, a redução excessiva do tamanho da partícula pode resultar em superprodução de AGVs (Ácidos Graxos Voláteis) durante a DA, de modo a inibir a produção de metano. Outra desvantagem associada ao processo é a alta demanda de energia elétrica utilizada pelos equipamentos (DELL'OMO; SPENA, 2020; IZUMI et al., 2010), quando se pensa em escala real.

Em relação ao pré-tratamento térmico, a biomassa lignocelulósica é aquecida de forma que partes da biomassa começam a solubilizar: primeiro as hemiceluloses e, em seguida, a lignina. Durante os processos térmicos, uma parte da hemicelulose



é hidrolisada e forma ácidos. Supõe-se que esses ácidos catalisem a hidrólise posterior da hemicelulose (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

### 2.3.3 Pré-tratamento Químico

O processo de pré-tratamento químico é realizado com diferentes produtos químicos, tais como ácidos, bases ou ainda solventes orgânicos (PADILHA et al., 2019; ABRAHAM et al., 2020).

Os solventes orgânicos podem ser utilizados para separar a celulose da biomassa lignocelulósica sem causar sua degradação significativa. Um exemplo é a aplicação de líquidos iônicos, que são amplamente utilizados, para dissolução da biomassa e podem ser parcialmente recuperados após o processo de pré-tratamento. (ABRAHAM et al.2020; HALDAR; PURKAIT, 2020).

O pré-tratamento com ácido é uma técnica química eficaz usada para romper a matriz lignocelulósica por clivagem das ligações glicosídicas. Este processo solubiliza principalmente a porção hemicelulósica da biomassa, além de parte da lignina, tornando a celulose mais acessível para posterior ataque enzimático (MAURYA et al., 2015; SAHOO et al., 2018). O pré-tratamento ácido pode ser aplicado à biomassa lignocelulósica geralmente utilizando ácidos diluídos submetidos a um aquecimento prévio, ou ácidos concentrados para obter altos rendimentos de recuperação de açúcar e não requer uma etapa de hidrólise enzimática. O processo consiste em primeiro hidrolisar a hemicelulose em seus açúcares monoméricos e, em seguida, a celulose é despolimerizada em celo-oligossacarídeos, com posterior liberação de açúcares monoméricos (SOLARTE-TORO et al., 2019). As principais desvantagens desses métodos de pré-tratamento são o alto custo de recuperação de ácido, a necessidade de equipamentos resistentes à corrosão e a formação de compostos inibidores, além do custo energético para garantir o aquecimento da solução (WOICIECHOWSKI et al., 2020).

Em relação ao pré-tratamento alcalino, ocorrem inicialmente as reações de solvatação e saponificação, o que provoca inchaço da biomassa e a torna mais acessível para enzimas e bactérias. Em concentrações alcalinas fortes, polissacarídeos dissolvidos podem ser degradados e decompostos, além da ocorrência de solubilização e hidrólise alcalina (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Este

pré-tratamento, também se mostra eficiente na solubilização da lignina e parte da hemicelulose e na redução da cristalinidade da celulose. É o método de pré-tratamento de biomassa mais tradicional, usado no processamento de celulose e papel (WOICIECHOWSKI et al., 2020). As principais bases utilizadas no método são o hidróxido de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) e o hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ). Por mais que o  $\text{Ca(OH)}_2$  seja a mais utilizada nesse tipo de pré-tratamento por seu baixo custo e fácil manipulação, o  $\text{NaOH}$  tende a apresentar efeitos mais significativos na degradação de biomassas lignocelulósicas com teores de lignina até 18% (ZHANG et al., 2012).

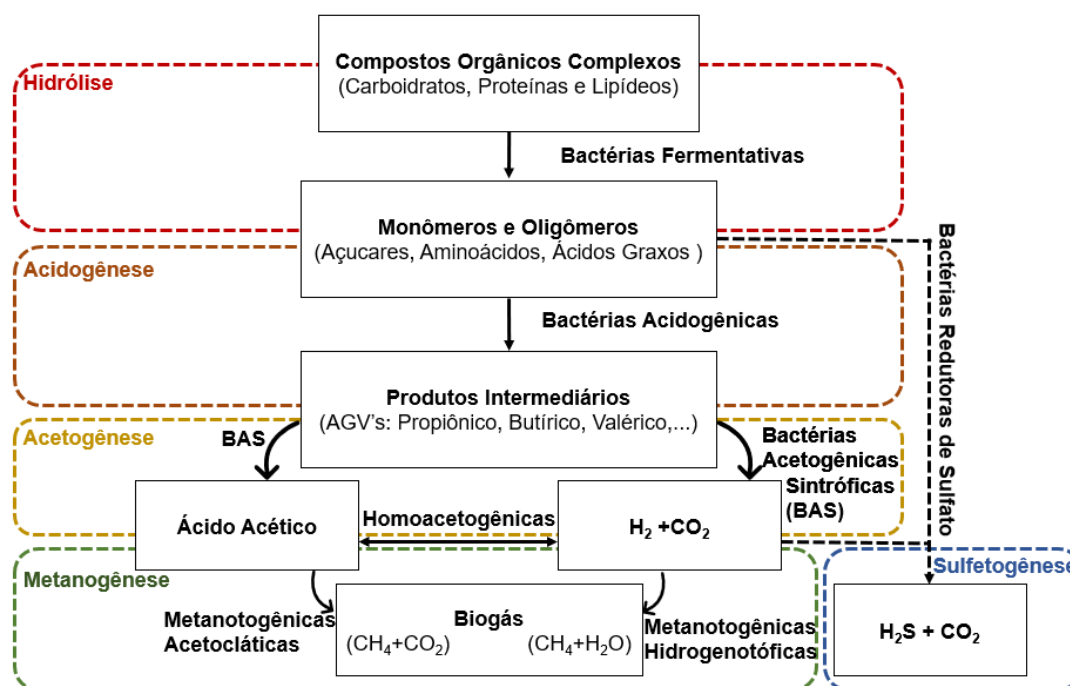
De maneira geral, quando se trata da utilização de biomassa lignocelulósica para a produção de biogás, a aplicação dos pré-tratamentos tende a ter grande relevância no processo de DA.

## 2.4 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A DA é o processo com menor consumo de energia entre todas as tecnologias de produção de bioenergia. No processo ocorre a degradação e estabilização da matéria orgânica na ausência de oxigênio dissolvido (HAMAWAND, 2015; RAPOSO et al., 2012). Por meio da DA é obtido o biogás composto, principalmente, por metano ( $\text{CH}_4$ ), 55-70%, e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), 30-45%. O biogás é fruto da conversão de parte da carga orgânica por microrganismos com inter-relação sintrófica parcial que atuam juntamente com fatores como pH, temperatura, teor de umidade, tipo de substrato, entre outros, fatores estes que influenciam em sua composição (VASCO-CORREA et al., 2018; DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011; KARLSSON et al., 2014).

O processo de formação de  $\text{CH}_4$  na DA é segmentado, essencialmente, em quatro etapas: Hidrólise; Acidogênese; Acetogênese e Metanogênese (ADEKUNLE; OKOLIE, 2015). Os principais produtos gerados em cada fase e os respectivos microrganismos relacionados a estas, podem ser observados na Figura 9.

Figura 9 - Diagrama genérico das etapas da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Suárez (2014)

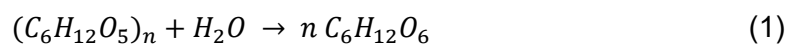
No lado inferior direito da Figura 9 (em azul) é possível visualizar um caso à parte, a sulfetogênese. Essa etapa ocorre quando houver sulfato, sulfito ou compostos sulfurados, no substrato. Esses compostos são reduzidos a sulfeto por meio da ação de bactérias redutoras de sulfato (ou bactérias sulforredutoras) que podem oxidar o substrato de forma incompleta à sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (CHERNICHARO, 2007). Na ausência de sulfato, condição encontrada quando se trabalha com biomassa lignocelulósica, a sulfetogênese pode ser desconsiderada. A seguir, é apresentada uma breve abordagem das 4 etapas principais da DA.

#### 2.4.1 Hidrólise

Nesta primeira etapa, os compostos orgânicos complexos (polímeros) são degradados em moléculas menores (monômeros e oligômeros). Tal conversão é obtida por intermédio de enzimas excretadas por bactérias hidrolíticas fermentativas (CHERNICHARO, 2007).

Dessa maneira carboidratos, sob efeito de várias enzimas (Celulase, Celobiase, Xilanase e Amilase) são convertidos a monossacarídeos. As proteínas, mediante a ação da Protease, são convertidas em aminoácidos. E os lipídeos, por

intermédio da Lipase, são convertidos em glicerina e ácidos graxos, (SEADI et al., 2008). Um exemplo de reação para esta fase é hidrólise da celulose que pode ser representada simplificada pela Equação (1).

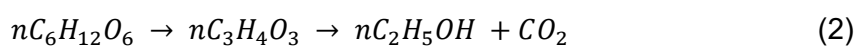


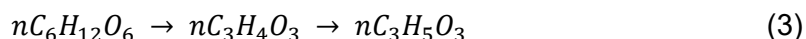
A produção de metano a partir de material lignocelulósico está diretamente relacionada ao pré-tratamento e a hidrólise anaeróbica (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). A fase tem grande importância na determinação da velocidade do processo de digestão anaeróbia, por essa razão é considerada limitante. Essa velocidade varia conforme a complexidade do substrato trabalhado, sendo válido ressaltar que ao se trabalhar com biomassa lignocelulósica, de maneira geral, a degradação tende a ser mais lenta (KUNZ et al., 2019).

#### 2.4.2 Acidogênese

Na sequência, os compostos orgânicos simples produzidos na hidrólise são convertidos, por bactérias facultativas e anaeróbias, a produtos intermediários como ácidos orgânicos de cadeia curta, ácidos graxos voláteis (AGV's), ácido láctico, acetato (ácido acético), álcoois, óxido de nitrogênio, sulfeto de hidrogênio, hidrogênio, dióxido de carbono, amônia, entre outros. Os organismos que fazem tais conversões, ainda que possam seguir por diferentes vias durante a fase, de maneira geral, são denominados de bactérias fermentativas acidogênicas (CHERNICHARO, 2007; KUNZ et al., 2019; KANDYLIS et al., 2016; SUÁREZ, 2014).

Para exemplificar um dos processos de degradação na acidogênese, é possível observar como a glicose ( $nC_6H_{12}O_6$ ) é degradada em ácido pirúvico ( $nC_3H_4O_3$ ) e, posteriormente, convertido em etanol ( $nC_2H_5OH$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ), Equação (2), por ação de leveduras. Mas quando sob efeito da ação das bactérias *Lactobacillales*, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico ( $nC_3H_5O_3$ ), Equação (3) (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011).





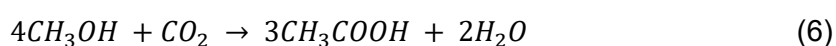
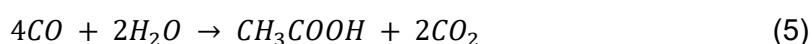
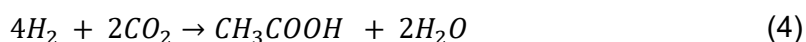
É importante mencionar que essa é considerada a fase mais rápida do processo de DA, porém na ocorrência excessiva de ácidos orgânicos, o pH e, conseqüentemente, a alcalinidade tendem a diminuir o que pode levar a falha do processo (HORAN et al., 2018).

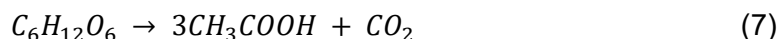
### 2.4.3 Acetogênese

Nem todos os produtos intermediários da fase anterior podem ser convertidos diretamente em metano, sendo assim, as responsáveis por oxidar AGV's e álcoois em substratos que posteriormente serão apropriados para as *arqueas* metanogênicas, são as bactérias acetogênicas sintróficas (SEADI et al., 2008; CHERNICHARO, 2007).

O produto da conversão feita por essas bactérias são: ácido acético ( $CH_3COOH$ ), hidrogênio ( $H_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Destes, apenas hidrogênio e ácido acético podem ser utilizados diretamente pelas metanogênicas. Existe ainda, relação de simbiose entre as acetogênicas e as bactérias homoacetogênicas que consomem  $H_2$  e  $CO_2$  para produção de ácido acético (SUÁREZ, 2014; DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011).

Segundo Horan et al. (2018) a maior fração de ácido acético provém de  $H_2$  e  $CO_2$ , Equação (4), mas também pode ser formado com base em água ( $H_2O$ ) e monóxido de carbono ( $CO$ ), Equação (5), a partir de metanol ( $CH_3OH$ ) e  $CO_2$ , Equação (6), em alguns casos açúcares de seis carbonos ou hexoses, Equação (7). Hidrogênio também pode ser produzido a partir da decomposição de ácidos graxos de cadeia longa ou curta Equação (8).

