

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E  
AMBIENTAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA  
AMBIENTAL**

**Rodrigo de Almeida Mohedano**

**USO DE MACRÓFITAS LEMNÁCEAS (*Landoltia punctata*) NO  
POLIMENTO E VALORIZAÇÃO DO EFLUENTE DE  
SUINOCULTURA E NA FIXAÇÃO DE CARBONO**

**Florianópolis  
2010**



Rodrigo de Almeida Mohedano

**USO DE MACRÓFITAS LEMNÁCEAS (*Landoltia punctata*) NO  
POLIMENTO E VALORIZAÇÃO DO EFLUENTE DE  
SUINOCULTURA E NA FIXAÇÃO DE CARBONO**

Tese de Doutorado submetida ao  
Programa de Pós-graduação em  
Engenharia Ambiental da Universidade  
Federal de Santa Catarina para a  
obtenção do grau de doutor em  
Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Belli Filho

Florianópolis  
2010

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária  
da  
Universidade Federal de Santa Catarina

M697u Mohedano, Rodrigo de Almeida

Uso de macrófitas lemnáceas (*Landoltia punctata*) no polimento e valorização do efluente de suinocultura e na fixação de carbono [tese]/ Rodrigo de Almeida Mohedano ; orientador, Paulo Belli Filho. - Florianópolis, SC, 2010. 270 p.: il., grafs., tabs., mapas, plantas

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

Inclui referências

1. Engenharia ambiental. 2. Suíno - Criação. 3. Suíno - Esterco. 4. Biomassa. 5. Biodigestor. I. Belli Filho, Paulo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. III. Título.

CDU 628.4



## TERMO DE APROVAÇÃO

“Uso de Macrófita Lemnáceas (*Landoltia punctata*) no Polimento e Valorização de Efluentes da Suinocultura e na Fixação de Carbono”.

Rodrigo de Almeida Mohedano

A Tese foi julgada e aprovada pela banca examinadora no Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

### DOUTOR EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Aprovado por:

Prof. Dr. Paulo Belli Filho.  
(Orientador)

Prof. Marcos Von Sperling, Dr.

Prof. Sérgio Túlio Cassini, Dr.

Prof.ª Rejane Hejena Ribeiro da Costa, Dr.ª

Prof.ª Catia Regina Silva de Carvalho Pinto, Dr.ª.

Prof. Luiz Sérgio Philippi, Dr.

Prof. Flávio Rubens Lapolli  
(Coordenador PPGEA)

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL  
DEZEMBRO/2010.



*“Se esse conhecimento pudesse ser obtido simplesmente pelo que dizem os outros homens, não seria necessário entregar-se a tanto trabalho e esforço, e ninguém se sacrificaria tanto nessa busca.. Alguém vai até à beira do mar e só vê água salgada, tubarões e peixes. E diz: Onde está a pérola de que tanto falam? Talvez não haja pérola nenhuma. Como é possível obter a pérola simplesmente ao olhar para o mar? Mesmo que esvaziasse o mar cem mil vezes com uma taça, jamais encontraria a pérola. É preciso um mergulhador para encontrá-la.”*

*Maulana Jalaluddin Rumi*



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus e aos Amigos pela Jornada até aqui, e daqui em diante.

Agradeço

À minha Família, meu porto seguro, a pedra fundamental sobre a qual se constroem os Homens.

Ao Professor Paulo Belli, pela orientação, confiança e pela amizade conquistada ao longo dos últimos anos. Pelo exemplo de serenidade e respeito, mesmo quando “a coisa fica feia”.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da UFSC, pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa e por tantas outras que, de alguma forma, contribuem para a melhoria da qualidade do nosso meio ambiente.

Ao CNPq, pelo auxílio de bolsas, um recurso chave para o desenvolvimento científico do país

Ao programa Petrobrás Ambiental e a toda a equipe do projeto Tecnologias Sociais para a Gestão da Água (TSGA).

À FAPESC, pelo auxílio para o desenvolvimento da pesquisa

Aos professores Rejane Costa e Sergio Martins pela amizade e apoio

Ao professor João Bosco Rozas Rodrigues e à pesquisadora. Flávia de Almeida Tavares, pelo apoio durante o árduo início de tudo.

À Família Wiggers: Ao Sr. Valdir e Dona. Vanilda, por nos receber em sua propriedade rural com gentileza, hospitalidade e respeito, valores raros nas grandes cidades hoje em dia (além do chimarrão). E, especialmente, ao Wolf, por nos ajudar na coleta e biometria das lemnas e na solução dos “pepinos” durante nossa ausência.

Aos professores Sérgio Túlio Cassini, Marcos Von Sperling; Cátia de Carvalho Pinto, Luiz Sérgio Philippi e Rejane Costa, por aceitar avaliar o nosso trabalho e pelas importantes contribuições.

À minha esposa Stefânia, por toda a ajuda, no laboratório, no campo e na vida.

Aos grandes amigos da equipe do Labeflu e do Lima: Heloisa, Cláudia, Stefânia, Cecília, Thales, Alexandre, Wanderli, Jorge, Jamile, Vivi, Anigeli, Margarida, Rodrigo Dotto (gaúcho), Mariele, Cris Lalau, Iria, Murilo, Alan, Dona Eliane, Arlete e Vitor.

À todos que, de alguma forma, contribuíram e ainda contribuirão com o nosso trabalho.

## Resumo

A suinocultura é uma das atividades mais impactantes ao meio ambiente no Estado de Santa Catarina devido ao potencial poluidor de seus dejetos. Além da contaminação direta de corpos d'água superficiais e subterrâneos, causando diversos problemas ecológicos, a decomposição destes dejetos gera uma grande quantidade de gases de efeito estufa (GEE) que atingem a atmosfera contribuindo para o fenômeno de mudanças climáticas. Levando-se em consideração as condições econômicas dos produtores rurais do Estado é de extrema importância que novas tecnologias, eficientes e de baixo custo, estejam disponíveis para contribuir com a redução dos impactos ambientais causados por essa atividade. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de macrófitas lemnáceas como uma tecnologia para o tratamento e valorização dos efluentes líquidos e gasosos da suinocultura. Estas plantas, além de apresentarem bons resultados para a redução de parâmetros de poluição, principalmente nutrientes (N e P), também produzem uma biomassa de elevado valor nutricional. Assim, foram desenvolvidos dois experimentos. O primeiro estudo foi desenvolvido em escala real, onde avaliou-se a eficiência de duas lagoas em série, com macrófitas lemnáceas da espécie *Landoltia punctata*, no tratamento do efluente de suinocultura, após o tratamento em um biodigestor. Também observou-se a produção de biomassa de lemnas e seu teor de proteína bruta (PB) para fins de valorização na alimentação animal. Para o segundo estudo, realizado em escala de bancada, testaram-se os efeitos de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> (1500, 6000 e 100.000ppm) na fixação de carbono pelas lemnas, tendo em vista a redução de GEE, e na absorção de nitrogênio e fósforo. Após um ano de monitoramento as lagoas de lemnas apresentaram excelentes resultados no polimento do efluente, para os parâmetros avaliados, com as seguintes eficiências de remoção: NTK= 98%, N-NH<sub>3</sub>= 99%, Pt= 94%, DQO= 96%, DBO<sub>5</sub>= 95%, ST = 92%, *E. coli* = 2 log. Quanto à biomassa de lemnas constatou-se uma produtividade de 180g/m<sup>2</sup>/dia de matéria fresca, ou 68t/ha/ano, com um teor de proteína médio de 35%, totalizando 24tPB/ha/ano. Para a avaliação das concentrações de CO<sub>2</sub> conclui-se que sob 100.000ppm as plantas apresentaram o maior crescimento, removendo mais CO<sub>2</sub> e nutrientes. A taxa de fixação de carbono foi 7,15gC/m<sup>2</sup>/dia, ou cerca de 25tC/ha/ano, já as taxas de remoção de NO<sub>3</sub> e PO<sub>4</sub> foram 1,6 e 0,15mg/L/h respectivamente. Deste modo conclui-se que as lagoas de lemnas podem contribuir para a

sustentabilidade de estabelecimentos suínícolas, através da redução dos impactos ambientais causados por seus efluentes líquidos e gasosos, além de agregar valor ao tratamento pela produção de biomassa protéica.

**Palavras Chave:** Lemnas, tratamento de efluentes, suinocultura, fixação de carbono, GEE

## Abstract

Due to the swine waste pollution potential, the pig farming is considered one of the most impactful activities for the environment, at Santa Catarina State, Brazil. Besides several ecological problems caused by the direct contamination of surface water bodies and groundwater, the swine waste decomposition generates large quantities of greenhouse gases (GHG) that reach the atmosphere contributing to the global warming and climatic changes. Considering the economic conditions of swine producers within the state, is of utmost importance that new, efficient and low cost technologies may be available to contribute for the reduction of environmental impacts caused by this activity. So, this study aimed to evaluate the potential of duckweed as a technology for the treatment and recovery of liquid and gaseous effluents from pig farming. These macrophytes besides good results in reducing pollution parameters, specially nutrients (N and P), also produce biomass, with a high nutritional value. Two experiments were developed during the study. The first at real scale evaluated the efficiency of two serial ponds, with *Landoltia punctata* duckweed species, for the swine waste treatment after a pre-treatment using an anaerobic digester. Two experiments were developed during the study. The biomass production and crude protein (CP) content from duckweed were also observed for valorization at animal feed. For the second study, a pilot scale experiment, the effects of high CO<sub>2</sub> concentrations (1500, 6000 and 100.000ppm) were tested in the carbon fixation, in view of GHG emissions reduction and absorption of nitrogen and phosphorus. After one year of monitoring, the duckweeds ponds had excellent results in effluent polishing for the evaluated parameters, with the respective efficiencies: TKN = 98%, NH<sub>3</sub>-N = 99%, P<sub>total</sub> = 94%, COD = 96%, BOD<sub>5</sub> = 95%, TS = 92%, E.coli = 2 log. As for the duckweed biomass, an original matter productivity of 180g·m<sup>-2</sup>·day was observed (or 68ton·ha<sup>-1</sup>·year), with an average protein content of 35%, totalizing 24tCP·m<sup>-2</sup>·year. For the CO<sub>2</sub> concentration evaluation, it is concluded that plants under 100.000ppm showed the highest growth by removing more CO<sub>2</sub> and nutrients. The carbon fixation rate was 7.15gC·m<sup>-2</sup>·day (about 25 tonC·ha<sup>-1</sup>·year), and the NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> removal rates were 1,6 and 0,15mg·L<sup>-1</sup>·h respectively. Thus it is concluded that duckweed ponds

may contribute to the sustainability of pig farms in Santa Catarina, through reducing environmental impacts caused by its liquid and gaseous effluents, moreover adding value to treatment by the protein biomass production.

**Key-Words:** Duckweeds, pig waste treatment, pigfarming, carbon fixation, GHG

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Aspecto do efluente bruto de suinocultura (acima); Rio contaminado com dejetos de suínos (abaixo)..... 48
- Figura 2: Aves se alimentando de lemnas no ambiente natural (esquerda); Aspecto das raízes em uma população de lemnas (direita)..... 55
- Figura 3: Invasão de lemnas (*Lemna obscura*) no Lago Maracaibo (Venezuela). (A) Imagem de satélite com destaque para a população de lemnas que cresceram entre junho (esquerda) e setembro (direita) de 2004; (B) Remoção de biomassa de lemnas do Lago Maracaibo, com carretas; (C e D) População de lemnas dominando completamente a superfície do Lago Maracaibo..... 56
- Figura 4: Distribuição geográfica da subfamília Lemnoideae. Os números representam limitações ao desenvolvimento devido: (1)- regiões desérticas; (2)- regiões de muita pluviosidade; (3) - regiões de frio intenso; (5)- regiões com poucas informações..... 59
- Figura 5: Desenho esquemático de *Lemna aequinocialis* para demonstração das pequenas dimensões das estruturas deste grupo botânico..... 59
- Figura 6: Imagens de *Landoltia punctata*: 1- fronde; 2- raízes; 3- vista inferior da fronde; 4- fronde filha. .... 62
- Figura 7: Esquerda: Lagoa de lemnáceas (*Lemna minor*) para tratamento terciário de esgoto doméstico, na Carolina do Norte – USA. Detalhe para a colheitadeira flutuante desenvolvida para colher a biomassa de lemnas. Os quadrados visíveis são tubos plásticos flutuantes para que as lemnas não sejam arrastadas pelo vento, cada quadrado possui (2,5 x 2,5m). No quadrante inferior direito vê-se um sistema com lemnas, para polimento

de efluente doméstico, com design em serpentinas e capacidade para 38.000m3/dia..... 64

Figura 8: Lagoas de tratamento com lemnáceas nos EUA (acima), na Índia e Taiwan (abaixo). Detalhe para a diferença operacional. .... 65

Figura 9: Representação de processos que ocorrem durante o tratamento de efluentes, em lagoas com lemnáceas..... 70

Figura 10: Exemplo da remoção de amônia (a) e fosfato (b), em efluente de suinocultura, e da produção de biomassa de lemnas (*Spirodela polirrhiza*) ao longo do tempo(c), segundo Cheng et al (2002a) ..... 82

Figura 11: Teor de proteína bruta nas lemnas e em outros alimentos comumente utilizados em dietas para animais ..... 84

Figura 12: Concentração de aminoácidos essenciais (lisina e metionina) na biomassa de lemnas e em outros alimentos utilizados em dietas para animais..... 84

Figura 13: Detalhe das principais reações do Ciclo de Calvin com destaque para a incorporação do carbono inorgânico na molécula intermediária Ribulose -1,5- bifosfato. (em vermelho)..... 90

Figura 14: Variação na assimilação de CO<sub>2</sub> por Lemna giba, em diferentes intensidades de luz, sob a concentração atmosférica normal (350ppm) e sob 5000ppm de CO<sub>2</sub> ..... 93

Figura 15: Exemplo de lemnas cultivadas em estufa passível de aplicação de CO<sub>2</sub>..... 95

Figura 16: Açudes para a prática de piscicultura. .... 99

Figura 17: Localização da propriedade suinícola onde se desenvolveu o experimento ..... 100

Figura 18: Visão geral da propriedade, com destaque para: esterqueira ou reservatório de recalque (1); biodigestor (2); lagoa de

armazenamento (3); lagoa de lemnas 1; (4); lagoa de lemnas 2 (5); área agricultável (6).....	102
Figura 19: Planta com visualização das dimensões das estruturas de tratamento.....	103
Figura 20: Readequação da lagoa de lemnas 1, com instalação da geomembrana.....	104
Figura 21: Lagoas de lemnas utilizadas no experimento.....	104
Figura 22: Croqui do sistema de tratamento na propriedade suinícola. ....	105
Figura 23: Fluxograma do sistema de tratamento. As setas indicam o fluxo do efluente. Bio – Biodigestor; LA -Lagoa de armazenamento; RCV – Reservatório de controle de vazão; LM1 - Lagoa de lemnas 1; LM2 - Lagoa de lemnas 2; RR – Reservatório para reuso.....	106
Figura 24: Divisória flutuante para retenção da biomassa .....	110
Figura 25: Remoção da biomassa de lemnas durante o tratamento do efluente.....	116
Figura 26: Lemnas sendo arrastadas para as margens para coleta de biomassa.....	116
Figura 27: Secagem da biomassa de lemnas ( <i>Landoltia punctata</i> ) .....	117
Figura 28: Amostragem da biomassa por m <sup>2</sup> .....	118
Figura 29: Pesagem para quantificação da biomassa amostrada.....	119
Figura 30: Secagem e congelamento da biomassa de Lemnas.....	120
Figura 31: Biometria das plantas, com auxílio do paquímetro virtual (Screen Caliper®) .....	123
Figura 32: Plantas escolhidas como padrão de sanidade vegetal .....	124
Figura 33: Desenho esquemático de uma câmara de crescimento: 1- entrada de CO <sub>2</sub> ; 2-tubo de coleta; 3-orifício para leitura de CO <sub>2</sub> ; 4- meio de cultura.....	127

Figura 34: Câmaras de crescimento utilizadas como unidades experimentais, com destaque para os orifícios de coleta (A e C); reservatório para meio de cultura (B); ventoinhas (D). 128	128
Figura 35: Medição da radiação luminosa com Quantômetro (esquerda); porcentagem de energia proporcionada pelas lâmpadas utilizadas, nos diversos comprimentos de onda (direita). ... 129	129
Figura 36: Sistema de iluminação nas unidades experimentais. .... 130	130
Figura 37: Utilização de do cilindro de CO <sub>2</sub> no preenchimento de um saco Tedlar®..... 130	130
Figura 38: Representação dos ensaios com os respectivos tratamentos após o sorteio das posições: (RF) reatores fotossintéticos; (Ct) Controle 380ppm; C1-1.500ppm; C2-6.000ppm e C3-100.000ppm ..... 134	134
Figura 39: Pesagem inicial e inoculação das lemnas nos Reatores Fotossintéticos (RF)..... 138	138
Figura 40: Introdução do CO <sub>2</sub> no Reator Fotossintético, através de um saco Tedlar® (esquerda); Medição de CO <sub>2</sub> com o sensor Instrulterm (direita). Destaque para as mangueiras de conexão. .... 139	139
Figura 41: Coleta de amostras nos reatores (esquerda); Introdução de sonda para determinação de pH e temperatura (direita)..... 141	141
Figura 42: Medição de CO <sub>2</sub> com sensor Landtec GEM 2000, detalhe do display indicando a concentração de CO <sub>2</sub> , em porcentagem. .... 142	142
Figura 43: Valores médios de DQO e DBO <sub>5</sub> no dejetto bruto (DB) e após o Biodigestor (Bio) ..... 149	149
Figura 44: Variação da DQOt, DQOf e DBO <sub>5</sub> no efluente do biodigestor, ao longo do período experimental..... 150	150
Figura 45: Crescimento da população das macrófitas, duas semanas após o povoamento em LM1 ..... 152	152

Figura 46: Precipitação mensal na propriedade, durante o período da pesquisa.....	155
Figura 47: Variação da temperatura na superfície e fundo, em LM1 e LM2.....	156
Figura 48: Valores médios (mediana) do pH nas Lagoas de tratamento (LA, LM1 e LM2).....	157
Figura 49: Variação do pH, em LM1 e LM2, na superfície e no fundo, ao longo do período experimental.....	158
Figura 50: Variações na concentração de OD em LM1(superfície e fundo - a), LM2 (superfície e fundo - b) e nas três etapas (c), ao longo do período experimental.....	161
Figura 51: Concentrações médias de oxigênio dissolvido nas lagoas de tratamento e medidas de dispersão.....	162
Figura 52: Representação dos valores médios para DQO total no afluente, em LM1 e LM2. ....	165
Figura 53: Variações na concentração de DBO <sub>5</sub> em LA (afluente), LM1 e LM2, durante o período experimental. As linhas pontilhadas representam as médias.....	165
Figura 54: Variações de DQO total, em LA, LM1 e LM2, ao longo do período experimental. As linhas pontilhadas representam as médias. ....	166
Figura 55: Desenvolvimento de algas no mês de novembro, em LM1. (A) Comunidade algal entre as lemnas; (B) Filamentos de macro-algas desenvolvidas em LM1; (C) Amostra do efluente de LM1, com forte coloração esverdeada, coletada em 04/11/2009. ....	168
Figura 56: Variações na concentração de Sólidos Totais (ST) no afluente (A), em LM1 e LM2 (B) e de clorofila a em LM1 e LM2 (C), ao longo do período experimental.....	169

Figura 57: Aspecto visual do efluente coletado no biodigestor (Bio), na lagoa de armazenamento (LA) e na lagoa de lemnas 2 (LM2). .....	170
Figura 58: Valores médios e medidas de dispersão para NTK nas lagoas avaliadas .....	171
Figura 59: Valores médios e medidas de dispersão para N-NH <sub>3</sub> nas lagoas avaliadas. ....	171
Figura 60: Concentração de nitrogênio amoniacal em LM1 calculada após a mistura pela aplicação de cargas volumétricas e os respectivos volumes aplicados.....	174
Figura 61: Porcentagem de nitrogênio removido via desnitrificação (N <sub>2</sub> ↑) e via absorção pela biomassa de lemnas (N <sub>bm</sub> ), em LM1 e LM2.....	177
Figura 62: Variação de NTK nas lagoas de tratamento ao longo do período experimental .....	179
Figura 63: Variação de NTK nas lagoas de tratamento ao longo do período experimental .....	180
Figura 64: Valores médios e desvio padrão da concentração de fósforo total na lagoa de armazenamento (LA), lagoa de lemnas 1 (LM1) e lagoa de lemnas 2 (LM2).....	181
Figura 65: Variações na concentração de fósforo total ao longo do período experimental, nas lagoas de tratamento (LA, LM1 e LM2). ....	184
Figura 66: Redução de coliformes totais e <i>E. coli</i> nas lagoas de lemnas avaliadas. Valores representados por média geométrica (n=13) .....	187
Figura 67: Variação na concentração de células de <i>E. coli</i> ao longo do período amostral, em LA (acima), LM1 e LM2 (abaixo) ...	188
Figura 68: Valores médios para densidade de biomassa de lemnas, nas lagoas LM1 e LM2, durante o período experimental (g de biomassa úmida/m <sup>2</sup> ). ....	192

Figura 69: Densidade de biomassa de lemnas, em LM1 e LM2 durante o período avaliado.....	193
Figura 70: Redução da densidade da população de lemnas nas lagoas de tratamento (LM1 e LM2), no mês de novembro, com destaque para aglomerados formando manchas sobre a superfície....	194
Figura 71: Valores médios, variância e desvio padrão para o teor de proteína bruta na biomassa de lemnas produzida nas lagoas de tratamento ao longo do período experimental.....	197
Figura 72: Teor de proteína bruta (PB%) na biomassa de lemnas, em LM1 e LM2. As linhas pontilhadas representam as médias (35 e 28%).....	197
Figura 73: Correlação entre a densidade de biomassa em LM1 e o teor de proteína bruta.....	198
Figura 74: Teor e produtividade de proteína bruta (PB) entre a soja* e a biomassa de lemnas produzidas em LM1 e LM2. * base de cálculo segundo EMBRAPA SOJA (2010), 2.666kg/ha, com 40%PB. ....	200
Figura 75: Tilápias do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) alimentadas com a biomassa de lemnas frescas produzidas nas lagoas de tratamento (LM1 e LM2). Peixes com cerca de 400g.....	201
Figura 76: Diferentes aspectos da população de lemnas observados ao longo do experimento: (acima) paleta de cores; (A) Manchas de super-densidade, amareladas a cinzas. (B) Manchas de necroses, esbranquiçadas. (C) Clareiras e diversas manchas, no mesmo período.....	204
Figura 77: Fatores de possíveis interferências nas lagoas de lemnas: (A) Desenvolvimento de algas; (B) Infestação de moscas (dípteros); (C) desenvolvimento de anfíbios (apenas em LM2); (D) Ação de ventos fortes sobre a cobertura de lemnas. ....	206

Figura 78: Proliferação de <i>Wolffia</i> sp entre as frondes de <i>L. punctata</i> . .....	207
Figura 79: Correlação entre comprimento das raízes e a concentração de N-NH <sub>3</sub> , em LM1. ....	208
Figura 80: Variação do comprimento das raízes das lemnas o longo do período experimental, em LM1 e LM2 e os respectivos valores médios .....	209
Figura 81: Exemplo de tamanhos de frondes e raízes entre amostras (dias 04/11/09 e 12/01/10).....	210
Figura 82: Imagens para avaliação da sanidade vegetal segundo a coloração: (A-1) janeiro - LM1; (B-1) janeiro - LM2; (C-1) novembro- LM1; (D-1) novembro - LM2. (A-2 a D-2) Mesmas imagens com 80% de contraste. As cores dominantes estão marcadas com um “X” sobre a paleta.....	213
Figura 83: Atribuição de cores para a biomassa de lemnas desenvolvida em LM1 e LM2 ao longo do período experimental, como um indicador de sanidade. Estado ótimo =1 e 2; Bom = 3; Regular = 4 e 5; Ruim = 6; Mortas = 7 e 8.....	215
Figura 84: Necroses e cloroses em frondes amostradas nas lagoas de tratamento. A e B população de LM1 em agosto (círculos vermelhos destacando as lesões na imagem com contraste em 80%).....	216
Figura 85: Diferença morfológica entre lemnas ( <i>Landoltia punctata</i> ) cultivadas nos reatores fotossintéticos e sob iluminação solar, com o mesmo meio nutritivo. ....	219
Figura 86: Variação na concentração de [CO <sub>2</sub> ] na fase gasosa, entre os tratamentos (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm). .	221
Figura 87: Redução da concentração de CO <sub>2</sub> no ensaio 2 (Ct = 380ppm; C3= 100.000ppm). ....	221

Figura 88: Concentração de CO <sub>2</sub> média e desvio padrão reduzida em todos os tratamentos avaliados (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm). .....	222
Figura 89: Crescimento da biomassa (em vermelho) sob as diferentes concentrações de CO <sub>2</sub> avaliadas (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm). .....	225
Figura 90: Variação da concentração média de nitrato nos tratamentos avaliados (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm). .....	226
Figura 91: Variação da concentração média de fosfato nos tratamentos avaliados (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm). .....	227
Figura 92: Formas de carbono inorgânico dissolvido, em função do pH. ....	229
Figura 93: Variação da concentração média de CO <sub>2</sub> dissolvido, ao longo do período experimental (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm). As linhas pontilhadas representam a tendência linear. ....	231
Figura 94: Variação média do pH nos reatores fotossintéticos, ao longo do período experimental, nos diferentes tratamentos (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm). As linhas pontilhadas representam a tendência linear. ....	231



## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Variação da composição nutricional de lemnáceas .....	86
Tabela 2: Dimensões das lagoas de lemnas (LM1 e 2) .....	103
Tabela 3- Métodos analíticos utilizados .....	113
Tabela 4: Padrão de cores (RGB) para referenciar o estado da sanidade vegetal das lemnas .....	125
Tabela 5: Atribuição de valores numéricos aos estados de sanidade das lemnas e às respectivas cores indicadoras.....	125
Tabela 6: Composição do meio de cultura SSI – Swedish Standard Institute (ISO/DIS, 2003).....	132
Tabela 7: Concentrações de CO <sub>2</sub> utilizadas na avaliação (tratamentos) .....	133
Tabela 8: Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento (25 campanhas).....	147
Tabela 9: Cargas hidráulicas de efluente aplicadas em LM1 no período experimental.....	154
Tabela 10: Temperaturas médias na superfície e fundo em LM1 e LM2, nas diferentes estações do ano.....	156
Tabela 11: Valores médios, máximos, mínimos e desvios padrão da concentração de OD nas lagoas de lemnas e no afluente (n=25; p> 0,05).....	160
Tabela 12: Cargas de NTK e NH <sub>3</sub> aplicadas e removidas durante todo o período experimental (380dias), bem como a eficiência de remoção.....	172
Tabela 13: Taxas de aplicação e remoção superficial, aplicadas e removidas para LM1 e LM2 .....	172

Tabela 14: Cargas de fósforo (Pt), aplicadas e removidas, durante todo o período experimental (380dias), bem como a eficiência de remoção em LM1 e LM2. ....	182
Tabela 15: Taxas de aplicação e remoção superficial de fósforo (Pt), em LM1 e LM2.....	182
Tabela 16: Taxas de crescimento, em ordem crescente, encontradas em diferentes estudos.....	190
Tabela 17: Numero de amostras para cada tratamento .....	219
Tabela 18: Balanço de CO <sub>2</sub> nas câmeras de crescimento considerando a fase gasosa. ....	223
Tabela 19: Avaliação da biomassa de lemnas nos diferentes tratamentos .....	225
Tabela 20: Redução de nitrato entre os tratamentos .....	227
Tabela 21: Redução de fosfato entre os tratamentos.....	228
Tabela 22: Avaliação do dióxido de carbono dissolvido nos tratamentos .....	232
Tabela 23: Balanço de CO <sub>2</sub> removido, em ambas as fases (meio líquido e gasoso). ....	233

## **Lista de Abreviaturas e Símbolos**

**Bio** – Biodigestor

**Ct** – Concentração de CO<sub>2</sub> atmosférica tida como controle (380ppm)

**C1** – Concentração de CO<sub>2</sub> avaliada = 1500ppm

**C2** - Concentração de CO<sub>2</sub> avaliada = 6000ppm

**C3** - Concentração de CO<sub>2</sub> avaliada = 100.000ppm

**Ci** – Carbono inorgânico

**LM1** – Lagoa de Lemnas 1

**LM2** – Lagoa de Lemnas 2

**LA** – Lagoa de Armazenamento

**DB**-Dejeto bruto

**PB** – Proteína Bruta

**(CP)** – Crude Protein

**CO<sub>2</sub>D** – Gás carbônico dissolvido

[ ] – Concentração de determinada substância descrita entre colchetes

**DBO<sub>5</sub>**- Demanda bioquímica de oxigênio

**DQO<sub>t</sub>**- Demanda química de oxigênio total

**DQO<sub>f</sub>**- Demanda química de oxigênio filtrada

**P** – Elemento fósforo

**PT**- Fósforo total

**N** – Elemento nitrogênio

**N-NH<sub>3</sub>**-Nitrogênio amoniacal

**NTK** - Nitrogênio total Kjeldahl

**NH<sub>3</sub>**- Amônia livre

**N-NO<sub>2</sub>**-Nitrogênio em forma de nitrito

**N-NO<sub>3</sub>** - Nitrogênio em forma de nitrato

**pH**- Potencial hidrogeniônico

**OD** - Oxigênio dissolvido

**T** -Temperatura

**ST**- Sólidos totais

**TDH** – Tempo de Detenção Hidráulica

**TCR** – Taxa de crescimento relativo

**TCE** – Taxa de crescimento específico

**m.a.** – milhões de anos



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	35
1.1 Hipóteses e Questões de Pesquisa.....	40
1.2. Contextualização da pesquisa no PPGEA/UFSC.....	42
2. OBJETIVOS.....	43
2.1 Objetivo Geral.....	43
2.1 Objetivos específicos.....	43
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	45
3.1 Problemática.....	45
3.1.1 A poluição das águas .....	45
3.1.2 A suinocultura: impactos e produção.....	45
3.1.3 A emissão de CO <sub>2</sub> e as mudanças climáticas .....	50
3.1.4 A produção de animais e a emissão de GEE.....	52
3.2 As lemnas.....	53
3.2.1 Aspectos gerais .....	53
3.2.2 Aspectos ecológicos.....	54
3.2.3 Aspectos botânicos.....	57
3.2.4 Descrição da espécie utilizada neste estudo: <i>Landoltia punctata</i> .....	60
3.3 Lemnas no tratamento de efluentes.....	62
3.3.1 Aspectos gerais .....	62
3.3.2 Remoção de nutrientes.....	66
Remoção de nitrogênio .....	66
Remoção de fósforo.....	68
3.3.3 Remoção matéria orgânica (DQO e DBO <sub>5</sub> ).....	70
3.3.4 Remoção de coliformes e patógenos.....	72

3.3.5	Influência na proliferação de insetos .....	73
3.3.6	Remoção de metais pesados .....	73
3.3.7	Remoção de sólidos suspensos .....	75
3.3.8	Redução de odores.....	75
3.3.9	Aspectos de Engenharia e Operação.....	76
3.3.10	Lagoas de lemnáceas e a suinocultura .....	80
3.4	Usos da biomassa de lemnas.....	83
3.5	A Fotossíntese e a Fixação do CO <sub>2</sub> .....	88
3.5.1	Efeitos da concentração de CO <sub>2</sub> no crescimento de Lemnáceas .....	91
3.5.2	Aplicabilidade da injeção de CO <sub>2</sub> em lagoas de Lemnáceas, na suinocultura.....	94
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	97
4.1.	Lagoas de lemnas no polimento do efluente de suinocultura (experimento em escala real).....	97
4.1.1	Seleção da espécie utilizada.....	97
4.1.2	Caracterização da área de estudo .....	98
4.1.3	O manejo dos suínos.....	99
4.1.4	O manejo dos dejetos.....	101
4.1.5.	Lagoas de lemnas experimentais .....	102
4.1.6	Delineamento experimental .....	107
4.1.6.1	Dimensionamento das cargas .....	107
4.1.7	Partida do experimento .....	109
	Período de adaptação das lemnas ao sistema.....	109
	Remoção da biomassa .....	111
	Monitoramento .....	112
	Tratamento dos Dados.....	114

Valorização do tratamento pela biomassa de lemnas.....	115
Manejo de remoção e avaliação quantitativa .....	115
Avaliação da produtividade de biomassa.....	117
Avaliação qualitativa da biomassa (teor de proteína) .....	120
Avaliação dos aspectos morfológicos e de sanidade vegetal ..	121
Avaliação dos aspectos gerais da população nas lagoas de tratamento .....	122
Avaliação do aspecto de plantas individuais (clones).....	122
4.2 Remoção de nutrientes e fixação de CO <sub>2</sub> em altas concentrações (experimento em bancada).....	126
4.2.1 Localização e Estrutura.....	126
Câmaras de crescimento .....	126
Sistema de iluminação .....	128
Meio de cultura.....	131
4.2.2 Delineamento experimental .....	132
4.2.3 Procedimentos.....	135
Inoculação do material biológico e pré- cultura .....	135
Avaliação do crescimento.....	136
Fotoperíodo.....	137
Temperatura.....	137
4.2.4 A partida do experimento.....	137
4.2.5 Monitoramento.....	140
Fase aquosa.....	140
Fase gasosa .....	141
Biomassa.....	142
4.2.7 Análises e tratamento dos dados .....	143
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	145

5.1 Avaliação de lagoas de lemnas no polimento e valorização de dejetos suínos.....	145
5.1.1 Caracterização do dejetos bruto (DB) .....	145
5.1.2 Sistema de Tratamento Anaeróbio (Biodigestor e Lagoa de Armazenamento) .....	148
5.1.3 Avaliação do Sistema de Lagoas de Lemnas .....	151
5.1.3.1 Monitoramento das variáveis qualitativas do efluente	155
Variáveis Climáticas (Precipitação e Temperatura) .....	155
Potencial de Hidrogênio (pH).....	156
Oxigênio dissolvido (OD) .....	159
Avaliação da Matéria Orgânica – DQO e DBO <sub>5</sub> .....	162
Sólidos Totais, Turbidez e Clorofila <i>a</i> .....	166
Avaliação de Nitrogênio (N-NH <sub>3</sub> e NTK).....	170
Balanço de Nitrogênio Removido .....	174
Variação Temporal do Nitrogênio.....	178
Fósforo Total (Pt) .....	180
<i>Escherichia coli</i> .....	185
5.1.3.2 Avaliação da biomassa .....	189
Avaliação quantitativa .....	189
Avaliação qualitativa da biomassa (valorização pela produção de proteína).....	195
Avaliação dos aspectos morfológicos e de sanidade vegetal .....	202
5.2. Remoção de nutrientes e fixação de CO <sub>2</sub> em altas concentrações (experimento piloto).....	218
5.2.1 Pré-cultura .....	218
5.2.2 Monitoramento da concentração de CO <sub>2</sub> na fase gasosa....	219

5.2.3 Avaliação sobre a biomassa de lemnas .....	223
5.2.3 Monitoramento da fase aquosa .....	226
5.2.3.1 Remoção de nutrientes do meio líquido.....	226
5.3.2.2 Monitoramento do CO <sub>2</sub> dissolvido .....	229
6. CONCLUSÕES.....	234
7. RECOMENDAÇÕES.....	238
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	239



## 1. INTRODUÇÃO

Em uma retrospectiva recente do cenário das questões ambientais globais observa-se a emergência de dois temas principais: *A Questão das Águas e o Aquecimento Global*. Assim, devido a suas proporções e relevância, estes temas têm sido a base de discussões, em diversas conferências internacionais, e pré-requisito nas políticas desenvolvimentistas elaboradas pela Organização das Nações Unidas<sup>1</sup>. Nesta paisagem de políticas internacionais fundamentadas na preservação do meio ambiente global, *a ciência tem um papel fundamental*. Pois, os dados de base científica, desenvolvidos por sólidas instituições em todo o mundo, formam o alicerce para a tomada de decisões. Estas informações apontam as ações prioritárias, além de subsidiarem as modelagens matemáticas que geram as previsões e estatísticas, instrumentos chave deste processo.

A preocupação com a disponibilidade de água de boa qualidade para manutenção da vida na biosfera inundou o palco mundial das lideranças durante a década de 1990. Em março de 1992, a Organização das Nações Unidas redigiu um documento intitulado "Declaração Universal dos Direitos da Água", anunciando de forma clara o compromisso de todas as nações com a preservação deste recurso. No Brasil, um grande marco na mudança de conduta sobre as ações que lesam a qualidade das águas é a efetivação da Lei 9.433/97, que institui o Plano Nacional de Recursos Hídricos e regulamenta os usos múltiplos das águas em nosso país (BRASIL, 1997).

Já, na última década observa-se um processo onde o foco da problemática ambiental passa de uma visão regional para os impactos de proporções globais. A idéia quase "apocalíptica" de que as atividades humanas poderiam afetar o clima da Terra é hoje uma realidade. Devido à extrema complexidade dos fatores que regem a dinâmica climática, em seus longos ciclos, é muito difícil afirmar categoricamente que as "mudanças climáticas" atuais devem-se às ações antrópicas. Contudo, sabe-se que a elevação da concentração de alguns gases na atmosfera, como o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e o metano (CH<sub>4</sub>), aumentam a

---

<sup>1</sup> UNCED (United Nations Conference on Environment and Development); UNEP (United Nations Environment Programme); GEF (Global Environment Facility); GEMS (Global Environmental Monitoring System); IWRM (Integrated Water Resources Management); UCC-Water (Collaborating Centre on Water and Environment); UNDP (United Nations Development Programme); IPCC Intergovernmental Panel on Climate Change

retenção do calor desencadeando o processo de aquecimento global, “batizado” como Efeito Estufa.

A partir da revolução industrial, com a mecanização dos sistemas produtivos, houve um grande aumento na demanda de fontes de energia. Os combustíveis como o carvão e mais tarde do petróleo, que alavancaram a indústria e os meios de transporte, também introduziram bilhões de toneladas de carbono na atmosfera através do CO<sub>2</sub>, subproduto da combustão. Dois séculos mais tarde, cientes das dimensões deste fato, líderes de diversos países assinaram, em 1997, (em Quioto - Japão) um tratado que preconiza a redução de 5% das emissões de gases do efeito estufa (GEE) até 2012 (IPCC, 1997). Esse tratado conhecido como “Protocolo de Quioto” é um marco de uma corrida tecnológica para o desenvolvimento de mecanismos mais limpos de produção (MDL- Mecanismo de Desenvolvimento Limpo).

Por outro lado, ao considerarmos países em desenvolvimento, como o Brasil, que possui nas atividades agropecuárias o alicerce da sua economia, a situação é diferente. Em nosso país, os principais impactos ambientais, tanto sobre atmosfera como recursos hídricos, parecem estar mais relacionadas às atividades rurais (desmatamento, queimadas, dejetos animais, etc.) e não a atividades industriais (efluentes industriais). Para ilustrar pode-se citar que aproximadamente 20% do metano (GEE) produzido por ações antrópicas, no mundo, são oriundos da pecuária (FAO 2006). Para o Brasil, foram estimadas emissões de cerca de 9,2 milhões de toneladas de metano provenientes da pecuária, considerando-se os efetivos de categorias de animais ruminantes e falso-ruminantes e a produção de dejetos animais (EMBRAPA, 2001). Essas emissões correspondem a 96% de todo o metano gerado por fontes de origem agrícola no país (que incluem também o cultivo de arroz irrigado por inundação e a queima de resíduos agrícolas nos campos).

Quanto aos recursos hídricos, a situação não é diferente. Um estudo realizado pela ANA (Agência Nacional das Águas, 2009) aponta que, dos 840 mil litros de água consumidos por segundo no Brasil, 69% vão para a irrigação. Além do grande volume de água utilizado no meio rural, as práticas de mau uso dos recursos hídricos causam grande deterioração em sua qualidade, além de alterações nos ciclo hidrológico.

Com o Plano de Aceleração do Crescimento (PAC) instituído pelo Governo Federal, o desenvolvimento do setor agrícola e as exportações de produtos primários se destacaram pelos maiores crescimentos dentre todos os setores da economia nacional. Assim, a agropecuária liderou o PIB (Produto Interno Bruto) brasileiro com um

crescimento de 7,1%, entre o primeiro semestre de 2007 e 2008 (IBGE, 2008). Deste modo, é seguro afirmar que os maiores impactos sobre meio ambiente, em nosso país, provem deste setor. Como consequência da posição de “celeiro do mundo”, os ecossistemas brasileiros têm sofrido com diversas atividades impactantes, tais como:

- Desmatamento - para plantio de pastagens e de diversas culturas extensivas, além da retirada de madeira;
- Degradação do solo - consequência do desmatamento, monoculturas e disposição de resíduos;
- Queimadas – Responsáveis pelas maiores emissões de GEE em nosso país;
- Derivação de cursos d’água - para irrigação agrícola, geração de energia e abastecimento.
- Agrotóxicos: O Brasil é o maior consumidor mundial de defensivos agrícolas, que podem causar danos irreparáveis aos ecossistemas e à biodiversidade;
- Dejetos de animais: Causam eutrofização dos corpos hídricos e solos, com a depleção do oxigênio e distúrbios nos ciclos biogeoquímicos, além da disseminação de doenças e da redução de qualidade de vida no meio rural.

Em Santa Catarina a problemática ambiental no meio rural é ainda mais acentuada, pois o Estado possui um PIB agropecuário de aproximadamente R\$ 8,55 bilhões (20% do total). Além da grande produtividade de arroz, fumo, celulose, frutíferas e olerícolas, a agroindústria catarinense é caracterizada pela grande produção de animais para corte, principalmente aves e suínos. Neste Estado, possuem sede os maiores frigoríficos e abatedouros da agroindústria brasileira.

A suinocultura catarinense além de possuir o melhor nível de produtividade do país, tanto no campo como na indústria, é responsável por 20% da produção nacional, correspondendo a 2,7 milhões de toneladas por ano, e por 0,7% da produção mundial. De acordo com ABIPECS (2009), o Estado possui cerca de 8,6 milhões de animais disponíveis para o abate concentrados, principalmente, na região oeste. Deste modo, Santa Catarina é considerado o Estado com maior concentração de suínos do Brasil.

Contudo, apesar da grande importância econômica citada, a suinocultura é a atividade que exerce maior impacto ambiental sobre os Recursos Hídricos de Santa Catarina. Os efluentes gerados possuem um

potencial poluidor muito elevado atingindo os recursos hídricos e solo através da alta concentração de compostos nitrogenados e fosfatados, além de coliformes fecais e sólidos suspensos. Calcula-se que aproximadamente 85% dos rios e lençóis subterrâneos do Estado apresentam coliformes fecais oriundos dos dejetos suínos (EPAGRI, 2000). A atmosfera também sofre com o efeito dos gases emitidos durante a decomposição dos dejetos, que contribuem para o efeito estufa.

Considerando o fato de que cada suíno produz aproximadamente 10L de dejetos por dia (BELLI FILHO, 1995), para um plantel com cerca de 8 milhões de cabeças estima-se uma produção de aproximadamente 28 milhões de metros cúbicos de dejetos, por ano. No entanto, somente 15% possui destino adequado, sendo que o restante atinge diretamente o ambiente através da aplicação, em excesso, no solo e do lançamento nos corpos d'água receptores. O efluente da atividade suinícola, não tratado, ao atingir o solo, rios e lagos, constitui risco potencial para o aparecimento ou recrudescimento de doenças (verminoses, alergias, hepatites, câncer de estômago), desconforto na população (proliferação de moscas, borrachudos, maus odores) e degradação dos recursos naturais (morte de peixes e animais, toxicidade em plantas, eutrofização de recursos hídricos). Além disto gera conflito com diversas atividades (BELLI FILHO *et al.*, 2001).

No Brasil, a Lei nº 9605/98, em vigor a partir de março do mesmo ano, responsabiliza criminalmente os indivíduos e as empresas (através dos executivos) que poluírem o meio ambiente. O criador que não se enquadrar à nova realidade, poderá ter sua atividade inviabilizada pela pressão da sociedade e do rigor da Lei. Todavia, dentro das circunstâncias e da situação tecnológica em que operam os suinocultores, as ações para a melhoria da qualidade da água, do ar e a redução do poder poluente dos dejetos suínos a níveis aceitáveis pela legislação vigente, requerem investimentos significativos. Estes recursos estão, normalmente, acima da capacidade dos pequenos criadores e, muitas vezes, não garantem o atendimento das exigências de Saúde Pública e da preservação do meio ambiente.

O Brasil está adotando uma estratégia que galga uma maior inserção no comércio internacional, necessitando adequar os seus sistemas produtivos às exigências ambientais de seus principais mercados de exportação. A forma de obter essa adequação está diretamente relacionada com o tipo de manejo tecnológico e ambiental. De qualquer forma, existe uma tendência apontando para que os

mercados de exportação exerçam um controle ambiental cada vez mais restritivo (MIRANDA, 2005).

Como forma de atenuar as conseqüências da poluição ambiental, decorrentes das atividades da suinocultura no Estado, o Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina – ENS/UFSC, juntamente com a EPAGRI e a EMBRAPA, desde 1994, vem desenvolvendo pesquisas para a prevenção e redução da poluição. As pesquisas integram planejamento, gestão e educação ambiental, formação de pessoal, desenvolvimento de alternativas tecnológicas e metodológicas para a gestão dos dejetos (manejo, tratamento, valorização com reuso no solo, biogás e do efluente tratado), além de avaliações econômicas e estratégias de fortalecimento às instituições para a construção do desenvolvimento sustentável do setor e por conseqüência da sociedade.

Dando seguimento a tais linhas de estudos, com fins de desenvolver e aperfeiçoar tecnologias para a redução dos impactos ambientais causados pela suinocultura, pesquisas pioneiras sobre a potencialidade de plantas da família lemnácea estão sendo desenvolvidas na Universidade Federal de Santa Catarina.

Como um instrumento na biorremediação de efluentes eutrofizados, as lagoas com macrófitas aquáticas conhecidas como lemnas<sup>2</sup> tem sido utilizadas com sucesso em diversos países, como EUA, China, Israel, Índia, Egito e Holanda, sendo uma alternativa economicamente viável. Estas plantas possuem um elevado potencial na remoção de compostos nitrogenados e fosfatados, além da redução de matéria orgânica oxidável e sólidos suspensos. Porém, a grande vantagem deste vegetal sobre as outras espécies utilizadas em tratamento de efluentes, como o aguapé (*Eichornia* spp) é a produção de uma biomassa de elevado valor nutricional podendo chegar a mais 40% de proteína bruta. Deste modo, as lemnáceas podem, além de reduzir a carga poluidora de efluentes orgânicos, também amenizar o custo de produção de animais pela geração de alimento protéico (rações). No Brasil, os estudos com estas plantas ainda são escassos, porém devido ao clima e à presença de espécies nativas desta família em nosso país, acredita-se neste grupo botânico como um grande aliado na sustentabilidade do ambiente rural.

---

<sup>2</sup> Plantas aquáticas que integravam a família botânica *Lemnaceae*, porém, atualmente são classificadas como subfamília *Lemnoideae*; Família *Araceae*. Onde *Lemna* também caracteriza o nome de um gênero deste grupo.