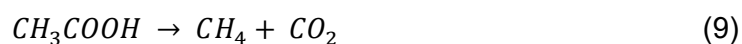




#### 2.4.4 Metanogênese

A última etapa da DA que envolve a degradação anaeróbia de compostos orgânicos em metano, dióxido de carbono e água, é efetuada por dois tipos de arqueas metanogênicas as que formam metano a partir de ácido acético ou metanol (metanogênicas acetoclásticas) e as que produzem utilizando hidrogênio e dióxido de carbono (metanogênicas hidrogenotróficas) (CHERNICHARO, 2007).

No entanto existe uma disparidade em termos percentuais de produção de metano para esses 2 grupos. O percentual de metano formado fruto da conversão realizada pelas metanogênicas acetoclásticas é em torno de 70-75%, Equação (9), os 25-30% restantes advém das metanogênicas hidrogenotróficas, Equação (10) (HORAN et al., 2018).



Esta fase sofre grande influência de alterações externas e internas ao processo, sendo que variações do meio podem inibir o processo. Alguns dos fatores preponderantes para a metanogênese são: temperatura, onde recomenda-se trabalhar em faixa mesofílica (32 a 42 °C), ou termofílica (50 a 58 °C); pH dentro dos parâmetros de 6,7 a 7,5; relação C/N na faixa de 20 a 30 entre outros fatores (SEADI et al., 2008; DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011).

#### 2.4.5 Produção de Metano com Macrófitas

Mediante a estrutura recalcitrante da lignocelulose e a relevância da aplicação de um pré-tratamento para melhorar a DA, pode-se entender que, dessa maneira, mais metano pode ser gerado (XU et al., 2021). No entanto, um outro quesito que

ainda necessita de um maior levantamento de dados é o potencial de produção de metano em função da espécie de macrófita utilizada. Estudos realizados relatam o rendimento de produção de metano, de diferentes espécies de macrófitas, dentro de uma faixa compreendida de 38 a 333 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup> (KOYAMA et al., 2014). Mesmo com a publicação de algumas pesquisas relacionadas com a produção de metano de macrófitas, ainda existem dúvidas para se conseguir conectar a experiência no gerenciamento de digestores anaeróbicos com a disponibilidade desse tipo de substrato (AVELLÁN; GREMILLION, 2019).

### 3 OBJETIVO GERAL

Avaliar o Potencial Bioquímico de Metano (PBM) com substrato a base de *Typha domingensis* submetido a pré-tratamentos químicos alcalino (NaOH) e ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar pré-tratamentos químicos nas macrófitas em diferentes concentrações dos reagentes e tempos de contato;
- Comparar a produção de metano com e sem pré-tratamentos, bem como os efeitos e a significância das variáveis nas amostras pré-tratadas;
- Encontrar as faixas ótimas de concentrações e tempo de contato para produção de metano com a macrófita pré-tratada para buscar um modelo matemático válido.
- Realizar uma análise de custo envolvendo o reagente do processo.



## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL E SUBSTRATO

As macrófitas foram coletadas no início de 2020, na região Oeste do Paraná. Na localidade, aproximadamente, 11% da cobertura vegetal original é composta por 22% de Floresta Araucária ou Floresta Ombrófila Mista e 78% de Floresta Estacional Semidecidual.

A coleta foi realizada em uma área alagada natural, situada no interior de uma propriedade rural (Figura 10) próxima ao município de Serranópolis do Iguaçu- PR (Figura 11).

**Figura 10 - Ponto de coleta das macrófitas**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

**Figura 11 - Localização do município de Serranópolis do Iguaçu**



**Fonte: Google Earth, 2021.**

Após a coleta, foi realizada uma preparação na qual as macrófitas foram cortadas (manualmente) e levadas para secar em estufa com circulação de ar, em torno de 50 °C permanecendo por 12 horas, a fim de garantir um teor de umidade inferior a 10%. Foram realizadas análise de sólidos antes e depois do processo de secagem.

Na sequência, com o auxílio de um moinho de facas (Solab – SL 31), foi realizada uma trituração do material até uma dimensão aproximada de 2 mm e a armazenado em sacos plásticos sob vácuo. Estas embalagens foram mantidas sob refrigeração ( $\pm 4$  °C) por cerca de 7 dias, até a utilização nos pré-tratamentos químicos e na incubação. As etapas desta primeira fase podem ser visualizadas no fluxograma da Figura 12.

Figura 12 - Representação das etapas da coleta ao armazenamento da macrófita



Fonte: Autoria própria (2021).

A identificação da espécie de macrófita utilizada foi realizada pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia - Herbário Virtual da Flora e dos Fungos (INCT-HVFF), sendo diagnosticada como *Typha domingensis*, conhecida popularmente como taboa.

#### 4.2 CARACTERIZAÇÃO DO INÓCULO

O inóculo utilizado foi cedido por uma unidade de demonstração mesofílica do Centro Internacional de Energias Renováveis e Biogás (CiBiogás) composto por dois tipos de digestatos, oriundos de reatores anaeróbios que recebem dejetos suíno e bovino. Ambos os digestatos também foram coletados na região Oeste do Paraná e misturados na proporção 1:1 (v/v%).

Com intuito de aclimatar, isto é, manter ativos e adaptados os microrganismos presentes no inóculo, este foi mantido a  $37 \pm 1$  °C em um reator anaeróbio, com agitação constante de 60 rpm e alimentação semanal de uma mistura de substratos orgânicos (leite em pó, 25%, grama seca, 25%, farinha de milho, 20%, óleo vegetal, 20%, proteína de soja, 10%) com  $0,5 \text{ kgSV m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  de carga orgânica volumétrica (COV).

### 4.3 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

As metodologias utilizadas para caracterizar as amostras foram extraídas das referências apresentadas no Quadro 1.

**Quadro 1 – Referências metodológicas para caracterização das amostras**

Parâmetro	Referência
Sólidos Totais (ST)	APHA (2005) - 2540B
Sólidos Voláteis (SV)	APHA (2005) - 2540E
Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)	Malavolta (1989)
Teor de Proteína	FAO (1973)
Teor de Lipídeo	Cecchi (1999)
Teores de Lignina, Celulose e Hemicelulose	Van Soest et al. (1991)

Fonte: Autoria própria (2021).

Em relação à posterior determinação da composição do biogás e, conseqüentemente, do teor de metano nas amostras de biogás, foi realizada cromatografia gasosa (Clarus 680, Perkin Elmer) com um detector de condutividade térmica e coluna Plot Q com comprimento de 30 m e diâmetro interno de 0,32 mm. Gás hélio foi utilizado como gás de arraste com uma vazão de 30 mL min<sup>-1</sup>. A rampa de temperatura do forno foi programada para aumentar de 32 a 200 °C com taxa de 10 °C min<sup>-1</sup> e tempo de espera final de 2 minutos (EDWIGES, 2017).

### 4.4 PRÉ-TRATAMENTOS

Foram realizados 2 tipos de pré-tratamentos (alcalino e ácido) com a macrófita armazenada, em busca de tornar possível a comparação entre o efeito de cada pré-tratamento. A macrófita sem pré-tratamento químico (MSPQ) foi misturada em soluções com concentrações que variaram de 1% a 10% (m/v) (0,13 a 1,3 mol L<sup>-1</sup>) de NaOH (98% P.A. Dinâmica) (para o pré-tratamento alcalino) e mesmo intervalo de variação (0,05 a 0,52 mol L<sup>-1</sup>) para o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98% P.A. Dinâmica) (pré-tratamento ácido). O tempo de contato, entre o material de estudo e as soluções, também variou de 1 a 12 horas para ambos os pré-tratamentos. A faixa de valores adotadas tiveram embasamento em estudos prévios (SIDDHU et al., 2016; EDWIGES et al., 2019;

BASTOS, 2020; REMOR, 2020). Na Tabela 1 é possível visualizar precisamente a concentração e o respectivo tempo utilizado para cada ensaio. Para elaborar a matriz de ensaios foi utilizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).

**Tabela 1 - Proporções de concentração e tempo para cada ensaio**

Ensaio	Concentração da solução (%)	Tempo de contato (h)
1	8,7	10,4
2	2,3	10,4
3	8,7	2,6
4	2,3	2,6
5	5,5	6,5
6	5,5	6,5
7	5,5	6,5
8	10	6,5
9	1	6,5
10	5,5	12
11	5,5	1

Fonte: Autoria própria (2021).

Em um primeiro momento, trabalhou-se com o substrato e as soluções a temperatura ambiente em torno de  $23 \pm 2$  °C. As misturas foram preparadas em béqueres abertos de 1 L, constituída de 450 mL de solução e 53,2 g de MSPQ, com o objetivo de manter o teor de sólidos totais (ST) da mistura em 10% (SHEN et al., 2013). Essa relação pode ser observada na Equação (11).

$$ST_m = \frac{M_s * ST_s}{M_s + Sol} \quad (11)$$

Onde:

$ST_m$ : teor de sólidos totais da mistura (adotou-se 10%);

$ST_s$ : teor de sólidos totais do substrato (%);

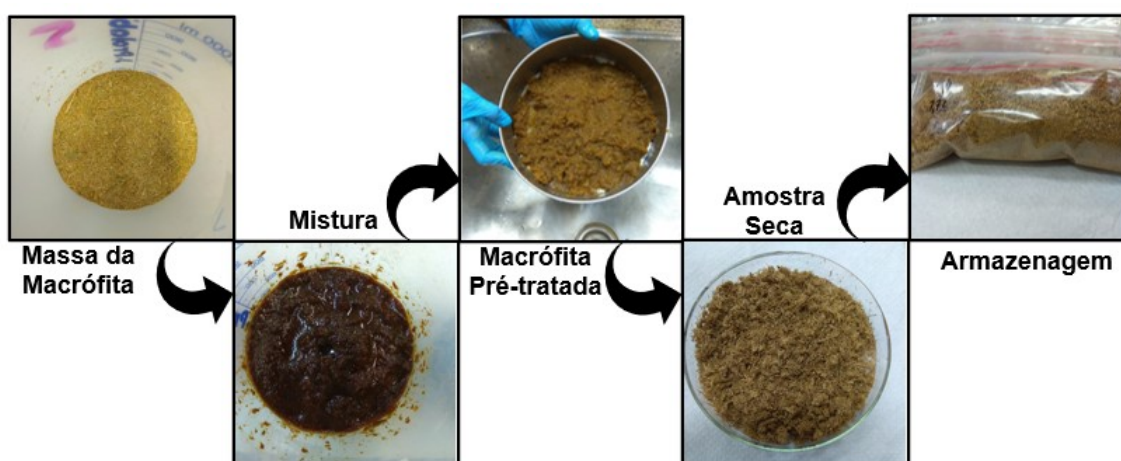
$M_s$ : massa de substrato (g);

$Sol$ : massa da solução (g).

No momento da mistura, com o objetivo de torná-la mais homogênea, buscou-se revolver a mesma com o auxílio de um bastão de vidro. Terminado o tempo de contato predefinido, a mistura foi peneirada e separou-se a fase sólida (macrófita pré-tratada) da líquida (licor negro) com o auxílio de uma peneira com abertura de malha de 1 mm. A macrófita pré-tratada (MP) foi lavada em água (pH 7,5) até alcançar pH próximo da mesma.

Na sequência, a MP de cada mistura, em suas respectivas concentrações, foi colocada em placas de petri, separadamente, e secas em estufa a 50°C por 24 horas, em busca da redução da heterogeneidade das amostras. Por fim, foi feita uma nova armazenagem da MP em embalagens plásticas sob vácuo que foram mantidos sob refrigeração ( $\pm 4$  °C) para evitar a proliferação de microrganismos que pudessem degradar a biomassa até que fossem realizados os ensaios de potencial bioquímico de metano. Na Figura 13, podem ser visualizadas, por meio do fluxograma, as etapas para os pré-tratamentos realizados.

**Figura 13 - Etapas para execução do pré-tratamento químico das macrófitas**



Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.5 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO

A determinação do Potencial Bioquímico de Metano (PBM) foi feita por meio de um processo de incubação, em que foram realizados testes (via batelada) em frascos de vidro de 125 mL. Foi utilizada uma fração de 50 mL do frasco para a mistura



de inóculo e substrato, na qual a mistura seguiu uma relação inóculo-substrato (RIS) de 3:1, a fim de garantir a completa degradação do substrato.

Foram incubadas amostras de MP, de MSPQ (como forma de controle), inóculo puro e celulose microcristalina (para atestar a atividade biológica do inóculo) (Holliger et al., 2016). Nos testes de ambos os pré-tratamentos foram realizadas triplicatas que totalizaram 75 frascos utilizados incorporando os demais parâmetros mencionados. Antes dos frascos serem lacrados, foi recirculado no *headspace*, de cada frasco, gás nitrogênio (N<sub>2</sub>), visando expulsar o oxigênio e garantir condições anaeróbias ao processo. Após a recirculação de N<sub>2</sub>, os frascos foram selados, com o auxílio de um alicate recravador e mantidos a uma temperatura mesofílica de  $37 \pm 1$  °C.

A medição do volume de biogás foi realizada por meio da coleta com seringas de vidro (Bico Metal ArtiGlass, 20 mL e 100 mL) e manômetro digital diferencial, registrando o volume (mL) expelido de cada frasco até que as pressões fossem igualadas. Esses dados foram registrados diariamente durante os 10 primeiros dias de análise e, posteriormente, até o 20º dia com intervalos de 1 dia (alternadamente) e por fim, os intervalos de medição passaram a ser a cada 2 dias, até que a produção de biogás fosse inferior a 1% do total acumulado. Na Figura 14 pode-se observar as etapas desde o preparo dos frascos até a medição do biogás.

**Figura 14 - Etapas para a realização do teste de PBM**



Fonte: Autoria própria (2021).

Para padronizar o volume quantificado foi realizada uma normalização nas condições padrão de temperatura e pressão (273,15 K e 101,22 kPa), apresentando-o em relação a massa de SV ( $L_N \text{ CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ ).

#### 4.6 DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na tentativa de viabilizar robustez e posterior confiabilidade nos resultados encontrados, o planejamento utilizado para configurar o experimento foi embasado no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), onde os fatores para avaliação foram a concentração dos reagentes e tempo (h) de contato destas com o substrato. A seleção dessas variáveis e dos níveis estudados tiveram por base alguns estudos prévios de pré-tratamentos com biomassa lignocelulósica, já mencionados no item 4.4 sendo que para cada pré-tratamento foi construído um DCCR, onde a variável resposta foi o volume de produção de metano ( $L_N \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ SV}$ ).

Para calcular o número de ensaios por experimento com o delineamento experimental em questão (DCCR), pode-se recorrer a Equação (12).

$$N = 2^k + 2k + n \quad (12)$$

Onde:

$N$ : quantidade de ensaios do experimento;

$2^k$ : quantidade de ensaios fatoriais;

$2k$ : quantidade de pontos axiais;

$n$ : quantidade de pontos centrais.

Dessa maneira, o modelo experimental trabalhado foi construído na ordem de  $2^2$  fatorial, com 3 pontos centrais e 4 pontos axiais, o que totalizaram 11 ensaios para cada pré-tratamento. Na Tabela 2 pode ser visualizado como foram dispostos os níveis de codificação dos valores trabalhados.

---

**Tabela 2 - Níveis de codificação das variáveis trabalhadas**

---



Níveis codificados	Concentração dos reagentes (%)	Tempo de contato (h)
1,41	10	12
1	8,7	10,4
0	5,5	6,5
-1	2,3	2,6
-1,41	1	1

Fonte: Autoria própria (2021).

É válido ressaltar que os valores extremos das concentrações (1 e 10%) e do tempo de contato (1 e 12 h) assumiram, respectivamente, os níveis de codificação referentes as condições máximas e mínimas dos pontos axiais (-1,41 e +1,41). A matriz completa do DCCR pode ser visualizada na Tabela 3.

**Tabela 3 - Matriz completa do DCCR**

Ensaio	Variáveis Codificadas		Variáveis Reais	
	Concentração (X <sub>1</sub> )	Tempo de contato (X <sub>2</sub> )	Concentração (%)	Tempo de contato (h)
E1	1	1	8,7	10,4
E2	-1	1	2,3	10,4
E3	1	-1	8,7	2,6
E4	-1	-1	2,3	2,6
E5	0	0	5,5	6,5
E6	0	0	5,5	6,5
E7	0	0	5,5	6,5
E8	1,41	0	10	6,5
E9	-1,41	0	1	6,5
E10	0	1,41	5,5	12
E11	0	-1,41	5,5	1

Fonte: Autoria própria (2021).

Os efeitos dos fatores avaliados (concentração e tempo), bem como a análise de variância (ANOVA) de cada pré-tratamento, foram obtidos com o auxílio do *software Statistica* (versão 10.3), com um intervalo de confiança de 95%. Além disso, foi realizado um teste F para analisar estatisticamente a probabilidade de se alcançar um modelo matemático válido com o experimento. Feito isso, recorreu-se novamente

ao *software* para encontrar os coeficientes de regressão do modelo e poder utilizá-los na representação do modelo matemático quadrático, expresso na Equação (13):

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_2 X_2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (13)$$

Onde  $y$  representa a variável dependente; as incógnitas  $\beta$  representam os coeficientes de regressão do modelo;  $X_1$  o valor codificado da variável concentração; e  $X_2$  o valor codificado da variável tempo de contato.

Tendo em vista o modelo matemático representado, a realização da derivada de primeira ordem da equação em relação a cada fator ( $X_1$  e  $X_2$ ), bem como a resolução do sistema de equações, possibilitam encontrar, um ponto ótimo, que também pode ser observado na superfície de contorno e no gráfico de resposta gerados com o auxílio do *Statistica*.

Por fim, a validação do modelo matemático foi realizada após uma nova bateria de ensaios com concentração e tempo de contato dentro de uma faixa ótima, sendo utilizado o mesmo critério de parada utilizado no procedimento com DCCR. De posse do valor de produção de metano foi possível calcular o erro médio percentual entre a produção predita (obtida com a substituição dos valores ótimos de  $X_1$  e  $X_2$  na equação que representa o modelo,  $Y_{\text{predito}}$ ) e a produção observada (onde foi realizada a média de produção dos novos ensaios de PBM com os mesmos valores ótimos decodificados,  $\bar{Y}_{\text{obsrevado}}$ ). Para o cálculo do erro médio percentual foi utilizada a Equação (14):

$$\text{Erro médio Percentual} = \frac{Y_{\text{predito}} - \bar{Y}_{\text{obsrevado}}}{\bar{Y}_{\text{obsrevado}}} * 100 \quad (14)$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO

A macrófita *in natura* apresentou teor de sólidos totais (ST) de  $28,5 \pm 1,965\%$  e sólidos voláteis (SV) de  $91,1 \pm 0,538\%$  de ST. Após os procedimentos de secagem e trituração da macrófita, de modo a reduzir a heterogeneidade das amostras, as principais características físico-químicas da MSPQ são apresentadas na Tabela 4.

**Tabela 4 - Caracterização da macrófita utilizada**

Parâmetro	Valor Médio $\pm$ DP
Sólidos totais (%)	$98,0 \pm 0,31$
Sólidos voláteis (%ST)	$88,1 \pm 0,20$
Cinzas (% SF)	$11,7 \pm 0,08$
Hemicelulose (% SV)	$22,4 \pm 1,01$
Lignina (% SV)	$5,8 \pm 0,30$
Celulose (% SV)	$31,8 \pm 1,14$
Proteínas (%SV)	$5,3 \pm 0,26$
Lipídeos (% SV)	$0,01 \pm 0,001$

**Fonte: Autoria própria (2021).**

Em relação ao teor de sólidos totais da MSPQ (98%) o valor médio encontrado é condizente com um teor de umidade extremamente baixo (2%) para uma amostra seca, quando comparado ao valor de umidade apresentado por Pires (2009) que era de 10,9%. Em contrapartida, o teor de sólidos voláteis foi alto (88,1%) em comparação a outras macrófitas apresentadas por Koyama et al. (2014) que, para diferentes espécies, variaram de 56% (*Potamogeton malaianus*) a 82,9% (*Elodea nuttallii*). Segundo Kunz et al. (2019) o alto teor de SV tem proporção direta com o potencial de conversão de matéria orgânica via digestão anaeróbia e, conseqüentemente, para a produção de biogás.

Para os teores de cinzas, quanto menor o valor mais eficiente energeticamente tende a ser o processo. Pires (2009) menciona ter encontrado um valor em torno de 3,4% para a macrófita em estudo, valor com ligeira discrepância ao que foi encontrado durante as análises deste trabalho (11,9%). Os valores

encontrados por Pires (2009) para os teores de hemicelulose e celulose foram de 19,75% e 57,3%, respectivamente.

Em relação à lignina, Nascimento et al. (2014) mencionam ter observado 16,9% na inflorescência da *Typha* e um menor teor na haste (mesma parte da planta utilizada nos ensaios experimentais) de 8,9%. Pires (2009) reportou um teor de 13,1% de lignina contra apenas 5,8% obtida na análise, a utilização da metodologia de Klason poderia ocasionar numa menor perda de lignina (FUKUSHIMA et al., 2003). Para proteínas Kinupp e Barros (2008) mencionam ter encontrado 16% e Nascimento et al. (2014) um resultado de 11,5%, valores que também divergem em relação ao encontrado que foi de 5,3%. Em uma análise do pólen da *Typha domigensis* mencionada por Kinupp e Barros (2008) foi encontrado um percentual de 3,2%, mas para este caso foi avaliada uma outra parte da planta. Entre as possibilidades para ter encontrado valores divergentes dos mencionados podem estar erros empíricos, utilizar macrófita seca e triturada ou ainda a metodologia de análise utilizada.

Na caracterização do inóculo utilizado, quanto aos testes de PBM, foram obtidos teores de ST  $3,2 \pm 0,02\%$ , SV  $60,7 \pm 0,16\%$  de ST. A celulose microcristalina, por sua vez, apresentou teor de ST  $95,5 \pm 1,00\%$ , SV  $99,9 \pm 0,02\%$  de ST.

## 5.2 ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METANO

Na Tabela 5 são apresentadas as respostas dos testes de PBM, bem como os respectivos teores de metano ( $\text{CH}_4$ ) da macrófita sem pré-tratamento (MSPQ) e de cada ensaio dos pré-tratamentos alcalino e ácido.

Tabela 5 – Produção e teor de metano para os ensaios realizados

Ensaio	Variáveis codificadas				PBM (L <sub>N</sub> CH <sub>4</sub> kg SV <sup>-1</sup> )		Teor de CH <sub>4</sub> (%)	
	X1	(%)	X2	(h)	MP <sub>NaOH</sub>	MP <sub>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></sub>	MP <sub>NaOH</sub>	MP <sub>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></sub>
	MSPQ	-		-		228 (±1,8) <sup>d</sup>	228 (±1,8) <sup>a</sup>	58 (±1,7) <sup>*</sup>
E1	1	8,7	1	10,4	314 (±10,7) <sup>a</sup>	209 (±3,3) <sup>b</sup>	56 (±0,5)	57 (±1,6)
E2	-1	2,3	1	10,4	298 (±4,9) <sup>ab</sup>	217 (±4,1) <sup>ab</sup>	57 (±0,1)	56 (±1,2)
E3	1	8,7	-1	2,6	317 (±7,4) <sup>a</sup>	214 (±7,5) <sup>ab</sup>	55 (±0,1)	57 (±1,3)
E4	-1	2,3	-1	2,6	278 (±5,4) <sup>bc</sup>	216 (±6,6) <sup>ab</sup>	56 (±0,1)	57 (±2,1)
E5	0	5,5	0	6,5	303 (±4,1) <sup>ab</sup>	208 (±3,9) <sup>b</sup>	56 (±0,4)	57 (±1,9)
E6	0	5,5	0	6,5	322 (±9,6) <sup>a</sup>	188 (±4,7) <sup>c</sup>	56 (±0,7)	57 (±0,5)
E7	0	5,5	0	6,5	322 (±3,3) <sup>a</sup>	206 (±7,4) <sup>b</sup>	56 (±0,8)	57 (±1,5)
E8	1,41	10	0	6,5	319 (±8,0) <sup>a</sup>	176 (±4,8) <sup>cd</sup>	56 (±0,2)	58 (±1,4)
E9	-1,41	1	0	6,5	248 (±11,5) <sup>cd</sup>	174 (±0,8) <sup>cd</sup>	57 (±1,1)	59 (±1,5)
E10	0	5,5	1,41	12	314 (±7,2) <sup>a</sup>	173 (±1,8) <sup>cd</sup>	56 (±0,1)	58 (±1,3)
E11	0	5,5	-1,41	1	301 (±25,1) <sup>ab</sup>	170 (±9,0) <sup>d</sup>	56 (±0,5)	59 (±2,0)

**Legenda:** MSPQ: Macrófita sem pré-tratamento químico; MP: Macrófita pré-tratada; X1: Variável codificada para a concentração; X2: Variável codificada para o tempo; PBM: Potencial Bioquímico de Metano; (\*)<sup>\*</sup>: DP; Letras diferentes denotam diferença significativa.