Por possuir a maior taxa de crescimento entre as plantas vasculares (0,3g/g/d), produzindo uma grande quantidade de biomassa, estima-se que este grupo vegetal apresente também, elevada taxa de fixação de carbono, podendo remover com eficiência o gás carbônico (CO<sub>2</sub>) atmosférico. Estudos recentes afirmam que essas plantas quando expostas a concentrações de CO<sub>2</sub> mais elevadas podem desenvolver-se mais rapidamente e com isso maximizar a taxa de remoção de nutrientes em efluentes, além de produzir mais proteína por área.

Deste modo, o presente estudo visa avaliar e aprimorar o potencial de lagoas de lemnáceas no tratamento e valorização dos efluentes líquidos e gasosos da suinocultura em Santa Catarina. Para isso foram desenvolvidos dois experimentos (um com lagoas de tratamento em escala real, e outro com reatores fotossintéticos em bancada) com o intuito de consolidar esta tecnologia ao considerar os aspectos práticos de manejo, no cotidiano das propriedades rurais deste setor.

### **1.1 Hipóteses e Questões de Pesquisa**

(2) Lagoas de tratamento com lemnáceas são eficientes para o polimento e valorização do efluente da suinocultura, sob as características operacionais e climáticas desta atividade no Brasil.

(1) As macrófitas lemnáceas utilizadas em lagoas de tratamento apresentam maior eficiência na remoção de nutrientes e na fixação de carbono, quando submetidas a elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>.

As questões a ser respondidas para a elucidação das hipóteses são:

(1) As lagoas de lemnas são tecnologias viáveis para o polimento do efluente da suinocultura, após digestão anaeróbia?

(2) Qual é a potencialidade de produção de proteína pela biomassa de lemnas produzidas em lagoas de tratamento de dejetos suínos?

- (3) A fixação de  $\text{CO}_2$  realizada por plantas lemnáceas pode ser considerada relevante para a redução da emissão de GEE em sistemas de tratamento?
- (4) As lemnas quando cultivadas sob altas concentrações de  $\text{CO}_2$  podem fixar carbono e remover nutrientes com mais eficiência?
- (5) Qual seria a concentração ótima de  $\text{CO}_2$  para promover o crescimento de biomassa?
- (6) As altas concentrações de  $\text{CO}_2$  podem influenciar positivamente no teor de proteína da biomassa de lemnas?

## 1.2. Contextualização da pesquisa no PPGEA/UFSC

Como forma de atenuar as conseqüências da poluição ambiental, decorrentes das atividades da suinocultura no Estado, o LABEFLU (Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos) no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina – ENS/UFSC, desde 1994, vem desenvolvendo pesquisas para a prevenção e redução dos impactos ambientais no meio rural. As pesquisas integram planejamento, gestão e educação ambiental, formação de pessoal, desenvolvimento de alternativas tecnológicas e metodológicas para a gestão dos dejetos (manejo, tratamento, valorização com reuso no solo, biogás e do efluente tratado), além de avaliações econômicas e estratégias de fortalecimento às instituições para a construção do desenvolvimento sustentável do setor e por conseqüência da sociedade. Destemodo, foram produzidas dezenas de teses, dissertações e trabalhos de conclusão de curso voltados ao saneamento rural, nas áreas afetadas pela suinocultura.

A presente pesquisa vem ao encontro das linhas de trabalho do LABEFLU/PPGEA, dando continuidade aos estudos de saneamento ambiental no meio rural. Assim, os testes para o polimento e valorização do efluente da suinocultura com plantas da família Lemnaceae agregam uma nova perspectiva às tecnologias estudadas até então, pois os resultados da utilização destes vegetais serão pioneiros no Brasil.

A pesquisa também está contextualizada no projeto “Tecnologias Sociais para Gestão da Água - TSGA” que reúne diversos laboratórios do Departamento de Engenharia Sanitária Ambiental e entidades externas à UFSC, como EMBRAPA e EPAGRI/CIRAM, as quais juntam esforços em um objetivo comum, pela melhoria da qualidade ambiental no meio rural.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial de lagoas de macrófitas lemnáceas (*Landoltia punctata*) no polimento e valorização de efluentes da suinocultura e na fixação de gás carbônico para a redução de GEE.

### 2.1 Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho de lagoas de lemnas no polimento do efluente da suinocultura, em condições reais de produção.
- Estudar o manejo e a produção de biomassa de lemnas, em lagoas de tratamento de dejetos suínos visando a sua valorização, pela geração de alimento protéico.
- Avaliar a capacidade de fixação de carbono pela macrófita *Landoltia punctata*, tendo em vista a redução de GEE, quando cultivadas sob elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>.
- Verificar a remoção de nutrientes (N e P) pela macrófita *Landoltia punctata* sob elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>.



### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Problemática**

##### **3.1.1 A poluição das águas**

Considerando o Brasil como detentor de reservas mundiais de água doce, de relevância estratégica no cenário internacional, partilhando das diretrizes de proteção, gerenciamento e uso sustentável dos recursos hídricos, como Estado-Membro das Nações Unidas foi criado o Decreto de 22 de março de 2005 instituindo a Década Brasileira da Água. Enfatizando a urgência e importância de medidas no âmbito legal, o Art. 2º deste decreto cita que “a Década Brasileira da Água terá como objetivos promover e intensificar a formulação e implementação de políticas, programas e projetos relativos ao gerenciamento e uso sustentável da água, em todos os níveis, assim como assegurar a ampla participação e cooperação das comunidades voltadas ao alcance dos objetivos contemplados na Política Nacional de Recursos Hídricos (criada pela Lei nº 9.433) ou estabelecidos em convenções, acordos e resoluções, a que o Brasil tenha aderido”.

Em Santa Catarina, a poluição dos recursos hídricos ficou conhecida, principalmente pelos impactos da exploração de carvão, que resultaram na assinatura, em 1980, do Decreto 85.206, que enquadrou a região como área crítica nacional (a 4ª) para efeitos de controle de poluição decorrente das atividades relacionadas ao ciclo do carvão mineral. A partir da década de 90, no entanto, um “novo elemento” de poluição das águas se destaca no sul do Estado: a criação intensiva de suínos, ou seja, agrando produção de dejetos suínos em pequenas áreas (ESPINOSA, 2001).

##### **3.1.2 A suinocultura: impactos e produção**

A primeira evidência pública do desequilíbrio ambiental provocado pela atividade suinícola em Santa Catarina ocorreu no início da década de 80, a partir da divulgação de dados obtidos pela Epagri sobre a qualidade das águas do Estado. Estes dados demonstraram que aproximadamente 90% das amostras de águas utilizadas para o abastecimento da população rural localizada na região Oeste

catarinense, apresentavam presença de coliformes fecais, não atendendo, assim, ao padrão de potabilidade da água estabelecido pela legislação (MIRANDA, 2005).

Consensualmente, a suinocultura é a atividade que exerce maior impacto ambiental sobre os Recursos Hídricos do Estado de Santa Catarina (CIRAM, 2000). Os efluentes gerados possuem um potencial poluidor muito elevado atingindo os rios, lençóis e solo através da alta concentração de compostos nitrogenados e fosfatados, além de coliformes fecais e sólidos suspensos. Calcula-se que a maior parte dos rios e lençóis subterrâneos do Estado apresente coliformes fecais oriundos dos dejetos suínos. A atmosfera também sofre com o efeito dos gases emitidos durante a decomposição dos dejetos, que contribuem para o efeito estufa (OLIVEIRA, 1993; DAL MAGO, 2009).

Estima-se que neste Estado ocorra uma produção anual de 28 milhões de metros cúbicos de dejetos suínos gerados por um plantel de 8,6 milhões de cabeças (maior do que a população humana do Estado) (ABIPECS, 2009). No entanto, somente 15% possui destino adequado sendo que o restante atinge diretamente o ambiente através da aplicação, em excesso, no solo e do lançamento nos corpos receptores.

A produção industrial de suínos fez com que a quantidade de área agrícola por animal alojado fosse reduzida. No entanto, a aplicação dos dejetos no solo continua sendo o manejo preferencial (EMBRAPA, 2000). Dessa forma, as culturas agrícolas não estão em condições de assimilar totalmente os nutrientes gerados na propriedade, assim os dejetos tornam-se de forma crescente os responsáveis pela degradação da qualidade ambiental. O problema da descarga dos dejetos é cumulativo. O ambiente possui uma capacidade/suporte natural que confere a absorção de certo nível de poluentes orgânicos e inorgânicos. Se esse nível for excedido poderá resultar na deterioração da qualidade das águas e das plantas e em distúrbios químicos, físicos e biológicos do solo (SEGANFREDO, 2004).

Os fatores tidos como potenciais poluentes da água, derivados da criação de animais podem ser classificados como: a) nutrientes (N, P, K e Cu, Zn e Cd); b); matéria orgânica; c) bactérias que indicam potencial presença de patógenos (coliformes); d) sedimentos, materiais suspensos ou dissolvidos; e) agroquímicos e outros materiais orgânicos ou inorgânicos (JACKSON, 1998).

Contudo, o potencial poluidor dos dejetos suínos pode apresentar grandes variações de acordo o tipo de manejo aplicado. Para ilustrar, Araújo (2007) em um estudo realizado sobre uma propriedade suinícola

com 300 matrizes, na região sul do Estado, relata uma concentração de matéria orgânica média de aproximadamente 12.000mgDQO/L. Por outro lado, Henn (2005) pesquisando na mesmo município apresenta uma DQO média de 43.000mg/L e atribui essa diferença, principalmente, a quantidade de água utilizada no manejo.

Os dejetos de suínos podem contaminar tanto as águas superficiais, quanto as águas subterrâneas. No caso das águas superficiais, o principal constituinte dos dejetos que causam impactos são a matéria orgânica, os nutrientes e as bactérias fecais. Estes resíduos também podem aumentar a quantidade de material suspenso na água e afetar sua coloração, tanto diretamente, pelos próprios dejetos como indiretamente, pela produção de algas (Figura 1). Os impactos que esses contaminantes provocam nos ecossistemas aquáticos estão relacionados com a quantidade e o tipo de cada poluente lançado e com as características do corpo receptor. Assim, além de causarem eutrofização, podem provocar eliminação de oxigênio, morte de peixes e plantas, escurecimento das águas e cheiro desagradável. Isso pode ocorrer devido ao despejo direto dos dejetos nos córregos e rios, ao vazamento das esterqueiras ou ao escoamento superficial dos dejetos dispostos no solo (OLIVEIRA, 1993, BELLI FILHO et al 2001).

Apesar de os aquíferos apresentarem uma proteção natural contra a poluição em decorrência do solo sobreposto e das camadas confinantes, se a água subterrânea for contaminada, os custos e o tempo para a descontaminação são superiores aos da água superficial, e em muitos casos inviabilizam seu uso. Em geral, quando se detecta poluição nas águas subterrâneas, necessita-se de um intenso trabalho de investigação para delimitar as plumas de dispersão e determinar a origem da contaminação, a qual pode ter ocorrido vários anos antes, ou em locais distantes do poço contaminado. Por causa da vulnerabilidade dos aquíferos e do potencial de contaminação das águas subterrâneas, há a necessidade de escolha adequada dos locais de perfuração dos poços tubulares destinados ao abastecimento humano, de estabelecimento de áreas de proteção em sua volta e de controle das atividades potencialmente contaminadoras nessas áreas (CETESB, 2003; SANTA CATARINA, 2002).



Figura 1: Aspecto do efluente bruto de suinocultura (acima); Rio contaminado com dejetos de suínos (abaixo)

O lançamento de efluentes suínos não tratados no solo, rios e lagos, constitui risco potencial para o aparecimento ou recrudescimento de doenças (verminoses, alergias, hepatites, câncer de estômago), desconforto na população (proliferação de moscas, borrachudos, maus odores) e degradação dos recursos naturais (morte de peixes e animais,

toxicidade em plantas, eutrofização de recursos hídricos). Além disto gera conflito com diversas atividades (BELLI FILHO *et al.*, 2001).

A prática deste tipo de degradação ambiental é regulada pela a Lei Federal nº 9605/9 (Lei de crimes ambientais), que responsabiliza criminalmente os indivíduos e as empresas que causarem danos ambientais constatados. O criador que não se enquadrar à nova realidade, poderá ter sua atividade inviabilizada pela pressão da sociedade e do rigor da Lei. Em Santa Catarina, a instrução normativa IN-11 da Fundação Estadual de Meio Ambiente (FATMA) regulamenta o processo de licenciamento ambiental (Licença Prévia; Licença de instalação e Licença de Operação), sendo obrigatória a autorização ambiental para a regularização legal da atividade (SANTA CATARINA, 2000).

Todavia, dentro das circunstâncias e da situação tecnológica em que operam os suinocultores, as ações para a melhoria da qualidade da água, do ar e a redução do poder poluente dos dejetos suínos a níveis aceitáveis pela legislação vigente, requerem investimentos significativos, normalmente acima da capacidade dos pequenos criadores e, muitas vezes, sem a garantia de atendimento das exigências de Saúde Pública e da preservação do meio ambiente.

Por outro lado, é inegável a pujança econômica da atividade, com um faturamento anual bruto equivalente a R\$ 14,6 bilhões. Estima-se que 2,7 milhões de pessoas dependam da suinocultura em nosso país (ABIPECS, 2002). Assim sendo, apesar da importância, economicamente estratégica, a suinocultura catarinense se defronta com uma grande crise, uma crise ambiental, que pode inviabilizar o crescimento da atividade. Como o Brasil está adotando uma estratégia que galga uma maior inserção no comércio internacional, necessita adequar os seus sistemas produtivos às exigências ambientais de seus principais mercados de exportação. A forma de obter essa adequação está diretamente relacionada com o tipo de manejo tecnológico e ambiental. De qualquer forma, existe uma tendência apontando para que os mercados de exportação exerçam um controle ambiental cada vez mais restritivo (MIRANDA, 2005).

Frente à situação descrita faz-se de extrema importância o desenvolvimento e aplicação de tecnologias que provovam um modelo produtivo mais sustentável para a suinocultura. Com uma redução significativa no volume de dejetos e gases lançados no ambiente natural, sem comprometer a eficiência econômica da atividade integrando a

suinocultura nos princípios da lei de recursos de hídricos (lei 9433/97) e no MDL.

### **3.1.3 A emissão de CO<sub>2</sub> e as mudanças climáticas**

A Atmosfera terrestre é composta por uma mistura de gases que permanecem retidos próximos a superfície do planeta por ação do campo gravitacional terrestre. Sua composição sofreu diversas modificações em decorrência dos diversos processos biogeoquímicos durante o “envelhecimento” do planeta. O desenvolvimento da vida foi um dos grandes agentes transformadores da atmosfera, onde os organismos fotossintetizantes, há mais de 3 bilhões de anos, removem da atmosfera o gás carbônico e liberam oxigênio (SCHMIDT E NIELSEN, 1999).

Através da história da Terra, a concentração de carbono na atmosfera sofreu significativas mudanças. Os estudos sobre estas variações indicam que no início do período Cambriano (há mais de 550 milhões de anos) a concentração de CO<sub>2</sub> era cerca de vinte vezes maior do que a atual, tendo abaixado para níveis semelhantes ao atual há 300 milhões de anos (m.a.). No período seguinte, há 175m.a., a concentração subiu novamente cerca de cinco vezes a atual e a partir de então veio abaixando até atingir o menor registro, 200ppm, há 15m.a. Desde então a [CO<sub>2</sub>] veio oscilando erráticamente atingindo cerca de 280 ppm durante a revolução industrial na Europa e aproximadamente 380 ppm atualmente. Deste modo tem-se que a [CO<sub>2</sub>] da atmosfera atual é uma das menores registradas na história do planeta (MOREIRA, 2000).

Contudo, deve ser desconsiderado o intervalo de tempo em questão, pois para as mudanças na composição atmosférica citadas anteriormente a grandeza de tempo é da ordem de 10<sup>6</sup> anos (milhões de anos), contudo, desde a Revolução Industrial, a concentração de carbono atmosférico aumentou cerca de 30% (apenas em dois séculos). Este fato é a base que sustenta as ações mundiais para a redução das emissões deste gás (IPCC, 1997).

A Revolução Industrial, que teve início na Inglaterra do século XVIII, e é citada como o marco da ação antrópica na emissão de CO<sub>2</sub>. Enquanto na Idade Média a manufatura era a forma de produzir mais utilizada, na Idade Moderna houve uma brusca mudança. O sistema de produção passou a ser baseado na mecanização que permitiu a aceleração e o avanço tecnológico. O advento da indústria criava uma nova demanda de energia e matéria prima. A Inglaterra possuía grandes

reservas de carvão mineral em seu subsolo, ou seja, a principal fonte de energia para movimentar as máquinas das indústrias e as locomotivas à vapor. Além da fonte de energia, os ingleses possuíam grandes reservas de minério de ferro, a principal matéria-prima utilizada neste período.

A queima de combustíveis (combustão) sempre foi a principal fonte de energia dos processos antropogênicos de produção. A Combustão é uma reação química exotérmica, que envolve um combustível e um comburente (geralmente o gás oxigênio) que reagem liberando calor e subprodutos. No caso dos combustíveis de origem orgânica o  $\text{CO}_2$  é o principal subproduto da combustão.

De forma muito similar à combustão, as reações de oxidação biológica também liberam calor e gás carbônico. Ou seja, todos os organismos que respiram ou fazem fermentação liberam  $\text{CO}_2$  no processo de oxidação da glicose para obtenção de energia metabólica.

Exemplo: reação de combustão do metano



Exemplo simplificado da oxidação biológica da glicose



Hoje o equilíbrio dos gases atmosféricos é fundamental para a manutenção do clima e da vida que se adaptou a tais condições no planeta. Alguns gases como o ozônio, por exemplo, filtram a radiação ultravioleta nociva aos organismos. Por sua vez gases como o gás carbônico, metano e o óxido nitroso (gases do efeito estufa -GEE) possuem um efeito físico ao interagir com a radiação de calor, próximo ao infravermelho (RICKLEFS, 1996)

Os raios de calor (radiação infravermelha) atravessam a atmosfera e atingem a superfície da Terra transferindo energia e aquecendo-a. Uma parte desta radiação é refletida, da qual uma parte retorna para o espaço e outra é refletida novamente pela atmosfera, para a superfície da Terra. Esta reflexão dos raios infravermelhos é promovida pelos GEE que formam uma camada que funciona como um “cobertor”, retendo o calor. Este efeito que promove a manutenção da temperatura do planeta, conhecido como “Efeito Estufa”, é proporcional a quantidade de GEE na atmosfera. (HOUGHTON, 2004)

Assim, devido ao aumento destes gases na atmosfera por ações antrópicas Em 1995, cerca de 2000 cientistas que compõem o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC), chegaram a conclusão, após um processo de avaliação que durou vários anos, que as

evidências científicas indicam “uma influência perceptível” no clima global, no que se refere às atividades humanas. A temperatura média da Terra aumentou 0,5°C no último século, e mantendo-se os atuais níveis de emissões de gases associados ao efeito estufa (GEEs), aumentará em média 1 a 3,5°C até o ano de 2060, quando a concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera deverá chegar ao dobro dos níveis pré-industriais. Assim, algumas consequências, dentre as mais citadas, são: o derretimento do gelo polar e elevação do nível dos mres, mudanças nos ciclos agrícolas, furacões, tempestades, secas e enchentes.

### **3.1.4 A produção de animais e a emissão de GEE**

O recente relatório da FAO intitulado “Longa sombra da pecuária” colocou a produção pecuária mundial como uma grande vilã, destacando-a, quanto à produção de CO<sub>2</sub> (ou equivalente), acima do sistema mundial de transportes, consumidor voraz dos combustíveis fósseis (FAO, 2006). Segundo este relatório, cerca de 20% do metano (GEE) produzido por ações antrópicas, no mundo, são oriundos da pecuária. Para o Brasil, foram estimadas emissões de cerca de 9,2 milhões de toneladas de metano provenientes da pecuária, considerando-se os efetivos de categorias de animais ruminantes e falso-ruminantes e a produção de dejetos animais (Embrapa, 2002). Essas emissões correspondem à 96% de todo o metano gerado por fontes de origem agrícola no país (que incluem também o cultivo de arroz irrigado por inundação e a queima de resíduos agrícolas nos campos).

Safely e colaboradores (1992) estimam que 20% da emissão de metano relacionada à produção animal é devida à decomposição anaeróbia que ocorre onde os dejetos permanecem na forma líquida. Para asuinocultura, Aisse e Obladen (1981) calcularam a emissão de biogás (aproximadamente 70% metano e 30% dióxido de carbono) em torno de 180L/animal/dia. Spiz (2003), avaliando o ciclo de vida (ACV) da cadeia produtiva suínica estimou a produção de gases do efeito estufa, em equivalentes de CO<sub>2</sub> e concluiu que a produção de 1.000 kg de peso vivo de suínos (considerando até o momento de sua entrega na plataforma do frigorífico) gera 1.720 kg destes gases.

Angonese e colaboradores (2007), em uma pesquisa realizada para uma média produção (600 animais) utilizando a metodologia AM 0006 (MDL) conclui que cada animal produz cerca de 735kg de CO<sub>2</sub>eq/ano. Contudo, com o armazenamento destes gases em

biodigestores e sua posterior combustão, estes autores obtiveram uma redução de 540kg de CO<sub>2</sub>eq/animal/ano (73,5% de redução). Deste modo, a utilização de biodigestores é reportada como uma alternativa viável para a redução dos GEE. Dal Mago (2009) avaliando a produção de biogás em diversos biodigestores em Santa Catarina estima uma produção estadual superior a 550milhoes de m<sup>3</sup>/ano, suprimindo cerca de 1/3 da demanda energética do estado. Deste modo, fica evidente a grande potencialidade da utilização desta tecnologia na redução de emissão de gases de efeito estufa e na obtenção de receitas por meio de créditos de carbono, simultaneamente. Assim, a combustão do biogás oriundo da suinocultura pode incrementar a sustentabilidade da atividade, em suas três dimensões (econômica, social e ambiental), principalmente a médio e longo prazo. Por outro lado, apesar da redução de matéria orgânica, os efluentes líquidos gerados pelos biodigestores ainda necessitam de um pós-tratamento, para a redução do seu potencial poluidor, antes de atingirem o meio ambiente (BELLI FILHO, 2001; HENN, 2005).

## 3.2 As lemnas

### 3.2.1 Aspectos gerais

Inicialmente, o termo “*Lemna*” designa um gênero de plantas aquáticas da subfamília *Lemnoideae* (Antiga família *Lemnaceae*). Com origem no latim, o termo *limnus* significa lago, com relação ao habitat natural destas (SKILLCORN *et al.*, 1993). Contudo, existe um esforço por partes de alguns pesquisadores brasileiros em estender este termo para uma nomenclatura popular, designando “*lemna*” como um nome popular, mais usual, inclusive para outros gêneros deste grupo botânico. Assim, no presente trabalho será empregado diversas vezes o termo “*lemna*”, desconsiderando as regras de nomenclatura científica, sob a qual o nome de um gênero deve estar sublinhado, ou em itálico, seguido de “*sp*”.

Popularmente, no Brasil, estes vegetais podem ter denominações como “lentilha d’água” ou “marrequinha”, porém nota-se que em algumas regiões de Santa Catarina as populações campesinas não atribuem nenhum nome específico, apesar de conhecê-las. Muitas vezes, às chamam apenas de “alguinha”. Em inglês, o termo “*duckweed*” é bem difundido para designar os vegetais deste grupo, sendo encontrado

em muitos trabalhos científicos. É notório a predileção alimentar de muitas espécies de patos selvagens e marrecos pelas lemnas, sendo este o motivo de seu “batismo”, uma vez que “duck” = pato e “weed” = erva, tem-se algo como “erva de pato”. Curiosamente o termo “marrequinha”, anteriormente citado, demonstra a mesma origem.

Devido ao aspecto das populações de lemnas, que formam densas aglomerações na superfície da água e ao diminuto tamanho dos indivíduos, este grupo vegetal é comumente confundido com algas (IQBAL, 1999). Contudo, milhões de anos de processos evolutivos separam estes grupos, mas pela convergência adaptativa<sup>3</sup> ambos apresentam características morfológicas semelhantes. A pressão da seleção natural sobre os organismos que ocupam nichos semelhantes pode moldar seu aspecto apesar da grande distância filogenética (ODUM, 1988).

### 3.2.2 Aspectos ecológicos

No estudo da ecologia observa-se que os ambientes que impõem condições mais adversas, com fatores limitantes ao desenvolvimento da vida mais pronunciados, tendem a apresentar uma menor riqueza de espécies (menor biodiversidade) (RICKLEFS, 1996). Pois, as poucas espécies adaptadas a situações inóspitas dominam o ambiente por não haver uma competição expressiva. No caso das lemnáceas, como de outras macrófitas, podemos aplicar o mesmo pensamento, pois o ambiente natural das lemnas são os corpos d’água parada, como lagos, pântanos e lagoas marginais. Esses ambientes alagados oferecem difíceis condições para o desenvolvimento da vegetação terrestre, principalmente a falta de oxigênio nas raízes e partes submersas, a instabilidade do solo e a dificuldade de absorção de gases (CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>) na água, devido à resistência de difusão. Também, os tecidos constantemente molhados estão sujeitos ao desenvolvimento de fungos e bactérias além da predação ativa de animais aquáticos como peixes, moluscos e crustáceos (ESTEVES, 1998).

Apesar das limitações citadas, alguns grupos de vegetais superiores (plantas vasculares há 430 milhões de anos) desenvolveram características morfológicas e fisiológicas que permitiram o povoamento

---

<sup>3</sup>**Convergência adaptativa:** Processo resultante da adaptação de espécies diferentes a um mesmo hábitat. Por estarem adaptados ao mesmo hábitat, podem apresentar semelhanças em relação à morfologia, sem necessariamente possuírem um grau de proximidade filogenética.

dos ambientes alagados, anteriormente dominado pelas algas (não vasculares). Entre estas adaptações pode-se citar o parênquima aerífero, um tipo de tecido fundamental para o transporte dos gases da atmosfera para as partes submersas, como as raízes. Em muitas espécies estes tecidos formam estruturas flutuantes que permitem o estabelecimento dessas plantas sobre a superfície. Deste modo, surgem as macrófitas aquáticas, plantas superiores que possuem adaptações para sobreviver em ambientes alagados

Entre as macrófitas aquáticas existem quatro hábitos ecológicos principais: plantas enraizadas, submersas, emergentes e flutuantes, sendo que as lemneas se enquadram neste último tipo (POTT e CERVI, 1999). Na cadeia trófica dos ambientes onde se proliferam, as lemnáceas possuem um importante papel como produtoras primárias, pois fixam o carbono atmosférico e dissolvido, produzindo uma biomassa de excelente qualidade nutricional (ORON *et al.*,1994) . Deste modo, muitos peixes, aves, anfíbios, crustáceos, insetos e moluscos se beneficiam ao dispor deste alimento (figura 2). Também possuem uma função na atividade de autodepuração dos corpos hídricos ao removerem com veemência a amônia e fosfatos. O sombreamento imposto pela cobertura vegetal dificulta a penetração da luz na coluna d'água e impede o desenvolvimento de algas (SKILLICORN *et al.*,1993). Por este motivo, os corpos d'água dominados por populações de lemnáceas possuem poucos sólidos em suspensão, baixa turbidez e estabilidade nos níveis de oxigênio. A rizosfera (conjunto de raízes) das lemneas cria um ambiente de refugio para diversos microrganismos e aumentam a superfície para fixação de biofilme (figura 2)(IQBAL, 1999).

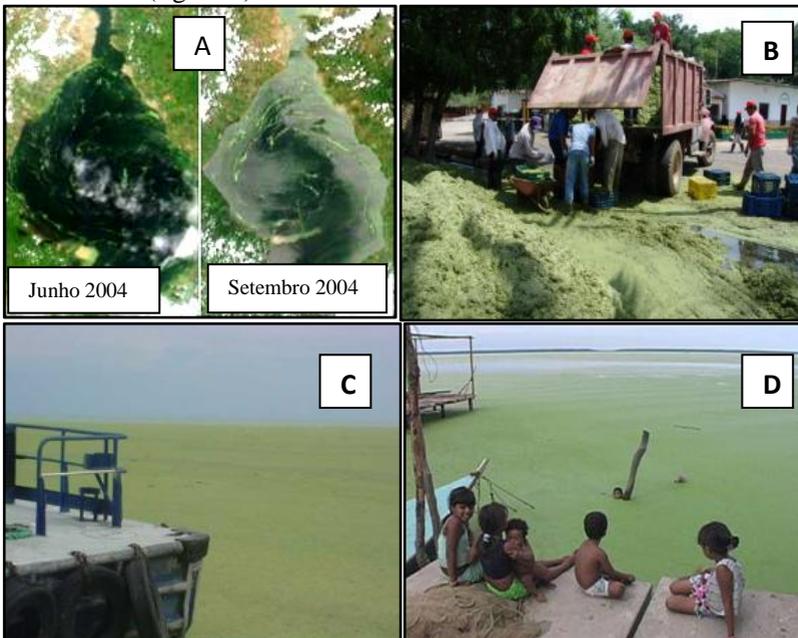


Fonte: CORSS, 2003

fonte: autor

Figura 2: Aves se alimentando de lemneas no ambiente natural (esquerda); Aspecto das raízes em uma população de lemneas (direita).

Contudo, as plantas deste grupo podem tornar-se invasoras persistentes quando introduzidas em ambientes com características propícias (POTT e POTT, 2002). Deste modo, as lemnas têm causado problemas em reservatórios de usinas hidrelétricas, com a depleção do oxigênio dissolvido e quedas no rendimento da geração de energia. Estes acontecimentos vêm se tornando mais frequentes com a eutrofização de corpos d'água, pelo despejo de efluentes de origem antrópica. O caso mais alarmante de invasões de lemnáceas ocorre no Lago Maracaibo (Venezuela), com grandes prejuízos para a pesca e abastecimento, onde a população de *Lemna obscura* pode ser observada por imagens de satélite, sendo necessária a remoção diária de toneladas de biomassa (figura 3).



Fontes: (A) NASA Earth Observatory (2004); B, C e D: CROSS (2006)

Figura 3: Invasão de lemnas (*Lemna obscura*) no Lago Maracaibo (Venezuela). (A) Imagem de satélite com destaque para a população de lemnas que cresceram entre junho (esquerda) e setembro (direita) de 2004; (B) Remoção de biomassa de lemnas do Lago Maracaibo, com carretas; (C e D) População de lemnas dominando completamente a superfície do Lago Maracaibo.

:

### 3.2.3 Aspectos botânicos

O grupo botânico de macrófitas aquáticas, anteriormente conhecidas como família Lemnaceae, tem sofrido grandes mudanças em sua classificação taxonômica devido ao aprimoramento e popularização das técnicas de biologia molecular. Pois a similaridade do DNA, utilizada como parâmetro filogenético, tem influenciado a classificação de diversos grupos biológicos. Deste modo, muitos especialistas têm desconsiderado a família Lemnaceae como táxon passando este grupo a ser uma sub-família (Lemnoideae) dentro de Araceae.

Sobre a origem filogenética e sistemática da família Lemnaceae, Pott e Cervi (1999) citam:

*“Existem duas teorias acerca da posição sistemática das Lemnaceae dentro das Monocotyledoneae. Segundo Engler (1877, 1899), Maheshwari (1956, 1958, 1959), Daubs (1965), Hegelmaier (1968) e Dahlgren et al. (1985), a família teria um ancestral comum entre as Araceae extintas, tendo o gênero Pistia (Araceae aquática, flutuante e livre) como elo entre as duas famílias. Análises de seqüências de DNA confirmaram a posição filogenética de Lemna junto com Araceae, muito próxima a Pistia (Chase et al. 1993).Recentemente, Mayo et al. (1995) discutiram as relações filogenéticas de Lemnaceae e Araceae, concluindo que as Lemnaceae deveriam ser incluídas, como uma subfamília, na família Araceae.”*

De acordo com APGII - *Angiosperm Phylogeny Group*(2003), considera-se a antiga família Lemnaceae como a subfamília Lemnoideae. Contudo, no presente estudo foram utilizados os termos “lemnáceas”, ou apenas “lemnas”, como vocábulos escritos na língua portuguesa para designar este grupo botânico. Pois, na literatura estrangeira encontra-se o termo *duckweed* como uma forma genérica e popular de designar estas macrófitas, o qual não ocorre no idioma português.

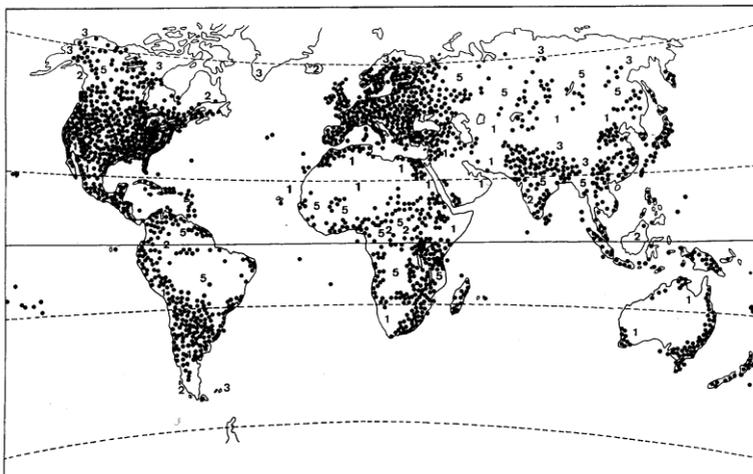
A subfamília Lemnoideae é representada pelas menores Angiospermas<sup>4</sup> conhecidas em todo o mundo, sendo frequentemente confundidas com algas (SKILLICORN *et al.*, 1993). Porém são macrófitas (vegetais superiores), de hábito aquático, possuidoras de sistema vascular, produzindo flores e frutos. Todavia, a reprodução assexuada é a forma mais freqüente de propagação (CROSS, 2006). Possui um componente simplificado chamado de fronde que se trata da fusão de folha e caule, em uma única estrutura. Esta família está representada em todo o globo, sob os diversos climas, com exceção em regiões desérticas ou permanentemente congeladas (figura 4) Apesar de tolerarem temperaturas muito baixas (inclusive sobrevivendo ao congelamento), estas se desenvolvem melhor em regiões quentes (LANDOLT E KANDLER, 1987.).

São encontradas em corpos de água doce, ou com pouca salinidade (até 4g/L), protegidos de ventos fortes e sem correntezas. Geralmente formam densas populações, flutuando livremente sobre a superfície de lagoas ricas em matéria orgânica, sendo dispersas por aves aquáticas e correntezas (LANDOLT E KANDELER, 1987). São exigentes em relação a nutrientes, principalmente fontes de nitrogênio e fósforo (5:1), porém se desenvolvidas em condições ideais, apresentam a maior taxa de crescimento entre os vegetais superiores (IQBAL, 1999).

Devido ao tamanho diminuto de suas flores e à simplicidade estrutural, a taxonomia deste grupo é difícil e divergente entre os autores (figura 5). Foram descritos 5 gêneros: *Lemna*, *Wolffia*, *Landoltia*, *Spirodela* e *Wolffiella* (POTT *et al.*, 2002) e cerca de 40 espécies (SKILLICORN *et al.*, 1993). Dentre estes gêneros, *Lemna* e *Spirodela* são os mais conhecidos e utilizados pelo Homem. Sua utilidade é variada, podendo ser utilizadas em tratamento de efluentes e na alimentação de animais domésticos (ROSE, 2000; ISLAM, 2002). Pela propagação rápida, em pouco espaço, é a planta mais utilizada em diversos tipos de experimentos relacionados à fisiologia vegetal, morfogenética e toxicologia (POTT, 2000, ISO/DIS 2003).

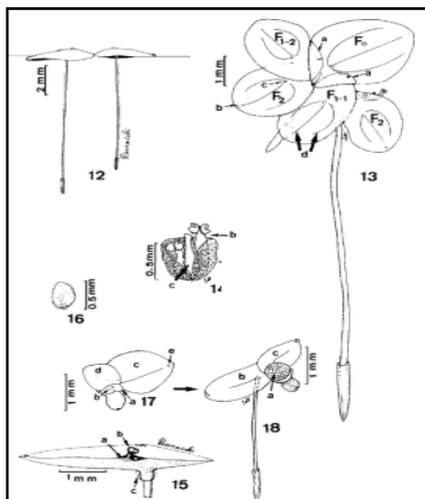
---

<sup>4</sup> Angiospermae: Divisão do Reino Plantae que agrupa plantas superiores possuidoras de sistema vascular e que produzem flores e frutos.



Fonte: Landolt (1986)

Figura 4: Distribuição geográfica da subfamília Lemnoideae. Os números representam limitações ao desenvolvimento devido: (1)- regiões desérticas; (2)- regiões de muita pluviosidade; (3) - regiões de frio intenso; (5)- regiões com poucas informações.



Fonte: Pott e Cervi (1999)

Figura 5: Desenho esquemático de *Lemna aquinoctialis* para demonstração das pequenas dimensões das estruturas deste grupo botânico.

### 3.2.4 Descrição da espécie utilizada neste estudo: *Landoltia punctata*

Conforme citado anteriormente, a taxonomia deste grupo botânico tem sofrido diversas mudanças devido ao aprimoramento das técnicas de biologia molecular (análises de DNA). Assim, Les e Crawford (1999) descreveram, recentemente, um novo gênero para a sub-família Lemnoideae: O gênero *Landoltia* (derivado de *Spirodela*). O nome deste gênero foi criado em homenagem a Elias Landolt, um dos maiores pesquisadores deste grupo vegetal. Os autores da proposta enfatizam que *Spirodela punctata* se diferencia geneticamente de *Spirodela e Lemna* propondo um gênero separado para esta espécie. Assim, neste trabalho considera-se *Landoltia punctata* e *Spirodela punctata* como sinônimos. A seguir encontra-se descrita a classificação taxonômica da espécie utilizada:

Reino: Plantae

Divisão: Angiospermae

Classe: Monocotyledoneae

Ordem: Arales

Família: Araceae (Lemnaceae)

Sub-família: Lemnoideae

Gênero: *Landoltia*

Espécie: *Landoltia punctata*

Assim, os autores da proposta de criação do gênero descrevem *Landoltia punctata* da seguinte forma:

*“Frondes flutuantes na superfície, ovadas a lanceoladas, levemente assimétricas, 1,5-4x 1,3-3mm; 1 1/5-2 vezes mais longas que largas; fronde inflada ou não inflada com 1 linha de papilas, ao centro, no lado superior da fronde; 2 cavidades reprodutivas ou vegetativas, laterais; às vezes com bordos avermelhados; frondes senescentes com células de pigmentos; raiz 2-5 por fronde de ca. 15mm de comprimento.”*

Les e Crawford (1999)

O gênero *Landoltia* assemelha-se muito a *Lemna* pelo tamanho pequeno da fronde, mas se diferencia desta pelo número de raízes e pela cor avermelhada na face inferior da fronde. Originalmente ocorria apenas no hemisfério Sul e Leste asiático; Introduzida atualmente em todos os continentes com inverno suave. Distribui-se do Sudeste do Brasil até o leste do Paraná (POTT, 2002). Recentemente esta espécie tem sido encontrada, abundantemente, em Santa Catarina.

Atualmente diversos estudos vêm sendo desenvolvidos como utilização desta espécie em lagoas de tratamento de efluentes devido à sua rusticidade e eficiência (CHENG et al., 2002a; CHENG et al., 2002b; CHAIPRAPAT, 2002; LYERLY, 2004). Para ilustrar, Bergman e colaboradores (2000) realizaram um estudo para selecionar a espécie de lemnaáceas com melhor desempenho no tratamento de dejetos suínos. Entre 41 cepas isoladas geograficamente, de 12 espécies diferentes, estes autores destacam a *L. punctata* como primeiro lugar no *ranking*, para produção de proteína e remoção de nitrogênio, em efluente sintético de suinocultura. A partir deste estudo, diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com esta espécie, em lagoas de tratamento para tipo de efluente, com destaque para instituição de pesquisa *North Carolina Federal University* - EUA de onde provém a maior parte destes estudos. Na figura 6 pode-se observar imagens desta espécie, coletada no ambiente natural, na região litorânea de Santa Catarina.

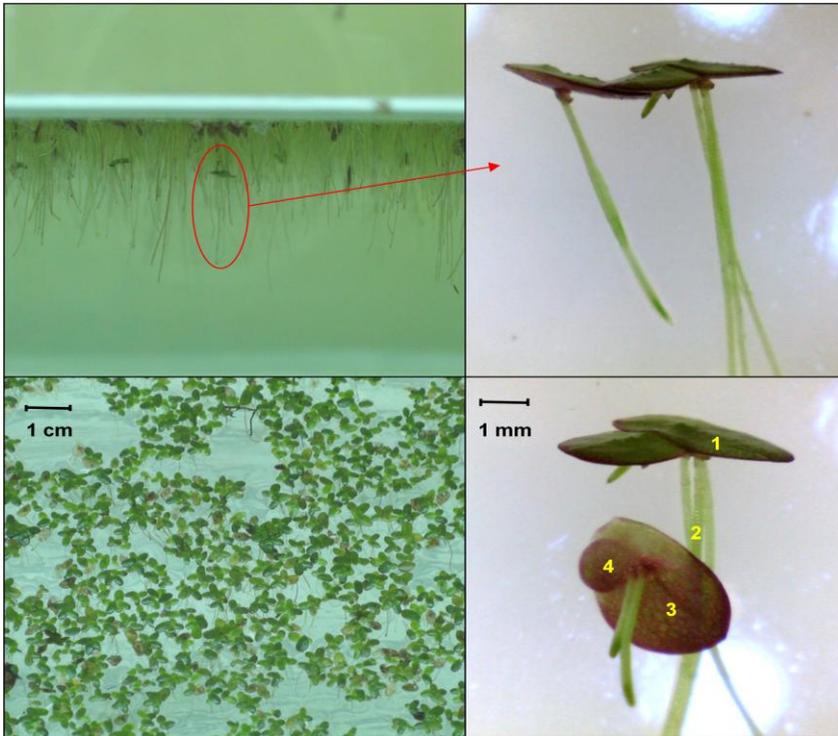


Figura 6: Imagens de *Landoltia punctata*: 1- fronde; 2- raízes; 3- vista inferior da fronde; 4- fronde filha.

### 3.3 Lemnas no tratamento de efluentes

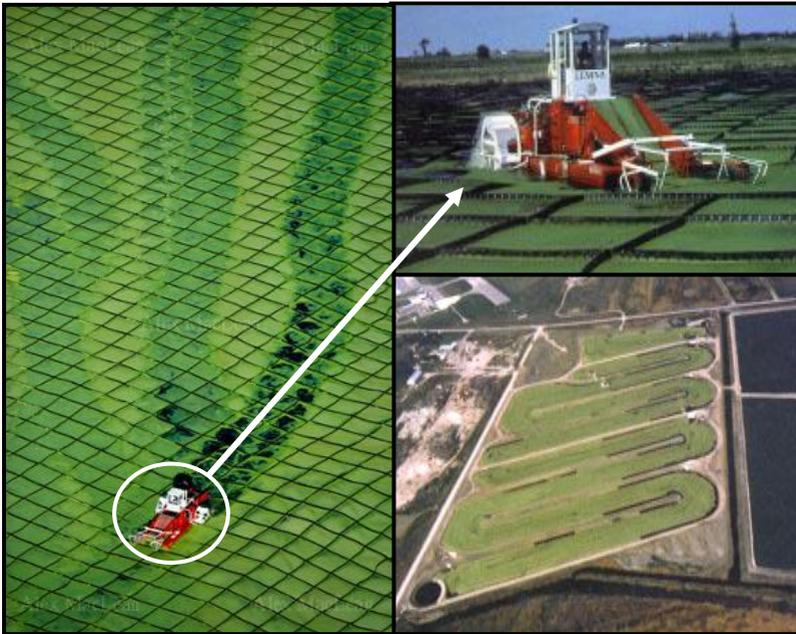
#### 3.3.1 Aspectos gerais

A idéia da utilização das lemnas como uma tecnologia no tratamento de efluentes está baseada em uma aptidão natural desses organismos a se desenvolverem em ambientes eutrofizados, assim como as lagoas de tratamento. Deste modo, as lemnáceas apresentam rusticidade para suportar elevadas cargas de matéria orgânica, sólidos suspensos e nutrientes, além de variações bruscas no pH. A seguir estão citadas algumas características que favorecem a utilização de lemnáceas no polimento de efluentes orgânicos segundo diversos autores, entre eles, Landolt e Kandeler (1987); Skilicorn *et al.*, (1993); Bonomoet

*al*(1997); Korner & Vermaat (1998); Korner, (1998); Iqbal (1999); Vander Steen *et al.*, (1999); Islam, (2002); Cheng *et al.*(2002); Chaipratpat, (2003); Mohedano, (2004); Caicedo, (2005); Tavares, (2004); Lendesman *et al* (2005); El-Shafai *et al* (2006):

- Alta taxa de crescimento (a maior entre as Angiospermas);
- Elevada exigência de nitrogênio;
- Proporcionam condições favoráveis para a sedimentação ao diminuir a ação do vento;
- Inibem a produção de algas, pelo sombreamento;
- Fornecem superfície para fixação de biofilme.
- Reduzem de gases que provocam maus odores.
- Reduzem a reprodução de insetos por barreira física.
- Possuem uma biomassa de elevada qualidade nutricional, agregando valor econômico ao tratamento.
- Fácil manejo, quando comparado à remoção de biomassa algal.

Segundo Iqbal (1999), por mais trinta anos, o cultivo de lemnáceas é considerado uma tecnologia potencial para combinar o tratamento de efluentes e a produção de alimento. Porém, apenas nos últimos dez anos esta prática tem sido aplicada em grandes escalas, principalmente na Índia e nos Estados Unidos. Hookerton, na Carolina do Norte, foi um dos primeiros municípios Norte Americanos a utilizar lemnas em estações de tratamento de esgoto, demonstrando eficiência e redução de custos (CROSS, 2006). Hoje, este estado Norte Americano possui grandes lagoas de lemnáceas, para tratamento terciário, que recebem efluentes de aproximadamente 200.000 pessoas, cerca de 38.000m<sup>3</sup>/dia (figura 7). Também na Carolina do Norte existem empresas que, em parceria com pesquisadores da *North Carolina State University*, prestam consultoria internacional e desenvolvem tecnologia para sistemas de tratamento e valorização com lemnáceas. A Lemna Corporation. Inc é exemplo de um conjunto de empresas que investem em tecnologias neste setor, entre elas, maquinário para colher a biomassa de lemnas produzida nos tratamentos (Figuras 7 e 8). Além dos EUA, as lagoas de lemnáceas no tratamento de efluentes tanto domésticos como de produções rurais, tem sido aplicadas em diversos países, como por exemplo, Índia, Alemanha, Holanda, Taiwan, Israel, China e Canadá (EDWARDS, 1988; IQBAL, 1999; LI e XIONG 2004; BONOMO *et al.*,(1997); VAN DER STEEN *et al.*, 1998; EL-GOHARY, 2000; LYERLY 2004).



(Fonte: Iqbal, 1999 e LemnaTec®)

Figura 7: Esquerda: Lagoa de lemnáceas (*Lemna minor*) para tratamento terciário de esgoto doméstico, na Carolina do Norte – USA. Detalhe para a colheitadeira flutuante desenvolvida para colher a biomassa de lemnas. Os quadrados visíveis são tubos plásticos flutuantes para que as lemnas não sejam arrastadas pelo vento, cada quadrado possui (2,5 x 2,5m). No quadrante inferior direito vê-se um sistema com lemnas, para polimento de efluente doméstico, com design em serpentinas e capacidade para 38.000m<sup>3</sup>/dia.