**Fonte: Autoria própria (2021).**

Nestes testes, a produção média acumulada e normalizada de biogás no inóculo foi de  $43,52 \pm 2,21$  L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup>. Segundo recomendações da VDI 4630 (2006) a celulose microcristalina é utilizada como controle positivo, sendo que o valor de referência satisfatório do teste em relação a atividade do inóculo corresponde a obtenção superior a 80% da faixa compreendida entre 740-750 L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup>. Ao considerar uma resposta de  $705 \pm 2,21$  L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup> para a celulose microcristalina obtém-se cerca de 94% de recuperação o que valida o teste.

Como pode ser observado na Tabela 5, o PBM para a MSPQ foi de 228 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, valor semelhante ao que se encontra na literatura em relação às diversas espécies de macrófitas como a *Ceratophyllum demersum* (249 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>),

*Salvinia molesta* (242 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>), *Eichhornia crassipes* (209 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>), mas superior quando comparado a outras macrófitas emergentes, como é o caso da *Cyperus sp.* (38 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>), *Scirpas sp.* (66 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>) e *Utricularia reticulata* (132 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>) (KOYAMA et al., 2014), entre as razões para essa diferença pode estar relacionado a composição química e estrutural dessas macrófitas, como por exemplo quanto ao teor de lignina.

Quanto aos PBMs dos ensaios pré-tratados com NaOH, na maioria dos casos, não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre si, comprovado por meio da aplicação do Teste Tukey a 95% de confiança. Os resultados discrepantes foram os ensaios E4 (278 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>) e E9 (248 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>) com uma eficiência de 8,7% superior a MSPQ, mas sem exprimir diferença estatísticas em relação ao controle.

Quanto aos demais ensaios, todos mostraram diferenças estatísticas em relação ao controle, apresentando um PBM superior a MSPQ, com uma eficiência, no mínimo, 30,7% maior que a MSPQ, demonstrando que mesmo com um baixo teor de lignina apresentado pelo substrato o tratamento alcalino se mostrou promissor. Pode-se dizer, ainda, que para estes ensaios quanto maior o valor da concentração de NaOH maior a produção de metano, tal ocorrência não foi claramente observado em relação ao tempo de contato.

Por outro lado, todas as MP com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> apresentaram PBM inferior ao valor referência. Os ensaios que mais se aproximaram desse valor foram E2 (217 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>), E3 (214 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>) e E4 (216 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>), no melhor dos casos com eficiência 4,8% menor que o PBM da MSPQ. Ainda assim estes casos foram os únicos que apresentaram PBM estatisticamente semelhantes ao valor de referência.

De maneira geral o pré-tratamento com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, de acordo com os resultados obtidos, não se mostrou favorável ao processo. Entre as razões existe a possibilidade de ter ocorrido a solubilização de fibras e a perda de lignina solúvel por meio do licor negro, similar ao que pode ter ocorrido no método de quantificação lignina em detergente ácido (LDA) de Van Soest quando realizada a análise dos teores de lignina (FUKUSHIMA et al., 2003), hipótese reforçada pelos ensaios E2 e E4 que mais se aproximaram numericamente da MSPQ e apresentam baixas concentrações de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

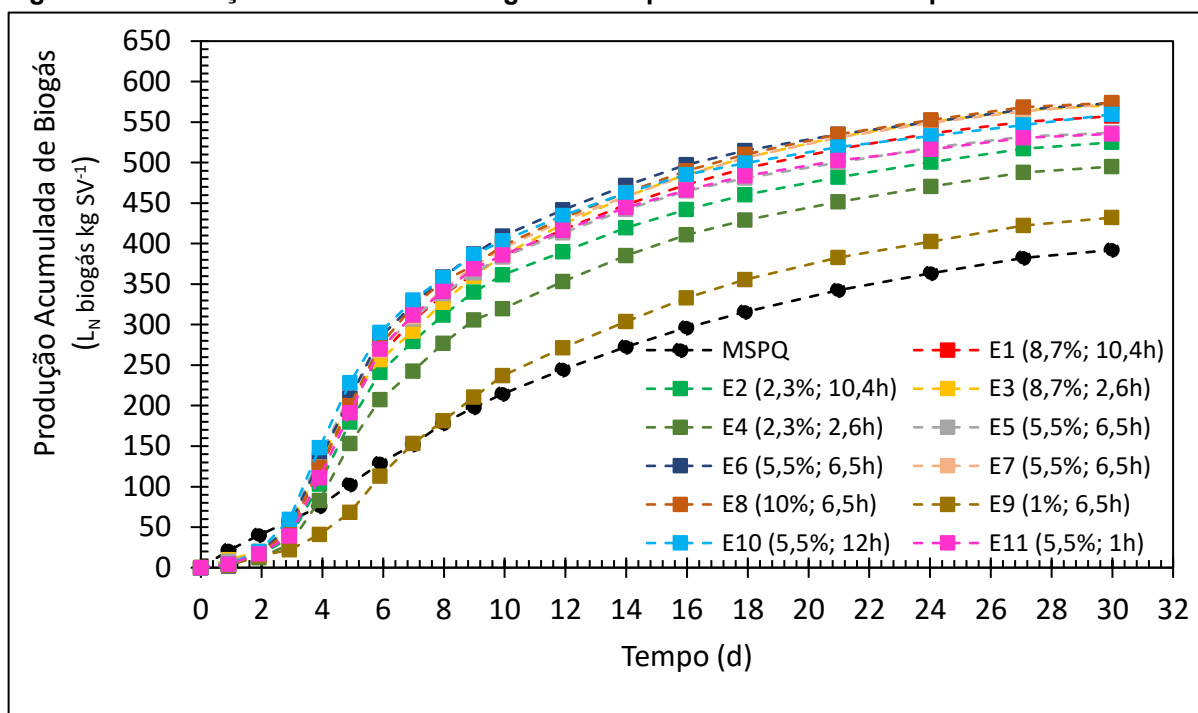
Outra possível razão é o fato de ter sido trabalhado sem aquecimento prévio da solução antes do contato com o substrato, no entanto essa medida foi assumida por duas razões, primeiramente para uma avaliação dos pré-tratamentos em condições de similaridade, o segundo fator foi para tentar evitar uma baixa produção de biogás devido a possibilidade de formação de compostos que geralmente inibem o crescimento microbiano e a fermentação, quando trabalhado com esse tipo de solução em altas temperaturas (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

Quanto ao teor de metano para cada ensaio, obtido com a cromatografia gasosa, ocorreu certa semelhança em relação aos termos percentuais dos tratamentos, além disso, foram encontrados valores similares ao se trabalhar com pré-tratamentos alcalinos com outros substratos lignocelulósicos como bagaço de cana-de-açúcar (55%) e resíduos de aparas de grama (57%) (REMOR, 2020; BASTOS, 2020).

### 5.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA DOS PRÉ-TRATAMENTOS

As observações e, subsequente análises, da produção acumulada e diária de biogás da DA para as macrófitas pré-tratadas com NaOH (Figura 15 e Figura 16) e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Figura 17 e Figura 18), seguem expressas na sequência.

Figura 15 - Produção acumulada de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com NaOH



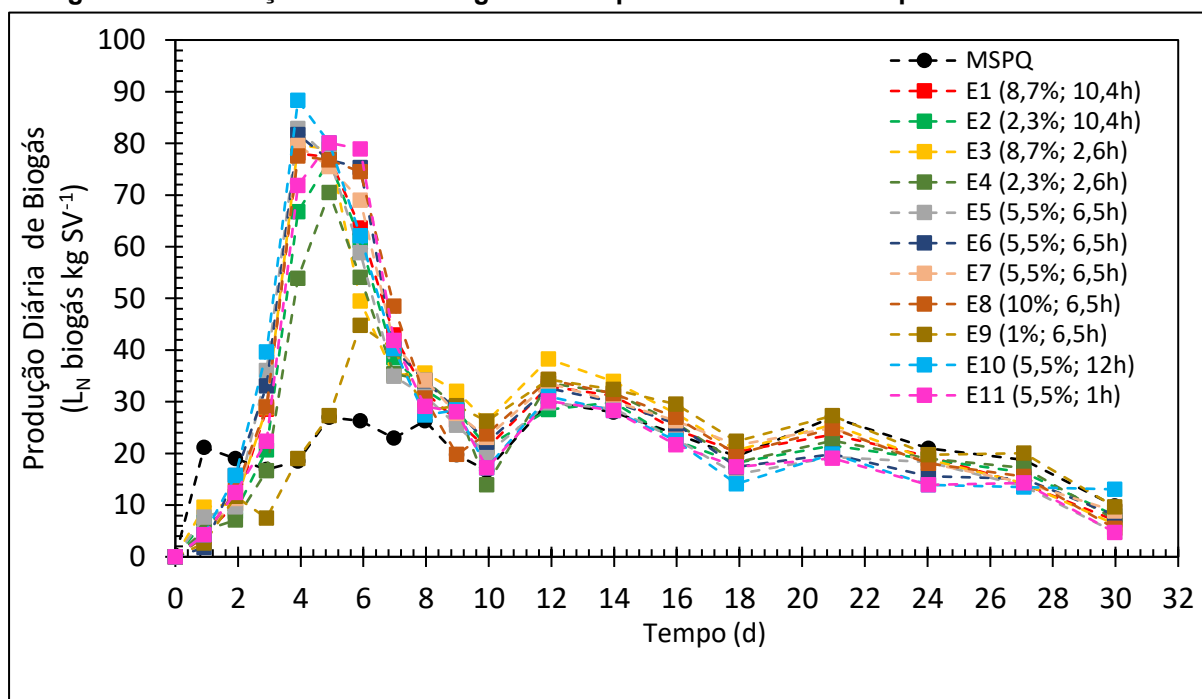
Fonte: Autoria própria (2021).

Era esperada uma produção imediata de biogás, no entanto ao observar a Figura 15, nota-se que nos primeiros dias da produção de biogás a partir da macrófita pré-tratada com NaOH ocorreu um atraso, sendo que nesse período dos 2 primeiros dias a MSPQ teve uma produção maior quando comparadas aos demais pré-tratamentos. O que pode ter ocorrido é que uma fração, de fácil degradação (hemicelulose solubilizada, fração da celulose e fração lipídica) tenha sido lavada e restou uma fração de difícil degradação.

Observando-se a Figura 15, considerando o teor de metano presente nos ensaios, é evidente a eficiência dos pré-tratamentos alcalinos em relação a produção acumulada de metano que, conforme observado na Tabela 5, todos foram superiores a *Typha* sem pré-tratamento químico (MSPQ). Para, praticamente, todos os ensaios essa produção se tornou superior no quarto dia, período que tende a ocorrer a hidrólise, o que confirma essa como etapa limitante do processo. Na Figura 16 são apresentados os picos de produção diária de biogás durante o período de estudo.



Figura 16 - Produção diária de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com NaOH

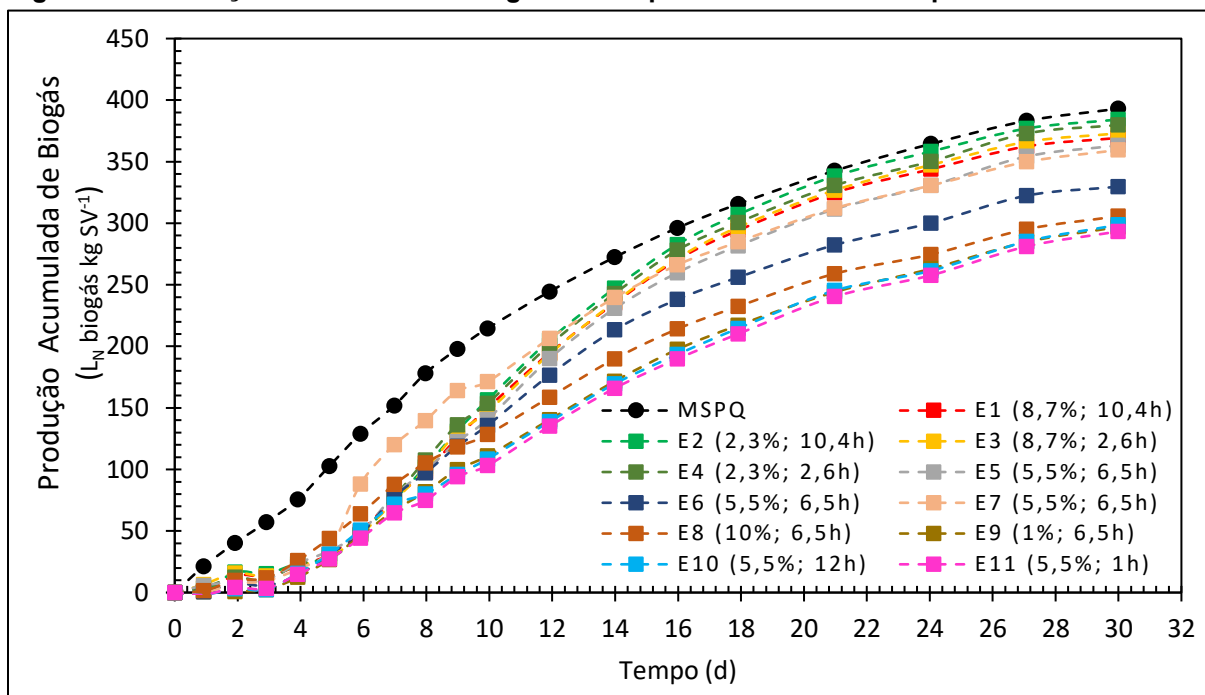


Fonte: Autoria própria (2021).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 16, é possível observar que ocorrem picos de produção de biogás nos dias 1 (21 LN biogás kg SV<sup>-1</sup>), 5 (27 LN biogás kg SV<sup>-1</sup>), 8 (26 LN biogás kg SV<sup>-1</sup>), 12 (30 LN biogás kg SV<sup>-1</sup>) e 21 (27 LN biogás kg SV<sup>-1</sup>) para a MSPQ. Para os ensaios, os maiores picos de produção foram nos dias 4, 5 e 6, sendo que o maior pico de produção do experimento ocorreu no ensaio 10 (5,5%; 6,5 h) no 4º dia resultado 193% maior que o maior pico para a MSPQ. Mais uma vez foi possível confirmar o impacto causado na produção de biogás diária mediante a utilização do pré-tratamento alcalino o que justifica sua utilização ainda que o teor de lignina da *Typha* não seja tão elevado. A solução alcalina, além de degradar a lignina, provavelmente aumenta a porosidade do substrato de modo a expor os carboidratos à ação dos microrganismos (SHETTY et al., 2017).