Fonte: Iqbal 1999 e Lemna Technologies (2005)

Figura 8: Lagoas de tratamento com lemnáceas nos EUA (acima), na Índia e Taiwan (abaixo). Detalhe para a diferença operacional.

Apesar de serem utilizados em grande escala, os sistemas de tratamento com lemnáceas carecem de muitos estudos e pesquisas para o seu aperfeiçoamento. Pois, como organismos biológicos estas plantas apresentam reações complexas perante diversas variáveis, dentre elas podemos citar:

- Variáveis climáticas: fotoperíodo, temperatura, altitude, umidade relativa do ar, sazonalidade, pluviosidade;
- Variáveis do efluente: pH, salinidade, toxicidade, disponibilidade de macro e micro nutrientes;
- Variáveis biológicas: Espécie utilizada, competição com algas, herbivoria, interação com microrganismos;
- Variáveis de engenharia: Tempo de retenção hidráulica, profundidade das lagoas, configurações do sistema, pré-tratamentos, dimensionamento de cargas.

Assim, os experimentos científicos possuem um papel fundamental para testar a sinergia entre estas variáveis e aferir a melhor configuração do sistema de tratamento para cada situação, pois as condições sócio-ambientais exercem forte influência na montagem e operação dos sistemas. Conclui-se que as informações devem ser regionalizadas, produzidas em condições específicas, evitando-se importação de tecnologia quando há uma discrepância entre o local de aplicação e o local onde foram desenvolvidas.

Experiências com o uso de lemnáceas em Bangladesh mostram que o custo com sistemas de lemnáceas é aproximadamente dez vezes menor do que o valor gasto com sistemas convencionais (com aeração), mas as lemnáceas ocupam uma área cerca de 3 vezes maior (Aquasan, 1995).

### **3.3.2 Remoção de nutrientes**

Os efluentes ricos em nutrientes, principalmente fontes de nitrogênio e fósforo, induzem o processo de eutrofização nos corpos receptores. Ou seja, lagos e rios que recebem cargas elevadas destes compostos apresentam um aumento na produtividade primária e um conseqüente desequilíbrio nos ciclos biogeoquímicos e das comunidades bióticas (ESTEVES, 1986). Além da eutrofização, a amônia ( $\text{NH}_3$ ) presente nos efluentes é tóxica para a maioria dos organismos aquáticos, pois possui caráter hidrofóbico e baixo peso molecular, sendo permeável através das membranas celulares e causando problemas osmóticos (ARANA, 1999).

#### **Remoção de nitrogênio**

Como citado anteriormente, as lemnáceas são exigentes na absorção de nitrogênio devido ao rápido crescimento de suas populações. Por possuírem um elevado teor de proteína em sua biomassa, a disponibilidade de nitrogênio é indispensável para o seu metabolismo, pois essas moléculas, compostas por aminoácidos, possuem agrupamentos amina ( $\text{NH}_2$ ), em sua estrutura (LANDOLT E KANDELER, 1987). Assim, Koerner & Vermaat (1998) citam que a remoção de nitrogênio em lagoas de tratamento com lemnáceas é devida, em até 50%, pela incorporação direta na biomassa. De forma

complementar, Zimmo e colaboradores (2004) afirmam que a contribuição na absorção direta de nitrogênio pelas lemnas é maior em períodos mais quentes, sendo que também ocorrem processos de nitrificação/desnitrificação, por microrganismos fixados na rizosfera, além da volatilização da amônia. (A figura 9 demonstra algumas reações envolvendo o nitrogênio em lagoas de lemnas) Contudo, devido aos valores de pH encontrados em lagoas de lemnas (próximos a neutralidade), a volatilização de amônia não é considerada uma importante via de eliminação de nitrogênio, por diversos autores como Van Der Steen *et al.* (1988), Caicedo *et al.* (2000), Zimmo *et al.* (2004) e El Shafai *et al.*, (2006).

A perda do nitrogênio por volatilização de amônia e por desnitrificação, juntas, podem representar entre 28 e 40% da remoção total, dependendo da carga inicial (ZIMMO *et al.*, 2000). Talvez o fator mais importante na remoção de nitrogênio em lagoas de lemnas seja a absorção direta da amônia, pois diversos autores confirmam que as lemnáceas absorvem preferencialmente a amônia ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) em relação ao nitrato ( $\text{NO}_3$ ) (CULLEY, *et al.* 1981; PORATH E POLLOCK, 1982; CAICEDO *et al.*, 2002). Cedergreen e Medsen (2002) complementam com a informação de que as lemnas podem absorver nitrato e amônia diretamente pelas folhas (frondes) ou pelas raízes dependendo apenas da área superficial. Contudo, Caicedo e colaboradores (2000) enfatizam a importância do pH neste processo, pois este determina a porcentagem de amônia ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) e não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) presente no meio, sendo que esta última tem efeito tóxico e inibitório. Desta forma, para um pH 8, a amônia não deve ultrapassar 50mg/L, já em pH 7 as lemnas toleram concentrações de 100mg/L. Por outro lado, Cheng e colaboradores (2002<sub>b</sub>) reportam que *Landoltia punctata* podem desenvolver-se mesmo sob uma concentração de 240mg N- $\text{NH}_4^+$ /L.

Geralmente os efluentes orgânicos possuem pouco oxigênio dissolvido e por isso a maior parte do nitrogênio inorgânico encontra-se na forma de amônia. Em sistemas de tratamento convencionais busca-se atingir a oxidação da amônia através da nitrificação biológica, mas este processo exige um aporte de oxigênio elevando o custo do tratamento (METCALF & EDDY, 1991). Absorção direta da amônia pelas lemnas é uma forma eficiente e de baixo custo para o polimento de efluentes, pois em alguns casos substitui sistemas aerados para remoção de nitrogênio, sendo ideal no ambiente rural onde há mais área disponível e menos recursos financeiros (SKILLICORN, 1993).

Existem muitos estudos que relatam a eficiência e a taxa de remoção de nitrogênio por lemnas e lagoas de tratamento. Korner e Vermat (1998) em um experimento com esgoto doméstico verificaram uma remoção de 73% até 97% de NTK, em 3 dias, a partir de uma concentração de 50 a 83mg/L de amônia, sendo que isso representa uma taxa de remoção de 120 a 590mg N m<sup>2</sup>/dia. Em um sistema com recirculação, Benjawan e Koottatep (2007) obtiveram uma remoção de 92% em uma caraga superficial aplicada de 1.300mg N/ m<sup>2</sup>/dia e 76% para uma carga de 3.300mg N/ m<sup>2</sup>/dia. El- Shafai e colaboradores obtiveram 98% de redução de amônia com um TDH de 15 dias, em um sistema de tratamento integrando UASB (up-flow anaerobic sludge blanket) e lagoa de lemnas. Culley e colaboradores (1981) citam que, sob as condições climáticas da Louisiana (EUA), as lagoas de lemnas podem remover 1.380 kg de nitrogênio/ha/ano. Muitos outros achados estão dispostos na literatura especializada descrevendo as relações do nitrogênio em lagoas de lemnas, bem como o balanço de massa e a utilização do nitrogênio para a produção de proteína na biomassa vegetal (LANDOLT e KANDELER, 1987; ORON *et al.*, 1988; SKILLICORN, 1993; COSSU *et al.*, 2001; CHEG *et al.*, 2002<sub>a</sub>; LYERLEY 2004, ZIMMO *et al.*, 2003, ZIMMO *et al.*, 2004; DRIEVER *et al.* 2005).

### **Remoção de fósforo**

A absorção de nitrogênio, fósforo e potássio, entre diversos outros nutrientes, é fundamental para o metabolismo de todos os vegetais superiores, contudo, as exigências diferem para cada espécie. Deste modo, os valores encontrados na literatura correlata para a remoção de fósforo por lemnáceas são de 5 a 10 vezes menores do que para a remoção do nitrogênio (LANDOLT e KANDELER, 1987, KORNER e VERMAT, 1998; BENJAWAN e KOOTTATEP, 2007). Segundo Skiliconr *et al.* (1993), a principal via de remoção de fósforo em sistemas de tratamento com as plantas da família *Lemnaceae* é a assimilação direta pela biomassa, mas ocorre também adsorção por partículas de argila e matéria orgânica, precipitação química com Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> e Al<sup>3+</sup> e assimilação pelas bactérias (figura 9). Com exceção da assimilação pelas plantas, os últimos três mecanismos causam um acúmulo de P no sistema devido à ausência de componentes voláteis

como o  $N_2$  ou  $NH_3$ , no caso do nitrogênio. A remoção do fósforo do sistema somente é possível através da coleta das plantas da superfície ou dragagem do solo (IQBAL, 1999).

A capacidade de absorção de fósforo pelas plantas depende da taxa de crescimento, frequência de coleta e disponibilidade de ortofosfato na água (forma assimilável de P pelas plantas). Quando a temperatura é mais alta, a taxa de crescimento e a remoção de fósforo são maiores. (ZIMO *et al.*, 2004). Um adequado pré-tratamento do efluente para a disponibilização do ortofosfato aumenta a assimilação pelas plantas.

Körner *et al.* (1998) em experimento com efluente doméstico demonstraram eficiências de remoção de fósforo que variaram entre 63 e 99% em 3 dias, dependendo da concentração inicial. Körner e Vermaat (1998) afirmam que as lemnáceas foram responsáveis por 52% da remoção do fósforo total e as bactérias presentes no biofilme fixado nas raízes das plantas contribuíram com 31-71%. Dessa maneira, pode-se concluir que as mesmas plantas foram responsáveis por 63-83% da remoção do fósforo total e o restante foi absorvido pelas bactérias presentes na coluna d'água e no sedimento. Em um experimento laboratorial, Cheng e colaboradores (2002), observaram uma taxa de remoção de fósforo de  $31.9\text{mg}/\text{m}^2/\text{dia}$ , a partir da concentração de  $30\text{mg PO}_4/\text{L}$ . Já, El-Shafai e colaboradores (2006), assim como e Nozaly *et al.* (2000), apontam uma taxa de remoção próxima a  $95\text{mgP}/\text{m}^2/\text{dia}$ , em experimentos em escala piloto (tanques com  $1\text{m}^2$ ) utilizando efluente de um reator UASB.

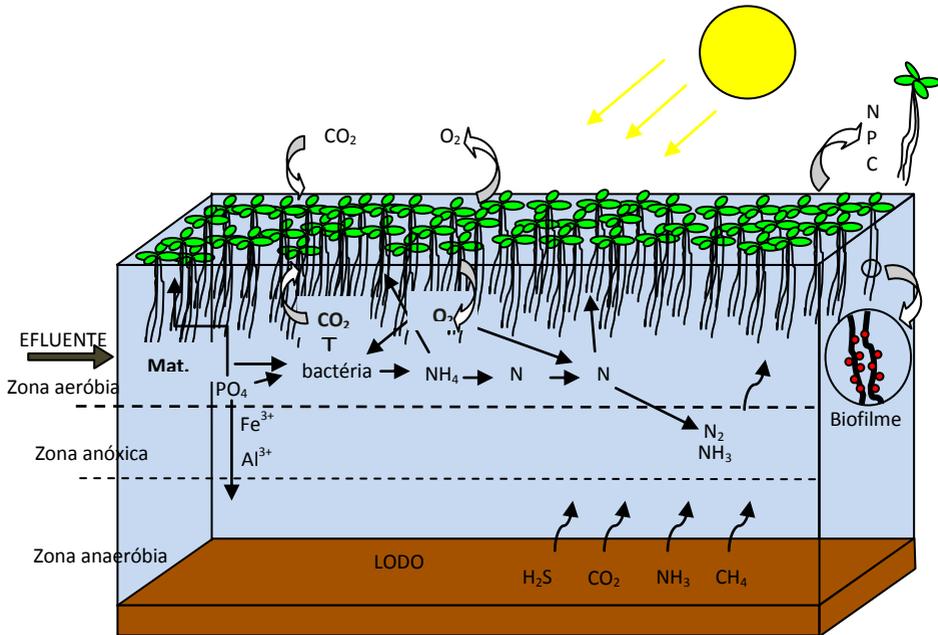


Figura 9: Representação de processos que ocorrem durante o tratamento de efluentes, em lagoas com lemnaças

### 3.3.3 Remoção matéria orgânica (DQO e $\text{DBO}_5$ )

Nos diversos sistemas de tratamento biológico de efluentes, a degradação da matéria orgânica ocorre pela ação de microorganismos aeróbios e anaeróbios. Em lagoas de lemnaças não é diferente, contudo, as condições para o desenvolvimento destes microorganismos sofrem influência direta da cobertura vegetal proporcionada pelas plantas (Figura 9). Apesar de não serem muito claros, os mecanismos de remoção de DQO, em lagoas de lemnaças está associado aos microorganismos aeróbios e anaeróbios fixados nas plantas, presentes na coluna d'água e no sedimento (CROSS, 2006)

A remoção da  $\text{DBO}_5$  por processos aeróbios é mais rápida e depende do suprimento de  $\text{O}_2$  e superfície disponível para a fixação de bactérias. Em lagoas de lemnaças, a concentração de oxigênio dissolvido é um dado que diverge entre os autores, mas em linhas gerais, ocorre uma zona aeróbia próxima a superfície, pela atividade fotossintética e no fundo predomina o ambiente anaeróbio, dependendo

da profundidade da lagoa (CAICEDO, 2005). Quanto à área disponível para a fixação do biofilme bacteriano as lemnas proporcionam um grande aporte comparando-se com lagoas de estabilização convencionais. Por outro lado, as plantas da família *Lemnaceae* possuem pequena superfície para tal fixação quando comparadas a outras macrófitas com maior sistema radicular e estrutura foliar (ZIRSCHKY E REED, 1988). De acordo com esses autores, a remoção da DBO diminui em lagoas cobertas por lemnas devido à baixa quantidade de oxigênio transferida para a água por difusão. Alguns autores como Alaerts *et al.* (1996) desenvolveram experimentos para avaliar a dinâmica de OD em lagoas com lemnáceas e constataram que a coluna d'água permaneceu aeróbia durante todo o período experimental.

De acordo com Reed e colaboradores (1988), dependendo da carga orgânica, profundidade, tempo de detenção e potencial redox, uma lagoa coberta por lemnas pode tornar-se anóxica ou anaeróbica. Neste caso, os principais fatores responsáveis pela remoção da DBO são similares àqueles que ocorrem em zonas anaeróbicas de lagoas facultativas. Oronet *al.*(1988) observaram que a remoção da DQO aumenta com a diminuição da profundidade de 30 para 20cm. Entretanto, Vroon e Weller (1995) não relataram diferença na redução na DQO em profundidades de 15 a 60 cm. Por outro lado, Alaerts *et al.* (1996) e Srinanthakumar *et al.* (1983) observaram elevações na concentração de OD em lagoas de lemnas, com taxas de incorporação de oxigênio variando entre 3 a 4g/m<sup>2</sup>/dia. Korner e colaboradores (1998) estudaram a degradação da matéria orgânica, em tanques, simulando a presença de lemnas através de bolhas plásticas e aeração forçada, em comparação com uma população real de *Lemna gibba*. Concluíram que a redução de DQO foi superior na população natural de lemnas, principalmente como meio suporte para fixação de biofilme aeróbio. Estes autores citam também que a taxa de incorporação de O<sub>2</sub> no meio líquido pelas lemnas chegou a 1mgO<sub>2</sub>/L/h.

Mohedano (2004), no tratamento de efluente de piscicultura, relata uma redução de 91% de DQO (de 421 para 38mg/L) em 26 dias. Segundo Körner *et al.*(1998), em um tempo de detenção de três dias, a remoção da DQO com as lemnas foi de 74 a 78% e de 52 a 60% no tratamento controle, demonstrando que a degradação da matéria orgânica foi melhor na presença das mesmas. Outro trabalho realizado por Oron *et al.*(1987), utilizando *Lemna gibba* no tratamento de esgoto bruto (DQO de 500 a 750mg/l) em tanques de 20 cm de profundidade, demonstrou uma taxa de remoção de 66,5% em 5 dias e de 73,4% em 10

dias. Mandi(1994) encontrou valores de remoção de 72,1% em 7 dias em esgoto doméstico (DQO de 444 mg/L). Alaerts *et al.* (1996) obtiveram valores superiores na remoção de DQO (89 a 90%) em um maior tempo de retenção (20,4 dias).

Awuah (2001) em experimentos com efluente doméstico, demonstrou a redução de DBO de 130 mg/l para 7,5 mg/l em 29 dias, com o uso de *Lemna paucicostata*. Segundo Ngo (1987), o tempo de detenção em sistemas de tratamento com lemnáceas está diretamente relacionado com a qualidade e concentração do efluente, taxa de coleta e clima, sendo aproximadamente de 30 dias. El-Shafai *et al.* (2006) e Benjawan e Koottatep (2007) citam eficiências próximas a entre 60 e 80% para a redução de DQO sobre efluentes com 90 a 270mg/L, contudo, esta eficiência parece reduzir nos meses mais frios

### 3.3.4 Remoção de coliformes e patógenos

As lagoas de lemnáceas não possuem os mesmos mecanismos para remoção de patógenos quando comparadas às lagoas de produção algal. Pois os principais fatores responsáveis pela remoção destes organismos, como insolação, elevação do pH e substâncias bactericidas produzidas pelas algas, não estão presentes nas lagoas de lemnas. Contudo, muitos autores citam uma expressiva remoção de coliformes em lagoas de lemnáceas por mecanismos pouco conhecidos (VAN DER STEEN *et al.*, 1999. EL-SHAFAI *et al.*,2006). Rangeby e colaboradores (1996) acrescentam que o tempo de retenção hidráulica, a temperatura e a presença de predadores são variáveis importantes na remoção de patógenos.

Analisando as condições ambientais para a remoção de patógenos, Awuah e colaboradores (2001) descrevem uma redução de 5 unidades log, em um experimento piloto com lemnas. Em um sistema para o tratamento de efluente doméstico com UASB seguido de lagoas de lemnas, El-Shafai e colaboradores (2006) relatam uma remoção de 7 unidades log de *E. coli*, sendo atribuída a redução de 5 unidades logarítmicas às lagoas de lemnas e 2 unidades ao reator UASB. Observando o fato de que a redução de coliformes é significativamente maior nos períodos mais quentes, estes autores discutem seus resultados com base em algumas deduções, como por exemplo: as lemnáceas absorvem maior quantidade de nutrientes causando uma deficiência dos mesmos para outros organismos; a remoção periódica de biomassa pode

remover os coliformes aderidos. Este último fator talvez seja o mais efetivo, pois, como a biomassa de lemnas é retirada diariamente, os organismos protegidos em suas raízes são conseqüentemente removidos. Mas de forma complementar, também foi verificada, em outros estudos, a remoção de coliformes em regiões mais profundas das lagoas de lemnaáceas (VAN DER STEEN *et al.* 1999).

A constante de decaimento de primeira ordem ( $K_d/\text{dia}^{-1}$ ) para coliformes fecais em lagoas de lemnaáceas é indicado por Van Buuren e Hobma (1991) como  $1,2.d^{-1}$ . Um resultado similar é apresentado por Van Der Steen e colaboradores (1999) os quais chegaram ao valor de  $1,4 d^{-1}$  para o  $K_d$  em lagoas de lemnas na sucessão de uma lagoa de estabilização de produção algal.

### 3.3.5 Influência na proliferação de insetos

As informações sobre a proliferação de mosquitos em lagoas de lemnaáceas são contraditórias (IQBAL, 1999). Contudo, os efeitos positivos para a redução de insetos, com ênfase para os dípteros vetores de doenças (*Culex* spp e *Anopheles* spp), estão relacionados à barreira física imposta pela manta de vegetais que dificultam a passagem entre a água e a atmosfera (CULLEY e EPPS, 1973). Alguns autores citam a presença de larvas de mosquitos em lagoas com lemnas, no ambiente natural, mas após a metamorfose das larvas, os mosquitos não conseguem alcançar o ar e morrem por não respirarem (BRADLEY, 1932). Landolt e Kandeler (1987) citam outros fatores inibitórios como a escassez de alimento para as larvas (plâncton) e a presença de predadores que habitam na malha de raízes.

### 3.3.6 Remoção de metais pesados

Os problemas ecotoxicológicos causados por metais pesados, devido suas características de bioacumulação e elevada persistência, tem ampliado a busca por métodos de remoção destes contaminantes, os quais têm recebido considerável atenção e dispendiosos investimentos (LEE *et al.* 1998) Entre estes processos podemos citar: troca iônica, osmose reversa, membranas, precipitação, tratamento eletroquímico e materiais sorventes (MIRETZKY *et al.*, 2006). Contudo, a capacidade das macrófitas aquáticas de acumular alguns metais pesados removidos

do meio é um fato bem conhecido e atualmente aplicado como uma tecnologia eficiente e de baixo custo (SELA *et al.*,1989; Gupta and Chandra,1994)

Em relação à absorção de metais pesados presentes no ambiente natural as plantas podem ser divididas em três tipos (MEMON *et al.*, 2001).

- Excretoras: Possuem em suas partes aéreas uma concentração de metais inferior a do meio, pois protegem-se de seus efeitos tóxicos,
- 2- Indicadoras: Apresentam em seus tecidos uma concentração de metais semelhantes a do meio.
- 3- Acumuladoras: Tem a capacidade de acumular metais pesados em seus tecidos em concentrações muito mais elevadas do que a do meio.

As lemnáceas encontram-se no grupo de plantas acumuladoras, pois diversas pesquisas reportam a capacidade desta família botânica na absorção e acúmulo de metais como Cu, Cr, Pb, Cd, Ni, Zn, Mn. Landolt e Kandeler (1987) citam mais de 60 referências relativas à absorção e acumulação de metais pesados por macrófitas (IQBAL, 1993). Dependendo da quantidade destes metais e das características químicas do corpo d'água, estas plantas podem manter concentrações entre 100 e 10.000 vezes maiores, quando comparadas com o meio onde estão se desenvolvendo. Nicholas e colaboradores (2003), em um estudo sobre a remoção de níquel por *Lemna minor* apontam uma eficiência de até 82% de remoção a partir de uma concentração inicial de 5mg/L. Miretzki e colaboradoras (2004) comparam três espécies de macrófitas na remoção de diversos metais e obtiveram o melhor resultado com a lemnácea *Spirodela intermédia*, os quais foram: Fe = 80,23 %, Zn = 95,73%; Mn =96,91%; Cu = 91,70%; Cr = 33,88% e Pb = 98,22%. Sharma e Gaur (1995) afirmam que a absorção de zinco observada em *Spirodela polirrhiza* é a maior já verificada e um organismo. Heidemann (2009) observou a remoção de zinco e cobre em lagoas de tratamento de dejetos suínos, em Santa Catarina, constatando uma redução de 180 e 40ppm para 0,12 e 0,04ppm respectivamente.

De acordo com Hammouda *et al.* (1995), as lemnáceas são excelentes bioacumuladoras de vários metais pesados, permitindo que as mesmas sejam utilizadas no tratamento de águas residuárias, incluindo o efluente industrial. Sendo assim torna-se de extrema importância a realização de análises detalhadas do efluente a ser tratado, bem como

das lemnáceas produzidas no mesmo quando se objetiva utilizar as plantas como fonte de alimento.

### 3.3.7 Remoção de sólidos suspensos

Talvez a principal vantagem das lagoas de lemnas quando comparadas as lagoas de estabilização de elevada produção algal seja a redução dos sólidos suspensos. A produção primária algal contribui fortemente para a elevação de sólidos suspensos nos efluentes, caso não haja um tratamento posterior para a remoção da biomassa algal (METCALF & EDDY, 1991). Assim, como citado anteriormente, a população de lemnas forma uma manta sobre a lâmina da água impedindo a penetração da radiação solar e inibindo o desenvolvimento de algas (SKILLCORN *et al.*, 1993 ZIMMO *et al.*, 2004 ). Esta proteção também reduz a ação dos ventos e a estratificação térmica contribuindo para a sedimentação de partículas em suspensão (IQBAL, 1999).

A utilização de lagoas de lemnas no pós-tratamento de lagoas de estabilização tradicionais é uma boa alternativa para a redução de sólidos suspensos e para o polimento da carga de nutrientes (VAN DER STEEN *et al.*, 1998). Estes autores citam que as desvantagens de cada tipo de lagoa são anuladas quando estas trabalham em série. El-Shafai (2006) aponta uma redução de SST em 91%, a partir de 380mg/L, com esgoto doméstico. Também, Mohedano (2004) obteve 99,7% de eficiência para SST, em um tempo de retenção de 13 dias, no tratamento de efluente de piscicultura. Benjawan e Koottatep (2007) e Noemi (2004) citam que a redução de sólidos suspensos com lemnáceas é satisfatória para o enquadramento nos padrões Europeus (CEC) de tratamento de esgoto doméstico.

### 3.3.8 Redução de odores

Os maus odores em lagoas de tratamento estão relacionados principalmente aos gases produzidos durante a decomposição anaeróbia (BELLI FILHO, 1995). Dentre estes gases, o sulfídrico ( $H_2S$ ) é um dos principais responsáveis pelos odores desagradáveis, sendo conhecido pelo cheiro característico de “ovo podre”. Segundo Iqbal (1999) a redução de odores em lagoas de lemnas se dá por um mecanismo de oxidação do gás sulfídrico. Neste mecanismo o gás fica retido na

cobertura vegetal e na malha de raízes permanecendo em contato com a zona aeróbia, mantida pela fotossíntese, e conseqüentemente sofre oxidação formando íons de enxofre (sulfatos).

### 3.3.9 Aspectos de Engenharia e Operação

Para o desenvolvimento de projetos e dimensionamento de unidades de tratamento de efluentes com lemnáceas, devem-se considerar os mesmos parâmetros utilizados em lagoas de estabilização, ou seja, o tempo de retenção hidráulica, as cargas de aplicação e a profundidade das lagoas (BAREA E SOBRINHO 2006, VON SPERLING, 2009). Von Sperling (2009) cita as lagoas de macrófitas como tecnologias passíveis de ser utilizadas no polimento de efluentes, após um sistema de lagoas de estabilização. Contudo, afirma que as experiências com lagoas de aguapés não prosseguiram devido à grande quantidade de biomassa produzida e a dificuldade no manejo, por outro lado, as lemnáceas não apresentam esta desvantagem.

Geralmente o TDH depende da carga orgânica aplicada, principalmente para esgotos domésticos. Contudo, como muitas vezes o fator limitante para o funcionamento das lagoas de lemnas é a concentração de amônia, alguns autores tem calculado o TDH com base na carga deste composto (CAICEDO, 2005). Como exemplo, Korner e Vermat (1998) indicam uma taxa de aplicação de 120 a 590mgN-NH<sub>3</sub>/m<sup>2</sup>/d ou aproximadamente 6kgNH<sub>3</sub>/ha/dia. A carga superficial aplicada e o TDH podem ser encontrados pelas fórmulas a seguir:

(1)

Carga superficial aplicada

$$\lambda_s = \frac{10 * C_o * Q}{A}$$

$\lambda_s$  = Carga superficial (kg/ha/dia)

$C_o$  = Concentração total afluyente (mg/L)

$Q$  = Vazão (m<sup>3</sup>/dia)

$A$  = Área (m<sup>2</sup>)

10 = Fator de correção para as unidades

(2)

Tempo de Detenção Hidráulica

$$TDH = \frac{V}{Q}$$

TDH= tempo de detenção hidráulica (dia)

A= área da meia profundidade (m<sup>2</sup>)

Q= vazão afluyente (m<sup>3</sup>/dia)

H= profundidade da lagoa (m)

Assim, o TDH e as cargas aplicadas não possuem um valor padronizado para as lagoas de lemnas, demonstrando grandes variações entre autores. Cossu e colaboradores (2001) afirmam que para um bom tratamento as cargas orgânicas devem variar entre 2 e 5g DQO/m<sup>2</sup>/d. Para Gijzen e Khondker (1997), em lagoas de lemnáceas estes valores não devem exceder a 10 e 16 g DBO/m<sup>2</sup>/d, para se obter um efluente com uma qualidade aceitável (DBO de 30 mg/L). O TDH citado em diversos estudos pode variar de 4,2 dias (NOEMI *et al.*, 2004) a 75 dias (LYERLEY, 2004). Mas, comumente o TDH em lagoas de lemnas encontra-se entre 15 e 25 dias (IQBAL, 1993; ALAERTS, 1996; EL-SHAFAI *et al.*, 2006).

A profundidade das lagoas de tratamento é um fator que influencia diretamente a mistura vertical, evitando a ocorrência de termoclina e distribuindo matéria orgânica e nutrientes em diferentes profundidades. Sem a mistura adequada ocorre uma redução brusca de nutrientes na zona próxima às raízes devido ao consumo destes pelas plantas e à resistência de difusão, que limita a movimentação dos nutrientes das áreas mais concentradas para as de menor concentração (CHAIPRAPAT, 2002). Também, para aumentar a eficiência do tratamento com lemnas há necessidade de que o efluente fique em contato com as raízes da planta, lugar de fixação de bactérias heterotrófica. Assim, as lagoas mais rasas produzirão uma melhor mistura vertical, porém, necessitam de maior área para a sua implantação.

Caicedo (2005) testou duas profundidades em tanques seqüenciais de tratamento com lemnas, variando o TDH (40cm para 12 e 21 dias, e 70cm para 21 dias) e conclui que o TDH promove mais influência do que a profundidade. Tipicamente encontram-se profundidades compreendidas entre 0,6 a 1,5 m, as quais são adequadas

à minimização dos gradientes de temperatura (SMITH e MOELYOWATI, 2001). Contudo, pesquisas realizadas no Brasil por Mohedano (2004) e Tavares (2007) indicam que as estruturas de tratamento com lemnáceas não devem passar de 1m de profundidade. Para Metcalf e Eddy (1991), a profundidade influi na carga hidráulica, pois se esta for alta pode atrapalhar a sedimentação de sólidos. Smith e Moelyowati (2001) complementam ao citar que na massa de água, nos 10 primeiros centímetros em relação à superfície, predominam as reações aeróbias.

Para que as lagoas de lemnáceas operem bem é necessário que o fluxo se aproxime do fluxo pistão e que a velocidade horizontal esteja em torno de 0,1 m/s que é a mais apropriada para prevenir distúrbios nas plantas (Edwards, 1992). Assim os tanques para cultivo de lemnáceas devem ser construídos com uma alta proporção entre comprimento e largura (maior que 10) para aumentar condições de fluxo contínuo e simplificar a coleta da biomassa (ZIRSCHKY E REED, 1988).

Talvez o fator mais importante na operação e manejo nas lagoas de tratamento com lemnas seja a remoção da biomassa (SKILICORNet al., 1993; SMITH, 2003; LANDESMAN et al., 2005; DRIEVER et al., 2005). Pois, os efeitos da superpopulação de lemnas, assim como as baixas densidades, podem reduzir a eficiência do tratamento e até mesmo apresentar eficiências negativas. Com as elevadas densidades populacionais ocorre a sobreposição de biomassa ocasionando competição por luz, nutrientes e CO<sub>2</sub> (CROSS, 2006; SKILICORN et al.1993). Deste modo a biomassa submersa tende a morrer entrando em decomposição e liberando os nutrientes removidos, além de incrementar a DBO e a consequente depleção do oxigênio dissolvido. Por outro lado, as baixas densidades de lemnas ocasionam clareiras na superfície permitindo a penetração da radiação solar na coluna d'água e propiciando o desenvolvimento de algas. Estas causam a elevação do pH e, conseqüentemente, da toxicidade da amônia, além da competição por nutrientes (CAICEDO 2005, ZIMMO et al., 2003). Sendo assim, a manutenção de uma densidade ótima de biomassa é fundamental para o sucesso do tratamento de efluentes em lagoas de lemnas. Segundo as pesquisas avaliadas, a densidade ótima de biomassa de lemnas em lagoas de tratamento está entre 200 e 600g/m<sup>2</sup>(matéria úmida) (SKILICORN et al., 1993; ZIMMO et al 2002; CHENG et al., 2002a; SMITH, 2003; ZIMMO et al., 2004; LANDESMAN et al., 2005).

Para o cálculo de remoção de biomassa foram desenvolvidos estudos de modelagem matemática a fim de se prever o crescimento das

lemnas em lagoas de tratamento. As principais variáveis utilizadas são: temperatura, concentração de nitrogênio, concentração de fosfatos, radiação luminosa, densidade de biomassa e crescimento específico. Para ilustrar, Landesman et al. (2005) desenvolveram o seguinte modelo:

$$Y = [(1 - e^{-A_1 X}) * (A_2 - A_3 X) + A_4] * (1 - |1 - T_{obs}/T_{opt}|) * (1 - |1 - SR_{obs}/SR_{opt}|) \quad (3)$$

Onde:

Y = taxa de crescimento (g /dia – matéria úmida)

X = concentração de nitrogênio total (mg /L)

A1 = variação na taxa de crescimento

A2, A3 = coeficientes do modelo

A4 = aumento de peso úmido da biomassa na concentração zero

Obs T = temperatura observada (°C)

T opt = temperatura ótima para crescimento de lemnas (26 °C)

Obs SR = radiação solar observada (W/m<sup>2</sup>)

SR opt = radiação solar ideal para o crescimento das lemnas (138 W/m<sup>2</sup>)

Os coeficientes do modelo foram obtidos através do software MERV (Gregory and Fedler 1986) alimentado com dados obtidos em experimentos piloto, em condições controladas, onde A1= 0.308, A2 = 7.18, A3 = 0.201 e A4 = 7.01. Este modelo de crescimento apresentou um R<sup>2</sup> = 0,99 (p<0,05) sendo bastante confiável para um modelo biológico.

Driever e colaboradores (2005) citam que a temperatura influencia o crescimento de forma linear (de 5 a 26°C), ao passo que a concentração de nutrientes gera efeitos segundo o modelo de Monod considerando a metade da concentração se saturação [N]S/2. Já a limitação pela biomassa foi assumida como influenciando segundo o mesmo modelo (Monod), onde a constante de concentração de biomassa/2 foi igual a 26g/m<sup>2</sup> (biomassa seca) (*Half saturation constant h<sub>B</sub>*). A função do crescimento da biomassa de lemnas, em lagoas de tratamento, segundo Driever et al. (2005) pode ser descrita pela equação a seguir:

(4)

$$f(T, B, N, P) = \frac{T - T_{\min}}{T_{\text{opt}} - T_{\min}} \frac{N}{N + h_N} \frac{P}{P + h_P} \frac{h_B}{B + h_B}$$

Onde:

T= temperatura (°C)

T<sub>opt</sub> = temperatura ótima = 26°C

T<sub>min</sub> = temperatura mínima = 5°C

B = biomassa (g/m<sup>2</sup>)

N= [N] (mg/L)

P = [P] (mg/L)

h<sub>N</sub>= metade da concentração de saturação para N (mg/L)

h<sub>P</sub>=metade da concentração de saturação para P (mg/L)

h<sub>B</sub> = metade da concentração de saturação para a biomassa (g/m<sup>2</sup>)

Contudo, é importante ressaltar que os modelos de crescimento não contemplam todas as variáveis que vêm a influenciar no desenvolvimento destes organismos, não sendo fiéis à realidade, principalmente quando ocorrem variações acentuadas nas características do afluente, como é o caso da suinocultura.

### 3.3.10 Lagoas de lemnáceas e a suinocultura

Muitos estudos têm demonstrado a potencialidade de lemnáceas no polimento do efluente da suinocultura, principalmente no que diz respeito à remoção de nitrogênio, mas também aplica-se ao fósforo, DQO e sólidos suspensos. Segundo Chaiprapat (2002), o efluente de suinocultura possui uma elevada capacidade tampão, que auxilia na manutenção do pH próximo da neutralidade, além do fato de que a maior parte do nitrogênio encontra-se na forma amoniacal. Estes fatores são considerados como positivos, pois em pH neutro a toxicidade da amônia para as plantas é menor, quando comparada a níveis de pH mais elevado. Também o íon amônio (mais presente em pH baixo a neutro) é assimilado de forma preferencial em relação ao nitrato (LANDOLT E KANDLER, 1987; CAICEDO, 2004).

Pesquisadores da equipe dos doutores Cheng e Bergman, da Universidade Estadual da Carolina do Norte publicaram diversos

trabalhos sobre a eficiência de lemnáceas no tratamento e valorização de efluentes de suinocultura. Bergman e colaboradores (2000) avaliaram o desenvolvimento de 12 espécies de lemnáceas, no efluente de suinocultura, com o intuito de selecionar o grupo mais resistente a este meio. Os parâmetros avaliados foram remoção de nutrientes (N e P), taxa de crescimento e produção de proteína, sendo que a espécie de primeira posição no *ranking* foi *Landoltia punctata*.

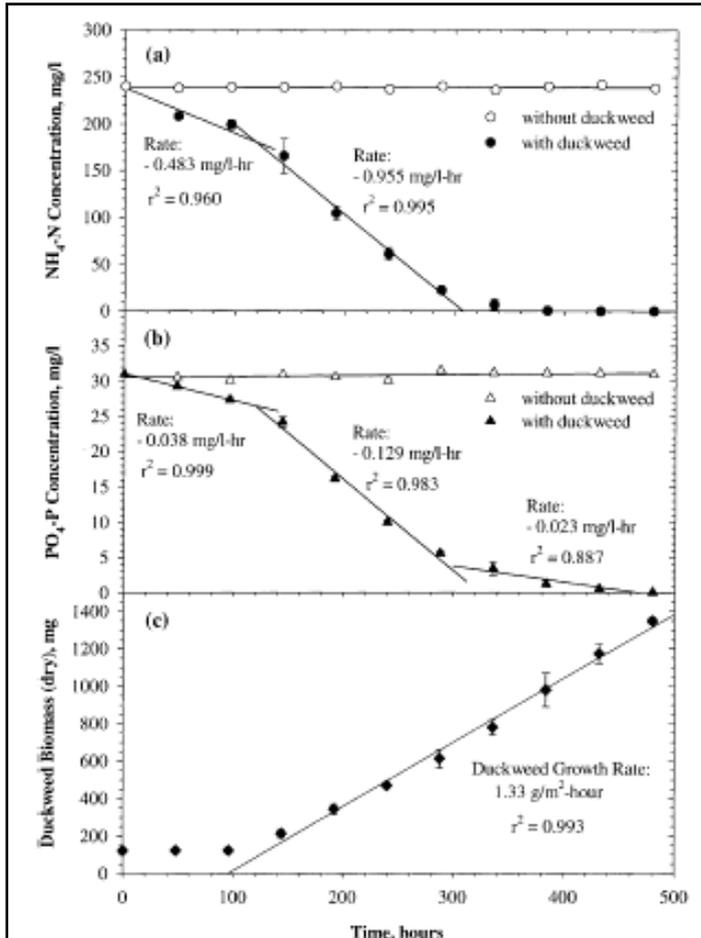
Cheng e colaboradores (2002a) reportam uma excelente performance desta espécie em efluente de suinocultura, com uma taxa de remoção de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{PO}_4^-$  de aproximadamente 1mg/L/h e 0,13mg/L/h, respectivamente. A taxa de crescimento das lemnáceas, nestas condições, foi de 32g/m<sup>2</sup>/d (Figura 10). Um fator importante a ser ressaltado é a concentração inicial de amônia em torno de 240mg/L (em pH 7). Esta concentração (confirmada também por CHAIPRAPAT, 2004) é considerada letal para a maior parte dos organismos aquáticos (ARANA, 1997).

Para o dimensionamento de cargas em sistemas de tratamento de dejetos de suínos Lyerly, (2004) aconselha que este deve ser feito considerando a carga de nitrogênio amoniacal ao invés de DQO, como em lagoas de estabilização com produção algal. Para este autor, a carga de nitrogênio deve ser de 4,0g NTK/m<sup>2</sup>/d para *Landoltia punctata* e 3,5g NTK/m<sup>2</sup>/d para outras espécies. Cheng e colaboradores (2002b), em uma pesquisa (escala real) com *Lemna minor*, no tratamento terciário de dejetos de suínos relatam uma taxa de remoção de 2,1g N/m<sup>2</sup>/d e 0,6g P/m<sup>2</sup>/d.

Os dados apresentados acima confirmam que a eficiência das lemnáceas no tratamento de dejetos de suínos é possivelmente maior do que as obtidas em lagoas de tratamento de esgoto doméstico. Este fato é observado ao comparar os dados da taxa de remoção de nitrogênio obtidos por Landolt e Kandeler (1987), com efluente doméstico e Cheng (2002b) com dejetos de suínos sendo 0,59g N/m<sup>2</sup>/d e 2,1g N/m<sup>2</sup>/d respectivamente.

Outra grande vantagem da utilização de lagoas de lemnáceas no tratamento de dejetos de suínos, comparando-se com os efluentes domésticos, está relacionada ao contexto rural e urbano. Pois, no ambiente rural, onde se dá a produção de animais, o aproveitamento da biomassa de lemnas, como alimento, é facilitado. Em Santa Catarina, as propriedades rurais de produção suinícola são caracterizadas por possuírem outras atividades como plantações de milho e aveia, bovinos e piscicultura (MIRANDA, 2005). Assim a produção de lemnas pode

ser utilizada na alimentação de animais trazendo benefícios econômicos, os quais são contrapartida para a implantação do sistema de tratamento de dejetos.



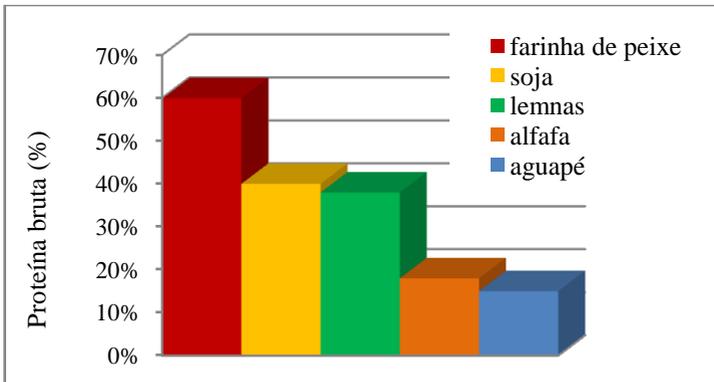
Fonte: Cheng *et al.*(2002a)

Figura 10: Exemplo da remoção de amônia (a) e fosfato (b), em efluente de suinocultura, e da produção de biomassa de lemnas (*Spirodela polirrhiza*) ao longo do tempo(c), segundo Cheng et al (2002a)

### 3.4 Usos da biomassa de lemnas

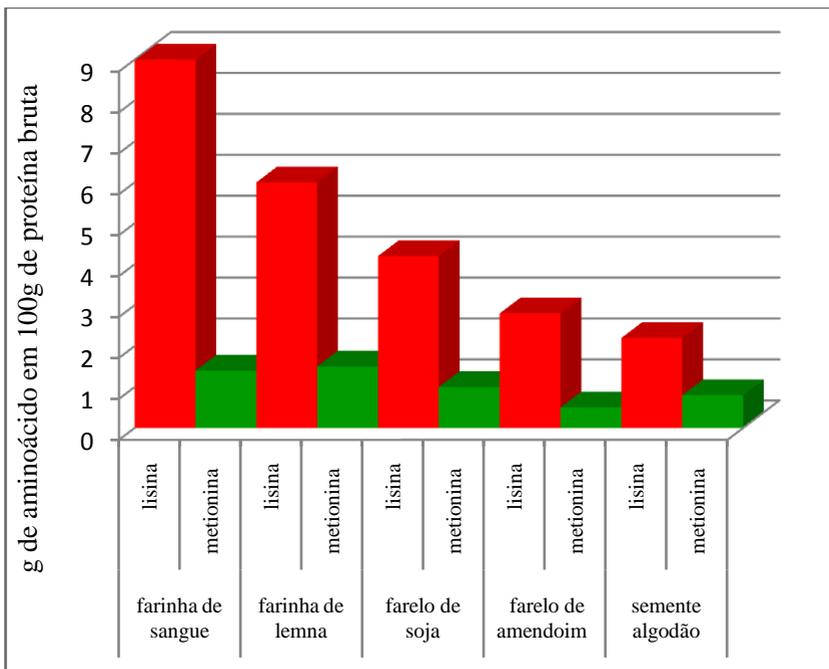
Em ambientes naturais, as lemnáceas constituem um importante recurso alimentar para aves aquáticas, peixes e insetos (POTT, 2000). A baixa porcentagem de fibras e o elevado valor nutricional as tornam um alimento de boa qualidade para animais domésticos e possivelmente para humanos (IQBAL, 1999). Todavia a relação entre proteínas e fibras pode variar de acordo com o estado trófico da água onde se desenvolvem, com a frequência de coleta e com a espécie envolvida (SKILICORN *et al.* 1993). Estes autores afirmam que em lemnáceas cultivadas em águas oligotróficas (pobre em nutrientes), a porcentagem de proteína produzida é baixa (15 a 25%) e a quantidade de matéria fibrosa é alta (15 a 30%). Porém, se desenvolvidas em ambientes eutróficos (ricos em nutrientes), estas plantas podem conter entre 35 e 45% de proteínas e 5 a 15% de fibras. Em contrapartida, Sultana e colaboradores(2000) afirma não haver relação entre a quantidade de proteína produzida por *Lemna purpusilla* e a concentração de nitrogênio presente na água.

Em estudos realizados por Mbagwu & Adeniji (1988) e Islam (2002), nota-se que as proteínas presentes nestes vegetais são ricas em todos os aminoácidos essenciais (com exceção para metionina), podendo ser comparadas com fontes de proteína animal e a soja (figura 11e 12). Said e colaboradores (1979) afirmam que o cultivo de lemnas pode produzir dez vezes mais proteína/ha/ano do que a soja, alcançando uma taxa de 59 kg de proteína, de boa qualidade, por dia. Todavia, a quantidade de lipídios contida nas lemnáceas é extremamente baixa, uma vez que são utilizadas as folhas e não as sementes, como no caso da soja (tabela 1). Landesman e colaboradores (2002) apresentam a constituição da farinha de *Lemna gibba*, onde a quantidade de proteína bruta atinge 41,7% e os lipídios não ultrapassam 4,4%. Desta forma é dedutível que a alimentação de animais, constituída à base de farinha de lemna, necessitaria de complementos ricos em gordura.



Fonte: adaptado de CROSS 2006

Figura 11: Teor de proteína bruta nas lemnas e em outros alimentos comumente utilizados em dietas para animais



Fonte: adaptado de CROSS 2006

Figura 12: Concentração de aminoácidos essenciais (lisina e metionina) na biomassa de lemnas e em outros alimentos utilizados em dietas para animais.

Além do alto teor de proteína, outros componentes importantes são encontrados nestes vegetais. Landolt e Kandeler (1987) relatam a presença de 40 minerais diferentes, vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C, E. Muzaffarov *et al.* (1971) enfatizam a alta concentração de vitamina E. As espécies de lemnáceas analisadas por Khan *et al.* (2002) possuem uma concentração relativamente elevada de Ca, P, Na, K, Fe, Mn, Mg, Cu e Zn. Sendo a maioria destes elementos de importante função metabólica para a maior parte das espécies animais.

Devido a tais características, que conferem a estas plantas um bom valor nutricional, diversos pesquisadores têm direcionado estudos a fim de testar a eficiência destas na alimentação de animais de criação, principalmente para aves e peixes. Islam (2002) recomenda incorporação de farinha de lemna em dietas para aves de criação substituindo a farinha de soja, de peixe ou de alfafa. Esta substituição pode ser de 15% do total para frangos de corte e 40% para galinhas poedeiras. O autor salienta que além de reduzir os custos de produção, o cultivo de lemnáceas auxilia no tratamento do efluente gerado nas granjas. Turax e colaboradores (1972) em estudos realizados há mais de 30 anos defende que a substituição da alfafa pela farinha de lemna, em dietas para aves, pode resultar em ganho de peso significativo. Segundo o autor este efeito ocorre, pois a composição de aminoácidos da farinha de lemna preenche as exigências de forma mais completa. Hamid e colaboradores (1993), estudaram a possibilidade de substituir a farinha de peixe por farinha de *Lemna trisulca*, em dietas para engorda de patos, tendo concluído que em até 50% de substituição, não há diferença na conversão alimentar, assim como no ganho em peso.

A utilização de lemnáceas na alimentação de peixes parece ser a forma mais difundida para a utilização da biomassa deste vegetal, podendo ser oferecidas frescas como alimento exclusivo, ou desidratada, em combinação com outros ingredientes. A maior eficiência desta fonte de alimento é obtida na nutrição de peixes herbívoros ou onívoros, como carpas e tilápias (IQBAL, 1999). Em Bangladesh, (no “Mizarpur Experimental Site”) foi conduzido um experimento em escala real (2,2 ha) com o policultivo de carpas, durante alguns anos. Estas carpas foram alimentadas exclusivamente com lemna (e a produção natural do viveiro), esta dieta foi suficiente para produzir entre 10 e 15 ton/ha/ano, sendo um excelente resultado quando comparado com sistemas de produção que utilizam apenas adubação (SKILICORN, 1993). Porém este autor esclarece que o manejo e a técnica devem ser rigorosos, pois o

equilíbrio entre a dinâmica de nutrientes e a produção de uma biomassa vegetal de bom valor nutricional é extremamente delicado.

Tabela 1: Variação da composição nutricional de lemnáceas

<b>composição</b>	<b>Teor (%)</b>
proteína	6,8 — 45,0
lipídio	1,8 — 9,2
fibra	5,7 — 16,2
carboidrato	14,1 — 43,6
cinzas	12,0 — 27,6

Fonte: adaptado de Landolt e Kandeler (1987)

Hossain e Shikha (1997) estudaram a digestibilidade aparente das proteínas da lemna para o bagre africano (*Clarias gariepinus*) e para a carpa indiana (*Labeo rohita*), entre outros ingredientes. A partir de seus resultados (de 67% e 64% respectivamente) concluíram que este é um ingrediente de boa qualidade nutricional, podendo ser incluído em dietas para ambas as espécies. Em cultivo de “milkfish” (*Chanos chanos*), Ogburn (1994) utilizou lemnáceas como adubo, para gerar biomassa plancônica, obtendo uma eficiência superior quando comparada com adubos orgânicos convencionais.

As tilápias (*Oreochromis* sp) são bem adaptadas para a alimentação à base de lemnáceas, pois possuem placas trituradoras na faringe e um longo intestino, auxiliando na digestão de vegetais. A exigência protéica da tilápia é suprida pela farinha de lemna, porém Hassan e Edwards (1992) salientam que tilápias alimentadas exclusivamente com lemna apresentam uma baixa proporção de gordura na carcaça, pela baixa taxa de lipídios deste alimento. Portanto sugerem o complemento da dieta com ingredientes ricos em energia e lipídios. Fasakin e colaboradores (1999) testaram 5 níveis de inclusão (5%, 10%, 20%, 30% e 100%) de farinha de *Spirodela polyrhisa* (Lemnoideae), em dietas isoprotéicas para alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*). O melhor resultado, de ganho em peso, foi obtido com 30% de inclusão da lemnácea na dieta. Bairagi e colaboradores (2002) obtiveram o

mesmo resultado (30% de inclusão) com folhas de lemna fermentadas em dietas para *O. niloticus*. Gaigher *et al.* (1984) recomendam a combinação de lemna com rações comerciais, para um melhor resultado na produção de tilápias (híbridos de *O. niloticus* x *O. aureus*).

Mohedano (2004) testou a substituição de farinha de peixe (como fonte protéica) por farinha de lemnas, em dietas para tilápias, e constatou que não houve diferença significativa no ganho de peso pelos peixes, porém com um custo de produção 35% menor. Tavares (2008) observou o crescimento de tilápias alimentadas exclusivamente com lemnas e percebeu que as lemnas podem ser peletizadas sem a necessidade de aglutinantes, apresentando melhor resultados para o crescimento do que as lemnas *in natura*.

Recentemente, alguns estudos vêm comprovando a utilização da biomassa de lemnas como uma alternativa viável na produção de biocombustíveis (etanol e biodiesel). Para ilustrar, Cheng e Stomp (2009) afirmam que, após uma hidrólise enzimática do amido, a biomassa de *Spirodela polyrrhiza*, cultivada em dejetos suínos, pode produzir cerca de 26% de etanol em relação ao peso seco. Assim, devido a alta produtividade destas plantas, o rendimento para a produção do etanol pode ser 5 vezes superior quando comparado ao do milho, em uma mesma área. Em outro estudo, Muradov *et al.* (2010) avaliaram os subprodutos da pirólise (a 500°C) da biomassa de *Lemna minor*, encontrando uma produção de “bio-óleos” de 40% em relação a biomassa seca. Pode-se concluir que a alta taxa de crescimento deste grupo vegetal amplifica os aspectos qualitativos de sua biomassa. Contudo, deve-se levar em consideração que esta produção de biomassa é, geralmente, um subproduto de sistemas de tratamento de efluentes e pode, assim, valorizá-lo favorecendo o balanço econômico durante a operação.

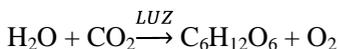
Por outro lado, Smith (2003) ressalta que alguns avanços em relação aos métodos de colheita devem ser alcançados. Pois, por se tratar de uma produção em ambiente aquático, as tecnologias para a remoção de biomassa são distintas daquelas utilizadas em campos de plantações. Assim, este autor avaliou a remoção de biomassa por lâmina d'água, com escoamento superficial e retenção das macrófitas em telas. Porém, as técnicas mais empregadas em grandes sistemas são: O uso de colheitadeiras flutuantes (EUA) e a coleta manual com redes (Sudeste Asiático) (CROSS, 2006).

### 3.5 A Fotossíntese e a Fixação do CO<sub>2</sub>

O termo “seqüestro” empregado para a remoção do CO<sub>2</sub> da atmosfera toma força a partir da Conferência das Nações Unidas sobre mudanças climáticas, onde emerge a necessidade de ações para a redução da quantidade de carbono na atmosfera. Quando cita-se seqüestro de carbono por processos biológicos está embutido o conceito de fixação de gás carbônico pela fotossíntese.

A fotossíntese significa etimologicamente síntese pela luz. Excetuando as formas de energia nuclear, todas as outras formas de energia utilizadas pelo homem moderno provêm do sol. A fotossíntese pode ser considerada como um dos processos biológicos mais importantes na Biosfera. Por liberar oxigênio e consumir dióxido de carbono, os organismos fotossintetizantes transformaram o mundo no ambiente habitável que conhecemos hoje (RICKLEFS, 1996). De uma forma direta ou indireta, a fotossíntese nos fornece todos os alimentos, fibras, matéria prima para a indústria, medicamentos, pigmentos, entre outros metabólitos. A energia armazenada no petróleo, gás natural, carvão e lenha utilizados como combustíveis, os quais foram fundamentais para o desenvolvimento da humanidade, provém da fixação do carbono pela fotossíntese.

O carbono é o elemento principal na estrutura das moléculas orgânicas, conhecida como esqueleto carbônico, a partir do qual se formam as estruturas diferenciadas de proteínas, lipídios e carboidratos (LEHNINGER1987). Nos organismos autotróficos fotossintetizantes praticamente todo carbono utilizado nestes esqueletos carbônicos provém do carbono inorgânico disponível na molécula de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (TAIZ e ZIGER, 2006). Este mecanismo é bem difundido e representado pela fórmula a seguir:



Contudo está formula é obviamente simplificada, uma vez que a incorporação enzimática do carbono inorgânico necessita de uma via metabólica extremamente complexa, que no caso das plantas superiores, ocorre em organelas diferentes na célula vegetal.

Todos os organismos fotossintetizantes, da alga mais primitiva até a angiosperma mais derivada, reduzem o CO<sub>2</sub> a carboidratos pelo mesmo mecanismo básico: o Ciclo de Calvin, ou ciclo redutivo das

pentoses fosfato [RPP]. Esta rota metabólica foi elucidada por Melvin Calvin e seus colaboradores na década de 1950 conferindo a ele o Prêmio Nobel em 1961. Resumidamente, no ciclo de Calvin o  $\text{CO}_2$  e a água do ambiente são combinados enzimaticamente com uma molécula acceptora contendo cinco átomos de carbonos (ribulose-1, 5-bifosfato, abreviado RuBP), para gerar duas moléculas de um composto intermediário de três carbonos (3- fosfoglicerato) (TAIZ e ZEIGER, 2006). Esse intermediário é reduzido a carboidrato, utilizando ATP e NADPH gerados fotoquimicamente. O ciclo é completado pela regeneração do acceptor de cinco carbonos. (Figura13). Também é importante ressaltar que a reação de fixação do  $\text{CO}_2$  na RuBP é efetuada pela ação de uma enzima denominada ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO), que como indica seu nome possui afinidade tanto para  $\text{CO}_2$  como para o  $\text{O}_2$ . Conforme discutiremos, em termos práticos, essa propriedade limita a fixação líquida do  $\text{CO}_2$ .

Contudo, existe nas plantas, um processo metabólico que compete com a fixação do carbono de forma significativa: A fotorespiração. Este fenômeno é observado pela liberação de  $\text{CO}_2$  durante o período luminoso, deste modo a cada quatro átomos de carbono fixados, um é liberado debilitando o rendimento da fotossíntese. A função da fotorespiração ainda é desconhecida. De forma geral, a enzima que catalisa a fixação do carbono é a mesma que promove a fotorespiração (rubisco), assim, pesquisadores citam que o aumento da concentração de  $\text{CO}_2$  reduz a fotorespiração e aumenta a fixação do carbono devido a competição pelo sitio ativo da enzima (TAIZ E ZEIGER, 2006).

Conseqüentemente, pode-se afirmar que a fotossíntese é limitada pela baixa concentração de  $\text{CO}_2$ . Ou seja, a elevação na concentração deste gás resulta na intensificação da fotossíntese. Deste modo, a injeção de  $\text{CO}_2$  em culturas agrícolas é uma prática conhecida e difundida para aumentar a produção de vegetais em estufas, como morangos, tomates, pepinos e hortaliças (KLARING *et al.*, 2007)

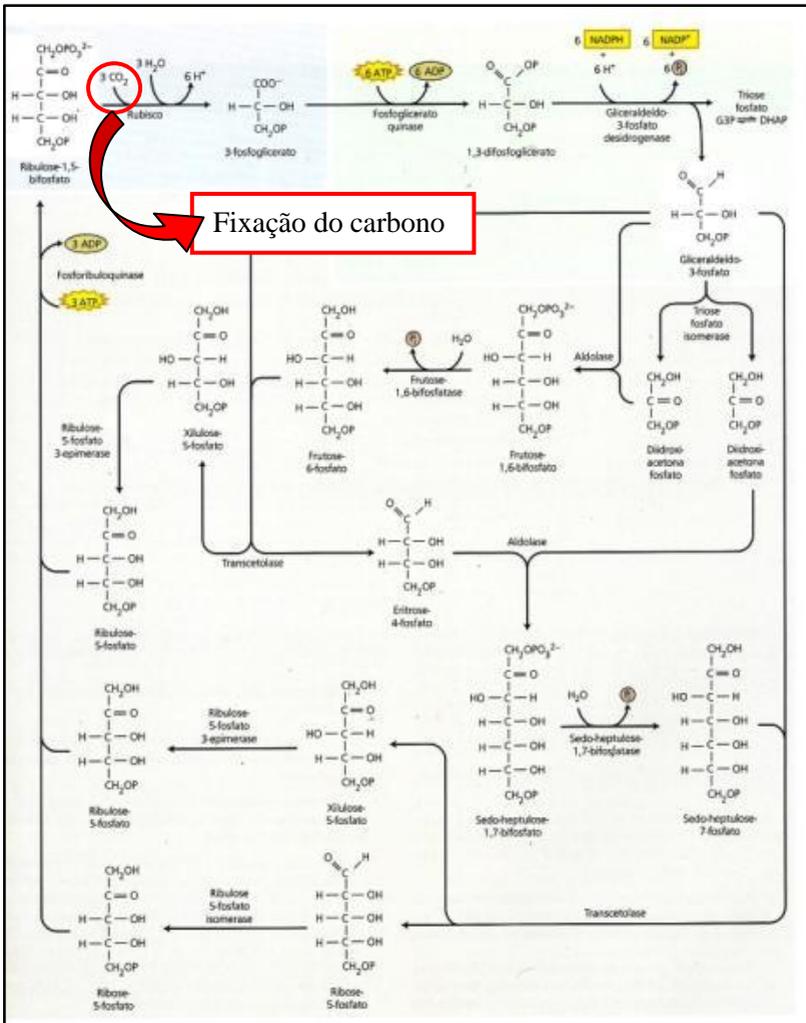


Figura 13: Detalhe das principais reações do Ciclo de Calvin com destaque para a incorporação do carbono inorgânico na molécula intermediária Ribulose -1,5- bifosfato. (em vermelho).

### 3.5.1 Efeitos da concentração de CO<sub>2</sub> no crescimento de Lemnáceas

As lemnas, como qualquer organismo autotrófico fotossintetizante, dependem do CO<sub>2</sub> como fonte de carbono. O carbono absorvido nesta forma é fixado em carboidratos e passa a compor todas as estruturas orgânicas necessárias ao desenvolvimento das plantas. Contudo alguns autores citam que, as lemnas, pela pequena barreira difusora conseguem absorver, também, a glicose dissolvida na água, contudo em pequenas quantidades (VERMAAT e HANIF, 1998).

A absorção de CO<sub>2</sub> por lemnáceas pode ocorrer tanto para o CO<sub>2</sub> atmosférico como para o CO<sub>2</sub> dissolvido na fase aquosa, contudo a proporção da origem do CO<sub>2</sub> é discordante entre alguns autores. Para Filbin e Hough (1985), em um experimento com *Lemna minor*, a proporção de CO<sub>2</sub> absorvido da água é 86%, mas Eshel e Beer (1986) afirmam que apenas 5% do carbono fixado pela lemnácea *Spirodela polirrhiza* provém da fase aquosa. Landolt e Kandeler (1987) citam que a porcentagem de absorção entre os meios depende de diversos fatores, como o equilíbrio de carbonatos, pH e o coeficiente de difusão do CO<sub>2</sub>. Mas, estes últimos autores complementam que pela baixa velocidade de locomoção do gás carbônico por difusão na água, o CO<sub>2</sub> atmosférico é mais facilmente renovado prontamente disponível para as plantas.

Existem algumas características citadas em bibliografia específica, que podem ser consideradas como positivas para o uso das lemnáceas no sequestro de carbono, como por exemplo:

- Estômatos não funcionais: Por habitarem o meio aquático as lemnáceas possuem estômatos que nunca se fecham, por isso as trocas gasosas não são interrompidas favorecendo a fixação do carbono.
- Baixa fotorespiração: A elevação da concentração de CO<sub>2</sub> inibe a ação da Rubisco (enzima que fixa CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>) como oxigenase e desfavorece a fotorrespiração com menor emissão de CO<sub>2</sub> durante o dia.
- Taxa de crescimento: Por possuírem a maior taxa de crescimento entre as plantas superiores, as lemnas fixam carbono em grandes quantidades. As lemnas utilizadas no tratamento de efluentes são mantidas na fase de crescimento exponencial para remoção de nutrientes.

Como anteriormente citado, a fixação do carbono nas plantas ocorre devido à ação da rubisco, uma enzima que possui afinidade tanto pelo CO<sub>2</sub> como pelo O<sub>2</sub>. Assim, elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> podem inibir a ação de oxigenase da rubisco, por competição de sítio ativo, e favorecer, assim, a fixação do carbono (ANDERSEN, *et al.*, 1984). A fotorrespiração (liberação de CO<sub>2</sub> durante o dia) também pode ser inibida em altas concentrações de gás carbônico aumentando o saldo de carbono fixado, pois em condições normais 1/4 do CO<sub>2</sub> absorvido é devolvido a atmosfera pela fotorrespiração.

Em concordância, o suprimento de gás carbônico extra induz alguns efeitos positivos no metabolismo de lemnáceas, quando têm-se objetivos focados na produção de biomassa, no seqüestro de carbono e na remoção de nutrientes do meio líquido. Andersen e colaboradores (1984), concluem que a concentração de gás carbônico acima de 1500ppm, juntamente com o aumento de luminosidade (de 35 para 420  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ) influi positivamente no ganho de peso seco (para *Lemna giba*). Para ilustrar, em 6000ppm estes autores detectaram um ganho de peso aproximadamente seis vezes maior do que em 350ppm, com exposição de 6 dias. A taxa de crescimento relativa apresentou uma elevação de 46% sob 6000ppm [CO<sub>2</sub>], mesmo em um ambiente com 2% de O<sub>2</sub>.

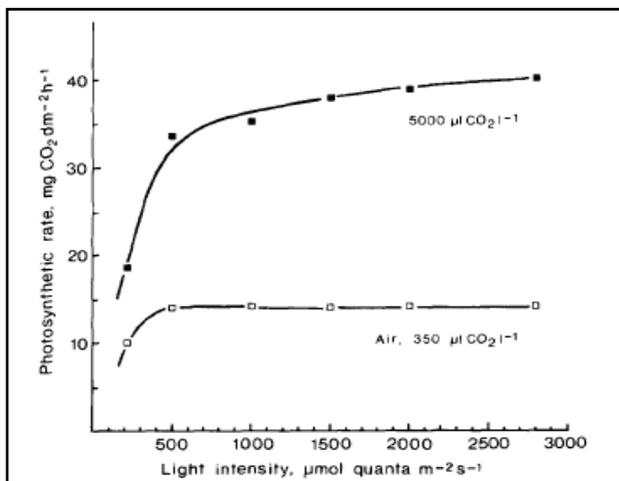
Bjoerndahl e Nilsen (1985) verificam o aumento na taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> em uma concentração de 1500ppm, porém com uma redução na superfície fotossintética. Sob uma concentração de 9.000ppm (30 vezes a concentração normal) observa-se um aumento no peso seco, na produção de amido, na quantidade de nitrato e de aminoácidos. A quantidade de amido a 9.000ppm pode ser 100 vezes maior do que a 300ppm (LANDOLT e KANDELER, 1987). As maiores concentrações de CO<sub>2</sub> encontradas na bibliografia, referente à aplicação em lemnáceas, foram 40.000ppm (4%) e 50.000ppm (5%), vistas em Eyster (1966) e Gorham (1945), respectivamente (*apud* LANDOLT e KANDELER, 1987). Ambos autores relatam efeitos positivos no crescimento de lemnas sob tais concentrações.

Por outro lado o crescimento de lemnas (*Lemna minor*) não é possível em concentrações de CO<sub>2</sub> abaixo de 40ppm (0,004%), mas sob 65ppm (0,0065%) seu crescimento já é detectado (MUELER *et*

al.,1977). Nespoulous e colaboradores (1989) obtiveram o *ponto de compensação*<sup>5</sup> a 73ppm.

Em condições sub-ótimas (65 a 100ppm), as plantas apresentam baixo crescimento, folhas com coloração verde claro e raízes curtas (1-3cm), já em concentrações normais de CO<sub>2</sub> como nas condições atmosféricas (330ppm) as plantas apresentam alta taxa de crescimento, folhas verde escuro e raízes mais longas (4 a 6 cm) (LANDOLT e KANDELER, 1987).

Além da taxa de crescimento e do ganho em peso, o seqüestro de carbono (fixação de CO<sub>2</sub>) também é acelerado em elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>. Andersen e colaboradores (1984) reportam uma taxa de fixação de carbono de 400mg/m<sup>2</sup>/h em [CO<sub>2</sub>] = 5000ppm e 150mg/m<sup>2</sup>/h para [CO<sub>2</sub>] = 350ppm (Figura 14). Todavia, para a mesma concentração de 5000ppm, Gaponeko e Stazhetskii (1969) apontam uma taxa de absorção de carbono de 3000mg/m<sup>2</sup>/h. Em uma concentração dez vezes maior (50.000ppm – 5%) Lindeman (1972) reporta uma remoção de CO<sub>2</sub> de 3600 mg/m<sup>2</sup>/h.



Fonte: Andersen et al. (1984)

Figura 14: Variação na assimilação de CO<sub>2</sub> por *Lemna gibba*, em diferentes intensidades de luz, sob a concentração atmosférica normal (350ppm) e sob 5000ppm de CO<sub>2</sub>

<sup>5</sup>Ponto de compensação por CO<sub>2</sub>: Concentração onde a planta elimina a mesma quantidade de CO<sub>2</sub> que absorve, paralisando o crescimento.

### **3.5.2 Aplicabilidade da injeção de CO<sub>2</sub> em lagoas de Lemnáceas, na suinocultura**

A utilização de biodigestores em propriedades suinícolas é uma prática crescente e estimulada pelos órgãos de pesquisa e extensão rural de Santa Catarina (Epagri/Embrapa/UFSC). Como citado anteriormente, o armazenamento do biogás produzido durante a decomposição dos dejetos reduz a emissão de GEE e gera uma fonte de energia de elevado valor calorífico. Contudo, a utilização desta energia ainda é pouco praticada (devido a algumas barreiras tecnológicas), assim, muitas vezes o gás é apenas queimado (DAL MAGO, 2009). Superadas as barreiras tecnológicas e comerciais, a geração de energia elétrica através de motogeradores é uma opção de excelente aplicabilidade para o uso do biogás. Com a sua combustão ocorre a liberação de gás carbônico, em concentrações acima de 90%, além de vapor d'água e gases traços (SALOMON 2007).

Considerando um motogerador movido a biogás, como uma fonte de CO<sub>2</sub> “limpo” e concentrado surge a possibilidade de injetar este gás nas lagoas de lemnas. Estas podem estar cobertas com lonas plásticas transparentes (normalmente usadas em estufas para hortaliças) para reter o gás durante o período fotossintético (Figura 15). Esta atividade inovadora pode dobrar a capacidade de remoção de nutrientes nas lagoas de tratamento além de promover o seqüestro do carbono residual. Como citado no item anterior, lemnas sob uma concentração de 50.000ppm de CO<sub>2</sub> podem remover 3,6g de CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>/h ou 315t/ha/ano (LINDEMAN, 1972). De acordo com Cezarini Neto (2002) um hectare de reflorestamento com eucalipto remove cerca de 14t de eq. CO<sub>2</sub> por ano. Deste modo, as lagoas de lemnas podem representar uma tecnologia eficiente no seqüestro de carbono (cerca de 25 vezes mais eficiente do que reflorestamentos com eucaliptos) e ser inseridas em projetos de MDL para acessar créditos de carbono, agregando renda ao tratamento do efluente.



Fonte: Cross (2006)

Figura 15: Exemplo de lemnas cultivadas em estufa passível de aplicação de  $\text{CO}_2$



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Para contemplar os objetivos propostos, este trabalho foi desenvolvido com base em dois experimentos distintos. No que diz respeito aos testes focados no polimento do efluente líquido da suinocultura, a metodologia aplicada envolve um experimento em escala real, em uma fazenda de pequena produção suinícola. Simultaneamente, os testes que avaliaram o desenvolvimento das lemnas em elevadas concentrações de dióxido de carbono foram realizados separadamente, em bancada. Contudo, cabe ressaltar que os resultados gerados por ambos os experimentos são sinérgicos e unem-se para contribuir em uma mesma tecnologia.

### 4.1. Lagoasde lemnas no polimento do efluente de suinocultura (experimento em escala real)

#### 4.1.1 Seleção da espécie utilizada

Para a seleção da espécie de lemnácea a ser utilizada nas lagoas para o tratamento e valorização dos dejetos observaram-se alguns pré-requisitos, de acordo com os objetivos propostos, sendo eles:

- Rusticidade para suportar elevadas concentrações de amônia
- Alta produtividade de biomassa
- Elevado teor de proteína
- Eficiência na remoção de nutrientes
- Ser nativa da região sul do Brasil

Para dar suporte a esta seleção foram consultadas literaturas específicas sobre o uso de lemnáceas no tratamento de dejetos suínos. O principal manuscrito avaliado foi a pesquisa de Bergman e colaboradores (2000), na qual os autores fazem uma seleção entre 41 cepas isoladas geograficamente, de 12 espécies diferentes. Para estes autores a espécie destacada em primeiro lugar no *ranking*, para produção de proteína e remoção de nitrogênio em efluente sintético de suinocultura foi *Landoltia punctata*. Assim, diversos estudos desenvolvidos nesta instituição de pesquisa (*North Carolina State University* - EUA) utilizam esta espécie em lagoas de tratamento paraeste tipo de efluente (CHENG et al., 2002a; CHENG et al., 2002b; CHAIPRAPAT, 2002; LYERLY, 2004).

Foi verificada a ocorrência desta espécie na região litorânea de Santa Catarina, comprovando a sua adaptação para as condições climáticas da região, onde foi desenvolvido o estudo. Deste modo, *Landoltia punctata* foi a espécie selecionada para o povoamento das lagoas avaliadas no presente estudo. Sua descrição encontra-se no item 3.2.4

#### 4.1.2 Caracterização da área de estudo

A unidade suinícola selecionada para o desenvolvimento desta pesquisa caracteriza-se por uma pequena produção, com cerca de 300 animais (ciclo completo) divididos em duas granjas. O proprietário (Sr. Valdir Wiggers) foi parceiro em projetos de pesquisa anteriores, relacionados à sustentabilidade da atividade suinícola, com apoio da UFSC, EPAGRI, EMBRAPA, FINEP, CNPq, PETROBRÁS e FAPESC. Assim, através destas parcerias, algumas unidades de tratamento de dejetos foram implantadas nesta área, as quais serão descritas posteriormente.

Além da suinocultura são desenvolvidas nesta propriedade outras atividades, como a cultura de milho e aveia, bovinocultura leiteira e piscicultura de subsistência. Segundo Rotta (2009) esta propriedade possui três nascentes cujo sistema de drenagem natural foi represado para a formação de dois açudes, nos quais se desenvolve o monocultivo de tilápias (*Oreochromis niloticus*)(figura 16). Estas atividades são desenvolvidas com base na mão de obra familiar, sendo bastante representativa para o Estado de Santa Catarina. Outra importante característica que deve ser observada é a grande área agricultável em relação ao volume de dejetos produzidos, pois com uma área total de 24ha e uma produção de 3m<sup>3</sup> de dejetos/dia, a propriedade é uma das poucas da região que se enquadra nas exigências legais em relação a área necessária para a aplicação dos dejetos, a qual não deve ultrapassar 50m<sup>3</sup> de dejetos/ha/ano.(normativa 11 FATMA, Santa Catarina, 2000). Deste modo, percebe-se que a área em questão possui um grande potencial para tornar-se um modelo de referência para uma suinocultura mais sustentável em Santa Catarina.

Esta propriedade está localizada na sub-bacia Coruja/Bonito, no município de Braço do Norte-SC (28° 13' 50,1" de latitude Sul, 49° 06' 29,2" de longitude Oeste e a 336 metros de altitude), região com a maior densidade de suínos do Estado (figura17). A Bacia do Coruja/Bonito abrange uma extensão aproximada de 52 km<sup>2</sup>. É constituída por uma

rede de drenagem composta pelo rio Coruja/Bonito e seus tributários e pertence à Bacia do rio Tubarão, tendo sua foz no Rio Braço do Norte. A ordem (4ª) e a densidade de drenagem (2,61 km/km<sup>2</sup>) indicam que a área apresenta sistema de drenagem bastante desenvolvido. O índice de sinuosidade (36,21%) do curso d'água principal classifica-se como divagante, dando uma noção de heterogeneidade do embasamento rochoso demonstrando possibilidade de ocorrência de áreas de disposição e prováveis áreas de erosão dos cursos d'água (HENN, 2005).

Na área em questão, outrora florestal, existem apenas remanescentes da vegetação original que, devido ao porte são comumente confundidos com a vegetação secundária. Em relação à Grande Paisagem, apenas uma unidade compõe a geomorfologia da área compreendida pela Sub-bacia do Rio Coruja/Bonito: Unidade Geomorfológica Serras do Tabuleiro/Itajaí. Na Bacia do Coruja/Bonito existem 96 propriedades rurais, destas 20 são de suinocultores que possuem um efetivo de 69 mil cabeças de suínos. Também, estão implantados 11 frigoríficos/abatedouros de suínos com sérios problemas de tratamento de efluentes.

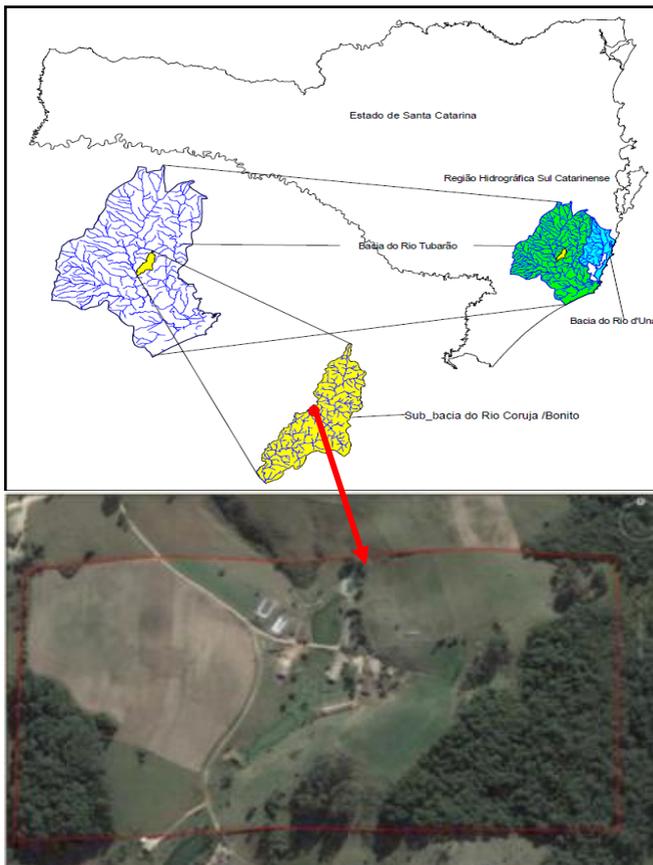


Figura 16: Açudes para a prática de piscicultura.

### 4.1.3 O manejo dos suínos

Em relação à criação dos animais, o sistema adotado na propriedade é caracterizado como Ciclo Completo. Na unidade de crescimento e terminação, onde se produz a maior quantidade de dejetos, os suínos têm uma alimentação balanceada, à base de milho, trigo (farelo) e soja (ração ou núcleo), sendo alimentados 3 vezes ao dia. Em um período entre 12 a 14 semanas cada suíno atinge um peso final

de aproximadamente 100 kg estando prontos para a comercialização. No manejo, a dessedentação dos animais é feita através de bebedouros que diminuem o consumo de água, as fezes são raspadas e removidas com pá e na lavagem das baias utiliza-se uma bomba pressurizadora de água. O efluente assim produzido é pouco diluído e composto, em sua maioria, por restos de alimento, fezes e urina, o qual é diariamente conduzido para um reservatório de onde é bombeado para um sistema de tratamento, o qual será descrito a seguir.



Fonte: HENN (2005) e Google Earth

Figura 17: Localização da propriedade suinícola onde se desenvolveu o experimento

#### 4.1.4 O manejo dos dejetos

Nesta propriedade há um sistema para o tratamento e valorização dos dejetos, a fim de se desenvolver um manejo adequado (figura 18). O sistema é composto por uma unidade de bombeamento, um biodigestor anaeróbio e uma lagoa de armazenamento. Nesta configuração, os dejetos são recalcados para o biodigestor com  $90\text{m}^3$  de volume útil, que recebe uma vazão de  $3\text{m}^3/\text{dia}$ . Deste modo o tempo de detenção (TDH) na unidade de biodigestão é aproximadamente 30 dias. Após esta etapa, o efluente é depositado em uma lagoa de armazenamento com  $360\text{m}^3$  a qual teria capacidade para armazenar o efluente por 120 dias, mas devido a variações sazonais no ciclo produtivo, o tempo de permanência nesta lagoa é bastante variável. A partir desta lagoa de armazenamento, parte do dejetos é utilizada na fertilização das lavouras, o qual é aplicado na cultura de milho.

A aplicação dos dejetos tratados no solo não apresenta uma periodicidade regular, pois, devido à rotatividade de culturas (milho e aveia), em diferentes parcelas, a adubação é feita em função da fase de desenvolvimento das lavouras. Deste modo, as lagoas de armazenamento funcionam como reservatórios de fertilizantes orgânicos, mas em certas épocas, quando as culturas não recebem adubação, ocorre um acúmulo de dejetos, o qual deve ser tratado antes de atingir o corpo receptor. Estas lagoas diferenciam-se de lagoas anaeróbias de tratamento, principalmente, por não possuírem uma tubulação para a saída contínua do efluente, o qual é retirado por bombeamento quando for conveniente

Contudo, o excesso de dejetos produzidos, o qual não deve ser aplicado no solo para não causar impactos, precisa passar por um sistema de tratamento para a redução de suas características poluentes, antes de ser lançado no ambiente ou reutilizado no manejo das granjas. Com essa finalidade foram introduzidas duas lagoas de tratamento para operarem com macrófitas flutuantes, as quais são objeto de avaliação deste estudo e serão descritas a seguir.



Figura 18: Visão geral da propriedade, com destaque para: esterqueira ou reservatório de recalque (1); biodigestor (2); lagoa de armazenamento (3); lagoa de lemnas 1; (4); lagoa de lemnas 2 (5); área agricultável(6)

#### 4.1.5. Lagoas de lemnas experimentais

Para a realização do experimento foram confeccionadas duas lagoas, as quais foram escavadas no solo e impermeabilizadas com geomembranas de PEAD 0,8mm (as dimensões das lagoas estão expressas na tabela 2 e na figura 19). Uma lagoa de armazenamento, já existente, foi readequada para operar como uma lagoa de polimento com lemnáceas (figura 20) Para isso a sua profundidade útil foi alterada passando de 3m para 1m e uma nova geomembrana foi disposta para sua impermeabilização. Foi confeccionada, também, uma rede hidráulica para distribuição do efluente, nas lagoas e para a medição do volume de afluente aplicado. As duas lagoas de lemnas foram nomeadas de LM1 e LM2 (figura 21).

Tabela 2: Dimensões das lagoas de lemnas (LM1 e 2)

Dimensões	LM1	LM2
Comprimento (m)	20,5	15
Largura (m)	7,5	6,0
Área (m <sup>2</sup> )	153	90
Profundidade (m)	0,8	0,4
Volume (m <sup>3</sup> )	100*	36

\* A área do fundo não é a mesma da superfície por isso utilizou-se a área média para o cálculo do volume

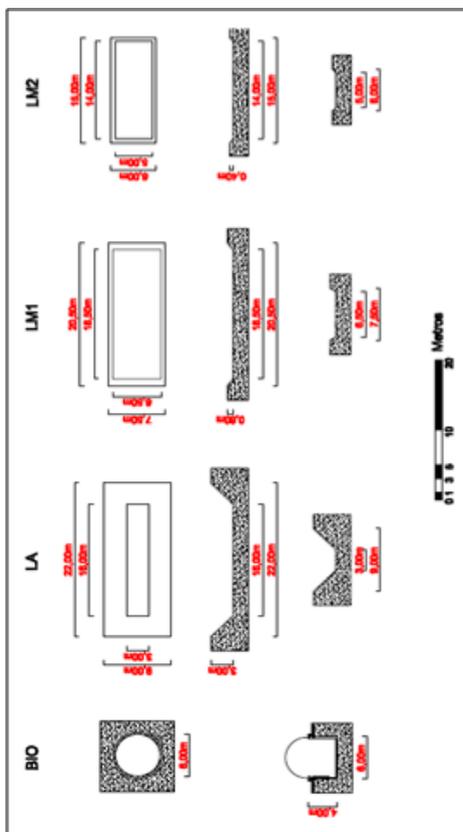


Figura 19: Planta com visualização das dimensões das estruturas de tratamento



Figura 20: Readequação da lagoa de lemnas 1, com instalação da geomembrana



Figura 21: Lagoas de lemnas utilizadas no experimento.

Estas lagoas estão dispostas em série, ou seja, a LM1 recebe o efluente da Lagoa de Armazenamento (LA) e a LM2, por sua vez, recebe o efluente da LM1 (figura 22). Para isso, a distribuição do efluente é feita por mangueiras plásticas ( $\varnothing$  75mm) e tubos de PVC ( $\varnothing$ 100mm) que conectam as lagoas, drenando e coletando o efluente nas mesmas. Um reservatório de fibra de vidro com volume de 3.000L foi instalado para o controle da vazão, ou seja, a configuração se deu de forma que o efluente passe pelo reservatório antes de ser despejado nas lagoas, para o controle volumétrico das cargas aplicadas. A vazão é medida pelo volume preenchido deste reservatório, ou seja, cada vez que o reservatório for preenchido tem-se  $3\text{m}^3$  de efluente. Foi instalada também uma caixa de passagem na entrada de cada lagoa para coletas de amostras.

Deste modo o percurso do efluente se dá da seguinte forma: o efluente da LA é succionado por uma bomba (15HP) e levado para o

reservatório de controle de vazão (RCV) depois é liberado por gravidade e entra em LM1 distribuído por uma tubulação em “T” perfurada, disposta a 30 cm da superfície. Do mesmo modo, o efluente é elevado da LM1 para o RCV novamente, e depois drenado para LM2 o qual, após a caixa de passagem, entra em LM2 por uma tubulação em “T” similar. Após LM2 o efluente tratado é disposto em um reservatório de 3000L para fins de reuso.

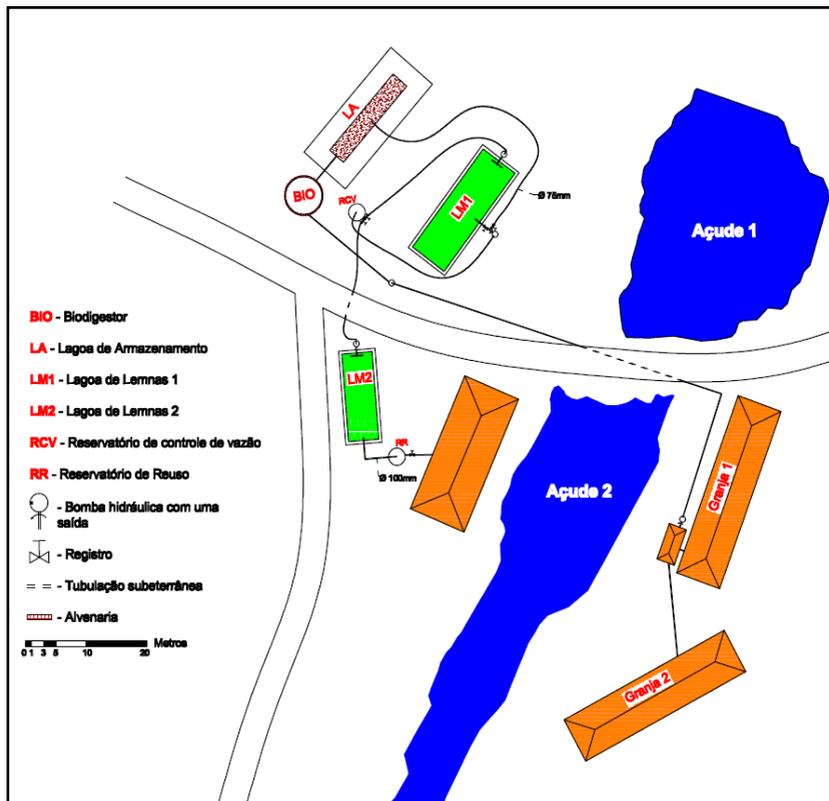


Figura 22: Croqui do sistema de tratamento na propriedade suinícola.

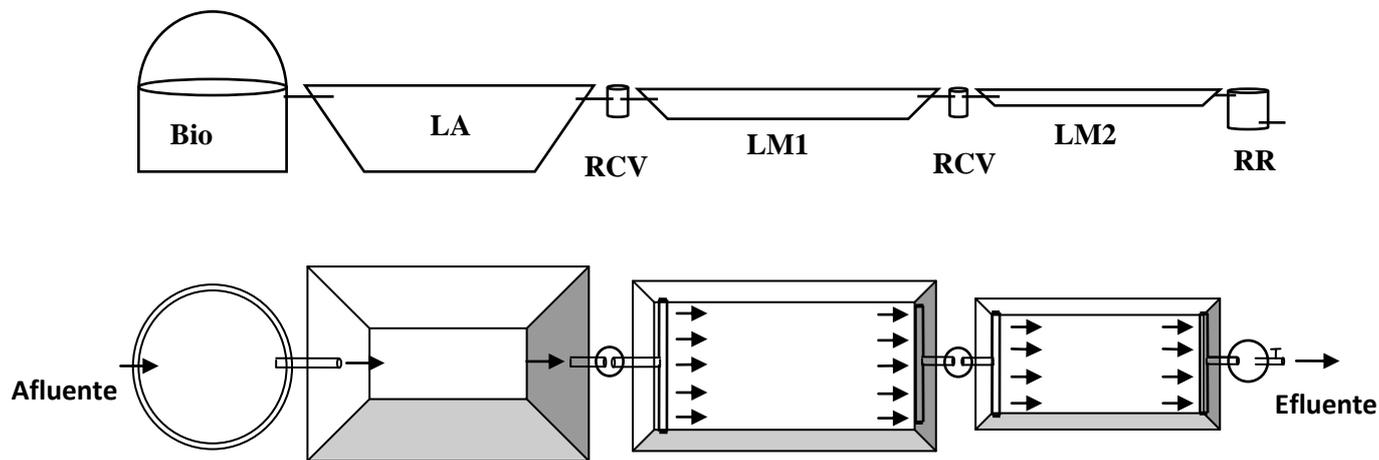


Figura 23: Fluxograma do sistema de tratamento. As setas indicam o fluxo do efluente. Bio – Biodigestor; LA -Lagoa de armazenamento; RCV – Reservatório de controle de vazão; LM1 - Lagoa de lennas 1; LM2 - Lagoa de lennas 2; RR – Reservatório para reuso.

#### 4.1.6 Delineamento experimental

O experimento se deu pela operação de duas lagoas de estabilização com macrófitas lemnáceas, para o polimento do efluente da produção de suínos, durante o período de um ano. Durante este período foram aplicadas cargas do efluente pré-tratado e procedeu-se o monitoramento através de análises de amostras do efluente. A biomassa de lemnas removida também foi avaliada qualitativa e quantitativamente, para a determinação da potencialidade de sua valorização como alimento. O detalhamento do experimento dá-se a seguir.

##### 4.1.6.1 Dimensionamento das cargas

Observando os trabalhos de Chaiprapat (2003); Caicedo (2005) e Lyerly (2005) nota-se que o principal fator limitante para o desenvolvimento de lemnáceas em lagoas de tratamento de dejetos de suínos é o nitrogênio amoniacal. Por este motivo, o volume de efluente aplicado nas lagoas de lemnas durante o experimento é baseada na carga de amônia ( $N-NH_3$ ). Segundo Caicedo (2005), a toxicidade da amônia em lagoas de lemnáceas aumenta de forma exponencial, com a elevação do pH. Sendo que, em pH 7 há uma tolerância para a amônia em concentrações até 100mg/L, todavia, sob pH 8 a concentração de amônia não deve ultrapassar 50mg/L. Esta mesma autora cita, também, que a maior taxa de crescimento de lemnas se dá em uma concentração de amônia próxima à 20mg/L. Por outro lado, Cheng e colaboradores (2002<sub>b</sub>) citam um bom crescimento de *Landoltia punctata* em um meio com 240mg  $NH_3/L$ . Baseando-se nestas informações e priorizando uma margem de segurança, a carga de efluente aplicada nas lagoas de lemnas, no presente estudo, foi calculada para proporcionar uma concentração menor ou igual a 50mg/L em LMI.

Análises preliminares demonstraram que a concentração de amônia no efluente da lagoa de armazenamento era aproximadamente 380mg/L. Sendo assim, para a partida do experimento, o efluente foi diluído (com água da chuva e do açude) para que a concentração da amônia não ultrapassasse 50mg/L. Cabe ressaltar que esta diluição ocorreu apenas na partida do experimento, pois se espera que, com a auto-depuração proporcionada durante o tempo de tratamento a amônia seja removida e a lagoa poderá assim receber cargas consecutivas.

Para o cálculo do volume de efluente aplicado em LM1 (afluente de LM1) utilizou-se a seguinte equação de diluição:

$$Va = \frac{VLM(Cf - CLM)}{Ca - Cf} \quad (5)$$

Onde:

Va = Volume do afluente a ser aplicado (m<sup>3</sup>)

VLM = Volume da LM1 = 100(m<sup>3</sup>)

Cf = concentração de N-NH<sub>3</sub> final = 50mg/L

CLM = Concentração de NH<sub>3</sub> inicial na LM1 = 2mg/L

Ca = Concentração de NH<sub>3</sub> no afluente = 380mg/L

Então temos que:

$$Va = \frac{100(50-2)}{380-50} = 15m^3$$

Assim, o volume inicial de efluente aplicado em LM1 foi de 15m<sup>3</sup>. Para determinar a periodicidade das aplicações consideraram-se diversos estudos sobre a taxa de remoção de amônia em lagoas de lemnáceas (IQBAL, 1999; MOHEDANO, 2004; LYERLY, 2004 e CHAIPRAPAT, 2003), além da logística de deslocamento da equipe de pesquisa até a área de experimento e a rotina laboratorial. Assim, determinou-se que a aplicação das cargas fosse feita a cada 15 dias. Com uma aplicação quinzenal de 15m<sup>3</sup> tem-se uma vazão diária de 1m<sup>3</sup>/dia, em média, proporcionando uma carga de 5,25kg de amônia por batelada.