Na sequência, ao avaliar as respostas obtidas para a produção de metano com a utilização da macrófita pré-tratada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Figura 17), as curvas de produção de metano acumulada permitem concluir que nenhum ensaio apresentou melhor desempenho que a MSPQ. O ensaio com maior semelhança, como já observado, foi o E2 (2,3%; 10,4 h).

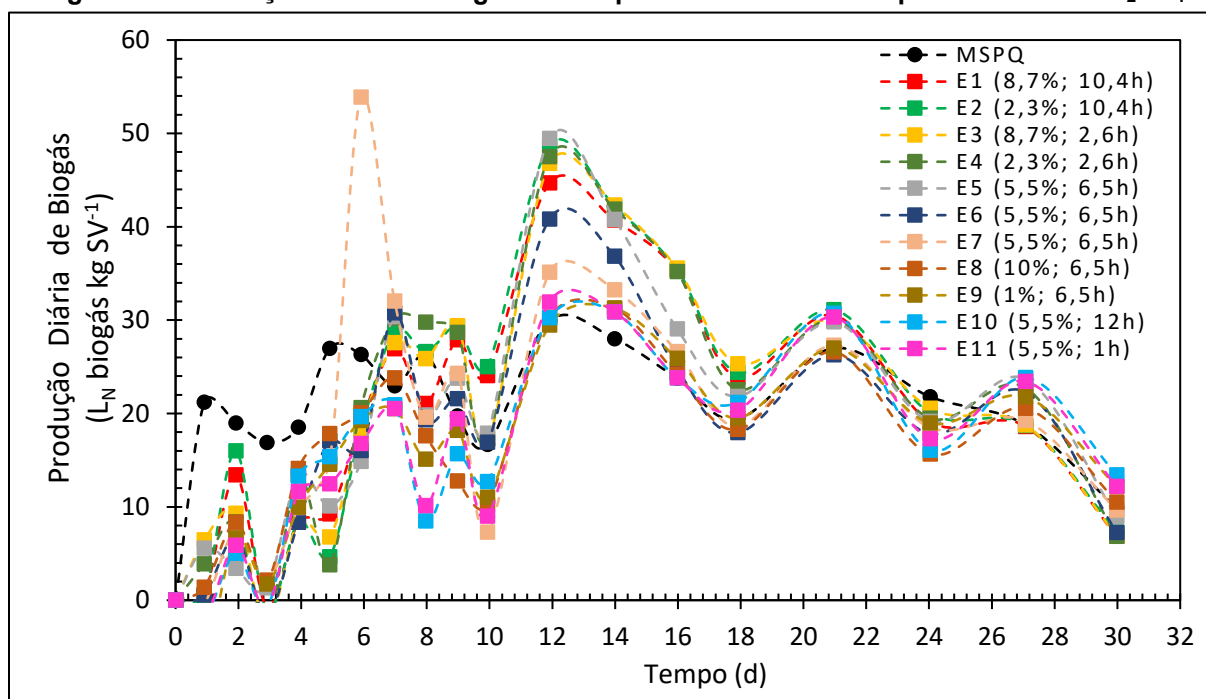
Figura 17 - Produção acumulada de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com  $H_2SO_4$



Fonte: Autoria própria (2021).

Existe a possibilidade de que no pré-tratamento ácido ocorra a solubilização de uma fração de celulose e hemicelulose, como ocorre com o pré-tratamento alcalino, mas em função dos resultados encontrados é possível que uma grande parcela desses compostos, bem como da lignina, tenha acabado sendo extraída junto com o licor negro no momento em que o pré-tratamento foi lavado. Como já mencionado, também existe a possibilidade de ser necessário o aquecimento da biomassa imersa na solução ácida. A literatura menciona que para que ocorra a hidrólise de uma estrutura lignocelulósica com ácido diluído, seja utilizada uma solução com concentração entre 0,1 e 10% e temperatura na faixa de 100 a 160 °C (COSTA et al., 2014). Em todo, caso como já observado, a utilização de  $H_2SO_4$  não apresentou respostas benéficas ao processo, a ineficiência do pré-tratamento ácido pode ser constatada ao visualizar os picos diários de produção de biogás principalmente nos 5 primeiros dias referentes a hidrólise ácida (Figura 18).

Figura 18 - Produção diária de biogás obtido pelo uso da macrófita pré-tratada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



Fonte: Autoria própria (2021).

## 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 5.4.1 Análise dos Efeitos e Significância das Variáveis Independentes

Na Tabela 6 são apresentados os efeitos dos fatores selecionados previamente (concentração e tempo de contato) expressos em termos lineares e quadráticos para cada pré-tratamento utilizados para a macrófita.

Tabela 6 - Efeitos dos pré-tratamentos utilizados para a macrófita

Fator	NaOH		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
	Efeitos	p-valor	Efeitos	p-valor
X <sub>1</sub> (L)	38,8932	0,0038*	-1,8004	0,9282
X <sub>1</sub> <sup>2</sup> (Q)	-29,1295	0,0241*	-5,0784	0,8316
X <sub>2</sub> (L)	8,8589	0,2986	0,0577	0,9977
X <sub>2</sub> <sup>2</sup> (Q)	-4,9858	0,6079	-8,5993	0,7201
X <sub>1</sub> . X <sub>2</sub>	-11,5000	0,3352	-3,0000	0,9153

Legenda: L: Termo linear; Q: Termo quadrático; \*: p-valor < 0,05 o efeito é significativo.

Fonte: Autoria própria (2021).

Na análise do pré-tratamento com NaOH, nota-se que tanto os fatores  $X_1$  (referente ao termo linear codificado da concentração) quanto o fator  $X_2$  (referente ao termo linear codificado do tempo de contato) apresentam efeito positivo para o aumento do PBM, no entanto apenas os fatores  $X_1$  e  $X_1^2$  se mostram significativos ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). Dessa maneira julga-se interessante a remoção dos demais termos não significativos (isto é,  $X_2$ ,  $X_2^2$  e a interação entre  $X_1$  e  $X_2$ ) para o cálculo da ANOVA, onde suas contribuições serão incorporadas aos resíduos. Já quanto ao pré-tratamento com  $H_2SO_4$  nenhum dos fatores desse pré-tratamento se mostram significativos ao analisado o critério do  $p$ -valor.

#### 5.4.2 ANOVA

Na Tabela 7 é apresentada a ANOVA para os pré-tratamentos.

**Tabela 7 - ANOVA dos pré- tratamentos**

Solução	Fonte de variação	SQ	GL	MQ	$F_{\text{calculado}}$	$F_{\text{tabelado}}$	$p$ -valor
NaOH	Regressão	4188,630	2	2094,315	18,502*	4,459	0,001
	Resíduos	905,553	8	113,194			
	Total	5094,183	10				
$H_2SO_4$	Regressão	155,149	5	31,03	0,043	5,05	0,998
	Resíduos	3599,566	5	719,913			
	Total	3754,715	10				

**Fonte: Autoria própria (2021).**

A partir dos dados apresentados na Tabela 7, pode-se descartar quaisquer possibilidades de trabalho com o pré-tratamento com  $H_2SO_4$ , ( $p$ -valor  $> 0,05$ ). Em contrapartida, mais uma vez o pré-tratamento com NaOH se mostra promissor, por mais que o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) não tenha sido alto (82,24%) após a remoção dos termos não significativos, o modelo apresenta um  $F_{\text{calculado}}$  mais de 4 vezes maior que o  $F_{\text{tabelado}}$ , além disso o  $p$ -valor  $< 0,05$  se mostra significativo.

### 5.4.3 Modelo Matemático e Validação

Até o presente momento ficou claro que o único pré-tratamento com dados estatísticos robustos o suficiente para a construção de um modelo matemático, é o que utilizou NaOH, mas para isso são necessários os coeficientes de regressão, estes coeficientes reparametrizados seguem apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8 - Coeficientes de regressão do modelo para pré-tratamento com NaOH**

Fator	NaOH	
	Coeficientes ( $\beta$ )	p-valor
Média	313,3070	<0,0000
Concentração (L)	19,4466	0,0009
Concentração (Q)	-13,8384	0,0123

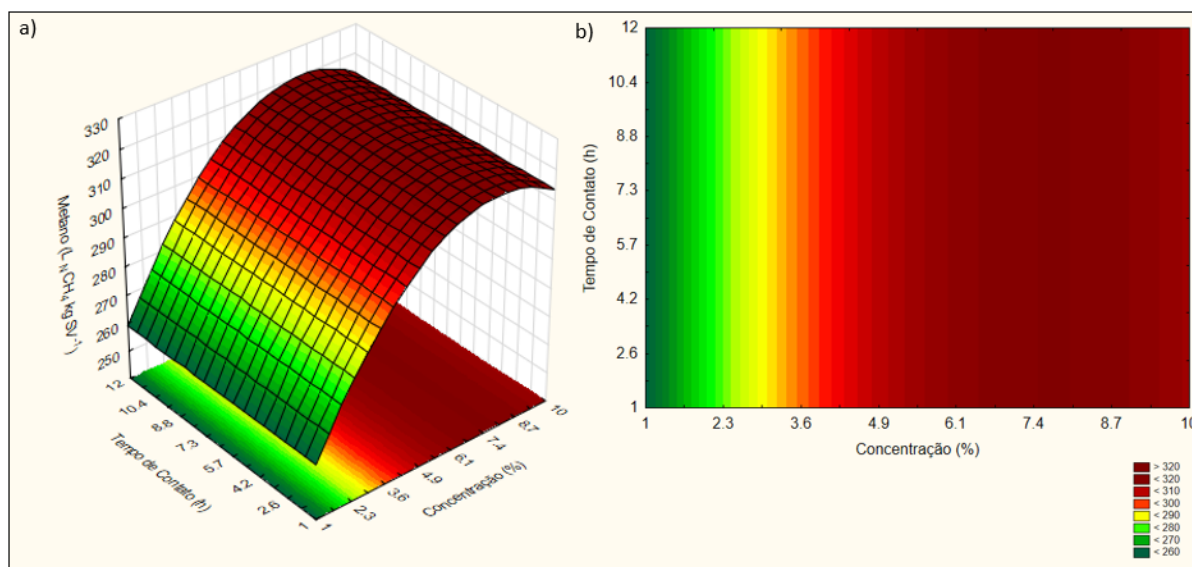
**Fonte: Autoria própria (2021).**

Dessa maneira utilizando os coeficientes da Tabela 8 e a Equação (13) pode-se ajustar a equação de regressão como pode ser visto na Equação (15).

$$y = 313,3070 + 19,4466 X_1 + (-13,8384)X_1^2 \quad (15)$$

Realizando a derivada primeira, da equação anterior em relação a  $X_1$ , pode-se encontrar um possível valor operacional ótimo de concentração em termos codificados (0,702632) que após decodificado, por interpolação linear, é possível chegar a um valor de concentração de 7,7% de NaOH. É válido mencionar que substituindo o valor codificado na Equação (15) é possível obter o  $Y_{Preditto}$  que retornou um valor de 320,139 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>. No entanto para garantir que esse modelo é válido, fez-se necessário realizar um teste validação, e averiguar se o ponto ótimo está em concordância com a superfície de resposta e ao gráfico de contorno (Figura 19), gerados com o auxílio do *software Statistica*.