Conhecendo-se a vazão do efluente que deve ser aplicado em LM1 podemos deduzir a Carga Superficial Aplicada, da seguinte forma:

$$\lambda s = \frac{10 * Co * Q}{A} = \frac{10 * 380 * 1}{153} = 24,8 \text{ kg NH}_3/\text{ha/dia} \text{ ou } 2,5 \text{ g/m}^2/\text{dia} \quad (6)$$

Onde:

λs = Carga superficial (kgNH<sub>3</sub>/ha/dia)

Co = Concentração de N-NH<sub>3</sub> no afluente de LM1 (mg/L)

Q = Vazão (m<sup>3</sup>/dia)

A = Área (m<sup>2</sup>)

O valor da carga superficial aplicada, descrita anteriormente, assemelha-se aos valores de carga de nitrogênio removida, em lagoas de lemnas, verificadas na literatura específica (2,1 mg/L para Cheng *et al*2002<sub>b</sub>.) Esse fato corrobora para os valores estipulados para a operação das lagoas durante o experimento. É importante ressaltar que, por estar em série, a LM2 recebe a carga de LM1 no momento em que essa é abastecida, assim a carga de amônia em LM2 depende da dinâmica desta substância em LM1 e não pôde ser prevista com antecedência

#### **4.1.7Partida do experimento**

##### **Período de adaptação das lemnas ao sistema**

O período de adaptação é necessário para que ocorram os ajustes metabólicos dos organismos devido a mudança de ambiente. Durante o período compreendido entre a confecção das lagoas de lemnas (novembro de 2008) e o início da operação do sistema (março de 2009), as lagoas foram preenchidas com água da chuva considerando ser este o período de maior pluviosidade (primavera/verão). A quantidade ideal de biomassa para o povoamento das lagoas de lemnáceas deve proporcionar o total recobrimento da superfície (aproximadamente 400g/m<sup>2</sup>) (CAICEDO, 2005), mas essa quantidade não estava disponível em populações puras no momento. Assim, as macrófitas da espécie *Landoltia punctata* foram introduzidas nas lagoas em quantidade suficiente para cobrir cerca de 1/3 da superfície. As plantas foram coletadas em lagoas eutrofizadas, presentes em abundância na localidade e identificada por especialistas para garantir a determinação da espécie (segundo a chave de identificação proposta por POTT, 1999). Foram introduzidas nas lagoas algumas estruturas flutuantes (bambus), no sentido transversal, com um espaçamento de 4m entre cada(figura 24),estes foram amarrados nas bordas, atravessando as lagoas de um lado a outro e permanecendo flutuando sobre a superfície. A função destas estruturas é evitar que a ação do vento arraste a população de lemnas para as bordas expondo a lâmina d'água à luz solar, evitando a proliferação de algas (SKILICORN et al., 1993)



Figura 24: Divisória flutuante para retenção da biomassa

Após a introdução das macrófitas em LM1 e LM2, aplicou-se uma leve carga de efluente ( $1\text{m}^3$  em cada lagoa) para fornecer os nutrientes necessários a sobrevivência das plantas. Considerando a necessidade de adaptação das plantas às condições do novo ambiente houve um período de 28 dias para observação do comportamento da população e para as adaptações metabólicas necessárias. Durante este período observou-se o crescimento da população e aspectos fitossanitários como a coloração das frondes, aparecimento de necroses e desenvolvimento de fungos

Decorrido o tempo de adaptação foram iniciadas as atividades experimentais no dia 14 de abril de 2009, com aplicação da primeira carga ( $15\text{m}^3$ ) do efluente, da lagoa de armazenamento, em LM1. Transcorridos os 15 dias estipulados para a aplicação das bateladas, foi aplicada uma carga de  $15\text{m}^3$  em LM2 a partir do efluente da LM1 e na sequência uma nova carga em LM1. Assim, após 30 dias, com a aplicação da terceira carga em LM1, tem-se o efluente final do sistema experimental, que deixa a LM2 e fica armazenado no reservatório para reuso. É importante ressaltar que a remoção do efluente da lagoa de armazenamento (LA) e da Lagoa de lemnas 1 (LM1) é feita através de uma bomba e a mangueira coletora se encontra próxima ao fundo em ambas as lagoas. Sendo assim pode ocorrer a sucção de parte do lodo.

Durante o período experimental houve variações do volume aplicado nas lagoas devido mudanças bruscas na composição dos

dejetos, em função do manejo. Por tratar-se de um experimento em escala real, onde as características do efluente não são constantes, o estudo esteve exposto às adversidades inerentes à atividade suinícola, como estágio do ciclo reprodutivo, número de animais, danificações de estruturas, entre outros. Assim as cargas foram aplicadas quinzenalmente em bateladas com volume de  $15\text{m}^3$ , porém em algumas ocasiões as cargas foram menores variando entre  $12\text{m}^3$  e  $9\text{m}^3$  visando sempre a manutenção dos níveis de amônia não letais para as macrófitas (sub item 4.1.6.1).

### **Remoção da biomassa**

A remoção da biomassa de lemnas produzida durante o tratamento é um procedimento fundamental para o sucesso do polimento (SKILLCORN 1993, IQBAL 1999, CHENG et al, 2002). As frondes mortas, ao ser decompostas liberam os nutrientes removidos e contribuem com a elevação da matéria orgânica dissolvida e particulada (KORNER *et al.*, 1998). Também, como já citado anteriormente, uma elevada densidade da população destas macrófitas prejudica o desempenho do tratamento.

Para o cálculo da remoção de biomassa foram utilizadas informações sobre a taxa de crescimento específico de lemnáceas em lagoas de tratamento, as quais são encontradas nos manuscritos de Cheng e colaboradores (2002), Lendesman e colaboradores (2005), Caicedo (2005), Driever et al. (2005), entre outros. Os dados levantados apontam taxas de crescimento que variam entre  $16\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$  e  $58\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ . Para o presente estudo a taxa de remoção de biomassa adotada foi  $25\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ , podendo haver variações. É importante enfatizar que a taxa de crescimento é expressa pelo peso seco e que as lemnáceas possuem em média 90% de umidade em sua biomassa. Deste modo, a remoção das plantas frescas foi estimada em  $250\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ . Considerando a área específica de cada lagoa, a remoção de biomassa estimada para LM1 foi  $37\text{kg}/\text{dia}$  e para LM2  $22\text{kg}/\text{dia}$ .

É importante ressaltar que a quantidade de biomassa removida pode variar com a produtividade da mesma, uma vez que deve-se evitar o aparecimento de clareiras mantendo-se a população fisicamente coesa. Assim, havendo algum problema com o crescimento das macrófitas, a remoção da biomassa deve ser reduzida ou suspensa. Uma vez que a

densidade da população de lemnas afeta diretamente a eficiência do tratamento, este parâmetro foi avaliado para posterior correlação com a eficiência do mesmo. Os detalhes sobre o manejo de remoção da biomassa e a avaliação da densidade encontram-se em subitem específico.

## **Monitoramento**

A eficiência do sistema de tratamento avaliado foi monitorada pela amostragem do efluente, em pontos selecionados, em diferentes momentos, a fim de conhecer a dinâmica dos parâmetros indicadores da qualidade do mesmo. Assim, os parâmetros analisados foram: pH, OD, temperatura, turbidez, NTK, N-NH<sub>3</sub>, PT, DQOt, DQOf, DBO<sub>5</sub>, ST, turbidez, clorofila *a*, coliformes totais e *E.coli* (devido a problemas técnicos não foi possível determinar NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> e PO<sub>4</sub>). A verificação do pH, OD e temperatura foram realizadas *in loco*, com medidores portáteis, para os demais parâmetros amostras do efluente foram coletadas e transportadas para o Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA), no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - ENS/UFSC, segundo os padrões estabelecidos pela Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005). A descrição dos métodos encontra-se na tabela 3

As coletas das amostras foram realizadas quinzenalmente durante todo o período experimental (abril de 2009 a maio de 2010). Estas foram feitas em frascos plásticos (500ml) com tampa, contendo identificação de informações como: data da coleta e o ponto amostrado. Para as análises bacteriológicas os frascos eram esterilizados previamente. As amostras, após coletadas, eram acondicionadas em caixas térmicas com gelo e transportadas até o laboratório de análises distante cerca de 170km (3h de viagem aproximadamente). As amostras destinadas a cromatografia iônica foram filtradas em membranas de acetato-celulose (0,45µm) e imediatamente estocadas em congeladores, para posterior análise. Os parâmetros físico-químicos pH, OD e temperatura foram registrados em duas alturas diferentes na coluna d'água, em LM1 e LM2. Assim, os eletrodos foram introduzidos, aproximadamente, a 2cm da superfície e depois eram depositados no fundo das lagoas, deste modo, foram registrados os dados destes parâmetros em dois extratos: superfície e fundo.

Os pontos de coleta foram os seguintes: Esterqueira (dejeito bruto); saída do biodigestor; saída da lagoa de armazenamento (LA); saída da lagoa de lemnas 1 (LM1) e saída da lagoa de lemna 2 (LM2). O biodigestor possui uma tubulação específica para amostragens do efluente, quanto às lagoas LA e LM1 o efluente foi coletado nas caixas de passagens, no momento da aplicação das cargas nas mesmas. As coletas de amostras em LM2 foram feitas dentro desta lagoa próximo à tubulação de saída. O procedimento se deu desta forma porque não há uma caixa de passagem entre LM2 e o reservatório de reuso e por haver um líquido residual no reservatório de reuso optou-se pela coleta direta na LM1.

Tabela 3- Métodos analíticos utilizados

ANÁLISES	MÉTODO
OD (mg/L)	Oxímetro portátil Lutron
Temperatura; pH e Potencial Redox (mV);	Sonda Hanna Sensor Check HI991003 pH/orp/mV/temperature
Turbidez ( NTU)	Nefelométrico Turbidímetro HACH 2100N - (SM 2130B)
DQO(mg/L)	Colorimétrico - Refluxo Fechado Bloco Digestor COD – HACH – (SM 5220D)
DBO(mg/L)	Manométrico Medidor de Bancada - DBO – HACH – ( SM 5210D)
Sólidos Totais (mg/L)	Gravimétrico. Evaporação em chapas aquecidas
Amônia (mg/L)	Destilação Kjeldahl- Bloco Digestor DK20 e Neutralizador de gases Scrubber, Destilador Semi-automático UDK 132 , ambos da VELP Scientifica – ( SM 4500 NH <sub>3</sub> B)
Nitrogênio NTK (mg/L)	Destilação Kjeldahl Destilador Semi- automático UDK 132 , VELP Scientifica - (SM 4500 Norg B)
Anions (mg/L) (Nitritos, Nitratos, Fosfatos, Sulfatos, Cloretos, Acetatos)	Cromatografia Iônica (DIONEX DX 120) – (SM 4110C)
Clorofila <i>a</i> µg/L	Extração em álcool etílico (Método de NUSH, 1980)
Coliformes Totais e <i>E. coli</i> (NMP/100ml)	Método do substrato cromogênico (Colilert - INDEXX®), que confere cor amarelada para CT positivos e fluorescência para <i>E. coli</i> (APHA, 2005).

SM = número de referência do método segundo o *Standard Methods* (APHA, 2005).

## Tratamento dos Dados

A eficiência de remoção de NTK, N- NH<sub>3</sub>, Pt, DQO, SST e turbidez foi verificada pela diferença da concentração destes parâmetros, na entrada e na saída de cada lagoa. Para a determinação da eficiência de redução dos parâmetros foi utilizada a equação 7:

$$E = \frac{(Af - Ef)}{Af} \cdot 100 \quad (7)$$

Onde:

E= Eficiência de remoção (%)

Af = Concentração no afluente (mg/L)

Ef = Concentração no efluente (mg/L)

Os dados obtidos, com a variação dos parâmetros avaliados ao longo do período experimental foram expressos em gráficos considerando a concentração dos parâmetros em função do tempo. Além das variações temporais em cada unidade de tratamento, os gráficos também foram utilizados para expressar a eficiência, ou seja, a porcentagem de redução dos parâmetros entre as unidades de tratamento. A geração dos gráficos foi feita com auxílio dos softwares STATISTICA® 6.0 (STATSOFT, Inc., 2001) e EXCEL 2007 (Microsoft)

Para a comparação das médias dos dados de eficiência de remoção foi utilizada a análise de variância ANOVA (Teste de Tukey). Este é um teste de hipóteses que fornece a probabilidade dos grupos terem médias iguais ou diferentes (por exemplo, no caso de comparações entre estações do ano). Existem duas hipóteses: H<sub>0</sub>: as médias são iguais, não há diferença entre as estações; H<sub>1</sub>: as médias são diferentes, há diferença entre as estações. Portanto, o objetivo do teste é determinar a probabilidade (p) que permite aceitar ou rejeitar H<sub>0</sub>. Se p > α, aceita-se H<sub>0</sub>; Se p < α, rejeita-se H<sub>0</sub> (ANDRADE e OGLIARI, 2007).

### **Valorização do tratamento pela biomassa de lemnas**

A valorização descrita a seguir refere-se à biomassa de lemnas produzida no tratamento do efluente, considerando o elevado valor nutricional desta planta. Por possuir um alto teor de proteína, a biomassa produzida durante o tratamento do efluente foi utilizada como alimento para peixes (monocultivo de tilápias *Oreochromis niloticus*), potencializando a dimensão econômica da propriedade rural, uma vez observada a redução no custo de produção do pescado, pela economia com rações comerciais (MOHEDANO et al, 2005). Contudo, a avaliação econômica e zootécnica da piscicultura não foi objeto de estudo desta pesquisa. Deste modo, a avaliação da valorização da biomassa foi feita através da verificação qualitativa e quantitativa da biomassa de lemnas produzidas ao longo do período experimental, ou seja, teor de proteína bruta e produtividade.

### **Manejo de remoção e avaliação quantitativa**

A remoção de biomassa (37kg/dia para LM1 e 22kg/dia para LM2) foi feita através de uma rede tipo puçá e uma tela adaptada (peneira) conforme mostra a figura 25. Para facilitar a remoção, as lemnas eram empurradas até a margem com os bambus (divisórias) para acumular a biomassa e seguidamente eram coletadas (figura 26). Após erguer as plantas, o puçá era balançado vigorosamente para escorrer a água excedente até que não gotejasse mais. Em seguida a biomassa recolhida era depositada em um balde e a pesagem era feita por uma balança portátil, com precisão de 10g, devidamente tarada, desconsiderando o peso do balde. Como a equipe de pesquisa se deslocava para a região a cada 15 dias, a remoção da biomassa foi realizada e mensurada pela mão-de-obra local.



Figura 25: Remoção da biomassa de lemnas durante o tratamento do efluente



Figura 26: Lemnas sendo arrastadas para as margens para coleta de biomassa

Após a pesagem as lemnas eram depositadas e armazenadas sobre secadores (molduras de madeira com telas de nylon, tipo sombrite) para proceder a secagem natural e posteriormente ser transferidas para o açude, como forrageio para peixes (figura 27). Todos os valores da massa removida foram anotados em planilhas para posterior análise. A quantidade de biomassa removida pode variar em relação aos valores estimados, como foi descrito anteriormente.



Figura 27: Secagem da biomassa de lemnas (*Landoltia punctata*)

### **Avaliação da produtividade de biomassa**

A avaliação da produtividade da biomassa de lemnas, durante o experimento, foi feita com base na determinação da taxa de crescimento específico ( $\text{g/g/dia}$ ) e pela taxa de crescimento por área ( $\text{g/m}^2/\text{dia}$ ) segundo Landesman et al. (2005). Para isso foi necessário estimar a biomassa total das lagoas através da densidade de plantas. A fim de se proceder a amostragem quantitativa da biomassa foi confeccionado um quadrado flutuante (feito com tubos de PVC  $\varnothing 32\text{mm}$ ), com uma área interna de  $1\text{m}^2$ . Esse quadrado era lançado aleatoriamente sobre as lagoas de lemnas, três vezes ao dia e a biomassa aprisionada no interior

do quadrado era coletada e pesada obtendo-se assim uma amostragem da densidade de lemnas (em peso) por metro quadrado (figuras 28 e 29)



Figura 28: Amostragem da biomassa por  $m^2$



Figura 29:Pesagem para quantificação da biomassa amostrada

Os valores eram anotados em planilhas juntamente com informações extras sobre as características da biomassa, como a presença de outros organismos (ninfas de odonatas, larvas, plantas invasoras, etc.) Os dados foram separados em grupos para posterior avaliação das variações sazonais na densidade da biomassa, bem como a sua influência no tratamento do efluente.

Com a relação entre a densidade média (g de lemnas/m<sup>2</sup>) e a produtividade da lagoa, estimada pela remoção total de biomassa, obtém-se as taxas de crescimento específico e superficial. As equações a seguir ilustram o cálculo das taxas de crescimento.

$$TCE = \frac{Bt/N}{D \cdot A}; \quad TCS = \frac{Bt/N}{A} \quad (7)$$

*TCE*= Taxa de crescimento específico (kg/kg/dia)

*TCS*=Taxa de crescimento superficial (kg/m<sup>2</sup>/dia)

*Bt* = Biomassa total removida no período (kg)

*N*= Número de dias do período

*D*= densidade média (kg/m<sup>2</sup>)

*A*= (Área) Superfície de lâmina d'água avaliada (m<sup>2</sup>).

### **Avaliação qualitativa da biomassa (teor de proteína)**

O conhecimento do teor de proteína produzida pelas lemnas, durante o tratamento, é o ponto chave para mensurar a valorização da biomassa. Deste modo, foram realizadas coletas quinzenais da biomassa em LM1 e LM2 para determinação do teor de proteína bruta. Uma parte da biomassa (entre 1000 e 2000g ) removida no manejo de rotina era separada, acondicionada em sacos plásticos previamente identificados e em seguida transportada para o laboratório. As amostras da biomassa de cada lagoa foram secas em estufa a 55°C por 24h para remoção da umidade, depois eram colocadas em sacos plásticos com feixe “zip”, pesadas e congeladas a -18°C. Assim as amostras foram acumuladas no congelador até somarem um número suficiente para encaminhá-las ao laboratório de análises. As análises para verificação de proteína bruta foram realizadas no laboratório de análises de alimentos – LABCAL (habilitado pela ANVISA), no Centro de Ciências Agrárias, CCA/UFSC. A metodologia utilizada baseia-se na determinação do nitrogênio total multiplicado pela constante 6,25 (Método AOAC, n° 991.20) referenciado pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005).



Figura 30: Secagem e congelamento da biomassa de Lemnas

Os resultados das análises de proteína bruta, expressos em porcentagem de proteína por peso de biomassa seca, foram plotados em planilhas eletrônica para proceder as análises estatísticas a fim de estimar as variações sazonais da produção de proteína e suas possíveis correlações com a dinâmica de nutrientes presentes no efluente.

A produtividade de proteína (parcial e total) foi estimada segundo a equação 8, considerando a porcentagem média na biomassa seca, multiplicada pelo peso de biomassa obtido na produção diária, sendo que a biomassa fresca possui, em média, 90% de umidade, (CAICEDO, 2005).

$$P_p = [TCS * 0,1] * [PB * 0,01] \quad (8)$$

$$P_t = P_p * A * N$$

Onde:

$P_p$  = Produtividade parcial de proteína ( $g/m^2/dia$ )

$P_t$  = Quantidade de proteína produzida em LM1 e LM2 no período avaliado (kg).

TCS = Taxa de crescimento superficial média do período ( $g/m^2/ dia$ )

PB = Porcentagem média de proteína bruta no período (%)

A = Área da lagoa de lemna avaliada. ( $m^2$ )

N = numero de dias do período

### **Avaliação dos aspectos morfológicos e de sanidade vegetal**

A avaliação da sanidade da população de lemnas nas lagoas de tratamento é de extrema importância para compreensão desta tecnologia no tratamento de efluentes. Substâncias tóxicas intempéries, superpopulação, competição, ação dos ventos, predação, etc. São algumas variáveis que podem afetar a saúde das plantas e conseqüentemente afetar o tratamento do efluente almejado. Também, os aspectos morfológicos dos indivíduos podem indicar os níveis de estresse imposto pelas condições do efluente e conseqüentemente apontar a necessidade de mudanças no manejo.

Para contemplar estes pontos o presente estudo avaliou diversos aspectos indicadores da sanidade da população de lemnas em lagoas de tratamento. As observações foram feitas sobre dois aspectos: a avaliação geral da população flutuante e a amostragem de indivíduos

## **Avaliação dos aspectos gerais da população nas lagoas de tratamento**

Foi desenvolvido um monitoramento com base na observação de fatores macroscopicamente visíveis os quais podem representar distúrbios na sanidade da população. Esses parâmetros foram:

- Manchas com coloração indicadora de estresse ou mortalidade;
- Presença de clareiras, com visualização da lâmina d'água;
- Super densidade com sobreposição acentuada das plantas;
- Presença de espécies invasoras de plantas, ou algas;
- Arraste da população pela ação de ventos prolongados;
- Variações decorrentes do ciclo biológico, como floração, formação de sementes e latência.

Esses parâmetros foram observados quinzenalmente, na ocasião das coletas de efluente, e anotados em diários referenciando a data ocorrida. Um ensaio fotográfico era feito sobre cada lagoa, registrando os aspectos gerais e enfatizando os distúrbios encontrados. Essas imagens foram avaliadas posteriormente para o cruzamento com dados de caracterização do efluente e produção de proteína.

## **Avaliação do aspecto de plantas individuais (clones)**

Como foi citado anteriormente, a morfologia das lemnas pode ser um valioso indicador da qualidade do efluente e do funcionamento do sistema de tratamento. Assim buscou-se avaliar aspectos da morfologia e sanidade das plantas que pudessem ser correlacionados com a eficiência do tratamento a fim de subsidiar o manejo. Para isso, os pontos avaliados foram:

- Comprimento das raízes;
- Comprimento das frondes (folhas);
- Cor das frondes (face superior e abaxial);
- Cloroses (manchas amareladas);
- Necroses (manchas sem pigmentação).

Uma amostra de 10 plantas por lagoa foi coletada quinzenalmente para a biometria. Após coletadas, as plantas eram encaminhadas para o laboratório e dispostas em uma chapa de plástico branca juntamente com uma fita métrica graduada em milímetros. As plantas foram fotografadas para posterior medição, com auxílio do software Screen

Caliper<sup>®</sup>, o qual disponibiliza um paquímetro virtual calibrável (figura 31).

Assim, os dados relativos ao comprimento das frondes e raízes foram compilados em planilhas eletrônicas para as devidas inferências estatísticas. Diversos autores citam que o comprimento das raízes das lemnaças pode ter uma relação inversamente proporcional à quantidade de nutrientes no efluente. A presença de substâncias tóxicas, também pode afetar o crescimento das frondes.



Figura 31: Biometria das plantas, com auxílio do paquímetro virtual (Screen Caliper<sup>®</sup>)

Para a determinação da coloração indicadora da sanidade das plantas foi desenvolvida uma tabela de cores com base em uma população de lemna padrão. Essa população foi obtida pela reprodução de clones (indivíduos geneticamente iguais) em meio de cultura (Hunter Mediu ISO/DIS. 2003) com todos nutrientes necessários ao desenvolvimento saudável das plantas, em proporções adequadas. Esses clones foram desenvolvidos em uma caixa d'água (300L) sob a luminosidade solar natural gerando uma população padrão, com morfologia e coloração típicas de plantas saudáveis (figura 32). Após ser fotografadas e medidas pela mesma metodologia descrita acima, a coloração predominante destas plantas foi estabelecidas como base para avaliação das lemna desenvolvidas nas lagoas de tratamento. Para essa avaliação, além das imagens de frondes individuais optou-se por

fotografar, também, amostras maiores (em *bekers* de 500ml) para avaliar um fragmento da população ao invés de indivíduos.



Figura 32: Plantas escolhidas como padrão de sanidade vegetal

A utilização da tabela de cores, para determinação da sanidade vegetal, se deu da seguinte forma: as imagens das plantas padrão foram estudadas com auxílio do software Corel Draw para a determinação de tons de cores que representassem o estado das plantas. É notório que as plantas mais saudáveis apresentem uma coloração verde escuro, ficando mais claras com o processo de senescência. Assim, comparou-se a cor dos pixels das imagens com tons do sistema RGB (Red, Green, Blue), onde cada cor é composta por uma mistura de vermelho, verde e azul, em proporções diferentes, referenciadas por uma escala numérica que varia de 0 a 255. (Tabela 4) Foram selecionadas 8 cores baseando-se nas imagens, as quais foram numeradas, sendo o valor “1” para o verde mais escuro (plantas padrão) até “6”, para as frondes mais amareladas. O valor 7 foi atribuído para plantas mortas (totalmente brancas) e o valor 8 para as plantas infestadas por fungos (cinza). Deste modo foram caracterizados cinco estados de sanidade, sendo eles: Ótimo, bom, regular, ruim e frondes mortas. Esta atribuição pode ser verificada na tabela 5.

Tabela 4: Padrão de cores (RGB) para referenciar o estado da sanidade vegetal das lemnas

	1	2	3	4	5	6	7	8
R	32	82	131	172	221	248	255	216
G	108	135	180	185	238	214	255	216
B	22	11	8	3	4	8	255	216

Tabela 5: Atribuição de valores numéricos aos estados de sanidade das lemnas e às respectivas cores indicadoras.

Estado de sanidade	Numero da Cor	Escala de cores
Ótimo	1 e 2	
Bom	3	
Regular	4 e 5	
Ruim	6	
Mortas	7 e 8	

Com o estabelecimento dos padrões colorimétricos as imagens das amostras de lemnas, registradas ao longo do período experimental, foram avaliadas estabelecendo-se uma planilha numérica (cada número representa uma cor). Os valores estabelecidos para cada planta das amostras foram somados sendo que, quanto menor o valor mais, saudável a população amostrada (Tabela 5).

Os resultados obtidos com a avaliação da sanidade das plantas assim como com a biometria foram relacionados e discutidos com os parâmetros de qualidade do efluente e também com os fatores climáticos relevantes

Para reforçar a confiança na escolha das cores predominantes, adotou-se o critério de elevar o contraste das imagens até 80%, desta forma os pixels amarelos e verdes são destacados fornecendo uma comparação mais precisa. Do mesmo modo, as manchas de necroses e cloroses características de frondes “doentes” são melhores identificadas com a elevação do contraste.

## **4.2 Remoção de nutrientes e fixação de CO<sub>2</sub> em altas concentrações (experimento em bancada)**

Para conhecer os efeitos de elevadas concentrações de dióxido de carbono sobre o crescimento das lemnas e na fixação de CO<sub>2</sub>, a metodologia adotada baseia-se no desenvolvimento de um experimento em escala laboratorial. Nessas condições, os fatores ambientais que afetam diretamente os processos fotossintéticos, como luminosidade e temperatura, podem ser controlados e mantidos constantes contribuindo com o rigor científico.

Resumidamente, as lemnas foram cultivadas em câmaras de crescimento em meio de cultura, sob iluminação artificial. O CO<sub>2</sub> foi injetado em diferentes quantidades, em cada câmara, para a verificação dos efeitos, conforme o objetivo proposto. Procedeu-se o monitoramento sobre a redução de CO<sub>2</sub> nas câmaras, a taxa de crescimento das lemnas e a remoção de nutrientes do meio de cultura. Assim, o detalhamento deste experimento é apresentado a seguir.

### **4.2.1 Localização e Estrutura**

Este experimento foi implantado em uma sala anexa ao Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/ ENS/ UFSC. Neste ambiente com dimensões de 1,8m x 4m foi instalado um sistema de condicionamento de ar para a manutenção da temperatura ambiente. Utilizou-se uma bancada metálica como suporte para as câmaras de crescimento e um sistema de iluminação confeccionado sobre um apoio suspenso, para facilitar a manipulação. Ambos estão descritos a seguir.

### **Câmaras de crescimento**

Para o desenvolvimento das lemnas nas unidades experimentais, foram confeccionados três recipientes em acrílico transparente, com dimensões de 50 x 50 x 30 cm, contendo tampa, chamados câmara de crescimento. Cada câmara possui duas divisórias internas proporcionando três compartimentos de tamanhos iguais (16,5 x 30 x 50cm, com volume de 24,75L cada), sendo que esses compartimentos foram denominados reatores fotossintéticos (RF) (figuras 33 e 34). Uma faixa de adesivo

preto, com 5cm de largura, foi fixada nas laterais das câmaras para impedir a penetração da luz, que incidiria lateralmente na coluna d'água, para inibir o crescimento de algas. Também, na borda de cada tampa foram aderidas fitas de EVA para a vedação hermética no fechamento das câmaras, também, é importante ressaltar que todas as extremidades das câmaras eram seladas com silicone. Foram abertos alguns orifícios em locais estratégicos, para a introdução de pipetas e sondas, com a finalidade de coletar água e realizar a medição dos gases. Para a homogeneização dos gases dentro das câmaras foram instaladas pequenas ventoinhas (*cooler* utilizado em computadores), as quais eram acionadas simultaneamente por um único interruptor. Cada compartimento da câmara possui uma tubulação para o escoamento do meio de cultura, com um registro para o controle.

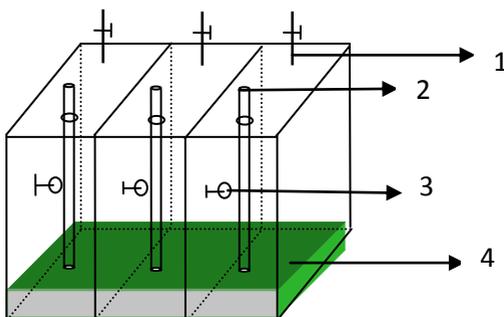


Figura 33: Desenho esquemático de uma câmara de crescimento: 1- entrada de CO<sub>2</sub>; 2-tubo de coleta; 3-orifício para leitura de CO<sub>2</sub>; 4- meio de cultura.

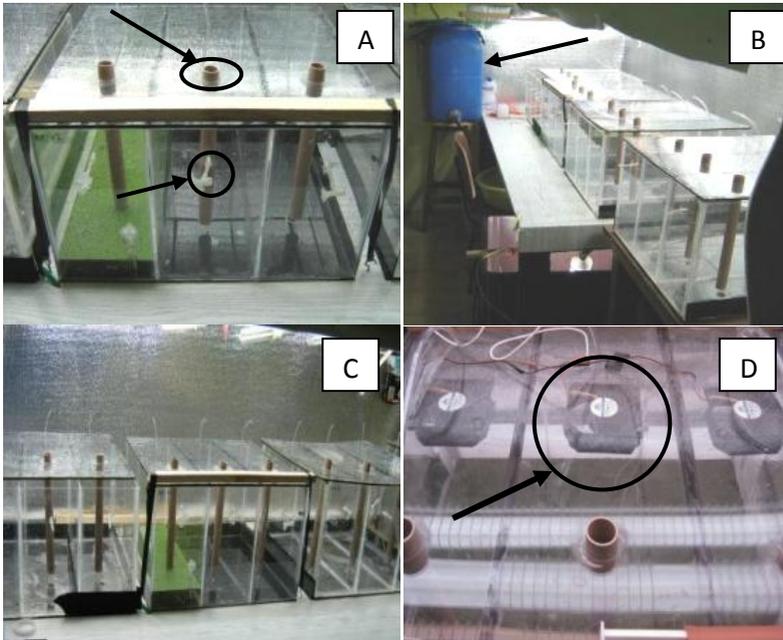


Figura 34: Câmaras de crescimento utilizadas como unidades experimentais, com destaque para os orifícios de coleta (A e C); reservatório para meio de cultura (B); ventoinhas (D).

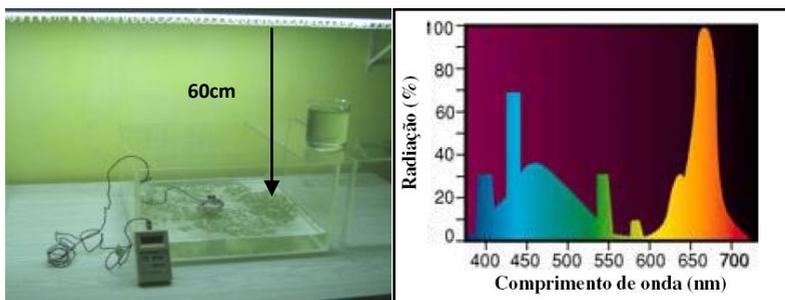
### Sistema de iluminação

Para a manutenção de processos fotossintéticos é fundamental a existência de uma fonte de luz que forneça a Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR- Photosynthetically Active Radiation). Para a determinação da PAR buscou-se informações em publicações afins. Caicedo (2005), em experimentos com *Lemna minor* utilizou uma PAR entre 85 e 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Já Bergamann (2000) obteve sucesso com apenas 40  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  no cultivo de 12 espécies de lemnáceas. Cedergreen (2002), em seu experimento sobre dinâmica do nitrogênio com lemnáceas aplicou uma PAR de 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Considerando a variedade de informações optou-se por seguir a metodologia proposta pela normatização ISO 20079 (International Organization for Standardization, 2003) desenvolvida para padronizar testes toxicológicos

com lemnáceas. Nesta metodologia é indicada uma PAR entre 85 e 125  $\mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$ .

Deste modo, no presente estudo utilizou-se 100  $\mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$ , como intensidade de Radiação Fotossinteticamente Ativa. A medição da radiação foi feita com um Quantômetro (Fotômetro) da marca Li-COR, modelo Li-250 Light Meter, com sensor esférico (Figura 35). Para a obtenção da luminosidade desejada foram acrescentadas lâmpadas até a obtenção de 100  $\mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$  de radiação, medida no nível da água e, em diversos pontos sob o sistema de iluminação descrito. A altura aproximada entre as lâmpadas e a superfície da água, onde encontram-se as plantas, foi de 60 cm (figura 35).

Sobre uma bancada metálica confeccionou-se uma estrutura de iluminação, com 04 lâmpadas fluorescentes, tubulares, com 1,5m e 40W, cada, e mais 10 lâmpadas fluorescentes, de bulbo, com 25w cada. A potência total do sistema de iluminação é de 410W de luz branca (400 a 700nm) para o fornecimento da PAR. Em relação às lâmpadas tubulares foram utilizados exemplares próprios para a promoção da fotossíntese (Hagen Aquaglo® Fluorescent Lamps), os quais emitem radiação em comprimentos de onda específicos, ou seja, com mais energia nas bandas do azul e laranja (figura 35). Laminados de alumínio foram aderidos na parede, ao redor da bancada e sobre as lâmpadas, para maximizar e homogeneizar a luminosidade sobre as câmaras de crescimento, pela reflexão da radiação. Para o controle do foto período (relação de tempo entre luz/escuro, em 24h) foi utilizado um timer digital que aciona e desliga automaticamente a iluminação, para o período programado.



Fonte: [www.aquariumsdelivered.co.uk](http://www.aquariumsdelivered.co.uk)

Figura 35: Medição da radiação luminosa com Quantômetro (esquerda); porcentagem de energia proporcionada pelas lâmpadas utilizadas, nos diversos comprimentos de onda (direita).



Figura 36: Sistema de iluminação nas unidades experimentais.

### Suprimento extra de CO<sub>2</sub>

Para o fornecimento do dióxido de carbono extra foi utilizado um cilindro de gás comercial contendo CO<sub>2</sub> puro. Com uma mangueira conectada em uma válvula manométrica, na saída de gás do cilindro, o CO<sub>2</sub> era transferido para sacos plásticos especiais para o transporte de gases (saco Tedlar®) (figura 37). Este gás era introduzido nas câmaras, conforme será descrito posteriormente no delineamento experimental.



Figura 37: Utilização de do cilindro de CO<sub>2</sub> no preenchimento de um saco Tedlar®

## Meio de cultura

Para o desenvolvimento saudável das lemnas, dentro das câmaras de crescimento é necessária a utilização de um meio de cultura elaborado segundo as exigências nutricionais das mesmas. Esse meio deve possuir características físico-químicas que favoreçam a manutenção e crescimento das plantas, sem impor efeitos limitantes. Sendo assim, existem alguns meios de cultura padronizados para a produção de lemnáceas em laboratório, os quais podem ser encontrados em diversas referências. Dentre estes pode-se citar o Meio Steinberg, o Meio Swedish Standard Institute (SSI Medium), o Meio APHA e o meio Huttner (Vermaat e Hanif, 1998; ISO/DIS, 2003).

O principal critério para a seleção do meio de cultura a ser utilizado foi a indisponibilidade de certos compostos químicos no mercado nacional brasileiro. Assim, o meio de cultura utilizado foi o *SSI Medium* indicado pela OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). Pois neste, a principal fonte de nitrogênio é o nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ), substância de livre comercialização.

Para a elaboração do meio de cultura, os sais foram pesados em uma balança de precisão de acordo com a tabela 06. Após a pesagem foram preparadas 6 soluções estoque sendo que a solução VI ( $\text{FeCl}_3$  + EDTA – fonte de ferro) recebeu aeração por 12 horas para maximizar a solubilidade deste elemento. Após a realização de cálculos de estequiometria constatou-se que a quantidade de nitrogênio e fósforo seria escassa para a configuração do experimento. Sendo assim, a concentração destes elementos foi alterada elevando-se a concentração de nitrato de sódio em 4 vezes e de fosfato de potássio em 3 vezes, em relação a concentração original (de 85 para 340  $\text{mgNaNO}_3/\text{L}$  e de 13,4 para 40  $\text{mgKH}_2\text{PO}_4/\text{L}$ ).

Devido a elevada quantidade de meio de cultura necessária para cada ensaio (36L) optou-se por utilizar água de abastecimento ao invés de água destilada para a diluição das soluções estoques. Esta água era constantemente aerada em bombonas de 50L para promover a volatilização do cloro residual.

Tabela 6: Composição do meio de cultura SSI – Swedish Standard Institute (ISO/DIS, 2003)

Compostos	Concentração		Solução estoque*
	Meio (mg/L)	Solução estoque (g/L)	
Mg SO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	75,0	15	II
*Na NO <sub>3</sub>	<b>340,0</b>	<b>34</b>	I
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	36,0	7,2	III
NaCO <sub>3</sub>	20,0	4	IV
*KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	<b>40,0</b>	<b>4,0</b>	I
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,0	1	V
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0,2	0,2	V
NaMoO <sub>4</sub>	0,01	0,01	V
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,05	0,05	V
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,005	0,005	V
Co(NO <sub>3</sub> ) 6H <sub>2</sub> O	0,01	0,01	V
NaEDTA	1,4	0,28	VI
FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,84	0,168	VI

\* Concentração alterada em relação ao meio original (85mgNaCO<sub>3</sub>/L e 13,4mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/L).

#### 4.2.2 Delineamento experimental

Para a avaliação do desenvolvimento das lemnáceas sob elevadas concentrações de dióxido de carbono atmosférico, bem como mensurar o seqüestro de carbono através da fixação fotossintética, foram estipuladas três concentrações diferentes, além da concentração atmosférica tida como controle. Os critérios utilizados para a escolha destas concentrações foram baseados nos escassos documentos bibliográficos que relatam testes feitos com lemnáceas sob suprimento controlado de dióxido de carbono (ANDERSEN *et al*, 1985 e GERALD *et al* 1985 ESHEL e BEER, 1986, LANDOLT e KENDELER, 1987). Andersen e colaboradores (1985) utilizando a lemnácea *Lemna giba* detectaram um aumento significativo na produção sob uma

concentração de 6000ppm. Outro fator importante é a limitação existente quanto à sensibilidade dos aparelhos utilizados na medição do CO<sub>2</sub>, para a faixa entre 6000 e 20.000ppm. Deste modo as concentrações de CO<sub>2</sub> avaliadas estão na tabela 7.

Tabela 7: Concentrações de CO<sub>2</sub> utilizadas na avaliação (tratamentos)

<b>Concentrações</b>				
	<b>Controle (Ct)</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
<b>ppm</b>	380	1.500	6.000	100.000
<b>%</b>	0,038	0,15	0,6	10
<b>vezes a [atm]*</b>	1	4	16	263

\* indica quantas vezes a concentração está acima da concentração atmosférica

Devido a configuração dos equipamentos utilizados para medir a concentração de CO<sub>2</sub> foram realizados 2 ensaios diferentes. No primeiro foram utilizadas três câmaras de crescimento (9 Reatores fotossintéticos - RFs), onde avaliou-se três tratamentos (Ct, C1 e C2), sendo que cada tratamento foi feito em triplicatas (figura 38). Assim, cada RF hermeticamente vedado é uma unidade experimental isolada, com um volume interno de 20,7L. Os RFs foram numerados e sorteados para receberem os tratamentos de forma aleatória, como parte do rigor metodológico. Nos RFs considerados controle, as plantas se desenvolvem sob as condições atmosféricas normais, já nos RFs onde serão testados os tratamentos as plantas estarão sob as concentrações de CO<sub>2</sub> testadas (C1 e C2). O segundo ensaio foi desenvolvido para avaliar a concentração C3 (100.000ppm), pois o equipamento utilizado para medir tal concentração foi diferente daquele utilizado para mensurar as concentrações anteriores. Deste modo, o segundo ensaio foi operado com duas câmaras totalizando seis unidades experimentais, sendo três para a concentração controle e três para C3 (figura 38). Todos os ensaios tiveram a duração de 7 dias sendo repetidos diversas vezes para aprimorar a metodologia desenvolvida.

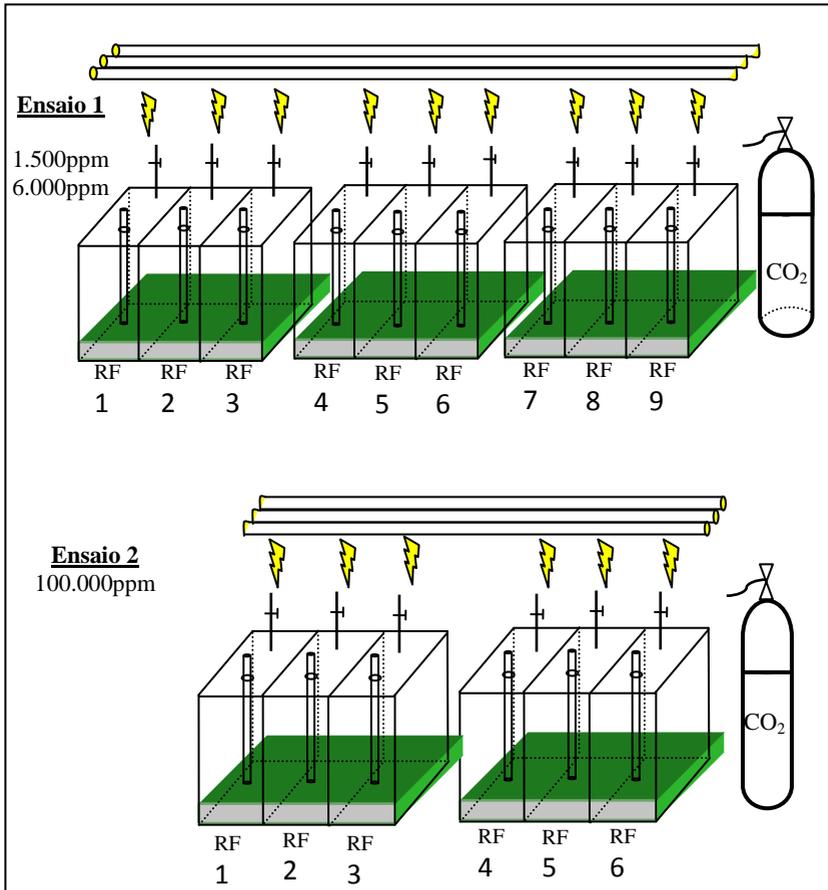


Figura 38: Representação dos ensaios com os respectivos tratamentos após o sorteio das posições: (RF) reatores fotossintéticos; (Ct) Controle 380ppm; C1-1.500ppm; C2-6.000ppm e C3-100.000ppm

### 4.2.3 Procedimentos

#### Inoculação do material biológico e pré- cultura

Alguns exemplares de *Landoltia punctata* (aproximadamente 500g) foram coletados a campo, em uma lagoa experimental de tratamento de efluentes de suinocultura, no município de Braço do Norte – SC e levadas para o laboratório, onde foi conduzido o experimento.

No recebimento desse material foram feitas diversas lavagens, com água em abundância, para a remoção de organismos macroscópicos (como caramujos, crustáceos e larvas de insetos) aderidos na rizosfera (conjunto de raízes). Em seguida realizou-se uma triagem selecionando manualmente (com pinça) as frondes com aspecto mais saudável, descartando-se os clones com necroses, cloroses, fungos e senescentes. Também, no momento da triagem manteve-se atenção para detectar a presença de outra espécie de lemnáceas na amostra mantendo assim, uma população pura. As frondes selecionadas foram esterilizadas com água sanitária (hipoclorito de sódio a 5%) por 1 minuto e enxaguadas com água em abundância (BOWKER *et al*, 1980). Assim obteve-se uma cultura pura de *Landoltia punctata* em uma quantidade suficiente para cobrir 20cm<sup>2</sup> na superfície da água.

Após a obtenção da cultura pura foi necessário um período de adaptação dos organismos ao sistema experimental, pois este impõe suprimentos artificiais exigindo ajustes metabólicos. Para esta adaptação, as plantas foram inoculadas nas câmaras de crescimento contendo 12 litros do meio de cultura SSI, proporcionando uma coluna d'água com 5,5cm e uma lâmina com superfície de 825cm<sup>2</sup>. Para o suprimento de radiação luminosa (PAR) o sistema de iluminação foi ativado para um fotoperíodo de 12h (12/12 Luz/Escuro). Segundo recomendado pela normatização ISO/DIS (2003). A temperatura dentro das câmaras foi mantida a 24°C ± 2°C, pelos aquecedores anteriormente citados, e o pH em 6,5, controlado com HCl e NaOH.

O período de adaptação transcorreu em 45 dias, durante os quais foram observados o crescimento da população e alterações nos aspectos morfológicos. O objetivo principal deste período é alcançar e manter a fase de crescimento exponencial. Para isso, o meio de cultura era renovado semanalmente garantindo a manutenção e suprimento de nutrientes. Também, a biomassa produzida após a cobertura total da lâmina d'água era removida para evitar a inibição do crescimento por elevadas densidades, devido a competição por espaço, luz e nutrientes.

Esta biomassa excedente foi replicada e mantida como estoque para caso de perda do material nas câmaras de crescimento.

### **Avaliação do crescimento**

A avaliação do crescimento da população de *Landoltia punctata* dentro das câmaras é um fator que merece extrema atenção e rigor metodológico, pois a produção de biomassa é o principal indicador dos tratamentos propostos. Para determinação de tal parâmetro observou-se os escritos de Hunt (1978), Landolt (1978) e Caicedo (2005), os quais citam três medidas biométricas principais para quantificar o desenvolvimento de lemnáceas: 1- peso fresco; 2- peso seco e 3-número de frondes. Certamente, o parâmetro mais preciso para avaliar a fixação de carbono é a determinação do peso seco, pois as lemnas podem ter até 95% de umidade, o que pode camuflar significativamente o ganho de massa orgânica no peso fresco. Contudo, existe um empecilho na utilização do peso seco como único parâmetro biométrico, pois quando se deseja obter o peso inicial e final em um período de crescimento é necessário que a biomassa esteja viva.

A contagem manual das frondes (folhas) é inviável para este tipo experimento, sendo aconselhável apenas para pequenas amostras, onde as plantas são cultivadas em placas de petri ou beckers. Considerando que, a cada 100cm<sup>2</sup> de lâmina d'água podem haver até 2.500 frondes, o trabalho de contagem torna-se muito e lento.

Para verificar o efeito dos diferentes tratamentos avaliados é necessário estimar o Crescimento Específico (CE) e a Taxa de Crescimento Relativo (TCR) – “Relative Growth Rate” (RGR). Dados pelas fórmulas a seguir:

$$TCR = \frac{\ln(p1) - \ln(p0)}{\Delta t} \quad (9)$$

$$(10)$$

$$CE = p1 - p0$$

Onde:

TCR= Taxa de Crescimento Relativo (g/g/dia)

CE = Crescimento Específico (g)

p0 = Peso inicial (g)

p1 = peso final (g)

$\Delta t$  = t1-t0 = variação temporal (dias)

## **Fotoperíodo**

Durante o período experimental, a relação luz/escuro foi de 16h/8h. Este fotoperíodo é utilizado em diversos experimentos de avaliação fotossintética, onde se deseja manter o crescimento máximo das lemnas (BERGMAN *et al.*, 2001; CAICEDO 2005, MKANDAWIRE *et al.*;2005). Cabe destacar que a fixação do carbono, alvo desta pesquisa, ocorre com as reações da fase luminosa (Ciclo de Calvin ver item 3.5).