Figura 19 - a) Superfície de resposta; b) Gráfico de contorno para produção de metano para o pré-tratamento com NaOH

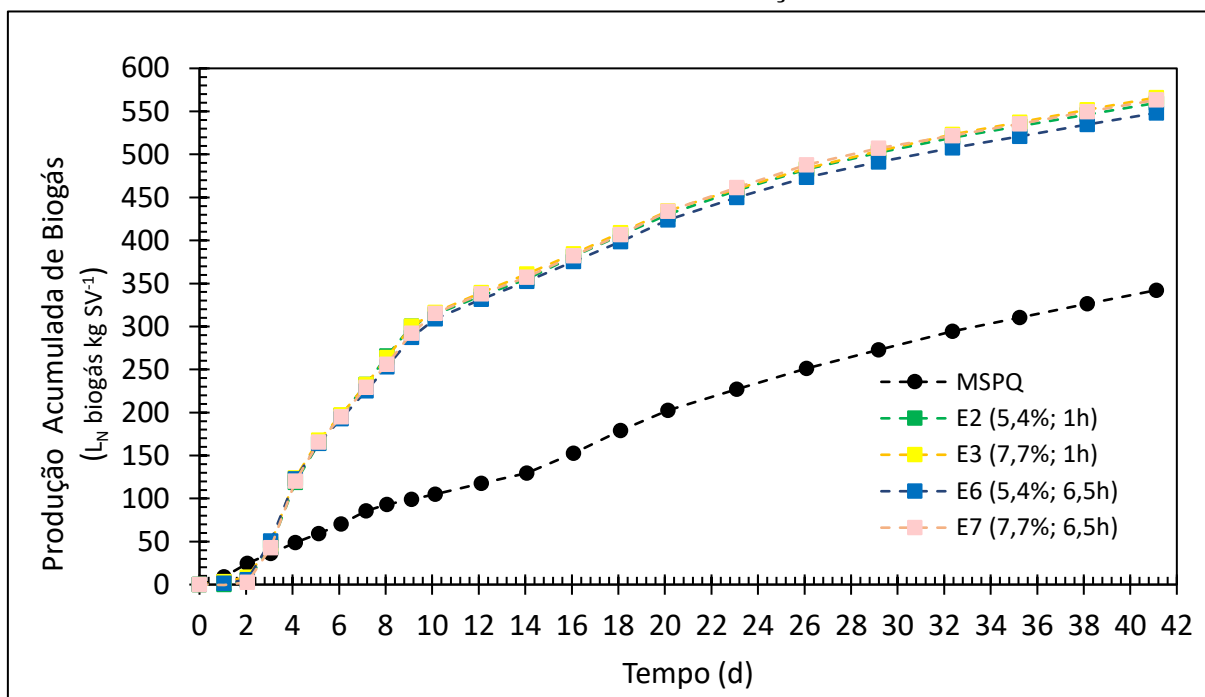


Fonte: Autoria própria (2021).

Ao observar a Figura 19 é possível constatar a existência não somente de um ponto, mas de uma possível região ótima para a concentração e, levando-se em conta que uma menor concentração está diretamente relacionado a uma menor quantidade de reagente e um menor custo ao processo, além do ponto ótimo foram realizados novos ensaios em diferentes concentrações (3,1%, 5,4%, 7,7% e 10%) de NaOH, sendo que para cada ensaio foi trabalhado com duas faixas de tempo de contato (1 h e 6,5 h). Ao término dos ensaios de validação e mediante as devidas substituições do  $Y_{Predito}$  (320,139 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>) e  $\bar{Y}_{Obsrevado}$  (317,519 ± 4,05 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>), o modelo, finalmente, foi validado apresentando um erro médio de apenas 0,825%, tal valor apresenta um excelente ajuste do modelo.

A seguir podem ser visualizadas as faixas que apresentaram eficiência mais satisfatória em relação a MSPQ (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), todas superiores a 60% sem influências do tempo como já observado nos resultados estatísticos preliminares.

**Figura 20 – Produção acumulada de biogás em função do tempo com macrófita pré-tratadas com NaOH no teste de validação**



Fonte: Autoria própria (2021).

Para os ensaios de validação, o que utilizaram a concentração de 3,3% apresentaram respostas muito discrepantes, por isso não foram incluídas no gráfico. Além disso, obedecendo o critério de parada estabelecido no procedimento inicial, o tempo, para se alcançar as condições previstas, foi um pouco superior ao anteriormente utilizado nos ensaios.

## 5.5 ANÁLISE DE CUSTO PRELIMINAR PARA PRÉ-TRATAMENTO COM NaOH

Em decorrência dos resultados apresentados julgou-se interessante realizar uma análise preliminar de custo somente com os dados referentes ao pré-tratamento da *Typha* com NaOH. Ao considerar o uso hipotético desse pré-tratamento em escala real, com base no que seria o ponto ótimo em termos de concentração (7,7%), levando-se em conta um teor de sólidos totais de 98% do substrato seco, pode-se dizer que são necessários 0,74 kg de NaOH (com 98% de pureza) para pré-tratar 1 kg de macrófita. Considerando que o preço do NaOH (P.A.) é de cerca de R\$ 33,00 por quilograma (setembro 2021), o que totalizaria um custo de R\$ 24,42 de NaOH por kg de macrófita. É ainda possível inferir que de maneira linear 1kg de macrófita pré-

tratada (MP) pode produzir cerca de 738.416,3 L<sub>N</sub> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, ou 738,4 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub> kg SV<sup>-1</sup>, em correspondência para um total de 1.318.600 L<sub>N</sub> biogás kg SV<sup>-1</sup>, ou 1.318,6 m<sup>3</sup> biogás kg SV<sup>-1</sup> (considerando teor de metano de 56%) base nos dados e condições de bancada.

Segundo Zanotto (2017), 1 m<sup>3</sup> de biogás pode ser equivalente a 0,454 L de gás de cozinha, considerando que a média de preço do gás de cozinha no Brasil seja em torno de R\$ 95,00 (setembro de 2021) para um botijão de 13 kg que apresenta um volume líquido correspondente a 31,5 L, conforme esses valores e as condições propostas na metodologia do trabalho pode-se dizer que 1kg de MP produziria em torno de 598,6 L de gás de cozinha, cerca de R\$ 1.805,4. Considerando o custo com NaOH e ainda que no processo para a obtenção de MP existe uma perda de cerca de 20% de Taboa é possível inferir que 1 kg desta macrófita traria um retorno aproximado de R\$ 1.420,00. Sabe-se que os valores apresentados podem não representar precisamente o que seria encontrado fora de uma escala de bancada haja visto os procedimentos metodológicos adotados, mas é possível que tenham alguma serventia como um valor de referência para o processo em escala real, sendo essenciais testes nesse segmento para averiguar a produção de metano.

Para estimar o custo de implantação de reatores anaeróbios e equipamentos de medição e queima Bondrani (2010), orçou um capital em torno de R\$ 230.000,00 para um sistema com uma vida útil de cerca de 10 anos. Contudo é válido ressaltar que estes dados são referentes à uma estrutura voltada à substratos oriundos de suinocultura podendo haver diferenças para o substrato em questão, tanto no custo, como nos materiais envolvidos ou mesmo no tempo de vida útil. Em todo o caso, tomando por base esse valor de referência e o retorno obtido a partir de 1 kg de Taboa, seria necessário quase 162 kg do substrato para quitar o investimento.

É válido mencionar que nestes cálculos não estão inclusos os gastos com água tanto para diluir o reagente antes do pré-tratamento como para lavar o substrato antes iniciar a DA de modo a deixar o pH em condição de neutralidade. Além disso, como o processo requer uma temperatura mesofílica existe um custo energético envolvido. Ao retomar os dados de que a *Typha domingensis* pode produzir até 7 toneladas de rizomas por hectare a utilização da planta como substrato pode se mostrar com potencial para produção de biogás mediante as condições de pré-tratamento alcalino aqui apresentadas.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entende-se que os resultados obtidos cumpriram, com os objetivos iniciais propostos para o trabalho, haja visto que o pré-tratamento de macrófitas da espécie *Typha domingensis* com NaOH se mostrou eficiente no que se refere ao volume acumulado de metano demonstrando que mesmo com um baixo teor de lignina apresentado pelo substrato o tratamento alcalino se mostrou promissor, com a ressalva ao pré-tratamento com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> onde em função de seu mau desempenho, não foi possível gerar um modelo matemático válido com o pré-tratamento ácido. Ainda assim acredita-se que os resultados obtidos podem servir como modelo e referência para a realização de trabalhos futuros na mesma linha de pesquisa.

Ao aplicar uma ferramenta de modelagem (DCCR) associada à análises estatísticas e à observação da superfície de resposta foi possível determinar a concentração ótima (5,4% - 7,7%) quando utilizado o NaOH como solução para o pré-tratamento. Dessa forma, a menor concentração é mais interessante ambiental e economicamente em se tratando de produção de metano em larga escala. Em relação à variável tempo não foi considerada como significativa quando confrontada com a metodologia estatística empregada.

Por meio da análise preliminar de custo foi possível observar o potencial para produção de biogás da Taboa quando submetida ao pré-tratamento com NaOH, haja visto o retorno financeiro de aproximadamente R\$ 1.420,00 por quilograma de substrato, nas condições aqui descritas. Tal valor descreve bem o ideal de converter em ativo econômico um passivo ambiental.

Em todo caso é válido ressaltar que os resultados obtidos nesse trabalho só são válidos para as condições aqui apresentadas e podem não refletir similaridade em se tratar de escala real. Muitos dos procedimentos tomados serviram para isolar efeitos adversos, minimizar erros, ou mesmo em função das limitações laboratoriais de investigação. Como sugestões futuras, seria interessante testar outras fontes energéticas, realizar o teste do pré-tratamento ácido com efeito de temperatura, ou mesmo a utilização do substrato sem trituração, visando aproximar os valores do que encontra-se em escala real.

## REFERÊNCIAS

ABRAHAM, A.; MATHEW, A.; PARK, H.; CHOI, O.; SINDHU, R.; PARAMESWARAN, B.; SANG, B. **Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass.** *Bioresource Technology*, 301, 122725, 2020. doi:10.1016/j.biortech.2019.122725

ADEKUNLE, K. & OKOLIE, J. **A review of biochemical process of anaerobic digestion.** *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 6, 205-212, 2015. doi.org/10.4236/abb.2015.63020

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M. **Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review.** *Bioresource Technology*, 101, 4851–4861, 2010. doi:10.1016/j.biortech.2009.11.093

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 21 ed. Washington: American Water Works Association, p. 1368, 2005.

ASLANZADEH, S.; ISHOLA, M.; RICHARDS, T.; TAHERZADEH, M. **An Overview of Existing Individual Unit Operations.** *Biorefineries*, 3–36, 2014. doi:10.1016/b978-0-444-59498-3.00001-4

AVELLÁN, T. & GREMILLION, P. **Constructed wetlands for resource recovery in developing countries.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 99, 42–57. 2019. doi:10.1016/j.rser.2018.09.024 Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032118306725?via%3Dihub>. Acesso em: 12 de dezembro de 2020

BAJPAI, P. **Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production.** *SpringerBriefs in Molecular Science*. India, 2016. doi:10.1007/978-981-10-0687-6

BASTOS, J. **Produção de biogás em resposta ao pré-tratamento químico e reuso do licor negro aplicado aos resíduos de aparas de grama.** Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira – PR, 69 f., 2020.

Brondani, J. C. **Biodigestores e biogás: balanço energético, possibilidades de utilização e mitigação do efeito estufa.** Dissertação de Mestrado do Programa de

Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria-RS, 2010.

CANN, I.; PEREIRA, G.; ABDEL-HAMID, A.; KIM, H.; WEFERS, D.; KAYANG, B.; MACKIE, R. I. **Thermophilic degradation of hemicellulose, a critical feedstock in the production of bioenergy and other value-added products**. Applied and Environmental Microbiology, (7), 86, 2020. doi:10.1128/aem.02296-19

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. UNICAMP, Campinas, 208p, 1999.

CHAMBERS, P.; LACOUL, P.; MURPHY, K.; THOMAZ, S. **Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater**. Freshwater Animal Diversity Assessment, Hydrobiologia, 595, pp. 9-26, 2008 doi:10.1007/978-1-4020-8259-7\_2

CHERNICHARO, C. **Biological wastewater treatment series**. Anaerobic Reactors, v. 4, Dep. de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, Brasil, 2007.

CORNO, L.; LONATI, S.; RIVA, C.; PILU, R.; ADANI, F. **Giant cane ( Arundo donax L.) can substitute traditional energy crops in producing energy by anaerobic digestion, reducing surface area and costs: A full-scale approach**. Bioresource Technology, 218, 826–832, 2016. doi:10.1016/j.biortech.2016.07.050 Disponível em: [https://www-](https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0960852416310288)

[sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0960852416310288](https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0960852416310288).

Acesso em: 12 de dezembro de 2020

CORNO, L.; PILU, R.; CANTALUPPI, E.; ADANI, F. **Giant cane (Arundo donax L.) for biogas production: The effect of two ensilage methods on biomass characteristics and biogas potential**. Biomass and Bioenergy, 93, 131–136, 2016 doi:10.1016/j.biombioe.2016.07.017. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0961953416302525>.

Acesso em 12 de dezembro de 2020

COSTA, A. G.; PINHEIRO, F. G.; PINHEIRO, G. C.; dos SANTOS, A. B.; SANTELLA, S. T.; LEITÃO, R. C. **Geração de metano a partir de resíduos lignocelulósicos oriundos da produção do biocombustível: revisão**. Revista DAE, 194, 36-51, 2014. doi: 10.4322/dae.2014.003

DAL PRÁ, B. **Efeitos da poluição por petróleo em folhas e raízes de *Typha domingensis* pers. (TYPHACEAE)**. Monografia, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2016.

DELL'OMO, P. & SPENA, V. **Mechanical pretreatment of lignocellulosic biomass to improve biogas production: Comparison of results for giant reed and wheat straw.** *Energy*, 203, 117798, 2020. doi:10.1016/j.energy.2020.117798

DEUBLEIN, D. & STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources.** 2nd ed. Wiley-VCH, 2011

DI GIROLAMO, G.; GRIGATTI, M.; BARBANTI, L.; ANGELIDAKI, I. **Effects of hydrothermal pre-treatments on Giant reed (*Arundo donax*) methane yield.** *Bioresource Technology*, 147, 152–159, 2013. doi:10.1016/j.biortech.2013.08.006

EDWIGES, T. **Biodigestão anaeróbia de resíduos vegetais provenientes de central de abastecimento.** 2017. 81 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2017

EDWIGES, T.; BASTOS, J. A.; LIMA ALINO, J. H.; et al. **Comparison of various pretreatment techniques to enhance biodegradability of lignocellulosic biomass for methane production.** *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 7, n. 6, p. 103495, 2019. Elsevier. doi:10.1016/j.jece.2019.103495

EID, E.; SHALTOUT, K.; ASAEDA, T. **Modeling growth dynamics of *Typha domingensis* (Pers.) Poir. ex Steud. in Lake Burullus, Egypt.** *Ecological Modelling*, 243, 63–72, 2012. doi:10.1016/j.ecolmodel.2012.05.028. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304380012002736>. Acesso em 13 de dezembro de 2020

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia.** Interciência, p.102, Rio de Janeiro, 1998.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Energy and protein requirements.** World Health Organization - Technical Report Series, p.106, Geneva: FAO and WHO, 1973. Disponível em: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41042/WHO\\_TRS\\_522.pdf;jsessionid=7A1DCBDBC274854850D29CE5667FD62?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41042/WHO_TRS_522.pdf;jsessionid=7A1DCBDBC274854850D29CE5667FD62?sequence=1)

FERREIRA, C. L. **Redução das concentrações de nitrogênio e fósforo dos efluentes domésticos lançados na lagoa Imboassica, através de uma região colonizada por macrófitas aquáticas.** In: ESTEVES, F. A. (Ed.). *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ).* Macaé (Rio de Janeiro): NUPEM, 1998. p.375-387.

FUKUSHIMA, R.; HATFIELD, R.; FUZETO, A.; BACHA, C.; PORT, A. **Um novo método analítico para a determinação do teor de lignina em produtos vegetais.** FAPESP, Jaguariúna, SP, 2003. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/08MET/Palestras/teorlignina.pdf> Acesso em 14 de setembro de 2021.

HALDAR, D. & PURKAIT, M. K. **A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements.** Chemosphere, 264, 128523, 2020. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128523

HAMAWAND, I. **Anaerobic digestion process and bio-energy in meat industry: A review and a potential.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, 44, 37–51, 2015. doi:10.1016/j.rser.2014.12.009. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1364032114010612> Acesso em 15 de dezembro de 2020.

HEEGAARD, E.; BIRKS, H.; GIBSON, C.; SMITH, S.; WOLFE-MURPHY, S. . **Species- environmental relationships of aquatic macrophytes in Northern Ireland.** Aquatic Botany, 70(3), 175–223, 2001. doi:10.1016/s0304-3770(01)00161-9.

HENDRIKS, A. & ZEEMAN, G. **Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass.** Bioresource Technology, 100, 10–18, 2009. doi:10.1016/j.biortech.2008.05.027.

HIMMEL, M.; XU, Q.; LUO, Y.; DING, S.; LAMED, R.; BAYER, E. A. **Microbial enzyme systems for biomass conversion: emerging paradigms.** Biofuels, 1(2), 323–341, 2010. doi:10.4155/bfs.09.25.

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; et al. **Towards a standardization of biomethane potential tests.** Water Science and Technology, v. 74, p.2515–2522, 2016. doi:10.2166/wst.2016.336.

HORAN, N.; YASER, A.; WID, N. **Anaerobic Digestion Processes - Applications and Effluent Treatment.** Green Energy and Technology, Springer, 2018. doi:10.1007/978-981-10-8129-3.

IRGANG B. & GASTAL JÚNIOR C. **Problemas taxonômicos e distribuição geográfica de macrófitas aquáticas do sul do Brasil.** In Thomaz, S. M. & L. M. Bini (eds), Ecologia e manejo de macrófitas. Eduem, p. 163-169, Maringá, 2003.

IZUMI, K.; OKISHIO, Y.; NAGAO, N.; NIWA, C.; YAMAMOTO, S.; TODA, T. **Effects of particle size on anaerobic digestion of food waste**. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64, 601–608, 2010. doi:10.1016/j.ibiod.2010.06.013.

ISHIKAWA K.; INOUE E.; HAMABATA E. **7.2.2 Explosive development and control of aquatic weeds** Lake Biwa: Interactions between Nature and People, Springer Science and Business Media, p. 577-581, 2020.

KANDYLIS, P.; BEKATOROU, A.; PISSARIDI, K.; LAPPA, K.; DIMA, A.; KANELAKI, M.; KOUTINAS, A. **Acidogenesis of cellulosic hydrolysates for new generation biofuels**. *Biomass and Bioenergy*, 91, p. 210–216, 2016. doi:10.1016/j.biombioe.2016.05.006.

KARLSSON, T.; KONRAD, O; LUMI M.; SCHMEIER, N.; MARDER, M.; CASARIL E.; KOCH F.; PEDROSO, A. **Manual básico de biogás**. Univates, 1ª ed., Lajeado, 2014.

KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. **Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28, n.4, p.846-857, 2008. doi:10.1590/s0101-20612008000400013.

KOUPAIE, H.; DAHADHA, S.; BAZYAR LAKEH, A.; AZIZI, A.; ELBESHISHY, E. **Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review**. *Journal of Environmental Management*, 2018.

KOYAMA, M.; YAMAMOTO, S.; ISHIKAWA, K.; BAN, S.; TODA, T. **Anaerobic digestion of submerged macrophytes: Chemical composition and anaerobic digestibility**. *Ecological Engineering*, 69, 304–309, 2014. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.05.013. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0925857414002225>  
Acesso em: 28 de dezembro de 2020.

KUCHARSKA, K.; RYBARCZYK, P.; HOŁOWACZ, I.; ŁUKAJTIS, R.; GLINKA, M.; KAMIŃSKI, M. **Pretreatment of Lignocellulosic Materials as Substrates for Fermentation Processes**. *Molecules*, v.23,p. 29-37, 2018. doi:10.3390/molecules23112937.

KUMAR, R.; SINGH, S.; SINGH, O. **Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives**. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(5), 377–391, 2008. doi:10.1007/s10295-008-0327-8.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R.; AMARAL, A. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Concórdia: Sbera: Embrapa Suínos e Aves, 209 p., 2019.

LACOUL, P. & FREEDMAN, B. **Environmental influences on aquatic plants in freshwater ecosystems**. *Environmental Reviews*, 14(2), 89–136, 2006. doi:10.1139/a06-001.

LAINE, C. **Structures of hemicelluloses and pectins in wood and pulp**. Department of Chemical Technology, v. Doctor of, n. January 2005, p. 63, 2005. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/33713429\\_Structures\\_of\\_Hemicelluloses\\_and\\_Pectins\\_in\\_Wood\\_and\\_Pulp](https://www.researchgate.net/publication/33713429_Structures_of_Hemicelluloses_and_Pectins_in_Wood_and_Pulp).

LAURICHESSE, S. & AVÉROUS, L. **Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers**. *Progress in Polymer Science*, p. 1266–1290, 2014. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.11.004.

LIU, W.; WU, R.; HU, Y.; REN, Q.; HOU, Q.; NI, Y. **Improving enzymatic hydrolysis of mechanically refined poplar branches with assistance of hydrothermal and Fenton pretreatment**. *Bioresource Technology*, 123920, 2020. doi:10.1016/j.biortech.2020.123920.

MAHMOOD, Z.; YAMEEN, M.; JAHANGEER, M.; RIAZ, M.; GHAFAR, A.; JAVID, I. **Lignin as Natural Antioxidant Capacity**. *Lignin - Trends and Applications*, 2018. doi:10.5772/intechopen.73284.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. Agronômica Ceres, 5ª ed, 292p, São Paulo 1989.

MAURYA, D.; SINGLA, A.; NEGI, S. **An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol**. *3 Biotech*, 5, 597–609, 2015. doi:10.1007/s13205-015-0279-4.

MONÇÃO, F.; dos SANTOS, A.; BINI, L. **Aquatic macrophyte traits and habitat utilization in the Upper Paraná River floodplain, Brazil**. *Aquatic Botany*, 102, p. 50–55, 2012. doi:10.1016/j.aquabot.2012.04.008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0304377012000824>

Acesso em: 30 de agosto de 2020.

MOOD, S.; GOLFESHAN, A.; TABATABAEI, M.; Jouzani, G.; Najafi, G.; Gholami, M.; Ardjmand, M. **Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review**

**with a focus on pretreatment.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 27, p. 77–93, 2013. doi:10.1016/j.rser.2013.06.033.

MORANDEIRA, N. & KANDUS, P. **Multi-scale analysis of environmental constraints on macrophyte distribution, floristic groups and plant diversity in the Lower Paraná River floodplain.** *Aquatic Botany*, 123, p. 13–25, Universidad Nacional de General San Martín, Buenos Aires, Argentina 2015. doi:10.1016/j.aquabot.2015.01.006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0304377015000091>

Acesso em: 30 de agosto de 2020.

MURPHY, K.; EFREMOV, A.; DAVIDSON, T.; MOLINA-NAVARRO, E.; FIDANZA, K.; CRIVELARI BETIOL, T.; URRUTIA-ESTRADA, J. **World distribution, diversity and endemism of aquatic macrophytes.** *Aquatic Botany*, 2019. doi:10.1016/j.aquabot.2019.06.006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0304377019300300>.

Acesso 13 de dezembro de 2020.

NASCIMENTO, J.; QUEIROZ, M.; GOMIDE, C.; LACERDA, R.; AMARAL, A.; FERRARI, J. **Potencial nutricional de plantas de *Typha domingensis* Pers. como opção forrageira.** *Agrária- Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. v.9, n.2, p.290-294, 2014. doi:10.5039/agraria.v9i2a3565.

PADILHA, C.; NOGUEIRA, C.; FILHO, M.; JÚNIOR, F.; DE ASSIS, C.; SOUZA, D.; DOS SANTOS, E. **Fractionation of green coconut fiber using sequential hydrothermal/alkaline pretreatments and Amberlite XAD-7HP resin.** *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 103474, 2019. doi:10.1016/j.jece.2019.103474.

PALMQVIST E. & HAHN-HÄGERDAL, B. **Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition.** *Bioresource Technology*, 74, 25–33, 2000. doi:10.1016/s0960-8524(99)00161-3 .

PAUL, S. & DUTTA, A. **Challenges and opportunities of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion.** *Resources, Conservation and Recycling*, 130, 164–174, 2018. doi:10.1016/j.resconrec.2017.12.005.

PIRES, J. S. C. **Fibras naturais: características químicas e potenciais aplicações.** Trabalho de conclusão, Bacharel Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, [s.n.], Botucatu -SP, 2009.