## **Temperatura**

A manutenção da temperatura constante é um fator importante, principalmente entre os RFs durante o andamento dos ensaios, pois afeta diretamente a atividade fotossintética. Landolt e Kandeler (1987) citam que a temperatura ótima para *Landoltia punctata* está entre 21 e 30°C, contudo, para este estudo adotou-se os valores indicados pela normatização ISO/DIS (2003) Assim, a temperatura nas câmaras de crescimento foi mantida a 24<sup>0</sup>C  $\pm$ 2,0 através dos aquecedores anteriormente citados e pelo sistema de climatização ambiente do laboratório.

### **4.2.4A partida do experimento**

Cada RF recebeu 4L de meio de cultura previamente preparado, preenchendo 5cm de coluna d'água, sob o qual se encontram submersos os aquecedores. Uma porção de 30g de lemnas mantidas em estoque (pré-cultura) foi introduzida, em partes iguais em todos os RFs (figura 39). Antes da pesagem as plantas eram depositadas em peneiras para escorrer a água aderida e posteriormente secas com papel toalha. Assim após a introdução de 30g de lemnas frescas em cada RF esperou-se cerca de 2h para a distribuição uniforme das frondes. Em seguida foram colocadas as tampas herméticas, sendo que os orifícios para a passagem dos fios dos aquecedores foi vedado com silicone. Cada tampa era presa por elásticos que mantinham a pressão para não permitir o escape dos gases.



Figura 39: Pesagem inicial e inoculação das lemnas nos Reatores Fotossintéticos (RF)

Com as câmaras de crescimento fechadas foi introduzido gás  $\text{CO}_2$  pela abertura específica para este fim, através de um saco Tedlar<sup>®</sup>, até obter-se a concentração desejada em cada RF, por sua vez os RFs do grupo controle não receberam o aporte de  $\text{CO}_2$ . A determinação da concentração de dióxido de carbono, no ensaio 1 foi feita com medidor Instrulterm – C2, (de 1 a 6000ppm) conectado a uma pequena mangueira (8cm) que liga o ambiente interno ao ambiente externo (figura 40). Já para o ensaio 2 (C3- 100.000ppm) foi utilizado o medidor de gases da marca Landtec<sup>®</sup> (GEM 2000 – precisão de 0,1%). Após atingir a concentração desejada a mangueira é bloqueada com pinçamento para impedir o escape do gás. Enquanto o gás é introduzido as ventoinhas permanecem ligadas para a homogeneização, garantido uma leitura mais precisa dos sensores. É importante ressaltar, que durante a injeção de  $\text{CO}_2$ , um orifício no vértice oposto permanece aberto para não criar uma pressão positiva dentro das câmaras.



Figura 40: Introdução do CO<sub>2</sub> no Reator Fotossintético, através de um saco Tedlar® (esquerda); Medição de CO<sub>2</sub> com o sensor Instrulterm (direita). Destaque para as mangueiras de conexão.

Em todos os reatores foram feitos testes para verificar possíveis vazamentos de gás. Para esta verificação, todos os reatores (sem meio de cultura e sem as lemnas) receberam CO<sub>2</sub> até atingir 6000ppm, sendo que após 24 foram feitas novas leituras para verificar se a concentração do gás permanecia a mesma. Deste modo foi possível detectar vazamentos e, assim, tomar medidas para o reparo, como por exemplo, a aplicação de plástico filme ao redor das tampas.

Para a determinação teórica do volume de CO<sub>2</sub> introduzido em cada RF utilizou-se as seguintes fórmulas, considerando o volume da fase gasosa de 20,7 litros.

$$VI = VF - VRF \quad (11)$$

$$VCRatm (constante) = \frac{20,7 * 0,038}{100} = 0,0078 \text{ Lou } 7,8 \text{ ml} \quad (12)$$

$$VF = \frac{VRF * [CO_2\%]}{100}$$

Onde:

VI = volume de CO<sub>2</sub> introduzido

VF = Volume de CO<sub>2</sub> final

VCRatm = volume de CO<sub>2</sub> no Reator Fotossintético, na concentração atmosférica

VR = Volume do Reato Fotossintético

[CO<sub>2</sub> %]= Concentração de CO<sub>2</sub> testada, em porcentagem.

A massa de CO<sub>2</sub> introduzida é dada pela seguinte relação, considerando as condições normais de temperatura e pressão (CNTP):

1 mol de CO<sub>2</sub> = 44g (C<sup>12</sup> + 2 O<sup>16</sup>)

1 mol de CO<sub>2</sub> = 22,4L

Logo 1 litro de CO<sub>2</sub> possui aproximadamente 1,96g

Após a preparação dos reatores, com as respectivas concentrações de CO<sub>2</sub> deu-se procedência ao monitoramento das variáveis avaliadas, contemplando as mudanças ao longo do tempo. Os procedimentos de monitoramento serão detalhados a seguir.

#### 4.2.5 Monitoramento

Para avaliar a eficiência das lemnáceas na remoção de nitrogênio e fósforo sob elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>, bem como a fixação biológica de carbono foi feito o monitoramento dos parâmetros, tanto na fase gasosa, como na fase aquosa, além da biomassa.

##### Fase aquosa

As variáveis monitoradas no meio de cultura (fase aquosa) foram: pH, temperatura, CO<sub>2</sub> dissolvido, NO<sub>3</sub>, e PO<sub>4</sub>. As coletas do meio de cultura foram realizadas através de pipetas introduzidas em um cano instalado nas tampas das câmaras ligando o meio externo ao meio aquoso interno (figura 41). Deste modo, foram coletadas amostras de 30 mL, duas vezes por dia (manhã e tarde), durante 7 dias, em todos os RFs. De cada amostra foram retirados 10mL, os quais eram separados e congelados para posterior análise de cromatografia iônica (DIONEX DX 120-SM 4110C), sendo que esse procedimento foi realizado para determinação de NO<sub>3</sub> e PO<sub>4</sub>. Os 20mL restantes foram submetidos às análises para determinação de CO<sub>2</sub> dissolvido, as quais foram feitas no instante da coleta devido a dinâmica deste gás. Estas análises foram feitas por titulação com carbonato de sódio (*Kit* para determinação de CO<sub>2</sub> dissolvido - Alfakit).

Através do mesmo orifício citado era introduzida a sonda para a determinação de pH e temperatura (Sonda Hanna Sensor Check HI991003) (figura 40), sendo que esta verificação foi feita duas vezes ao dia, juntamente com as coletas de amostras. Os dados obtidos com o monitoramento foram organizados em planilhas eletrônicas para avaliação estatística.

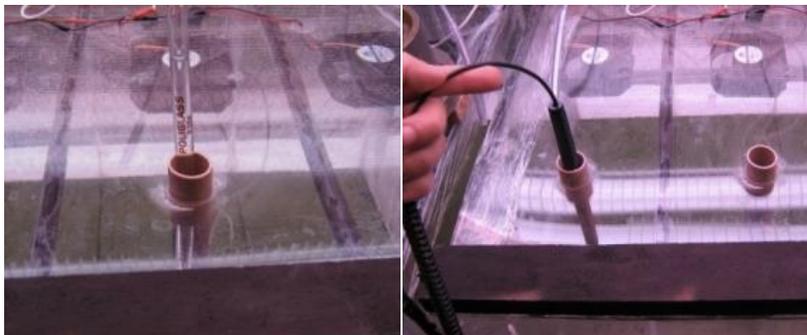


Figura 41: Coleta de amostras nos reatores (esquerda); Introdução de sonda para determinação de pH e temperatura (direita)

### Fase gasosa

O monitoramento da fase gasosa foi feito a fim de se observar o decaimento de  $\text{CO}_2$  decorrente da fixação biológica. Assim, foram feitas amostragens da concentração de  $\text{CO}_2$ , 2 vezes ao dia, sendo uma no final do período escuro e outra ao final do período luminoso. Isso se deu tendo em vista que a fixação do carbono é predominante sob a ação da luz, no escuro, ocorre a liberação do carbono inorgânico pelas plantas (respiração mitocondrial). Para a medição da concentração de  $\text{CO}_2$  introduz-se a o dispositivo de captação de gás do aparelho (*Instrultem* modelo C-2 e *Landtec* modelo GEM 2000) em uma mangueira conectada ao interior dos reatores (figura 42). Espera-se a estabilização do resultado, e em seguida estes são armazenados na memória digital do equipamento (datalog) para serem avaliados posteriormente. Para o ensaio 2, com o aparelho Landtec, foram feitas apenas duas amostragens da concentração de  $\text{CO}_2$ , uma inicial e outra final (após 7 dias), pois este equipamento possui uma bomba para succionar o gás (50mL/min.) podendo criar uma pressão negativa (vácuo) dentro dos RFs. Os valores da concentração do gás nos reatores foram plotados em gráficos, para verificar o decaimento do  $\text{CO}_2$  em função tempo.



Figura 42: Medição de CO<sub>2</sub> com sensor Landtec GEM 2000, detalhe do display indicando a concentração de CO<sub>2</sub>, em porcentagem.

## Biomassa

Para os ensaios foram feitas avaliações quantitativas e qualitativas da biomassa de lemnas produzidas. A avaliação quantitativa refere-se a verificação do ganho em peso e da taxa de crescimento das macrófitas nos diferentes tratamentos. A verificação do peso fresco foi feita logo antes do início do ensaio e ao final do ensaio (após 7 dias), através de uma balança digital (Bell - 0,1mg a 500g), sendo que o peso inicial de todos os tratamentos foi 30g.

A avaliação qualitativa da biomassa foi realizada para a determinação do carbono orgânico total COT, do teor de proteína bruta (PB) e de umidade. Estas análises foram realizadas no laboratório de análises de alimentos – LABCAL (habilitado pela ANVISA), no Centro de Ciências Agrárias, CCA/UFSC. A metodologia utilizada para avaliar o teor de PB baseia-se na determinação do nitrogênio total multiplicado pela constante 6,25 (Método AOAC, n° 991.20) referenciado pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005). O conhecimento da quantidade de nitrogênio na biomassa é fundamental para o balanço de massa deste elemento nos reatores. Do mesmo modo a determinação do COT na biomassa permite verificar o carbono fixado nos diferentes tratamentos, uma vez que os reatores são sistemas fechados e as plantas são organismos autotróficos (usam o CO<sub>2</sub> como fonte de carbono).

A determinação da umidade foi realizada pela subtração do peso fresco pelo peso seco ( $P_f - P_s = \text{umidade}$ ), sendo que para a obtenção do peso seco foi feita a desidratação em estufa a 55°C por 24h. A umidade

foi expressa em termos de porcentagem sendo que a o restante refere-se a biomassa seca.

#### 4.2.7 Análises e tratamento dos dados

Para a avaliação foram utilizados os dados de três testes com sete dias de duração para cada ensaio. Os valores obtidos durante o monitoramento, para as concentrações de  $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ ,  $\text{CO}_2$  dissolvido e atmosférico, foram *plotados* em gráficos de dispersão de pontos, a fim de observar as curvas de decaimento para os diferentes tratamentos (Microsoft Excel 2007). Já os valores dos resultados finais para ganho em peso, taxa de crescimento, teor de nitrogênio, proteína e COT foram submetidos ao teste de Tukey para a comparação entre as repetições de um mesmo tratamento (Statística 7.0). Caso o teste indique que as médias pertencem a uma mesma amostra estas serão agrupados em média resultando em um valor para cada tratamento. Após o agrupamento das repetições o mesmo teste foi aplicado para verificar se os resultados entre os tratamentos (C1, C2, C3 e Ct-controle) foram estatisticamente diferentes.

A eficiência na remoção de nitrogênio e fósforo sob elevadas concentrações de  $\text{CO}_2$  foi avaliada pela variação destes compostos no meio de cultura e pelo acréscimo destes na biomassa. Assim, a taxa de remoção dos nutrientes indicará o tratamento mais eficiente para este parâmetro.

(13)

$$TRN = \frac{C1 - C0}{T1 - T0}$$

Onde:

TRN = Taxa de remoção de nutrientes

C1 = Concentração final

C0 = Concentração inicial

T1 - T0 = Variação temporal do teste

Afixação de carbono pelas lemnas será verificado pelo balanço de massa deste elemento dentro de cada RF. Pois, como os reatores representam um sistema fechado, toda a massa de carbono injetada permanece no sistema, podendo estar na fase líquida gasosa ou na biomassa. Ou seja, através do monitoramento do carbono nas fases do reator, será revelada a quantidade de carbono fixada pelas plantas. Lembrando que praticamente todo o carbono utilizado pelos vegetais em seu crescimento provém do gás CO<sub>2</sub>.

Deste modo, conhecendo o ganho de peso e a porcentagem de carbono total na biomassa têm-se a quantidade de carbono fixada pelas lemnas. Esta dedução pode ser demonstrada pela fórmula a seguir.

(14)

$$CF = [CT\%]B_1 * P_1 - [CT\%]B_0 * P_0$$

Onde :

CF = Carbono fixado

[CT%] B<sub>1</sub> = Porcentagem de carbono total na biomassa final

[CT%]B<sub>0</sub> = Porcentagem de carbono total na biomassa inicial

P<sub>0</sub>= peso inicial

P<sub>1</sub> = peso final

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação de lagoas de lemnas no polimento e valorização de dejetos suínos

A seguir serão apresentados e discutidos os dados obtidos com o monitoramento das estruturas de tratamento que compõem o sistema estudado, o qual ocorreu no período entre abril de 2009 a maio de 2010. Embora a avaliação da etapa anaeróbia do sistema não seja o foco principal da pesquisa, entende-se que o funcionamento desta etapa afeta diretamente a dinâmica das lagoas de lemnas a serem avaliadas. Deste modo, serão discutidos primeiramente os resultados da etapa anaeróbia do sistema (caracterização do dejetos bruto, biodigestor e lagoa de armazenamento) e posteriormente a avaliação das lagoas de lemnas de forma mais detalhada.

O sistema de tratamento avaliado apresentou, em termos gerais, excelentes resultados na redução dos parâmetros indicadores de poluição, como pode ser observado na tabela 8. Essa tabela apresenta os valores médios dos parâmetros ao longo do período experimental, em todas as unidades do sistema de tratamento e as respectivas eficiências relativas. Os elevados valores de desvios-padrão demonstram as fortes variações do efluente durante o ciclo de produção, as quais serão analisadas especificamente para cada parâmetro. Por ser um importante fator para a compreensão do funcionamento do sistema de tratamento será feita a seguir uma breve caracterização do dejetos bruto produzido na propriedade.

#### 5.1.1 Caracterização do dejetos bruto (DB)

O dejetos bruto sofreu significativas variações em sua composição ao longo do período amostral, sendo esse fato observável pelo alto desvio padrão em relação às médias (tabela 8). Esta variação é observada por diversos autores e é geralmente atribuída ao número de animais, ao estágio de desenvolvimento, consumo de água, fatores climáticos, entre outros (BELLI, *et al.*, 2001, MIRANDA, 2005, HENN, 2005). Também é consensual que os dejetos de suínos possuem uma elevada concentração de matéria orgânica em comparação com outros tipos de efluentes, como o esgoto doméstico, por exemplo. A DQO total no dejetos bruto apresentou uma média aproximada de 67.000mg/L, com um pico máximo de 97.660 mg/L e mínimo de 40.200 mg/L. É

importante ressaltar que o dejetto bruto é de difícil manejo laboratorial, por possuir sólidos grosseiros e uma consistência pastosa, sendo necessária a sua diluição para os procedimentos de análise, assim Belli Filho(1995), recomenda adotar medidas de massa ao invés de volumétricas para uma melhor precisão.

Devido ao manejo desenvolvido nesta propriedade, o qual prioriza a redução do consumo de água, o dejetto bruto apresenta-se mais concentrado quando comparado com outras unidades suinícolas da região. Para exemplificar, Araújo (2007) pesquisando em uma propriedade suinícola, no mesmo município, cita uma média de 11.775mg/L de DQO total, cerca de seis vezes menor quando comparado ao valor encontrado no presente estudo. Segundo Belli Filho e colaboradores (2001), a elevada carga orgânica nos dejetos suínos é um fator favorável para a eficiência de digestores anaeróbios no tratamento deste efluente.

O alto valor da relação  $DBO_5/DQOt$  (0,91) demonstra a elevada biodegradabilidade do dejetto bruto, pois devido à baixa eficiência de digestão desses animais as fezes possuem elevado teor de amido não metabolizado. Da mesma forma, a relação entre NTK/  $N-NH_3$  é elevada (cerca de 5) demonstrando que a maior parte do nitrogênio ainda está ligada às macromoléculas orgânicas (proteína, peptídeos e ácidos nucléicos). Como era esperado, as análises bacteriológicas do dejetto bruto demonstraram elevadas concentrações de coliformes, cerca de 20 milhões NMP de *E. coli*, por 100mL de amostra ( $2 \times 10^7$ ).

Os parâmetros OD e Turbidez não foram considerados relevantes para avaliação do dejetto bruto e por isso não constam na tabela 8.

Tabela 8: Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento (25 campanhas).

	(n) Amostras	DB	BIO	(%)	LA	(%)	LM1	(%)	LM2	(%)	Eficiência final
<b>pH</b>	25	7,52±0,6	7,19±0,7	--	7,38±0,4	--	7,0±0,6	--	6,68±0,5	--	--
<b>OD (mg/L)</b>	25	--	0,21±0,3	--	0,20±0,19	--	2,01±1,4	--	3,02±1,2	--	--
<b>T(°C)</b>	25	19,7±2,9	19,9±3,3	--	20,1±4,2	--	20,4±4,6	--	21,0±4,5	--	--
<b>Turbidez (UNT)</b>	25	--	4.136±3510	-	788±661	-	27±18	-	10±8	-	-
<b>ST (mg/L)</b>	23	268.350±185.757	10.303±7.825	<b>96</b>	5.052±4.024	<b>51</b>	491±448	<b>90</b>	365±388	<b>26</b>	<b>99,8%</b>
<b>DQOt(mg/L)</b>	23	63.280±23.065	8.758±7173	<b>86</b>	3.107±2411	<b>64</b>	184±111	<b>94</b>	107±75	<b>42</b>	<b>99,8%</b>
<b>DQOf(mg/L)</b>	23	27.473±14.303	3.897±2591	<b>85</b>	2.553±1643	<b>34</b>	150±86	<b>94</b>	86±63	<b>43</b>	<b>99,6%</b>
<b>DBO<sub>5</sub>(mg/L)</b>	22	57.533±29178	1.492±1445	<b>97</b>	653±352	<b>56</b>	94±60	<b>85</b>	33±33	<b>64</b>	<b>99,9%</b>
<b>N-NH<sub>3</sub>(mg/L)</b>	23	1.624±1.146	1.159±377	<b>28</b>	636±321	<b>45</b>	28±14	<b>95</b>	7±6	<b>74</b>	<b>99,5%</b>
<b>NTK (mg/L)</b>	23	7.986±9.573	1.622±629	<b>79</b>	832±435	<b>45</b>	44±22	<b>95</b>	14±10	<b>68</b>	<b>99,8%</b>
<b>PT (mg/L)</b>	23	1.487±898	215±177	<b>85</b>	92±99	<b>57</b>	10±7	<b>89</b>	5±6	<b>47</b>	<b>99,8%</b>
<b>Coliformes Totais*</b> (NMP/100m)l	10	4,4E+07	7,6E+05	<b>98</b>	3,0E+05	<b>61</b>	1,2E+04	<b>96</b>	1,2E+04	<b>-4</b>	<b>10<sup>3</sup></b>
<b>E. coli*</b> (NMP/100ml)	10	2,4E+07	3,5E+05	<b>98</b>	6,8E+04	<b>81</b>	1,6E+02	<b>99</b>	5,4E+01	<b>66</b>	<b>10<sup>6</sup></b>

DB- dejetto bruto; Bio- biodigestor; LA- lagoa de armazenamento; LM1 – lagoa de lemnas 1; LM2- lagoa de lemnas 2.

\* Valores representados por média geométrica

### 5.1.2 Sistema de Tratamento Anaeróbio (Biodigestor e Lagoa de Armazenamento)

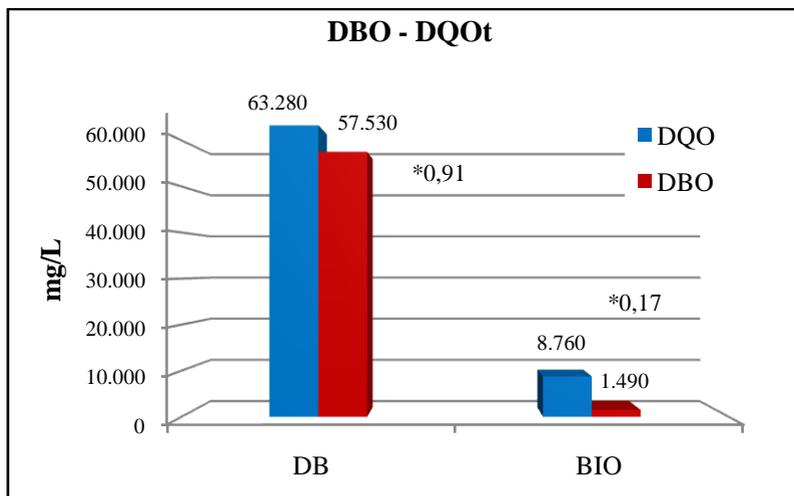
A unidade de digestão anaeróbia foi estudada anteriormente por Henn (2005) e DalMago (2009) apresentando elevadas eficiências de remoção, principalmente sobre a matéria orgânica, coliformes e sólidos em suspensão. No presente estudo observa-se o mesmo resultado, onde os parâmetros que sofreram maior remoção foram DBO<sub>5</sub>, ST e coliformes (totais e *E. coli*), com 96%, 97% e 97% respectivamente (tabela 8). Contudo, a variação anual destas concentrações foi bastante elevada. Este fato pode ser verificado na figura 44 e justifica-se pela variação na composição do dejetto bruto ilustrada anteriormente. A mudança na relação DBO<sub>5</sub>/DQO, de 0,91 para 0,17, indica que grande parte da matéria orgânica metabolizável foi oxidada por microorganismos nesta etapa (figura 43).

O principal ator para a redução de enterobactérias em sistemas anaeróbios é o elevado TDH conferido nas estruturas de tratamento, tendo proporcionado a redução de duas unidades logarítmicas. Como é esperado, os compostos nitrogenados, principalmente a amônia permanece no efluente em concentrações bastante elevadas após a passagem pelo biodigestor. Porém nota-se que a relação NTK/ N-NH<sub>3</sub> cai de 5 para 1,4 demonstrando a liberação de nitrogênio ligado às macromoléculas orgânicas, após a biodegradação das mesmas. O principal mecanismo de remoção do nitrogênio é a volatilização da amônia não ionizada e a sedimentação. Esse fato é confirmado por DalMago (2009) que, ao avaliar a composição do biogás produzido nesta unidade, verificou a presença de amônia em elevadas concentrações.

A retenção do fósforo na unidade de biodigestão ocorre principalmente pela sedimentação de compostos fosfatados inorgânicos favorecidos em condições anaeróbias. El Halouani *et al*(1993) observaram que, quando o pH é alto, maior que 7,6, a eficiência de remoção de fósforo ocorre devido à precipitação, na forma de fosfato de cálcio. Henn (2005) apresenta concentrações de fósforo no efluente deste biodigestor de 210mg/L em média, sendo este valor muito próximo ao encontrado neste estudo (215mg/L), cerca de cinco anos mais tarde. Esse fato demonstra a estabilidade desta unidade para a remoção de fósforo, com uma eficiência que variou entre 70% (HENN, 2005) e 85% no presente estudo. É importante ressaltar que em 2006, o lodo deste biodigestor foi completamente removido colaborando para o

aumento da eficiência de remoção dos compostos sedimentáveis que se acumulam no lodo.

A elevada eficiência de remoção de matéria orgânica nesta unidade deve-se à alta concentração do dejetos bruto e sua rápida decomposição. Contudo, o efluente produzido no biodigestor não se enquadra nos parâmetros de qualidade, para a disposição no ambiente tornando-se evidente a necessidade de um pós-tratamento, principalmente para a remoção de nutrientes e coliformes. Contudo, vale ressaltar que a utilização de biodigestores é focada na valorização do tratamento, pela produção do biogás como energia renovável e não somente na eficiência de tratamento do efluente líquido.



\*relação DBO/DQO

Figura 43: Valores médios de DQO e DBO<sub>5</sub> no dejetos bruto (DB) e após o Biodigestor (Bio)

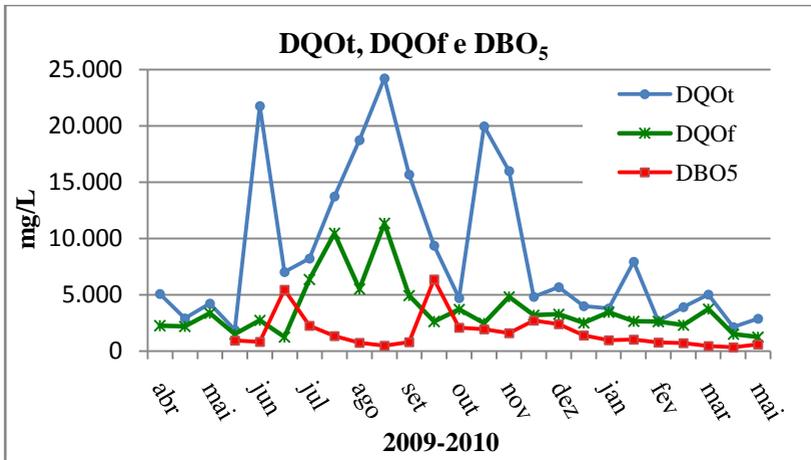


Figura 44: Variação da DQOt, DQOf e DBO<sub>5</sub> no efluente do biodigestor, ao longo do período experimental

O principal papel da Lagoa de Armazenamento é a estocagem dos dejetos, com segurança ambiental, para a sua utilização periódica na fertilização do solo. Contudo, devido ao tempo de detenção, os dejetos continuaram sofrendo degradação apresentando reduções dos parâmetros avaliados, porém com uma menor eficiência em relação ao biodigestor (tabela 8). Devido à intermitência da aplicação do dejetos no solo, o tempo de armazenamento nesta unidade é de difícil determinação. Diferentemente do biodigestor, esta unidade é exposta a atmosfera estando sujeita a pluviosidade, insolação e trocas gasosas na camada mais superficial, contudo, por ser uma lagoa profunda (3m), a relação superfície/volume é baixa diminuindo os efeitos na coluna d'água. Algumas manchas de comunidades algais foram observadas na superfície, após períodos chuvosos, porém não houve influência significativa destes organismos na concentração de OD e pH. A presença de algas foi observada somente nos primeiros milímetros da coluna d'água, pois a elevada turbidez impede a penetração da radiação solar.

A relação DBO<sub>5</sub>/DQO<sub>t</sub> manteve-se baixa (próxima a 0,21) indicando a presença de matéria orgânica de difícil degradação perante a condição anaeróbia. Contudo, a eficiência de remoção destes parâmetros, indicadores de matéria orgânica, foi superior a 50%. A redução da DQO particulada foi significativamente maior do que na

DQO filtrada (64 e 34% respectivamente), indicando que ainda havia partículas sólidas degradáveis sendo parcialmente removidas nesta etapa. Para ilustrar, vê-se que a redução de sólidos totais foi de 50% aproximadamente. Para os nutrientes (N e P), a redução segue os mecanismos citados para o biodigestor, tendo o pH e a anaerobiose como condições físico-químicas para a remoção (volatilização e sedimentação). A pluviosidade parece influenciar na redução da concentração de matéria orgânica, pois os picos de precipitação em setembro e janeiro refletem na queda de DQO e DBO no mesmo período (figura 46). Considerando que a precipitação total, atípica do período, foi aproximadamente 2500mm e que a área da LA é de 240m<sup>2</sup>, tem-se um contribuição de 600m<sup>3</sup> de água de chuva neste período.

Como a qualidade do efluente da lagoa de armazenamento influi diretamente na avaliação das lagoas de lemnas, pois é afluente das mesmas, as figuras que ilustram as variações em LA encontram-se juntamente com a avaliação de LM1 e LM2, para efeito de comparação entre o afluente e efluente das lagoas de lemnas.

### **5.1.3 Avaliação do Sistema de Lagoas de Lemnas**

#### **Período de adaptação e partida do sistema**

O período de adaptação das lemnas nas lagoas de tratamento foi de 28 dias, sendo que durante este intervalo observou-se um rápido crescimento da população, em ambas as lagoas (LM1 e LM2). Inicialmente as lemnas recobriam cerca de 1/3 das lagoas e, após uma semana, passaram a cobrir as lagoas em sua totalidade, confirmando a alta taxa de crescimento destes vegetais (figura 45). Para Cheng e colaboradores (2002b), o período de adaptação das macrófitas nas lagoas de tratamento, com dejetos de suínos, reduz o período de latência para o crescimento da população.

Conclui-se também que o volume inicial de efluente aplicado (1m<sup>3</sup> - única aplicação) parece ter sustentado o crescimento das plantas de forma satisfatória, durante o período de adaptação, fornecendo nutrientes para o desenvolvimento e adaptação das macrófitas. Deste modo, no momento da partida do experimento, a população de lemnas se encontrava aparentemente adaptada a desenvolver-se sob os efeitos deste efluente. Caicedo (2005) e Lysterly (2004) utilizaram cepas de

*Landoltia punctata* a partir de pré-culturas, sendo esta a melhor opção, quando possível, para reduzir o período de latência, sem a necessidade de um período de adaptação.



Figura 45: Crescimento da população das macrófitas, duas semanas após o povoamento em LM1

Ao final do período de adaptação, as lagoas de lemnas apresentaram populações bastante homogêneas, com coloração verde escuro e aparência bastante saudável. Para evitar os problemas relativos a super-população (*crowding*), a biomassa foi parcialmente removida, totalizando 140kg em LM1 e 60kg em LM2 durante todo o período de adaptação, sendo esta remoção mais concentrada nos últimos dias deste período. Como o objetivo desta etapa foi a estabilização e adaptação metabólica das plantas, nenhuma avaliação qualitativa foi realizada sobre a biomassa, nem sobre o efluente. Os resultados do monitoramento dos parâmetros de qualidade do efluente, após a partida do sistema, encontram-se no item 5.1.3.1.

### Aplicação das cargas volumétricas

Durante o período experimental foram aplicadas 25 cargas, quinzenalmente, variando entre 15 e 9m<sup>3</sup> em cada aplicação (item 4.1.6.1). O volume aplicado a cada quinzena assim como o TDH de cada lagoa está descrito na tabela 9. A variação do volume de efluente aplicado ocorreu devido a mudanças no manejo dos dejetos na propriedade e, também, a problemas observados na comunidade de lemnas nas lagoas de tratamento. Observando a tabela 9, vê-se uma redução na carga aplicada no mês de junho. Isso ocorreu, pois o

produtor introduziu dejetos não tratados diretamente na lagoa de armazenamento, os quais eram oriundos de uma propriedade vizinha. Essa prática é comum na região, pois muitos produtores não possuem área adequada para dispor os dejetos, sendo necessário levá-los para outras propriedades, a fim de não serem penalizados pelos órgãos ambientais. Deste modo, por precaução, optou-se por aplicar uma carga menor em LM1, pois a composição do efluente não era conhecida (aplicação 5 e 6, tabela 9). Igualmente, no mês de novembro, observou-se uma desestruturação na comunidade de lemnas em LM1 e LM2, com mortalidade de plantas e aparecimento de algas. Por esse motivo optou-se por não aplicar a carga nesta quinzena e aguardar a reestruturação da população nas lagoas. As possíveis causas deste problema observado serão discutidas em um item a seguir, o qual dispõe sobre a biomassa.

Durante todo o período experimental foram aplicados, aproximadamente, 327.000L de efluente nas lagoas de lemnas através de alimentações quinzenais de 13.100L, em média. Este volume de dejetos corresponde a 1/3 do total produzido na propriedade considerando a estimativa média de 9L/animal/ dia, para 300 animais. A taxa hidráulica superficial de aplicação de efluente, em LM1 e LM2 foi de 5,8L/m<sup>2</sup>/dia ou 58m<sup>3</sup>/ha/dia, em média. A bibliografia disponível sobre a utilização de lemnas no tratamento de dejetos suínos relata experimentos feitos em escala piloto, ou de bancada, com efluentes sintéticos, tornando-se difícil a comparação de cargas aplicadas em pesquisas similares.

Tabela 9: Cargas hidráulicas de efluente aplicadas em LM1 no período experimental.

<b>nº da aplicação</b>	<b>Data de aplicação</b>	<b>Volume aplicado em LM1 (m<sup>3</sup>)</b>
1	29/4/2009	15
2	7/5/2009	15
3	19/5/2009	15
4	4/6/2009	15
5	18/6/2009	9
6	31/06/09	9
7	29/7/2009	12
8	12/8/2009	12
9	26/8/2009	15
10	9/9/2009	15
11	23/9/2009	12
12	7/10/2009	15
13	21/10/2009	15
14	4/11/2009	0
15	18/11/2009	9
16	2/12/2009	12
17	11/12/2009	12
18	12/1/2010	15
19	25/1/2010	15
20	1/2/2010	15
21	11/2/2010	15
22	25/2/2010	15
23	31/3/2010	15
24	16/4/2010	15
25	7/5/2010	15
<b>Total</b>		<b>327</b>
<b>Média</b>		<b>13,1</b>
<b>Desvio pad.</b>		<b>±3,5</b>
<b>Semanal</b>		<b>6,4</b>

### 5.1.3.1 Monitoramento das variáveis qualitativas do efluente

#### Variáveis Climáticas (Precipitação e Temperatura)

As chuvas na região ficaram acima das médias históricas regionais para todos os meses, exceto fevereiro. Deste modo, a precipitação total do período estudado ficou bastante acima da média atingindo 2515mm (14 meses). Cabe ressaltar que as medidas foram realizadas em uma estação pluviométrica instalada *in loco* contemplando assim as chuvas regionais. Observando a figura 46 nota-se picos de chuvas em setembro e janeiro de 2009 e maio de 2010, sendo este último bastante atípico. Para Iqbal (1999), o impacto mecânico de chuvas prolongadas pode causar estresse sobre a população de lemnas, as quais ficam emaranhadas pelas raízes permanecendo submersas. A possível interferência da precipitação na concentração dos parâmetros será discutida especificamente para cada indicador.

A temperatura nas lagoas de lemnas apresentou variações significativas ( $p > 0,05$ ) entre a superfície e o fundo, mesmo em LM2 cuja profundidade era de apenas 0,40m (tabela 10; figura 47).

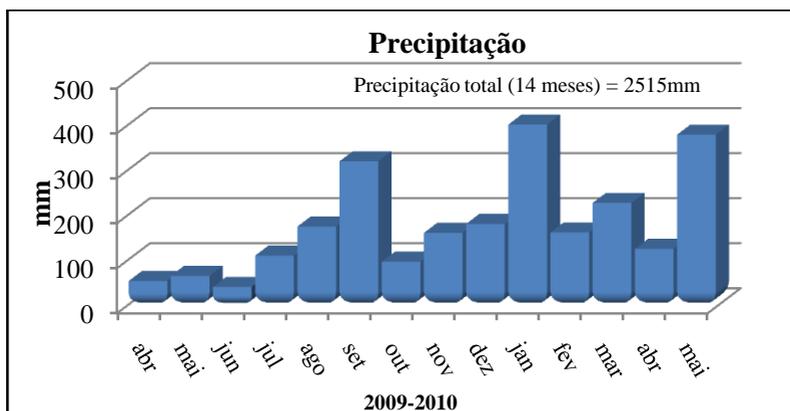


Figura 46: Precipitação mensal na propriedade, durante o período da pesquisa

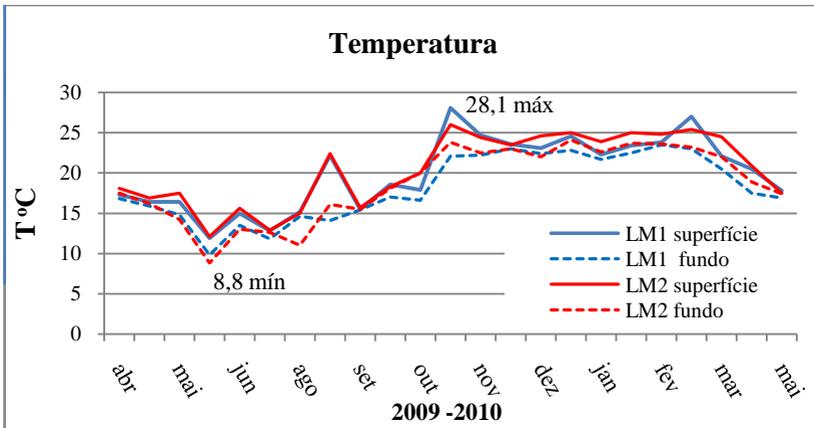


Figura 47: Variação da temperatura na superfície e fundo, em LM1 e LM2.

Tabela 10: Temperaturas médias na superfície e fundo em LM1 e LM2, nas diferentes estações do ano.

	LM1 superfície	LM1 fundo	LM2 superfície	LM2 fundo
Outono	16,7 <sup>a</sup>	15,3 <sup>b</sup>	17,2 <sup>c</sup>	15,5 <sup>b</sup>
Inverno	16,1 <sup>a</sup>	13,9 <sup>b</sup>	16,3 <sup>a</sup>	13,6 <sup>c</sup>
Primavera	22,6 <sup>a</sup>	20,2 <sup>b</sup>	22,4 <sup>a</sup>	21,5 <sup>c</sup>
Verão	23,8 <sup>a</sup>	22,3 <sup>b</sup>	24,7 <sup>c</sup>	23,0 <sup>d</sup>

\* a, b, c e d correspondem às diferentes médias para superfície e fundo

### Potencial de Hidrogênio (pH)

O pH nas lagoas de lemnas permaneceu próximo da neutralidade, porém houve variações perceptíveis em alguns momentos. O valor médio para o pH em LM1 foi de 7,0 ( $\pm 0,4$ ) na superfície e 6,77 ( $\pm 0,6$ ) no fundo, para LM2 encontrou-se 6,96 ( $\pm 0,5$ ) e 6,68 ( $\pm 0,6$ ), para superfície e fundo respectivamente (figuras 48 e 49). Apesar da proximidade dos valores houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o

fundo e a superfície, para ambas as lagoas. Essa diferença é esperada devido aos processos bioquímicos de respiração e fermentação que ocorrem pela ação da microbiota presente no fundo, liberando  $\text{CO}_2$  e ácidos orgânicos.

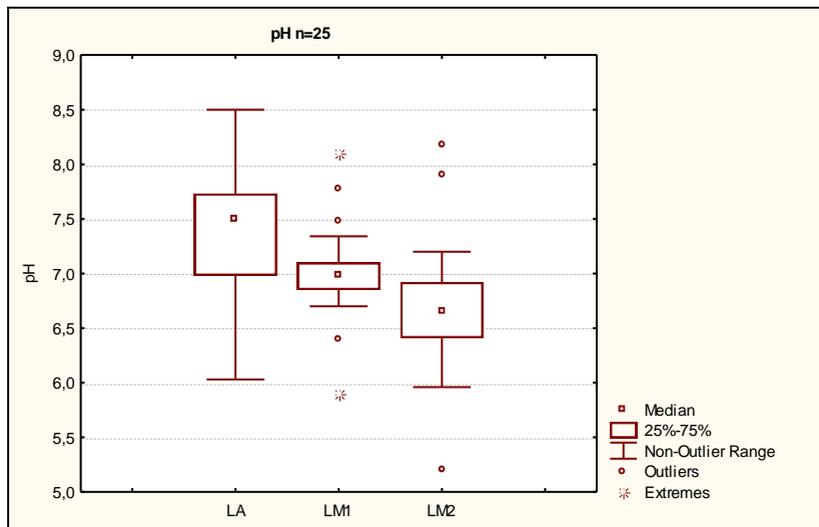


Figura 48: Valores médios (mediana) do pH nas Lagoas de tratamento (LA, LM1 e LM2)

Diferentemente das lagoas de estabilização, que requerem o desenvolvimento de algas, as lagoas de lemnas não operam bem em pH elevado (>8). Em lagoas com produção algal a elevação do pH é desejável para a volatilização da amônia, pois a amônia não ionizada encontra-se em maior proporção em pH elevados, mas a toxicidade deste composto pode prejudicar o desenvolvimento de lemnas em lagoas de tratamento. Por outro lado, Caicedo (2005) afirma que ambas as formas de amônia ( $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ ) podem causar toxicidade para as lemnáceas, não importando o pH desde que esteja entre 6 e 8.

As lemnas podem utilizar tanto o  $\text{CO}_2$  atmosférico como dissolvido para os processos fotossintéticos, contudo, a absorção do  $\text{CO}_2$  dissolvido representa apenas 5%, causando poucas alterações na concentração deste gás na coluna d'água (ESHEL e BEER 1986). Assim os processos fotossintéticos não afetam diretamente o pH nas lagoas de tratamento com lemnáceas. Araujo (2007), trabalhando com lagoas (facultativa e maturação) no tratamento de dejetos suínos percebeu uma

elevação do pH de 7,5 (efluente de UASB) para valores acima de 8,0, com picos de 9,3 atribuindo este valor aos processos fotossintéticos nas lagoas de tratamento removendo o  $\text{CO}_2$  liberando íons hidroxila. Já no presente estudo ocorreu o inverso, ou seja, uma leve redução do pH da etapa anaeróbia (afluente) para as lagoas de lemnas (de 7,4 em LA, para 6,9 em LM2).

Na figura 49 nota-se que, no decorrer do período experimental ocorreram 2 picos onde o pH elevou-se atingindo valores superiores a 8,0. A primeira ocasião retrata a introdução de dejetos da propriedade vizinha em junho, o segundo pico coincide com uma proliferação de algas ocorrida em novembro, com a redução da população de lemnas.

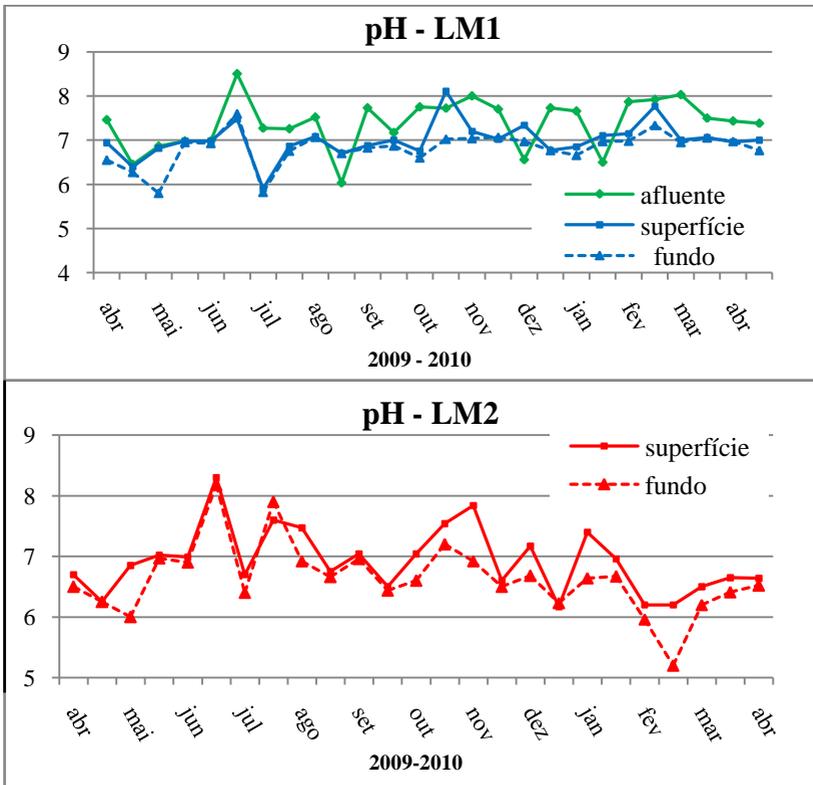


Figura 49: Variação do pH, em LM1 e LM2, na superfície e no fundo, ao longo do período experimental

## Oxigênio dissolvido (OD)

A presença de oxigênio dissolvido em lagoas de lemnas é um ponto divergente entre os autores, pois, ao mesmo tempo em que a atividade fotossintética favorece a oxigenação, a cobertura vegetal diminui a superfície de contato com a atmosfera reduzindo a difusão do oxigênio. Exemplificando, Zirschky e Reed (1988) afirmam que a concentração de OD diminui em lagoas com cobertura de lemnas, devido à barreira difusional. Por outro lado, Alaerts et al. (1996), Koerner et al. (1989) e Srinanthakumar et al. (1983) observaram elevações na concentração de OD em lagoas de lemnas, com taxas de incorporação de oxigênio variando entre 3 a 4g/m<sup>2</sup>/dia (Iqbal, 1999). Também, os dados sobre o incremento do OD em lagoas de lemnas apontam para um gradiente decrescente, da superfície para o fundo, onde a camada mais superficial da coluna d'água (próxima a rizosfera) é mais rica em OD.

Na avaliação feita no presente estudo, observou-se o incremento significativo de OD nas lagoas de lemnas, em comparação com a concentração no afluente. A média encontrada em LA (afluente) foi 0,2mg/L, porém, para efeitos biológicos, pode-se considerar como sendo zero. Já para o OD medido na superfície das lagoas de lemnas encontrou-se uma média de 2,1±1,4 e 3,0±1,2 mg/L, em LM1 e LM2 respectivamente. Conclusivamente o efluente passou de uma condição anaeróbia para aeróbia (figura 51). Do mesmo modo, Alaerts et al. (1996) observaram uma variação entre 2 e 4 mg/L de OD em lagoas de tratamento com lemnas, para esgoto doméstico.

Foi detectada uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para o OD entre as duas lagoas de lemnas avaliadas tendo LM2 apresentado maiores concentrações deste parâmetro. Este resultado era esperado, pois além de receber cargas de matéria orgânica reduzidas, a LM2 é menos profunda (0,4m), com maior relação superfície/volume (tabela 11)

Ambas as lagoas de lemnas apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para a concentração de OD no fundo e na superfície, apesar da diferença de profundidade (0,8m em LM1 e 0,4 em LM2). A camada mais superficial da coluna d'água parece ter sofrido interferência da atividade fotossintética das lemnas com incremento na concentração de OD. Vale ressaltar que as medições foram realizadas em horários próximos ao meio dia, quando a atividade fotossintética é mais elevada. Apesar da pouca profundidade em LM2 observa-se,

também, uma estratificação entre a superfície e o fundo. Tavares (2008) observou em um experimento piloto, com lemnáceas, baixas concentrações de OD permanecendo abaixo de 1mg/L, contudo, a baixa relação superfície volume oferecida pelas estruturas (caixas d'água 1000L) não favoreceu a oxigenação da coluna d'água.

A concentração de OD sofreu evidentes flutuações durante o período experimental conforme pode ser visto na figura 50. Nota-se que em novembro ocorreram picos de elevadas concentrações de OD chegando a 6,5 mg/L em LM1. Esse fato isolado ocorreu devido à proliferação intensa de algas neste momento, em decorrência da abertura de clareiras na população de lemnas e a consequente penetração de radiação solar na coluna d'água. Observou-se também, que em épocas com ventos intensos e constantes houve uma exposição da superfície líquida pelo arraste das macrófitas e, conseqüentemente, um aumento da superfície de contato com a atmosfera para difusão do OD.