POMPÊO, M. **Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas em reservatórios tropicais brasileiros.** Instituto de Bio- ciências da USP, São Paulo, 2017.



RAGAGLINI, G.; DRAGONI, F.; SIMONE, M.; BONARI, E. **Suitability of giant reed (*Arundo donax* L.) for anaerobic digestion: Effect of harvest time and frequency on the biomethane yield potential.** *Bioresource Technology*, 152, 107–115, 2014, doi:10.1016/j.biortech.2013.11.004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413017082>

Acesso em 12 de dezembro de 2020.

RAPOSO, F.; DE LA RUBIA, M.; FERNÁNDEZ-CEGRÍ, V.; BORJA, R. **Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 16, p. 861–877, 2012. doi: 10.1016/j.rser.2011.09.008.

REMOR, P. **Digestão anaeróbia de bagaço de cana-de-açúcar: otimização de parâmetros operacionais de pré- tratamento alcalino.** Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira – PR, 2020.

ROBSON, T. O. **Making aquatic weeds useful: Some perspectives for developing countries.** *Aquatic Botany*, 4, p. 299–300, Amsterdam, 1978. doi:10.1016/0304-3770(78)90026-8.

ROLLAND, D.; HAURY, J.; MARMONIER, P.; LAGADEUC, Y. **Effect of Macrophytes on Flow Conditions and Deposition of Suspended Particles in Small Streams: an Experimental Study Using Artificial Vegetation.** *Revue des sciences de l'eau*, 28, p. 231-245, 2015 doi:10.7202/1034012ar.

ROLON, A.; LACERDA, T.; MALTCHIK, L.; GUADAGNIN, D. **Influence of area, habitat and water chemistry on richness and composition of macrophyte assemblages in southern Brazilian wetlands.** *Journal of Vegetation Science*, 19(2), 221–228, 2008. doi:10.3170/2008-8-18359.

SABA, N.; JAWAID, M.; SULTAN, M. **Thermal Properties of Oil Palm Biomass Based Composites.** 2017. doi:10.1016/b978-0-08-100959-8.00006-8.

SAHOO, D.; UMMALYMA, S.; OKRAM, A.; PANDEY, A.; SANKAR, M.; SUKUMARAN, R. **Effect of dilute acid pretreatment of wild rice grass (*Zizania latifolia*) from Loktak Lake for enzymatic hydrolysis.** *Bioresource Technology*, 253, 252–255, 2018. doi:10.1016/j.biortech.2018.01.048.

SÁNCHEZ, C. **Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi.** *Biotechnology Advances*, 27, 185–194, 2009. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.11.001.

SANKARAN, R.; CRUZ, R.; PAKALAPATI, H.; SHOW, P.; LING, T.; WEI-HSIN, C.; TAO, Y. **Recent advances in the pretreatment of microalgal and lignocellulosic biomass: A comprehensive review.** *Bioresource Technology*, 122476, 2019. doi:10.1016/j.biortech.2019.122476.

SANTOS, F.; DE QUEIRÓZ, J.; COLODETTE, J.; FERNANDES, S.; GUIMARÃES, V.; REZENDE, S. **Potencial de palha de cana-de-açúcar para produção de etanol.** *Química nova* v. 35, n. 5, São Paulo, 2012. doi.org/10.1590/S0100-40422012000500025. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422012000500025](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000500025). Acesso em 15 de dezembro de 2020.

SARTORELLI, P.; BENEDITO A.; FILHO, E.; SAMPAIO, A.; GOUVÊA, A. **Guia de plantas não desejáveis na restauração florestal.** Agroicone, São Paulo, 2018.

SAWATDEENARUNAT, C.; SURENDRA, K.; TAKARA, D.; OECHSNER, H.; KHANAL, S. **Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities.** *Bioresource Technology*, 178, 178–186, 2015. doi:10.1016/j.biortech.2014.09.103.

SEADI, T.; RUTZ, D.; PRASSL, H.; Köttner, M.; Finsterwalder, T; Volk, S.; Janssen, R.. **Biogas Handbook.** Denmark: University of Southern Denmark, 2008.

SHENG, Y.; LAM, S.; WU, Y.; GE, S.; WU, J.; CAI, L.; HUANG, Z.; LE, Q.; SONNE, C.; XIA, C. **Enzymatic conversion of pretreated lignocellulosic biomass: A review on influence of structural changes of lignin.** *Bioresource Technology*, v. 324, 2021. doi.org/10.1016/j.biortech.2020.12463. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/periodics/capes.gov.br/science/article/pii/S0960852420319052> Acesso em: 10 de fevereiro de 2021.

SHETTY, D. J.; KSHIRSAGAR, P.; TAPADIA-MAHESHWARI, S.; LANJEKAR, V.; SINGH, S. K.; DHAKEPHALKAR, P. K. **Alkali pretreatment at ambient temperature: A promising method to enhance biomethanation of rice straw.** *Bioresource Technology*, 226, 80–88, 2017. doi:10.1016/j.biortech.2016.12.003.

SHI, Y.; YAN, X.; LI, Q.; WANG, X.; LIU, M.; XIE, S.; YUAN, J. **Directed bioconversion of Kraft lignin to polyhydroxyalkanoate by *Cupriavidus basilensis* B-8 without any pretreatment.** *Process Biochemistry*, 52, 238–242, 2017. doi:10.1016/j.procbio.2016.10.004.

SIDDHU, M. A. H.; SIDDHU; LI, J.; et al. **Potential of Black Liquor of Potassium Hydroxide to Pretreat Corn Stover for Biomethane Production.** *Bioresources*, v. 11, n. 2, p. 4550–4563, 2016. doi:10.15376/biores.11.2.4550-4563.

SINGH, N.; MATHUR, A.; GUPTA, R.; BARROW, C.; TULI, D.; PURI, M. **Enzyme systems of thermophilic anaerobic bacteria for lignocellulosic biomass conversion.** *International Journal of Biological Macromolecules*, 168, 572–590, 2021. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.12.004. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S014181302035162X>.

Acesso em: 10 de fevereiro de 2021.

SINGHVI, M. & GOKHALE, D. **Lignocellulosic biomass: Hurdles and challenges in its valorization.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(23-24), 9305-9320, 2019. doi:10.1007/s00253-019-10212-7.

SOLARTE-TORO, J.; ROMERO-GARCÍA, J.; MARTÍNEZ-PATIÑO, J.; RUIZ-RAMOS, E.; CASTRO-GALIANO, E.; CARDONA-ALZATE, C. **Acid pretreatment of lignocellulosic biomass for energy vectors production: A review focused on operational conditions and techno-economic assessment for bioethanol production.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107, 587-601, 2019. doi:10.1016/j.rser.2019.02.024.

SUÁREZ, J. **Producción de biogás a partir de biomasa de microalgas *Scenedesmos* sp. procedente de diferentes procesos.** Tese de doutorado. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela de Ingenieros Agrónomos. Madrid, España, 2014. Disponível em: [http://oa.upm.es/28957/1/JUAN\\_LUIS\\_RAMOS\\_SUAREZ.pdf](http://oa.upm.es/28957/1/JUAN_LUIS_RAMOS_SUAREZ.pdf)

SUN, Y. & CHENG, J. **Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production.** *Bioresource Technology*, v. 96, 1599–1606, 2005. doi:10.1016/j.biortech.2004.12.022.

TAHERZADEH, M. & KARIMI, K. **Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review.** *International Journal of Molecular Sciences*, 9(9), 1621–1651, 2008. doi:10.3390/ijms9091621.

TOOR, M.; KUMAR, S.; MALYAN, S.; BISHNOI, N.; MATHIMANI, T.; RAJENDRAN, K.; PUGAZHENDHI, A. **An overview on bioethanol production from lignocellulosic feedstocks.** *Chemosphere*, vol.235, 2019. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125080.

TRIOLO, J. M.; PEDERSEN, L.; QU, H.; SOMMER, S. **Biochemical methane potential and anaerobic biodegradability of non-herbaceous and herbaceous phytomass in biogas production.** *Bioresource Technology*, 125, 226–232, 2012. doi:10.1016/j.biortech.2012.08.079.

UFSCAR. **O que são macrófitas aquáticas.** *Probio*. Disponível em: <[http://www.ufscar.br/~probio/info\\_macrof.html](http://www.ufscar.br/~probio/info_macrof.html)>. Acesso em 22 de agosto de 2020.

VAN GEEST, G.; WOLTERS, H.; ROOZEN, F.; COOPS, H.; ROIJACKERS, R.; BUIJSE, A.; SCHEFFER, M. **Water-level fluctuations affect macrophyte richness in floodplain lakes.** *Hydrobiologia*, 539(1), 239–248, 2005. doi:10.1007/s10750-004-4879-y.

VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J.; BOERJAN, W. **Lignin Biosynthesis and Structure.** *Plant Physiology*, 153, 895–905, 2010. doi:10.1104/pp.110.155119.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. **Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition.** *Journal of Dairy Science*, v. 74, p. 3583-3597, 1991. doi:10.3168/jds.s0022-0302(91)78551-2.

VASCO-CORREA, J.; GE, X.; LI, Y. **Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass.** *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*. c. 24, 561–585, 2016. doi:10.1016/b978-0-12-802323-5.00024-4.

VASCO-CORREA, J.; KHANAL, S.; MANANDHAR, A.; SHAH, A. **Anaerobic digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies.** *Bioresource Technology*, 247, 1015–1026, 2018. doi:10.1016/j.biortech.2017.09.004.

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

VIANA, D. G.; PIRES, F.; FERREIRA, A.; EGREJA FILHO, F.; CARVALHO, C.; BONOMO, R.; MARTINS, L. **Effect of planting density of the macrophyte consortium of *Typha domingensis* and *Eleocharis acutangula* on phytoremediation of barium from a flooded contaminated soil.** *Chemosphere*, 262, 127869, 2021. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.127869 Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0045653520320646>. Acesso em: 2 de janeiro de 2020.

WAN, C. & LI, Y. **Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass**. *Biotechnology Advances*, 30, 1447–1457, 2012. doi:10.1016/j.biotechadv.2012.03.003.

WEAVER, J. E. & CLEMENTS, F. E. **Plant ecology**. 2nd Edition, McGraw-Hill Book Co., New York, 1938.

WOICIECHOWSKI, A.; NETO, C.; VANDENBERGHE, L.; NETO, D.; SYDNEY, A.; LETTI, L.; SOCCOL, C. **Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – conventional processing and recent advances**. *Bioresource Technology*, 304, 122848, 2020. doi:10.1016/j.biortech.2020.122848 Disponível em: [https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0960852420301176](https://www.sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0960852420301176).

Acesso em 10 de fevereiro de 2020.

WOOD, K.; STILLMAN, R.; CLARKE, R.; DAUNT, F.; O'HARE, M. **Water velocity limits the temporal extent of herbivore effects on aquatic plants in a lowland river**. *Hydrobiologia*, 812(1), p. 45–55., 2016.

XU H.; LI Y.; HUA D.; ZHAO Y.; CHEN L.; ZHOU L.; CHEN G. **Effect of microaerobic microbial pretreatment on anaerobic digestion of a lignocellulosic substrate under controlled pH conditions**. *Bioresource Technology*, v. 328, 2021. doi:10.1016/j.biortech.2021.124852.

YOO, C.; MENG, X.; PU, Y.; RAGAUSKAS, A. **The critical role of lignin in lignocellulosic biomass conversion and recent pretreatment strategies: a comprehensive review**. *Bioresource Technology*, 301, 122784, 2020. doi:10.1016/j.biortech.2020.122784.

YOUSUF, A.; PIROZZI, D.; SANNINO, F. **Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels**. Elsevier, 2020. ISBN: 978-0-12-815936-1.

ZABED, H.; AKTER, S.; YUN, J.; ZHANG, G.; AWAD, F.; QI, X.; SAHU, J. **Recent advances in biological pretreatment of microalgae and lignocellulosic biomass for biofuel production**. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 105, 105–128, 2019.. doi.org/10.1016/j.rser.2019.01.048.

ZANOTTO, L. **Estudo de viabilidade econômica do biogás no processo de chamoscagem de suínos**. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Eficiência Energética Aplicada aos Processos Produtivos. Universidade Federal de Santa Maria, Camargo-RS, 2017.

ZHANG, S.; KESHWANI, D.; XU, Y.; HANNA, M. **Alkali combined extrusion pretreatment of corn stover to enhance enzyme saccharification.** *Industrial Crops and Products*, 37, 352–357, 2012. doi:10.1016/j.indcrop.2011.12.001.

ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. **Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production.** *Progress in Energy and Combustion Science*, 42, 35–53, 2014. doi:10.1016/j.pecs.2014.01.001.