Assim pode-se aferir que a variação de OD sofreu mais interferências de fatores pontuais, condições meteorológicas e manejo, do que da sazonalidade (estações do ano).

Tabela 11: Valores médios, máximos, mínimos e desvios padrão da concentração de OD nas lagoas de lemnas e no afluente (n=25; p> 0,05).

	OD (mg/L)				
	Afluente (LA)	LM1 superfície	LM1 fundo	LM2 superfície	LM2 fundo
<b>Média</b>	0,20f	2,01a	0,72b	3,02c	1,43d
<b>Desv. pad.</b>	±0,19	±1,36	±0,57	±1,20	±1,15
<b>Máximo</b>	0,60	6,50	2,00	5,30	3,50
<b>Mínimo</b>	0,00	0,30	0,00	0,50	0,00

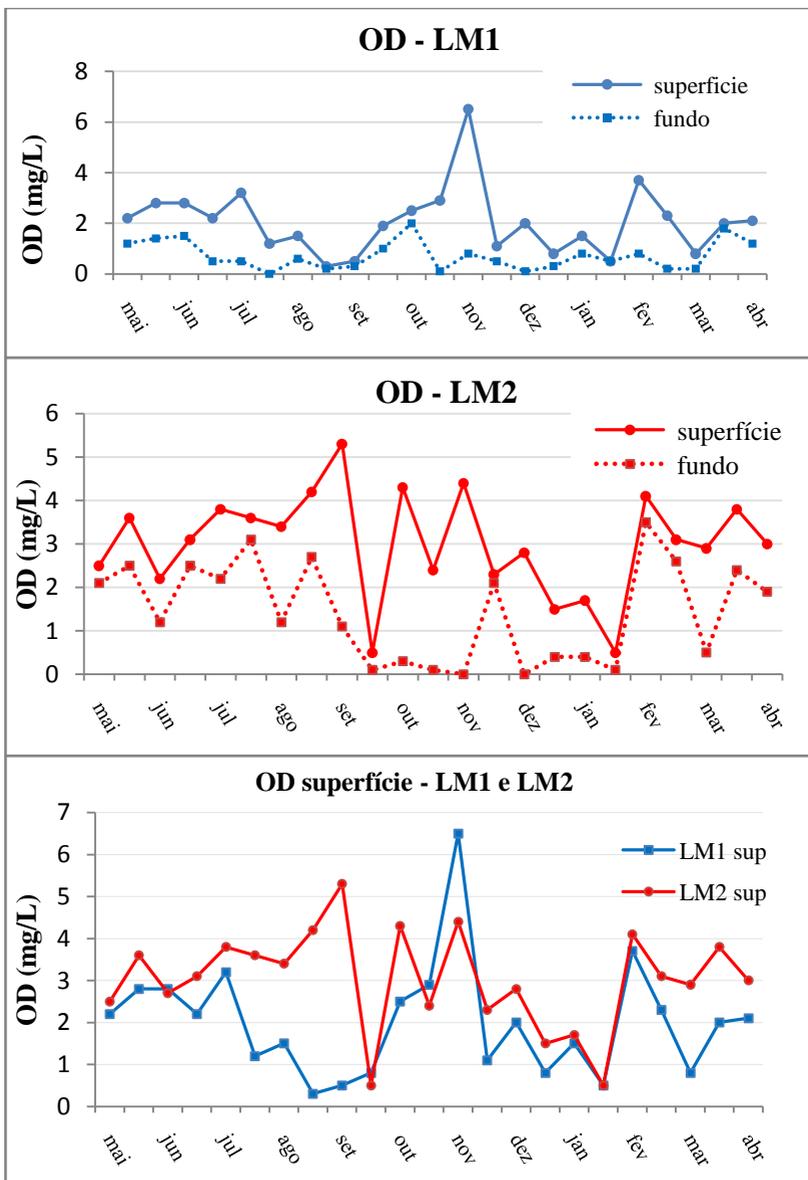
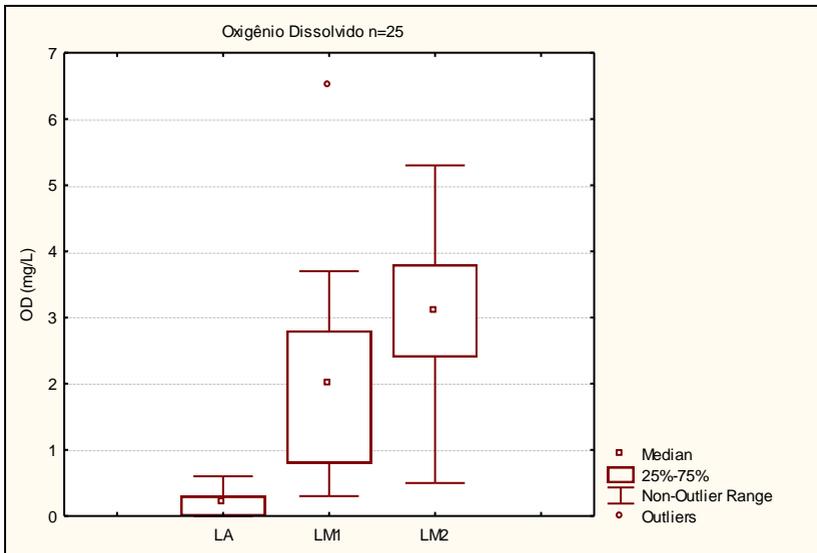


Figura 50: Variações na concentração de OD em LM1(superfície e fundo - a), LM2 (superfície e fundo - b) e nas três etapas (c), ao longo do período experimental.



**Figura 51: Concentrações médias de oxigênio dissolvido nas lagoas de tratamento e medidas de dispersão**

### **Avaliação da Matéria Orgânica – DQO e DBO<sub>5</sub>**

A série de lagoas de *lemnas* apresentou excelentes resultados para a redução de matéria orgânica oxidável. Considerando o efeito de ambas as lagoas (entrada do afluente em LM1 e a saída em LM2) obteve-se, em média, 96,7% de redução de DQO, sendo que somente em LM1 ocorreu 94% da remoção deste parâmetro (figura 52). Contudo, sabe-se que quanto menor a concentração de DQO torna-se mais difícil elevar a eficiência de remoção, como exemplo Gomes (2010) no tratamento de dejetos suínos cita uma forte correlação positiva entre a carga aplicada e removida. Mesmo assim, LM2 apresentou 43% de eficiência em relação ao efluente de LM1 (tabela 8)

A carga total de DQO aplicada durante o período experimental em LM1 foi aproximadamente 1.015kg sendo a carga removida 954 kg de DQO. Deste modo, a taxa de aplicação de DQO, foi 186kg/ha/dia e a taxa de remoção 174kgDQO/ha/dia. Este valor encontrado para a taxa de remoção de DQO é superior ao obtido por Nozali e colaboradores (2000), com lagoas de *Lemna gibba* no tratamento de esgoto doméstico, sendo 69,8kgDQO/ha/dia. Barthel (2007) avaliando lagoas de aguapés

no tratamento de dejetos suínos apresenta uma carga aplicada entre 125 e 245kgDQO/ha/dia, com 33% de eficiência de redução deste parâmetro. Costa et al (2000), também em um estudo com lagoas de aguapés para o mesmo tipo de efluente citam uma eficiência de 63% para a remoção de DQO a partir de uma concentração de aproximadamente 800mg/L.

Ao avaliar uma lagoa de maturação no polimento de efluente da suinocultura, Araújo (2007) apresenta uma eficiência de 40 a 58% na remoção de DQO a partir de uma taxa aplicada de 112kg/ha/dia. Comparando-se com lagoas de lemnas, as lagoas de maturação produzem uma elevada quantidade de matéria orgânica devido à fixação biológica do carbono por algas, sendo necessária a remoção desta biomassa presente no efluente. Já o efluente das lagoas de lemnas é mais clarificado, com menos SS e DQO (VAN DER STEEN , et al., 1998). Diversos autores citam, para lagoas de lemnas, eficiências na remoção de DQO que variam entre 60 e 98% (IQBAL, 1999; CHENG et al. 2002b; LYERLY, 2004; MOHEDANO 2004; EL-SHAFI 2006) Contudo, no presente estudo o TDH foi bastante elevado (150 dias) podendo ser um fator determinante para a elevada eficiência registrada.

A concentração de DQO no afluente (LA) variou consideravelmente ao longo do período experimental. Como foi citado no item 5.1.2, estas flutuações estão relacionadas às atividades de manejo na propriedade. Ao analisar a variação da DQO nas lagoas de lemnas nota-se dois picos de elevados valores sendo um em junho e outro em novembro (figura 54). Os altos valores em junho provavelmente refletem o aumento da concentração no afluente devido à introdução de dejetos brutos em LA. Contudo, em novembro há uma queda na DQO do afluente (LA) e uma elevação nas lagoas de lemnas, esse evento coincide com um período de mortalidade de lemnas e com a proliferação de algas. Com a rápida reestruturação da comunidade de lemnas as algas tendem a morrer devido ao sombreamento, esta biomassa morta pode ter contribuído para a elevação da DQO, principalmente em LM1 (figura 53).

A relação média da  $DQO_t/DQO_f$  permaneceu próxima a 1,3 apresentando uma redução em relação ao efluente do biodigestor, o qual apresentou uma relação de 2,5 demonstrando uma redução na matéria orgânica particulada. Iqbal (1999) e Skilcorn *et al* (1999) citam que as raízes das macrófitas podem atuar como um filtro retendo fisicamente as partículas de matéria orgânica. Como foi demonstrado anteriormente, a região próxima às raízes apresenta maior concentração de OD

estimulando a oxidação biológica da matéria orgânica e portanto a redução da DBO. De acordo com esse pensamento, Korner e colaboradores (1998) estudaram a degradação da matéria orgânica, em tanques, simulando a presença de lemnas através de bolhas plásticas e aeração forçada, em comparação com uma população real de *Lemna gibba*. Concluíram que a redução de DQO foi superior na população natural de lemnas, principalmente como meio suporte para fixação de biofilme aeróbio. Estes autores citam também que a taxa de incorporação de O<sub>2</sub> no meio líquido pelas lemnas é de 1mgO<sub>2</sub>/L/h.

Para a DBO, a carga média aplicada em LM1 foi de aproximadamente 8,5kg por batelada quinzenal (13,1m<sup>3</sup>), totalizando 213kg de DBO durante todo o período experimental. Considerando que a eficiência de redução deste parâmetro pela série de lagoas foi de 94,8%, a carga removida de DBO foi 202kg. Com base nestes dados estima-se que a taxa de aplicação em LM1 foi 39,2kg/ha/dia ou 3,9g/m<sup>2</sup>/dia e a taxa de redução de DBO foi consequentemente 33kg/ha/dia, ou 3,3g/m<sup>2</sup>/dia. A relação entre os valores médios de DBO/DQO passaram de 0,2 em LA, para 0,5 e 0,3 em LM1 e LM2 respectivamente. Assim, a redução de LA para LM1 foi de 94% para DQO e 85% para DBO. Como uma dedução plausível para este evento pode-se citar que a comunidade de lemnas promove um grande aporte de biomassa nas lagoas e, com o manejo e envelhecimento das frondes mais antigas, há um incremento de biomassa morta. Deste modo, muitos fragmentos de raízes e frondes foram observados na coluna d'água durante a coleta das amostras, assim, com esses fragmentos em decomposição pode haver um aumento na DBO. As variações na concentração de DBO em LA, LM1 e LM2 podem ser vistas na figura 52. Atualmente muitos autores consideram a absorção direta de carbono solúvel (metabolismo heterotrófico) como uma importante via na redução da matéria orgânica, em lagoas de lemnas (KORNER et al.,1998).

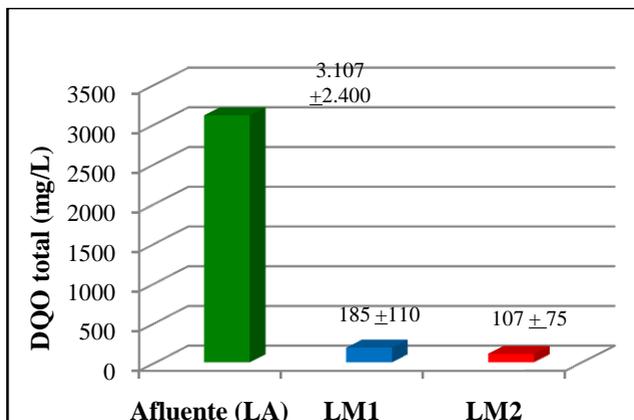


Figura 52: Representação dos valores médios para DQO total no afluente, em LM1 e LM2.

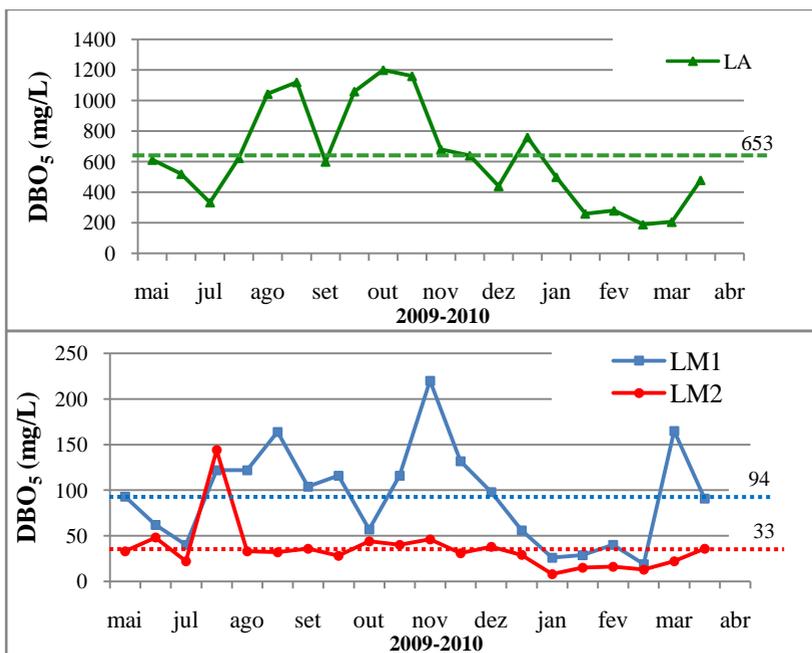


Figura 53: Variações na concentração de  $DBO_5$  em LA (afluente), LM1 e LM2, durante o período experimental. As linhas pontilhadas representam as médias.

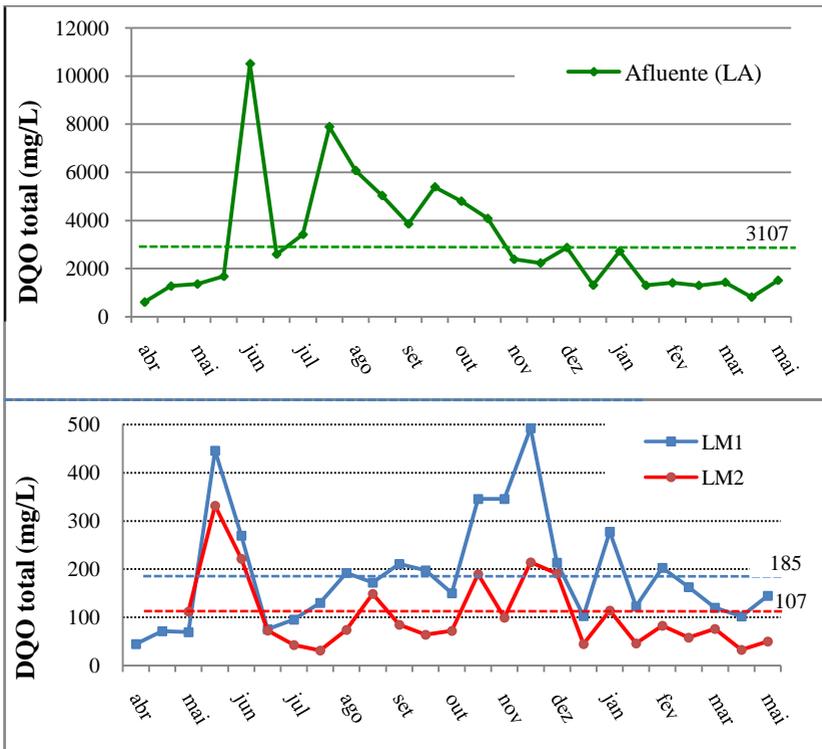


Figura 54: Variações de DQO total, em LA, LM1 e LM2, ao longo do período experimental. As linhas pontilhadas representam as médias.

### Sólidos Totais, Turbidez e Clorofila *a*

A concentração de sólidos nos dejetos suínos é bastante elevada considerando a baixa diluição das fezes e os restos de alimentos. Assim, 96% dos ST foram removidos logo na etapa inicial (biodigestor). Resumidamente pode-se afirmar que a redução dos sólidos totais e turbidez, nesta etapa, está associada a sedimentação e a hidrólise da matéria orgânica particulada.

Nas lagoas de lemnas avaliadas constatou-se uma eficiência média de remoção de sólidos da ordem de 92,8%, a partir do afluente

(LA), sendo 90% em LM1 e 26% em LM2 (tabela 8). Araujo (2007) apresenta uma concentração de 2600mg/L de ST no efluente de uma lagoa de maturação, utilizada no polimento de dejetos suínos, sendo este valor bastante elevado comparando-se com o encontrado neste estudo (360mg/L em LM2) Do mesmo modo, para a turbidez, os resultados foram bastante satisfatórios apresentando 98,7% de eficiência, com 96% da redução ocorrida em LM1 e 62% em LM2 (saída LA = 788UNT ± 660; saída LM2 = 10UNT ± 8). Este parâmetro indica o bom aspecto do efluente, importante quando se almeja o reuso, por exemplo.

Em lagoas de estabilização convencionais pode ocorrer um aumento na concentração de sólidos suspensos devido ao desenvolvimento de microalgas, contudo, as lagoas de lemnas são eficientes justamente pela inibição destes organismos (VAN DER STEEN, 1998, ZIMO et al 2003, MOHEDANO, 2004). Sikilcorn *et al.* (1993) e Iqbal (1999) citam que os principais mecanismos para redução de sólidos em lagoas de lemnas são a filtração física pelas raízes, a barreira para o vento criando um ambiente propício para sedimentação e, principalmente, redução de algas, pelo sombreamento.

Neste estudo foi observada uma relação inversa entre a cobertura de lemnas e a concentração de ST e clorofila *a*. A presença de algas, avaliada indiretamente pela clorofila *a*, foi baixa durante o período experimental, contudo ocorreram dois picos onde a concentração de clorofila elevou-se cerca de 1000% (figuras 55 e 56 C). Esses picos coincidem com períodos de redução na densidade da cobertura de lemnas e a consequente exposição da massa d'água à radiação solar. Assim foram observadas diversas comunidades algais, inclusive macroalgas, as quais proliferaram-se rapidamente no mês de novembro (figura 55). Com a reestruturação da população de lemnas, no fim de novembro, ocorreu o sombreamento da superfície e conseqüentemente a mortalidade das algas. Este fato foi confirmado, também, pela elevação da DQO neste período.

Van der Steen e colaboradores (1998) estudaram um sistema de polimento (para esgoto doméstico) intercalando tanques com lemnas e sem lemnas e observaram uma elevada eficiência na remoção de algas após o estágio com lemnas. O efluente obtido era bastante clarificado, apresentando 11mg/L de SST.

Com exceção dos eventos pontuais ocorridos em agosto e novembro, a concentração de clorofila foi extremamente baixa durante todo o período experimental (figura 56) com médias de 13±22 e 7±16µg/L, para LM1 e LM2 respectivamente.

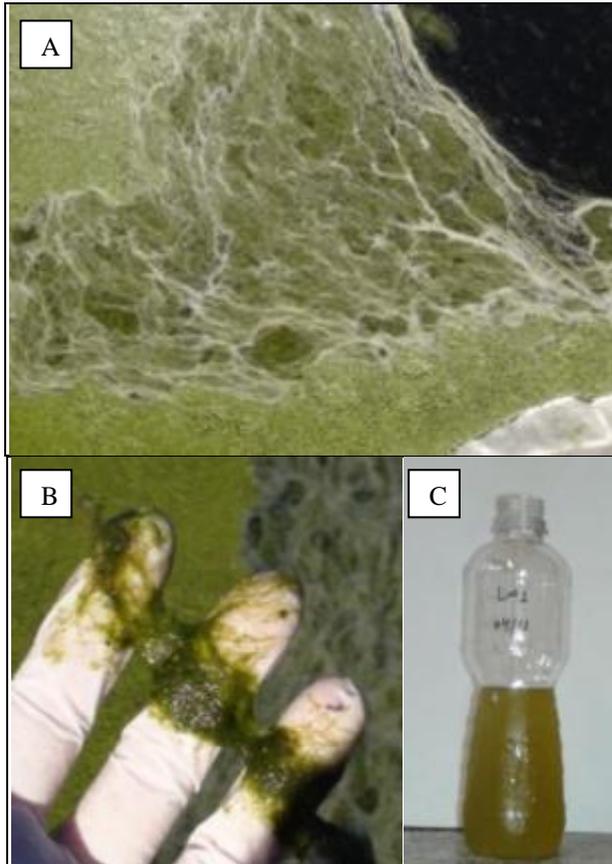


Figura 55: Desenvolvimento de algas no mês de novembro, em LM1. (A) Comunidade algal entre as lemnas; (B) Filamentos de macro-algas desenvolvidas em LM1; (C) Amostra do efluente de LM1, com forte coloração esverdeada, coletada em 04/11/2009.

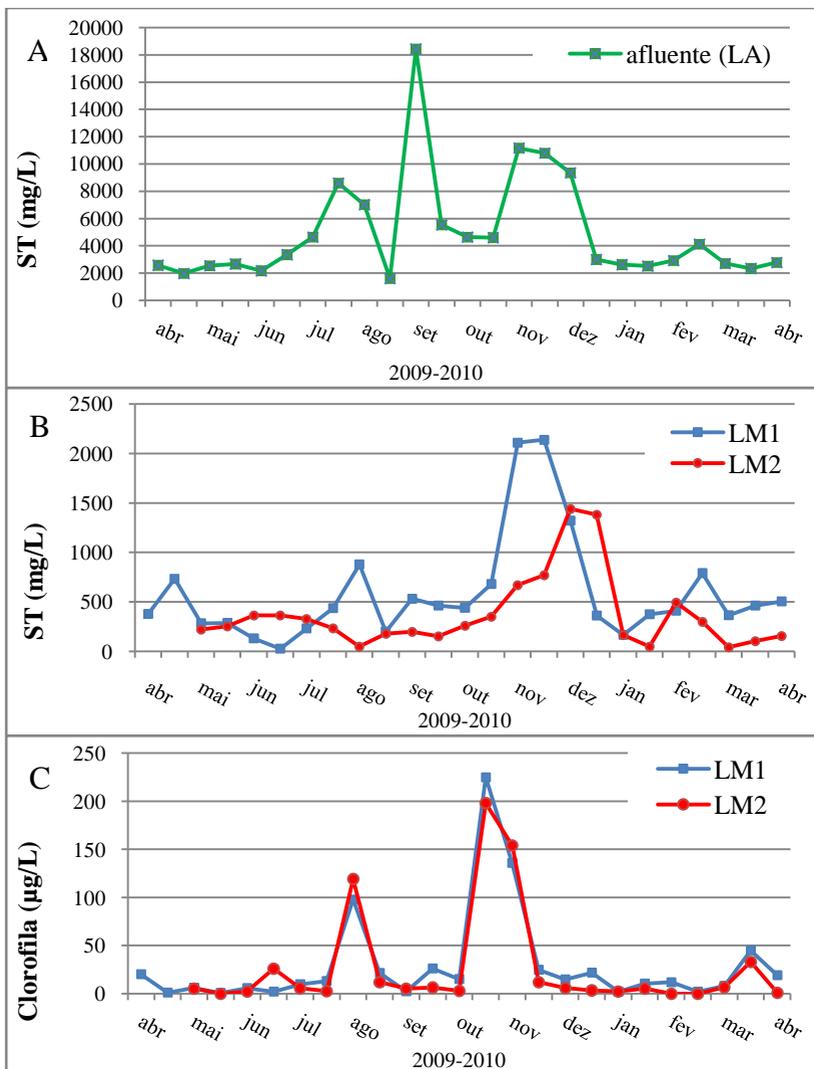


Figura 56: Variações na concentração de Sólidos Totais (ST) no afluente (A), em LM1 e LM2 (B) e de clorofila a em LM1 e LM2 (C), ao longo do período experimental.

As lagoas de lemnas são citadas na literatura científica como uma excelente alternativa para a clarificação de efluentes. Como exemplo, Gurtekin e Sekerdag (2008) compararam tanques de clarificação, com e sem lemnas, concluindo que a presença destas plantas aumentou em 50% a remoção de SST. El-Shafai et al. (2006) aponta uma redução de SST em 91%, a partir de 380mg/L, com esgoto doméstico. A clarificação do efluente nas etapas do tratamento, no presente estudo, pode ser observada na figura 57.



Figura 57: Aspecto visual do efluente coletado no biodigestor (Bio), na lagoa de armazenamento (LA) e na lagoa de lemnas 2 (LM2).

### **Avaliação de Nitrogênio (N-NH<sub>3</sub> e NTK)**

A remoção do nitrogênio foi bastante expressiva na série de lagoas de lemnas, com 98% e 99% de eficiência para NTK e N-NH<sub>3</sub> respectivamente (tabela8). Considerando que a remoção deste elemento é uma das principais funções do polimento, este dado torna-se ainda mais relevante. A representação dos valores médios (mediana) para NTK e N-NH<sub>3</sub>, obtidos durante todo o período experimental pode ser observada nas figuras 58 e 59.

A carga de NTK aplicada durante todo o período foi 264kg e a carga removida, por ambas as lagoas somadas foi 259kg, assim, pode-se estimar que a taxa superficial de aplicação foi aproximadamente 48,2kgNTK/ha/dia e a taxa de remoção 45kgNTK/ha/dia ou 4,5g/m<sup>2</sup>/dia (tabelas 12 e 13).

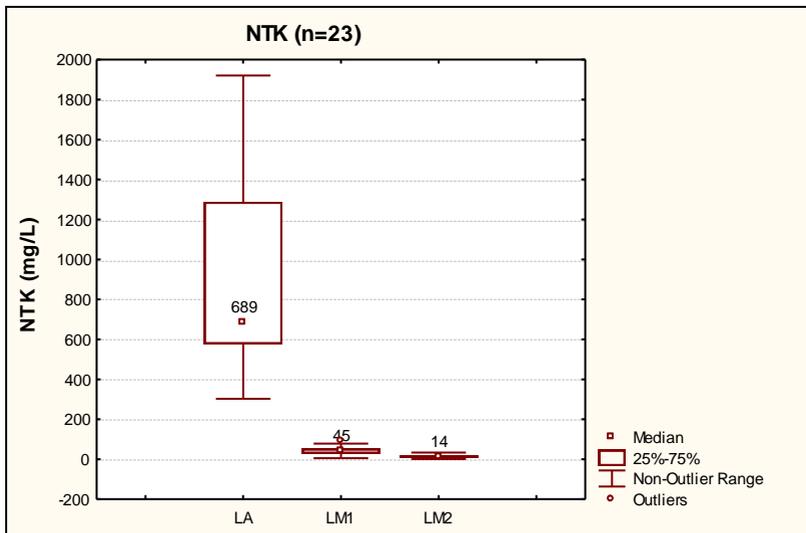


Figura 58: Valores médios e medidas de dispersão para NTK nas lagoas avaliadas

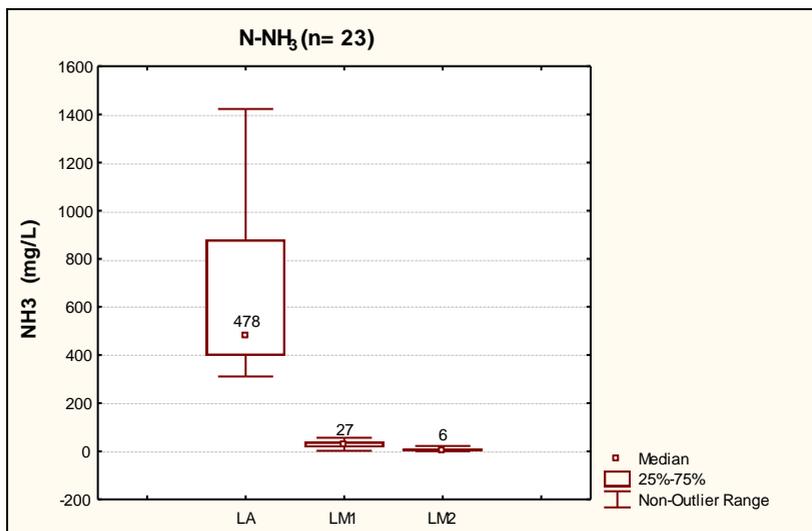


Figura 59: Valores médios e medidas de dispersão para N-NH<sub>3</sub> nas lagoas avaliadas.

Tabela 12: Cargas de NTK e NH<sub>3</sub> aplicadas e removidas durante todo o período experimental (380dias), bem como a eficiência de remoção.

Lagoas	Carga Aplicada (kg)		Carga Removida (kg)		Carga residual (kg)		Eficiência (%)	
	NTK	N-NH <sub>3</sub>	NTK	N-NH <sub>3</sub>	NTK	N-NH <sub>3</sub>	NTK	N-NH <sub>3</sub>
LM1	264	202	250	192	14	10	95	95
LM2	13,2	10,2	8,9	7,4	4,3	2,8	68	74
LM2 + LM1	277	212	259	199	4,3	2,8	98,3	98,8

Tabela 13: Taxas de aplicação e remoção superficial, aplicadas e removidas para LM1 e LM2

Lagoas	Taxa de Aplicação (λs - kg/ha/dia)		Taxa de Remoção (λr - kg/ha/dia)	
	NTK	N-NH <sub>3</sub>	NTK	N-NH <sub>3</sub>
LM1	46,2	36,9	43,7	35,1
LM2	4,0	3,1	2,7	2,3
LM2 + LM1	29,3	22,4	28,8	22,2

O valor mais elevado, encontrado na literatura revisada, para a taxa de remoção NTK é reportado por Cheng e colaboradores (2002a). Estes autores, ao investigarem a remoção de nitrogênio, em efluentes de suinocultura, com *Lemna minor* obtiveram uma taxa de remoção de 3,4gNTK/m<sup>2</sup>/dia em um experimento *in vitro* e 2,1g/m<sup>2</sup>/dia em tanques à céu aberto. Contudo, este valor é inferior ao encontrado no presente estudo, sendo 4,3gNTK/m<sup>2</sup>/dia (ou 43kgNTK/ha/dia) conforme a tabela 13. Assim sendo, pode-se afirmar que a taxa de remoção de nitrogênio apresentada nesta pesquisa é a mais elevada entre os trabalhos similares consultados. Para exemplificar citam-se taxas de 0,61g/m<sup>2</sup>/dia (LYERLY, 2004); 0,95g/m<sup>2</sup>/dia (CHENG *et al* 2002b) 0,54g/m<sup>2</sup>/dia (KORNER E VERMAAT *et al.*, 1998); 1,2g/m<sup>2</sup>/dia.(BENJAWAN E KOOTTATEP, 2007). Talvez a capacidade das lemnáceas em suportar elevadas concentrações de amônia tenha sido subestimada por diversos pesquisadores. Contudo, Caicedo (2005) afirma que os mecanismos de toxicidade da amônia sobre as lemnas ainda não são claros, havendo

níveis deletérios tanto para  $\text{NH}_3$  como para  $\text{NH}_4^+$ , os quais podem depender de diversos fatores como temperatura, pH e a sinergia com outras moléculas presentes no meio. Outro fator que contribui para as baixas taxas de remoção descritas pelos autores acima é que, nos experimentos de bancada (*in vitro*) não existe microbiota para realizar a nitrificação e desnitrificação, sendo a absorção pela biomassa a única via de eliminação do nitrogênio.

Em concordância com Bergmann et al.(2000), acredita-se que a espécie utilizada neste estudo é a mais rústica e eficiente para este tipo de efluente contribuindo para o sucesso na remoção do nitrogênio. Também, dentre os fatores considerados relevantes para a eficiência da remoção deste elemento pode-se citar que, devido ao pré-tratamento, a maior parte do nitrogênio encontra-se na forma de amônia (relação  $\text{NTK}/\text{N}-\text{NH}_3 = 3/2$ ). A amônia é a forma nitrogenada de mais fácil absorção pelas lemnas, principalmente quando o pH está próximo da neutralidade ou levemente ácido(ver figura 48- pH)(SKILCORN *et al.*, 1999). Seguindo a mesma linha, as condições climáticas do sul do Brasil, com temperaturas amenas e insolação elevada, situa a utilização de lagoas de lemnas um passo a frente em relação aos países com invernos rigorosos, ou de clima árido, sob os quais se desenvolvem pesquisas com lemnáceas (USA, Holanda, Noruega, Egito, Israel e Irã).

A concentração da amônia nas lagoas de lemnas foi o principal critério para o dimensionamento das cargas aplicadas considerando a toxicidade deste elemento para os organismos aquáticos, de acordo com o item 4.1.6.1. Assim, calculou-se a concentração de amônia em LM1 considerando a mistura após a aplicação do afluente segundo a fórmula 5 (diluição). As concentrações calculadas após a diluição e as respectivas cargas volumétricas podem ser observadas na figura 60.

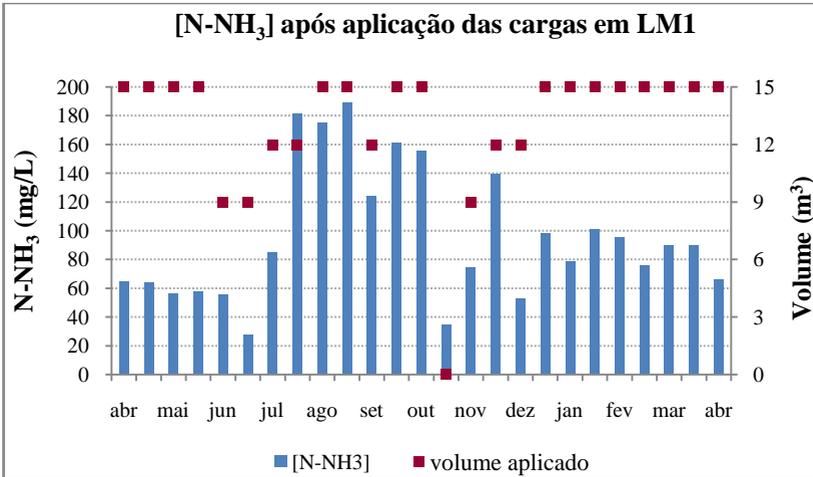


Figura 60: Concentração de nitrogênio amoniacal em LM1 calculada após a mistura pela aplicação de cargas volumétricas e os respectivos volumes aplicados.

O valor médio para a concentração da amônia após a mistura foi  $96 \pm 46$  mg/L. Esse valor foi aproximadamente duas vezes superior à concentração de segurança estipulada segundo o item 4.1.6.1. Esse fato comprova a rusticidade da espécie *Landoltia punctata* no tratamento de dejetos suínos, suportando elevadas concentrações de amônia, com picos acima de 180mg/L (figura 60). Estes valores estão bastante acima daqueles reportados por Caicedo (2005), onde a concentração máxima para a sobrevivência de lemnáceas (*Spirodela polyrrhiza*) seria 100mg/L.

### Balanco de Nitrogênio Removido

A remoção do nitrogênio ocorre por quatro vias principais, as quais tiveram participações distintas no total removido. Segundo Caicedo (2005), as principais vias para a remoção de nitrogênio em lagoas de lemnas são: a volatilização da amônia, a sedimentação, a desnitrificação e a incorporação pela biomassa (de lemnas e bacteriana).

$$NTr = NH_3\uparrow + NS + N_2\uparrow + Nbm$$

NTr = nitrogênio total removido

$NH_3\uparrow$  = volatilização de amônia

NS = nitrogênio sedimentado

$N_2\uparrow$  = desnitrificação

Nbm = nitrogênio incorporado pela biomassa

Para equalizar o balanço de nitrogênio visando elucidar as vias de remoção pode-se afirmar que a volatilização de amônia deve ser considerada nula, ou não relevante, pois a faixa de pH encontrada nas lagoas de lemnas não propiciam a eliminação por esta via. Em pH 7 (20°C), apenas 0,4% da amônia encontra-se na forma volátil não ionizada ( $NH_3$ ). A baixa volatilização da amônia em lagoas de lemnas é um fato confirmado por diversos autores como Van Der Steen *et al.* (1988) Zimmo *et al.* (2004); Caicedo (2005) e El Shafai *et al.*, (2006).

Apesar de não terem sido feitas avaliações sobre o sedimento acredita-se que a quantidade de nitrogênio sedimentado seja desprezível, pois não foi detectada a formação expressiva de lodo no fundo das lagoas de lemnas. Também, como a remoção de biomassa de lemnas era realizada com frequência diária, grande parte dos microorganismos aderidos era removida juntamente com as plantas, diminuindo a formação de lodo.

Em relação à biomassa das lemnas constatou-se um valor médio de 6,6% (do peso seco) de nitrogênio em LM1 e 3,2% em LM2, lembrando-se que a análise de nitrogênio é uma etapa para a determinação do teor de proteína bruta. Estes valores se aproximam ao encontrado por Noemi Ran *et al.* (2004) sendo em média 4,3%N/kg de *Lemna gibba* seca, contudo, Chairapat (2002) cita 7,2% de nitrogênio, em *Landoltia punctata*. Deste modo, com a retirada diária de  $27\pm 8$  kg de lemnas frescas, em LM1 (com 90% de umidade), estima-se que a remoção direta de nitrogênio pela biomassa foi de  $1,2g/m^2/dia$ , ou seja, esta via de remoção representou 28% do total de nitrogênio removido. Já em LM2, com a retirada diária de 7,5kg de biomassa, a taxa de remoção estimada foi de  $0,26g/m^2/dia$  correspondendo a 96% do total de nitrogênio removido (tabela 13). Como a taxa de remoção em LM2 é consideravelmente menor do que em LM1, a participação da biomassa assume proporções mais elevadas, pois quase todo nitrogênio disponível

é requerido para o desenvolvimento das plantas (figura 61). Este fato é confirmado por Nozaly *et al.* (2000) ao afirmarem que, quanto menor a carga superficial aplicada, maior é a proporção do nitrogênio absorvido pela biomassa de lemnas.

Em LM1 estima-se que a via de remoção de nitrogênio mais expressiva tenha sido a nitrificação seguida de desnitrificação (aproximadamente 72%) existindo diversas evidências para esta afirmação, as quais serão discutidas a seguir. A LM1 apresenta condições ideais para o processo de nitrificação/desnitrificação sendo estas:

- A presença de uma zona aeróbia bem definida, com 3mg/L de OD em média (ver figura 51-OD), a qual favorece o desenvolvimento de bactérias nitrificantes;
- A vasta superfície de fixação para biofilme aeróbio oferecida pela rizosfera das macrófitas;
- A presença de uma zona anóxica no fundo, com 0,5mg/L de OD, necessária a desnitrificação;
- A disponibilidade de alimento (DBO) para os microorganismos heterótrofos que participam do processo de desnitrificação.
- Temperatura e pH em faixas adequadas para o processo

Vale ressaltar que a presença de nitrato foi detectada em diversos momentos, tanto em LM1 como em LM2, mas devido a problemas ocorridos durante as análises laboratoriais não foi possível desenvolver um perfil deste parâmetro, ao longo do período experimental. Para exemplificar, observou-se nos meses de janeiro e fevereiro concentrações de 32 e 45 mg/L de nitrato em LM1 e 2 e 1,5mg/L em LM2. Mas, como o nitrato é constantemente absorvido pelas lemnas, em grandes quantidades, esse composto é geralmente produzido em níveis maiores do que é detectado livremente na água. Deste modo, pode-se concluir que, em elevadas concentrações, o nitrogênio pode se perder antes de ser absorvido pelas lemnas, porém, em baixas concentrações, as macrófitas absorvem o nitrogênio rapidamente sendo a principal via de remoção.

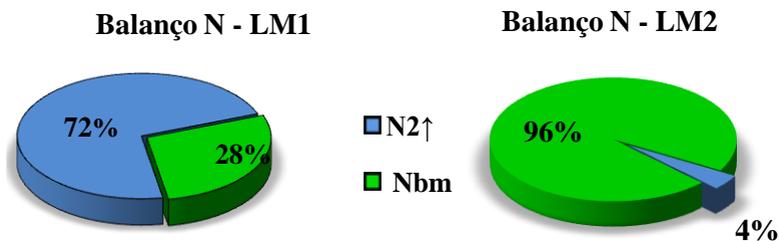


Figura 61: Porcentagem de nitrogênio removido via desnitrificação ( $N_2\uparrow$ ) e via absorção pela biomassa de lemnas (Nbm), em LM1 e LM2.

A proporção das vias de remoção do nitrogênio é bastante divergente entre os autores. Por exemplo, El Shafai e colaboradores (2006), em lagoas de tratamento com *Lemna gibba* encontraram 80% de remoção de nitrogênio pela biomassa, 14,5% pela desnitrificação e 4,5% para o sedimentado. Benjawan e Kootatep (2007), em um experimento desenvolvido na Tailândia, com uma mistura de *Lemna minor* e *Wolfia arriza*, constataram que 47% do nitrogênio foi eliminado por desnitrificação e 21% foi incorporado pela biomassa. Em concordância com o último autor, Zimmo *et al* (2003) e Caicedo (2005) observaram que a via de remoção mais expressiva na remoção do nitrogênio em lagoas de lemnas é a desnitrificação, seguida pela biomassa e por último a sedimentação. A volatilização da amônia é considerada não significativa na maior parte dos estudos avaliados, assim como foi concluído no presente estudo.

Um importante composto nitrogenado formado durante os processos de tratamento é o óxido nitroso ( $N_2O$ ). Devido à participação deste composto como um gás de efeito estufa bastante impactante (equivalente a 300 vezes em relação ao  $CO_2$ ), os estudos que envolvem processos de remoção de nitrogênio em efluentes têm voltado a atenção para as emissões de óxido nitroso. De forma bastante significativa, alguns autores citam que as emissões de  $N_2O$  em estações de tratamento podem chegar a mais de 60% do nitrogênio removido (SKALT-OTTE *et al.*, 2000; ITOKAWA *et al.*, 2001). As condições para o aumento da emissão deste gás estão relacionadas com as baixas concentrações de OD e com elevadas relações C/N e acontecem tanto no processo de nitrificação como na desnitrificação. Ambas as condições foram

encontradas nas lagoas de lemnas no presente estudo, sendo assim, a emissão de óxido nitroso pode ter sido uma via de eliminação de nitrogênio importante, porém não quantificada. Deste modo, recomenda-se a avaliação da emissão deste gás para estudos futuros.

### **Variação Temporal do Nitrogênio**

Em concordância com os demais parâmetros citados anteriormente, o nitrogênio apresentou variações expressivas em sua concentração. Os picos encontrados em LA parecem estar relacionados com as variações no ciclo de produção, intermitência da aplicação das cargas, diluição e utilização dos dejetos na agricultura. Deste modo, não é possível concluir que as mudanças na eficiência das lagoas sejam decorrentes da sazonalidade climática, mas sim do manejo dos dejetos. Como exemplo, pode-se citar a prática de agitação da lagoa (LA) antes de aplicar o dejetos no solo, onde o produtor revolve o líquido na lagoa, através de bombeamento, para suspender os nutrientes sedimentados.

Para LM1 a concentração de NTK e  $N-NH_3$  oscilou entre 10 e 50mg/L havendo alguns *outliers*, principalmente nos meses de outubro e novembro. Em novembro a eficiência das lagoas de lemnas caiu gerando um aumento na concentração de matéria orgânica e dos nutrientes. A desestruturação da população de macrófitas neste período parece estar relacionada com o ciclo biológico das plantas e será discutido no item específico sobre a produção de biomassa.

Em LM2 a oscilação de nitrogênio foi menos acentuada permanecendo abaixo de 20mg/L para NTK e de 10mg/L para  $N-NH_3$ , durante a maior parte do período de estudo. Na figura 63 observa-se as concentrações de amônia na saída de LM2 foram bastante baixas de dezembro a abril aproximando-se de zero em alguns momentos. Observando as figuras 62 e 63 pode-se deduzir que LM1 tenha estabilizado as oscilações de LA amenizando as variações em LM2, a qual respondeu às interferências climáticas de forma mais natural, pois de dezembro a abril as temperaturas foram mais elevadas, quando se espera maior eficiência.

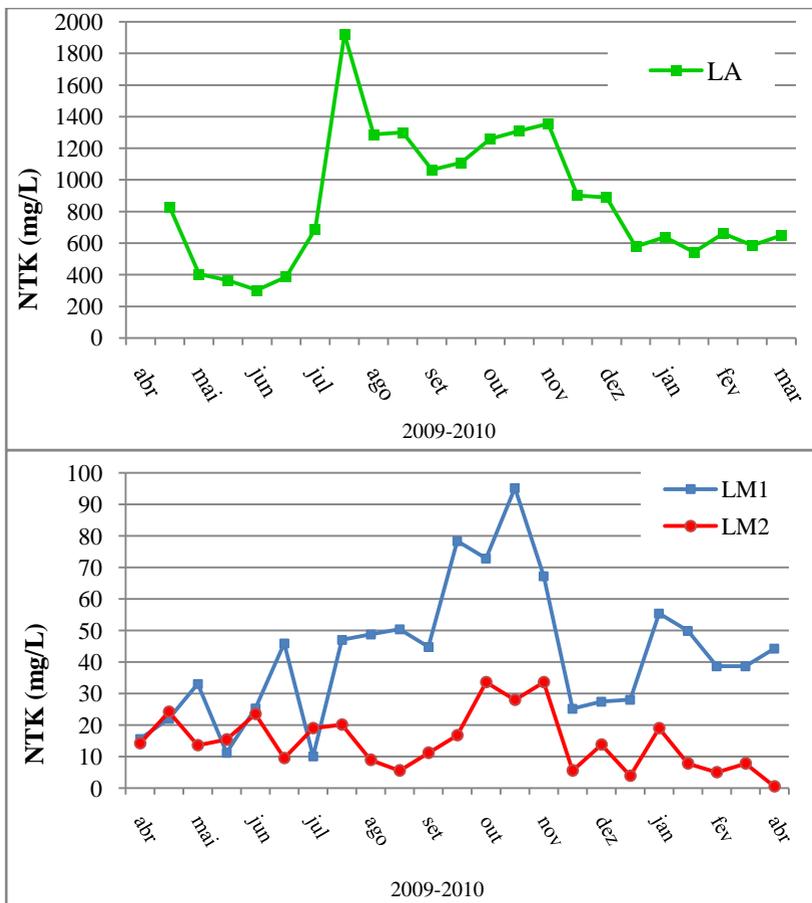


Figura 62: Variação de NTK nas lagoas de tratamento ao longo do período experimental

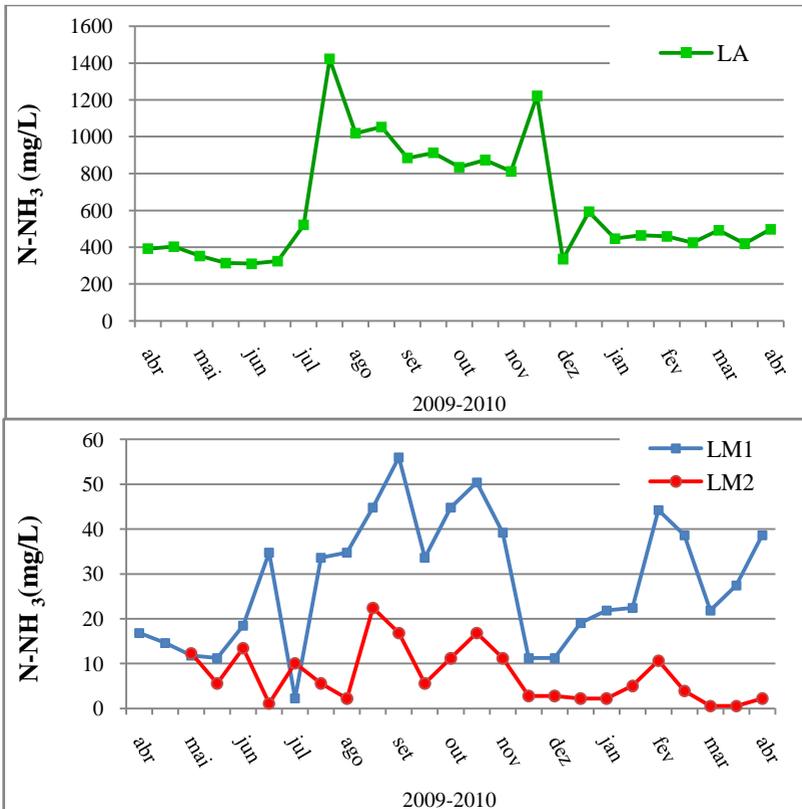


Figura 63: Variação de NTK nas lagoas de tratamento ao longo do período experimental

### Fósforo Total (Pt)

A eficiência das lagoas de lemnas na redução de fósforo foi bastante elevada, onde a diferença da concentração entre a entrada e a saída da série de lagoas foi próxima a 95%. Na figura 64 pode-se observar a redução da concentração média de Pt entre a entrada da série de lagoas de lemnas (LA) e a saída (LM2). A elevada remoção do fósforo proporcionada pelo tratamento anaeróbio teve um importante papel na redução das cargas aplicadas em LM1. Deste modo, a carga de fósforo aplicada em LM1 foi cerca de dez vezes menor do que a carga de nitrogênio, pois no sistema anaeróbio a remoção de fósforo foi mais

eficiente quando comparada ao nitrogênio, esse fato é evidenciado na tabela 8. Os principais mecanismos de remoção do fósforo nessa etapa estão descritos no item 5.1.2.

A partir de uma concentração média de 92mg/L, a carga de fósforo aplicada em LM1, durante o período experimental, foi aproximadamente de 30kg e de 3,2kg em LM2. Segue abaixo, nas tabelas (14 e 15), a representação das cargas aplicadas e removidas de fósforo total (Pt) em ambas as lagoas, bem como as taxas de aplicação e remoção.

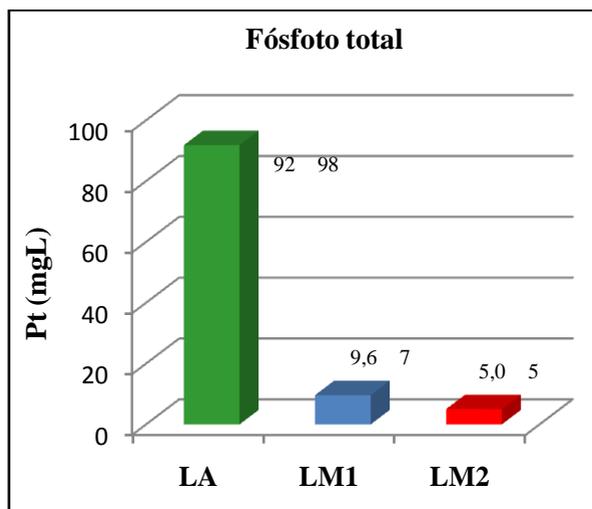


Figura 64: Valores médios e desvio padrão da concentração de fósforo total na lagoa de armazenamento (LA), lagoa de lemnas 1 (LM1) e lagoa de lemnas 2 (LM2).

Tabela 14: Cargas de fósforo (Pt), aplicadas e removidas, durante todo o período experimental (380dias), bem como a eficiência de remoção em LM1 e LM2.

Lagoas	Ca. Aplicada (kg)	Ca. Removida (kg)	Ca.residual (kg)	Eficiência (%)
LM1	30,1	27,1	3,0	89,5
LM2	3,0	1,4	1,6	47,6
LM2 + LM1	30,1	28,5	1,6	94,5

Tabela 15: Taxas de aplicação e remoção superficial de fósforo (Pt), em LM1 e LM2

Lagoas	Taxa de Aplicação ( $\lambda_s$ - kg/ha/dia)	Taxa de Remoção ( $\lambda_r$ - kg/ha/dia)
LM1	5,3	4,7
LM2	0,93	0,45
LM2 + LM1	5,3	5,15

A absorção de nitrogênio, fósforo e potássio, entre diversos outros nutrientes, é fundamental para o metabolismo de todos os vegetais superiores, contudo, as exigências diferem para cada espécie. Deste modo, os valores encontrados na literatura correlata para a remoção de fósforo por lemnáceas são de 5 a 10 vezes menores do que para a remoção do nitrogênio. Para as taxas de remoção de fósforo encontram-se valores de diferentes escalas na bibliografia. Korner e Vermaat (1998) citam uma remoção de até 79mgP/m<sup>2</sup>/dia, com até 99% de eficiência (para esgoto doméstico) em um experimento com *Lemna gibba* desenvolvido na Holanda. De forma similar, El-Shafai e colaboradores (2006), assim como Nozaly et al. (2000), apontam uma taxa de remoção próxima a 95mgP/m<sup>2</sup>/dia, para a mesma espécie de lemnas, em experimentos em escala piloto (tanques com 1m<sup>2</sup>) utilizando efluente de um reator UASB. Por outro lado, o presente estudo indica uma taxa de remoção de Pt da ordem de 470mg/m<sup>2</sup>/dia, em concordância com Cheng *et al.*, (2002b), que citam uma taxa de 590mg/m<sup>2</sup>/dia, em efluentes de suinocultura. Esta grande diferença na taxa de remoção deste elemento deve-se a diversos fatores dentre os

quais se destacam a concentração inicial de P e N e a taxa de crescimento das plantas em decorrência da temperatura e compostos tóxicos (CHENG *et al.*, 2002a). Contudo, cabe observar que a diferença entre experimentos realizados em bancada (*in vitro*) e a campo pode ser muito expressiva, principalmente ao considerar a ação da microbiota, a qual é desprezível em meios de cultura esterilizados.

Dentre as vias de remoção de fósforo, nas lagoas de lemnas avaliadas neste estudo, acredita-se que a absorção direta pela biomassa tenha sido a principal. Assim, baseando-se em uma relação entre a taxa de remoção N: P média de 7:1, pode-se estimar que a absorção direta de fósforo pela biomassa de lemnas tenha sido 1/7 da absorção de nitrogênio, ou seja, aproximadamente 11kg. (a absorção de nitrogênio foi 79kg). De forma complementar, Korner e Vermaat (1998) citam que aproximadamente 50% do fósforo removido, em seus experimentos, deve-se a incorporação pelo biofilme aderido nas raízes das lemnas. Deste modo, pode-se concluir que dos 27kg de fósforo removidos 22kg foram devido a biomassa de lemnas e bacteriana e o restante (5kg) permaneceu no sedimento na forma de compostos precipitáveis. Acredita-se também que, com o incremento na concentração de OD nas lagoas de lemnas espera-se encontrar maior concentração de fosfatos os quais são mais solúveis e facilmente absorvidos pelo metabolismo vegetal e bacteriano. Deste modo a precipitação do fósforo deve ser reduzida. A determinação de fosfatos não foi considerada viável para a discussão, pois devido a problemas laboratoriais a confiabilidade dos dados foi comprometida, portanto foram ignorados.

A concentração de fósforo sofreu grandes variações, ao longo do período experimental, assim como os outros parâmetros discutidos anteriormente (figura 65).

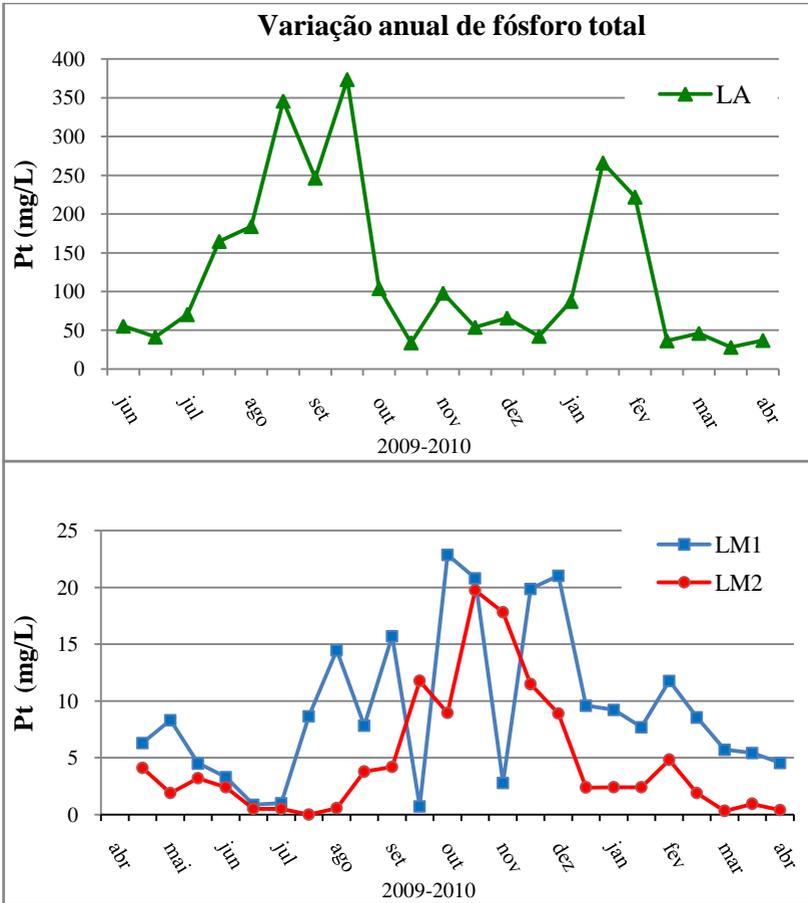


Figura 65: Variações na concentração de fósforo total ao longo do período experimental, nas lagoas de tratamento (LA, LM1 e LM2).

Ao observar a figura 65 nota-se uma grande variação na concentração de Pt em todas as unidades de tratamento. Em LM1 vê-se dois pontos com valores baixos, em setembro e novembro, os quais podem ser atribuídos ao *Bloom* de algas ocorrido nesses períodos proporcionando uma rápida redução do P disponível. Contudo, esse evento não foi observado em LM2, a qual apresentou uma elevação gradual de Pt no mesmo período. A elucidação destas variações torna-se difícil devido ao conjunto de fatores que atuam simultaneamente em experimentos realizados sob condições não controladas. Avaliando a figura 46, a qual representa a pluviosidade no período, nota-se um pico de chuvas em setembro, mas caso esse fator fosse responsável pela diluição do fósforo em LM1, isso deveria ocorrer em LM2 com maior intensidade, porém isso não foi observado. A prática de revolver o efluente em LA antes de sua aplicação no solo, feita pelo produtor, afeta diretamente a concentração de fósforo no afluente das lagoas de lemnas, pois os compostos fosfóricos depositados no lodo são resuspenso.

Conclui-se que, apesar da grande variação sofrida ao longo dos ciclos de produção de suínos, as lagoas de lemnas proporcionaram uma efetiva redução do fósforo devido à absorção pela biomassa. Essa absorção levou a concentração de Pt a níveis próximos a zero (jun, ago - 2009 e mar, abr - 2010) sendo este um resultado bastante satisfatório, principalmente para efluentes de suinocultura. Por exemplo, Araujo (2007) estudando uma série de lagoas (facultativa e maturação) no polimento de dejetos suínos, apesar de obter 90% de remoção, não apresenta valores inferiores a 50mg/L para P-PO<sub>4</sub>. Do mesmo modo pode-se citar Oliveira (2002), Chen et al. (2003) e Barthel (2007), com remoções de fósforo na ordem de 16, 45 e 16% respectivamente, em lagoas de alta taxa.

### ***Escherichia coli***

Em sistemas de tratamento com lagoas de estabilização convencionais, um dos principais mecanismos para a redução de coliformes é a ação da radiação UV solar. Contudo, nas lagoas de lemnas, a radiação solar é bloqueada pela biomassa flutuante (IQBAL, 1999). Por outro lado, Rangeby e colaboradores (1996) acrescentam que o tempo de detenção hidráulica, a temperatura e a presença de predadores são variáveis importantes na remoção de patógenos.

Nas lagoas de lemnas avaliadas houve uma redução da ordem de 3 unidades logarítmicas para *E.coli* e 1 log para coliformes totais, em média representando uma eficiência acumulada de 99,8% e 96,4% respectivamente (figura 66). De LM1 para LM2 a redução de *E. colie* totais foi de 60 e 47% respectivamente. Esse fato pode ser elucidado, pois, o efluente em LM2 possui um TDH acumulado, ou seja, o TDH de LM1 mais o TDH de LM2, sendo o TDH um importante fator na eliminação desses microorganismos, citado por diversos autores. O TDH foi bastante elevado, cerca de 150 dias, contribuindo para a forte mortalidade de bactérias enterogástricas. Também, a boa qualidade do efluente nas lagoas e a proteção física proporcionada pelas macrófitas favorecem o desenvolvimento de uma biota diversa, principalmente de protozoários, ocasionando a predação de populações bacterianas.

A remoção de *E. coli* em lagoas de lemnas (*L. gibba* e *L. minor*) é reportada por El-Shafai *et al.*(2006) obtendo uma eficiência de 99,93% (4 log) ,para esgoto doméstico, após o tratamento em um reator UASB. Estes autores frisam que a temperatura, a presença de predadores e a remoção das macrófitas foram os fatores mais relevantes na redução de patógenos. Pois, com a remoção das plantas, os organismos presentes nas raízes são carregados juntamente e, além disso, verificaram grandes quantidades de copépodos e dafnias (microcrustáceos predadores) nas lagoas de lemnas. Van Der Steen et al (2000) observaram uma redução significativa de coliformes em regiões escuras e profundas de lagoas de lemnas e atribuíram esse evento à baixa disponibilidade de carbono e nutrientes neste meio. Gomes (2010) e Araujo (2007) avaliaram a redução de coliformes fecais, em uma série de lagoas de estabilização (anaeróbia, facultativa e maturação), com dejetos suínos e obtiveram menos do que 1 unidade log. Estas autoras atribuem a baixa eficiência devido à elevada concentração de sólidos suspensos, nesse tipo de efluente, impedindo a ação da radiação solar na desativação dos coliformes.

Diversos autores citam o aumento da eficiência de remoção de patógenos nos meses mais quentes do ano. Esse fato foi observado, no presente estudo, em LM1. Como pode ser observado na figura 67, a concentração destes organismos foi praticamente a mesma em junho e janeiro para LM1. Apesar disso, a média do conjunto de dados obtidos nos meses de outono/inverno (abril, maio, junho, julho e agosto, setembro) é 60% mais elevada do que a média dos valores obtidos na primavera/verão (outubro, novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março) sendo 1600 e 622 NMP/100mL respectivamente.

Devido a sua boa qualidade, este efluente foi reutilizado na limpeza das baías economizando cerca de 330m<sup>3</sup> de água em um ano. Através desta prática, além da economia deste recurso natural, também se preservou a qualidade do corpo receptor, pois não foi necessário o lançamento de efluente no mesmo. Por esse motivo não foram feitas discussões relacionando a legislação ambiental que regulamenta o lançamento de efluentes em corpos d'água (RESOLUÇÃO n° 357/2005– CONAMA e Lei 14675/2009 - SC). Segundo a legislação Estadual (Decreto 14.250/81- SC) o efluente, após o tratamento nas lagoas de lemnas, poderia ser utilizado com contato primário, irrigação de hortaliças e abastecimento após tratamento (Classe II).

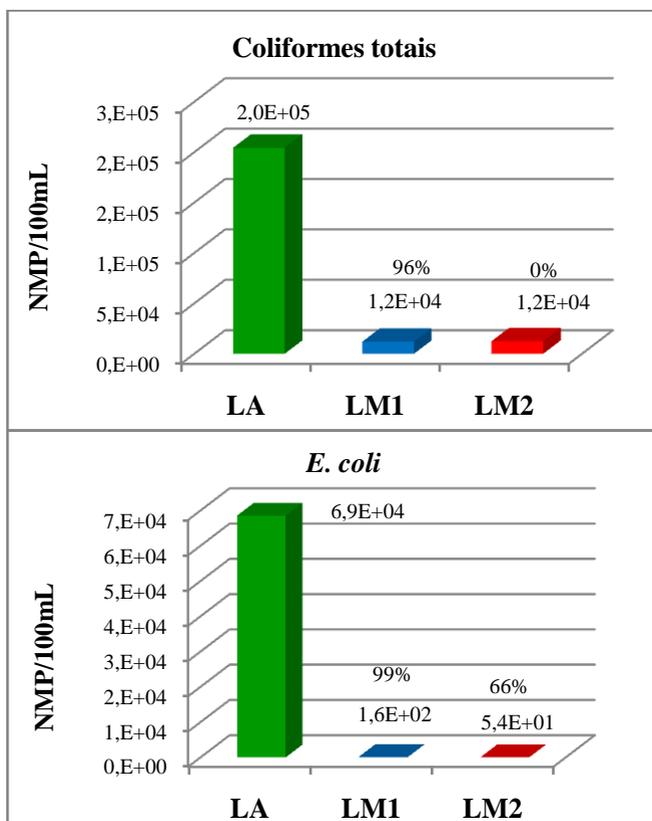


Figura 66: Redução de coliformes totais e *E. coli* nas lagoas de lemnas avaliadas. Valores representados por média geométrica (n=13)

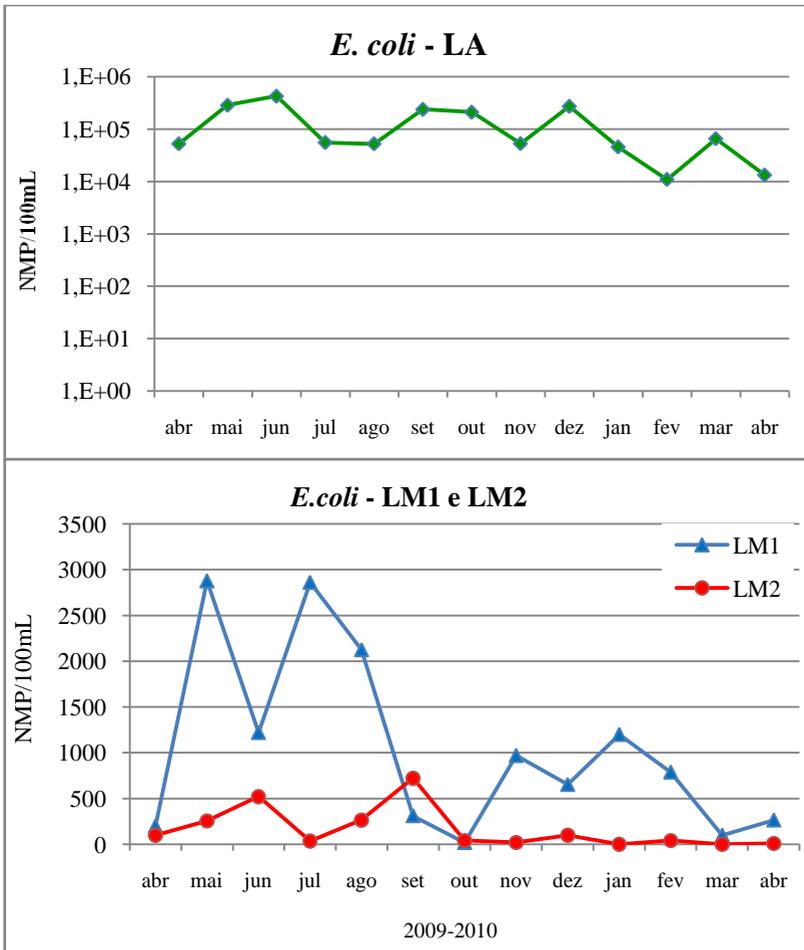


Figura 67: Variação na concentração de células de *E. coli* ao longo do período amostral, em LA (acima), LM1 e LM2 (abaixo)

### 5.1.3.2 Avaliação da biomassa

#### Avaliação quantitativa

Para as lemnas, assim como para diversos outros organismos, o crescimento de uma população descreve uma curva com 4 etapas (latência, crescimento exponencial, estabilização e decaimento). Para a melhor eficiência em lagoas de tratamento é desejável manter a população na fase de crescimento exponencial sendo, para isso, necessária a renovação do efluente (nutrientes) e a remoção constante da biomassa. Também, a remoção da biomassa de lemnas durante o processo de tratamento é fundamental para a manutenção da densidade ótima (SKILICORN et al., 1993; IQBAL, 1999 e CAICEDO, 2005).

No presente estudo foi feita a remoção diária de biomassa das lagoas durante os 380 dias de período experimental, totalizando 13,1 toneladas de biomassa fresca removida, sendo 10,3t, em LM1 e 2,8t, em LM2. Considerando que o teor de umidade encontrado foi 90 %, em média, a biomassa seca produzida por ambas as lagoas somadas foi aproximadamente 1.300kg. Para atingir este montante, a quantidade média de biomassa fresca removida em LM1 foi de 27kg/dia e em LM2 7,5kg/dia. Deste modo, a estimativa da taxa de produtividade média foi de 181g/m<sup>2</sup>/dia de matéria fresca, ou, 18g/m<sup>2</sup>/dia de matéria seca, em LM1. Para LM2, a estimativa da taxa de crescimento foi 83g/m<sup>2</sup>/dia (matéria fresca) e 8,3g/m<sup>2</sup>/dia (matéria seca). A produtividade máxima foi obtida em LM1 demonstrando uma capacidade de gerar 68,8t/ha/ano de biomassa seca. Na tabela 16 foi feita uma descrição da produtividade de lemnas encontrada em diversos estudos, com o intuito de subsidiar e enriquecer a discussão deste tema.

Tabela 16: Taxas de crescimento, em ordem crescente, encontradas em diferentes estudos

<b>Origem</b>	<b>TCR*</b> (g/m <sup>2</sup> /dia) <sup>+</sup>	<b>TCE**</b> (g/g/dia) <sup>+</sup>	<b>Espécie</b>	<b>Autores</b>
Holanda	5,5	-	<i>Lemna gibba</i>	Korner et al (1998)
Áustria	6,1	-	<i>Lemna minor</i>	Landolt e Kandeler (1987)
Vietnam	6,7	-	<i>Lemna minor</i>	Anh and Peterson (1998)
USA	8,5	-	<i>Lemna gibba</i>	Lyerly (2004)
Vietnam	10	-	<i>Lemna spp-</i>	Rodriguez and Peterson
Brasil	10,5		<i>Lemna valdiviana</i>	Tavares (2008)
Egito	13,8	-	<i>L. gibba e L.minor</i>	El-Shafai (2006)
Israel	14	-	<i>Lemna gibba</i>	Oron et al (1987)
Holanda	15,1		<i>Spirodela spp.</i>	Alaerts et al (1996)
<b>Brasil</b>	<b>18</b>	<b>0,24</b>	<b><i>Landoltia punctata</i></b>	<b>Presente estudo</b>
USA	21	-	<i>Landoltia punctata</i>	Mestayer et al (1984) apud Leng
USA	28,5	-	<i>Lemna minor</i>	Cheng et al (2002b)
USA	32	-	<i>Landoltia punctata</i>	Cheng et al (2002a)
USA	8-38	0,2	<i>Lemna obscura</i>	Landsman et al (2005)
Holanda	-	0,3	<i>Lemna minor</i>	Driever et al (2004)
USA	-	0,3	<i>Landoltia punctata</i>	Bergman et al (2002)
Dinamarca	-	0,2	<i>Lemna minor</i>	Cedegreen and Madsen (2002)
Colômbia	-	028	<i>Spirodela polyrrhiza</i>	Caicedo (2005)

\* TCR – Taxa de crescimento relativo;\*\* TCE – Taxa de crescimento específico; <sup>+</sup> peso da matéria seca.

Como pôde ser visto na tabela 16, a taxa de crescimento de lemnáceas em lagoas de tratamento pode ser bastante variável, porém os fatores condicionantes são unânimes entre os autores, sendo eles: disponibilidade de nutrientes, espécie utilizada, temperatura, luminosidade, presença de compostos tóxicos e a densidade da própria população. El-Shfai et al. (2006) citam uma taxa de 49.5t/ha/ano (33t para 8 meses) de biomassa seca de *Lemna gibba* produzida no efluente de um reator UASB (esgoto doméstico). Alaerts et al. (1996) citam uma produtividade de 55kg/ha/dia em lagoas de lemnas, em escala real (6000m<sup>2</sup>). Porém, Cheng et al. (2002a) trabalhando com *Landoltia punctata*, em dejetos de suínos, encontraram uma taxa de aproximadamente 115t/ha/ano, contudo este trabalho se deu em bancada, com efluente sintético e em condições ideais. Os efeitos negativos de elevadas densidades são decorrentes da competição por nutrientes, luz e CO<sub>2</sub>, por outro lado, as baixas densidades causam a diminuição da temperatura e permitem o desenvolvimento de algas competidoras. Driever et al (2005) citam que a limitação do crescimento imposta pela temperatura descreve uma relação linear (entre 5 e 26°C), ao passo que a limitação imposta pela falta de nutrientes afeta o crescimento segundo o modelo de Monod ( $[S]^{1/2}$ ). Porém, a capacidade de armazenar nutrientes parece ser um ponto chave para a compreensão da cinética de crescimento de lemnáceas em lagoas de tratamento (CHAIPRAPAT, 2002; CHENG E STOMP, 2009)

Ao comparar-se com estudos anteriores, a taxa de crescimento por área obtida nesta pesquisa apresenta um valor mediano, contudo, os estudos apresentados na tabela 16 baseiam-se em condições experimentais diversas, havendo testes *in vitro*, escala piloto e escala real. Já para a taxa de crescimento específico o valor encontrado neste estudo (0,24g/g/dia em LM1) foi um dos mais elevados entre aqueles encontrados na literatura. A diferença existente entre a taxa de crescimento específica e relativa (TCE, TCR) deve-se a densidade inicial da biomassa. Ou seja, uma população com uma TCE mais baixa pode crescer mais (em função do  $\Delta t$ ) se a densidade inicial (g de biomassa/m<sup>2</sup>) for maior. Para LM2 a taxa de crescimento específico foi aproximadamente 0,15g/g/dia, ou seja, cada grama de biomassa gerou 0,15g por dia. Esta taxa de crescimento bastante inferior pode ser atribuída a menor disponibilidade de nutrientes em LM2 quando comparada a LM1.

Como pode ser observado na figura 68, a densidade média da população de lemnas nas lagoas de tratamento foi aproximadamente  $752\text{g/m}^2$  em LM1 e  $560\text{g/m}^2$  em LM2. Contudo, houve grandes variações ao longo do período experimental, com picos próximos  $1800\text{g/m}^2$  (em agosto/setembro) e  $10\text{g/m}^2$  (em novembro).

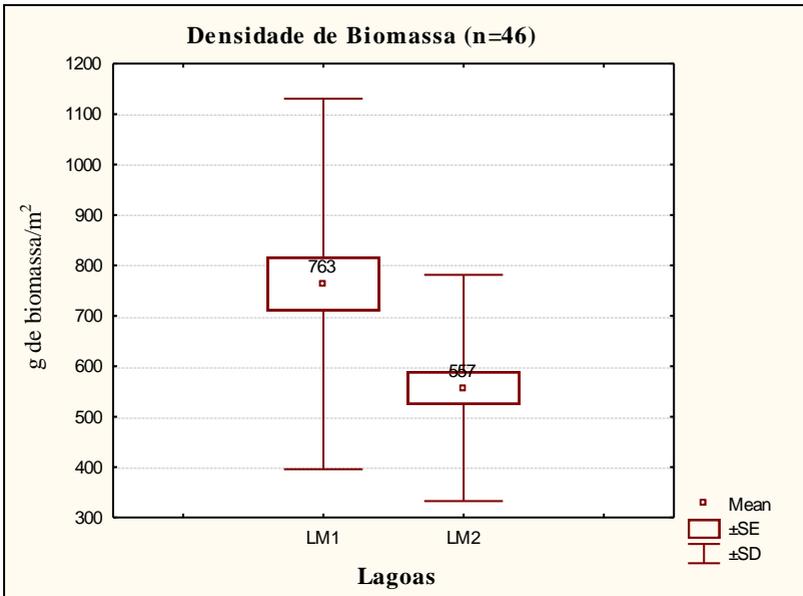


Figura 68: Valores médios para densidade de biomassa de lemnas, nas lagoas LM1 e LM2, durante o período experimental (g de biomassa úmida/m<sup>2</sup>).

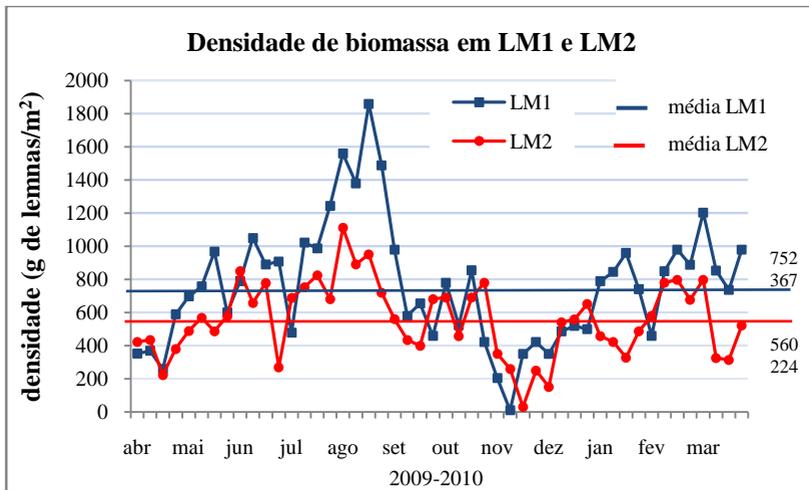


Figura 69: Densidade de biomassa de lemnas, em LM1 e LM2 durante o período avaliado.

Estas variações devem ser atribuídas aos fatores condicionantes para o crescimento, as quais foram citados anteriormente (temperatura, luz, densidade, etc). Porém, a remoção diária de biomassa não foi constante. Durante o manejo diário das lagoas houve diversos contratempos inerentes a situação (escala real), como por exemplo, danos nos equipamentos de coleta e pesagem, chuvas torrenciais e problemas com a mão de obra responsável pelas coletas. Esses fatores impediram a remoção da biomassa em alguns períodos resultando em acúmulos e elevação na densidade. Também, para manter a cobertura total de lemnas sobre as lagoas, optou-se por não retirar a biomassa em períodos em que o crescimento era muito baixo. (figura69- novembro).

Conforme indicado na figura 69 e 70 no mês de novembro foi observada uma redução brusca na densidade das macrófitas, em ambas as lagoas, chegando a desaparecer quase que por completo restando apenas algumas “manchas”. Não foi possível determinar uma causa que esclareça, de forma precisa, este evento, o qual determinou mudanças na eficiência do tratamento conforme foi citado nos capítulos anteriores. As possíveis causas podem ser atribuídas a processos fisiológicos inerentes do ciclo de vida desses vegetais, como por exemplo, a floração e formação de sementes, pois nesse processo há um desvio de energia metabólica diminuindo a propagação vegetativa (LANDOLT E

KANDELER 1987). Em um estudo desenvolvido em Santa Catarina, Caris (2010) observou a redução da densidade de biomassa em lagoas com *Lemna minuta*, no período de primavera atribuindo esse fato à floração das macrófitas. Também devem ser considerados alguns fatores de estresse para a população de lemnas citados por Skilicorn et al., (1993), como: ventos fortes, elevadas temperaturas, super-densidade, competição com microalgas e predação.

Ao se observar a figura 47 (variações na temperatura) e a figura 69 nota-se que o período mais quente coincide com a menor densidade de lemnas, podendo este ser um fator de estresse, ao contrário do que era esperado. Skilicorn et al., (1993) também citam que a cobertura de lemnas pode atuar como um isolante térmico proporcionando uma diferença de até 8°C entre as faces voltadas para o ar e para a água causando um estresse metabólico. De qualquer forma, a população de lemnas nas lagoas recuperou a sua densidade normal em poucos dias evidenciando a incrível velocidade de crescimento e adaptação deste grupo vegetal.

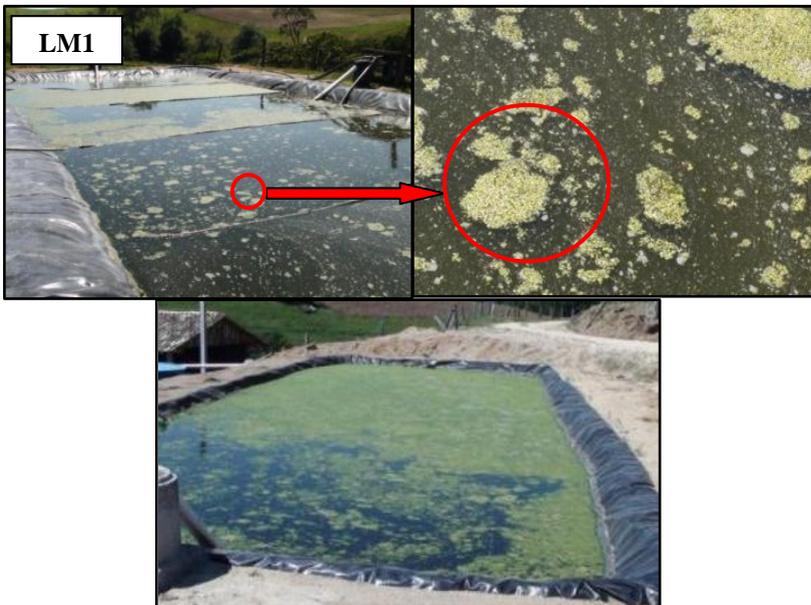


Figura 70: Redução da densidade da população de lemnas nas lagoas de tratamento (LM1 e LM2), no mês de novembro, com destaque para aglomerados formando manchas sobre a superfície.

Apesar de existir uma relação entre a densidade de lemnas, nas lagoas de tratamento, e a redução dos parâmetros indicadores de poluição, não foi possível detectar estatisticamente esse fato. Ao traçar a linha de tendência para a dispersão dos pontos correlacionados, o  $R^2$  foi menor do que 0,3 para todos os parâmetros indicando uma baixa correlação. Contudo, segundo diversos autores, existe uma densidade ótima da cobertura de lemnas para maximizar o tratamento, ou seja, se a densidade for muito baixa, ou muito alta, a eficiência do tratamento pode ser comprometida. Por este motivo, a relação densidade/eficiência não é inversamente proporcional, nem tão pouco diretamente proporcional, mas sim busca-se um valor equilibrado, onde o crescimento das plantas deve manter-se na fase exponencial.

Segundo as pesquisas avaliadas, a densidade ótima de biomassa de lemnas em lagoas de tratamento está entre 400 e 600g/m<sup>2</sup> (SKILICORN et al., 1993; ZIMMO et al 2002; CHENG et al., 2002a; ZIMMO et al., 2004)

Quanto ao efeito da sazonalidade na produção de biomassa não foi possível detectar relações pertinentes. Do mesmo modo, como foi demonstrado para a eficiência de remoção dos parâmetros, as flutuações inerentes ao ciclo de produção de suínos (como a composição dos dejetos) não permitem isolar as variáveis climáticas. Por exemplo, tanto o crescimento da biomassa como a remoção de nutrientes foi efetiva nos períodos mais frios, já na primavera onde é esperado um crescimento maior de biomassa, tanto a densidade de lemnas como a remoção de nutrientes foi reduzida.

### **Avaliação qualitativa da biomassa (valorização pela produção de proteína)**

Além das condições que regem o crescimento das lemnas, como luz e temperatura, os principais fatores que afetam a produção de proteína pelas lemnas são a disponibilidade de nitrogênio, a espécie utilizada e a densidade da população (LANDOLT e KANDELER, 1987; SKILICORN et al., 1993; BERGMAN et al., 2000; LANDESMAN et al., 2005). Como a concentração de nitrogênio no efluente da suinocultura é bastante elevada era esperada uma alta produtividade de proteína pela biomassa nas lagoas (CHENG et al., 2002a) . Também, segundo Bergman et al. (2000), a espécie utilizada no presente estudo

(*Landoltia punctata*) é a primeira no *ranking* em produção de proteína, entre 18 espécies de lemnáceas avaliadas.

A produtividade de proteína bruta (PB), que é dada pela multiplicação do peso seco e a porcentagem de proteína da biomassa, é o principal fator para avaliar a valorização do tratamento de efluentes por lagoas de lemnas. Assim, acredita-se que a potencialidade do uso da biomassa na alimentação de animais seja uma característica fundamental para a viabilização econômica desta tecnologia no meio rural.

No presente estudo, o teor médio de PB encontrado na biomassa de lemnas foi significativamente diferente ( $p > 0,05$ ) entre as duas lagoas, sendo  $35\% \pm 3,5$  e  $28\% \pm 7,1$ , para LM1 e LM2 respectivamente (figura 71). São encontrados diversos dados sobre o teor de proteína na biomassa de lemnáceas, em lagoas de tratamento, os quais variam entre 20 e 45% (EDWARDS 1992; IQBAL, 1999; MOHEDANO 2004). Tavares (2004) avaliando o crescimento de lemnas em dejetos suínos, em Santa Catarina, encontrou um teor protéico de até 39,5%.

Durante o período avaliado houve variações expressivas para o teor de PB na biomassa, principalmente em LM2. As maiores concentrações foram obtidas no início do experimento (abr, mai, jun, jul), com valores que chegaram a 41,2% de PB em LM1 e 38% em LM2. Contudo, nos meses de agosto a outubro, houve uma queda no teor de PB atingindo a 28% em LM1 e 12,2% em LM2 (figura 72). Deste modo, observa-se que o período com os menores valores de PB coincide com o período de maior densidade de biomassa de lemnas (figuras 69 e 72). Nesse sentido, ao correlacionar estes dois parâmetros obteve-se um  $R^2 = 0,7$ , ou seja, parece existir uma correlação entre os dois parâmetros, apesar de não ser considerada forte estatisticamente (figura 73). Em concordância, Skilicorn et al. (1993) citam que elevadas densidades (*crowding*) nas colônias de lemnas interferem negativamente no valor nutricional. Isso ocorre devido ao acúmulo de biomassa morta que permanece flutuando, mesmo estando em decomposição. Este acúmulo de biomassa, além de ser um fator de estresse, também propicia o ataque de fungos patogênicos, debilitando a produção de proteína.

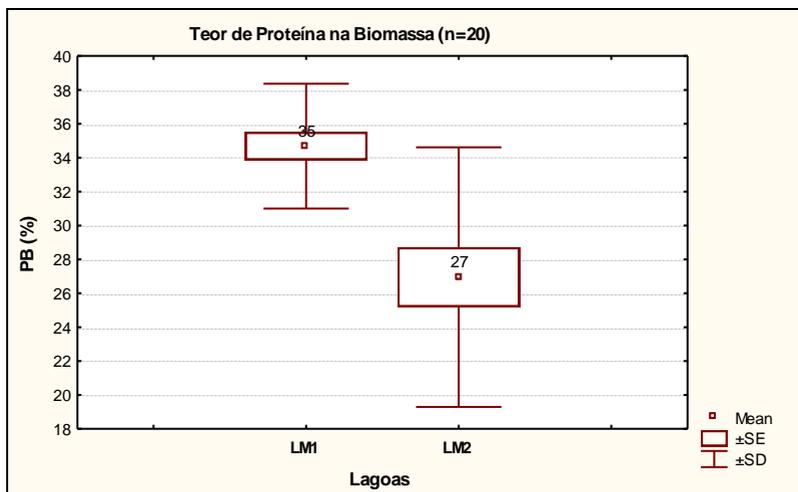


Figura 71: Valores médios, variância e desvio padrão para o teor de proteína bruta na biomassa de lemnas produzida nas lagoas de tratamento ao longo do período experimental.

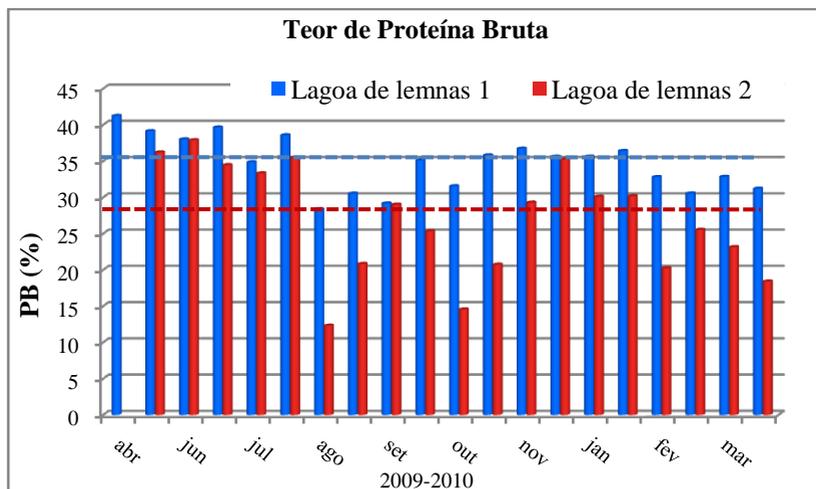


Figura 72: Teor de proteína bruta (PB%) na biomassa de lemnas, em LM1 e LM2. As linhas pontilhadas representam as médias (35 e 28%)

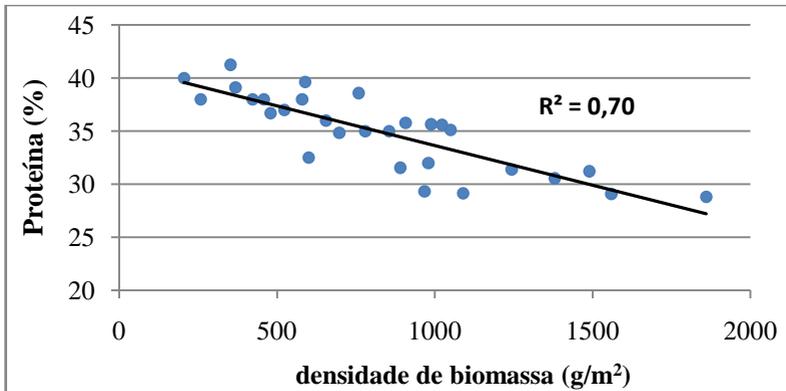


Figura 73: Correlação entre a densidade de biomassa em LM1 e o teor de proteína bruta.

Para esclarecer esta diferença entre LM1 e LM2 tem-se como principal argumento o fato de que, em LM2 a concentração de nitrogênio foi menor do que em LM1, durante todo o período (figura 62-NTK). Como foi descrito anteriormente, o nitrogênio é o nutriente exigido em maior quantidade pelas lemnaáceas, além de possuir um papel estrutural na síntese de aminoácidos e, conseqüentemente, de proteínas. Outro fator com possível participação na redução do teor de proteína em LM2 foi a contaminação desta lagoa por macrófitas do gênero *Wolfiaspp*. Estas macrófitas, apesar de também pertencerem ao grupo das *Lemnoideae*, possuem menos proteína em sua biomassa podendo reduzir o teor de proteína das amostras coletadas (LANDOLT e KENDELER, 1987; BERGMAN et al., 2000). Essa contaminação será discutida em um item específico.

A produção total de proteína bruta, a partir da biomassa seca, foi estimada em 360kg em LM1 e 78,5kg em LM2, totalizando 438,5kg durante todo o período experimental. Deste modo, a taxa de produção de proteína estimada para LM1 foi 24t/ha/ano e para LM2 8,7t/ha/ano. Os dados encontrados na literatura sobre a produção de proteína em lagoas de lemna apresentam uma grande variabilidade. Por exemplo, Vron e Waller (1995) obtiveram uma produtividade de 3tPB/ha/ano, já Oron (1986) apresentam uma taxa de produção de proteína na ordem de 22tPB/ha/ano. Contudo a produtividade de proteína em LM1, no presente estudo, é uma das maiores entre as referências avaliadas.

El-Shafai e colaboradores (2006) encontraram uma taxa de produção de proteína de aproximadamente 11,1t/ha/ano (para *L. gibba*) e calculam um valor estimado de U\$ 6.600,00/ano para a comercialização desta biomassa, com base no preço do farelo de trigo (um alimento de baixo custo utilizado em rações para animais). Considerando que uma ração para engorda de tilápias tenha 28% de proteína, a produção de ambas as lagoas (438kg de PB, para LM1 e LM2) pode contribuir para a formulação de aproximadamente 1.600kg de ração. Assim, baseando-se em uma conversão alimentar de 1.6 (segundo Tavares, 2008), essas lagoas de lemnas sustentariam uma produção anual de 1.100kg de pescado (Figura 75). Com base em uma pesquisa de mercado (MFRural, 2010) o preço médio da tilápia *in natura* aproxima-se de R\$ 4,00/kg, deste modo, a valorização do tratamento do efluente através das lagoas de lemnas na propriedade estudada pode chegar a R\$4.400,00/ano, ou extrapolando para 1ha de lagoas de lemnas resultaria em R\$203.000,00/ha/ano. Considerando um cultivo de tilápias (sem aeração) com uma densidade de 1,5peixes/m<sup>2</sup> tem-se uma proporção de 5,5hectare de viveiros para cada hectare de lagoa de lemnas. Certamente seria necessária uma avaliação econômica mais detalhada considerando-se a mão-de-obra, entre outros custos, contudo esta avaliação não foi objetivo desta pesquisa. Porém, Scorvo Filho et al. (2008) afirmam que os custos com ração, em cultivos de tilápias, podem chegar a 50% dos gastos totais.

Outra forma de avaliar a valorização da biomassa de lemnas pode dar-se através da comparação da produtividade de proteína (t/ha/ano) com outros ingredientes protéicos utilizados em dietas, como a soja por exemplo. Segundo dados da Embrapa Soja (2010), a média de produtividade da soja no Brasil é de 2.666kg/ha/safra, sendo que este grão possui 40% de proteína em média. Deste modo, a estimativa da produtividade de proteína pelo plantio da soja é 1.070kg/ha. A comparação da produtividade de PB, entre a soja e a biomassa de lemnas produzida neste estudo, pode ser observada na figura 74. Apesar de a soja apresentar um teor de PB superior, a produtividade de proteína em LM1 é cerca de 20 vezes maior, sendo 1,1t/ha/ano para a soja e 24t/ha/ano em LM1. Ou seja, a quantidade de proteína produzida por 1ha de lemnas seria teoricamente equivalente àquela produzida em 22ha de soja, em um ano.

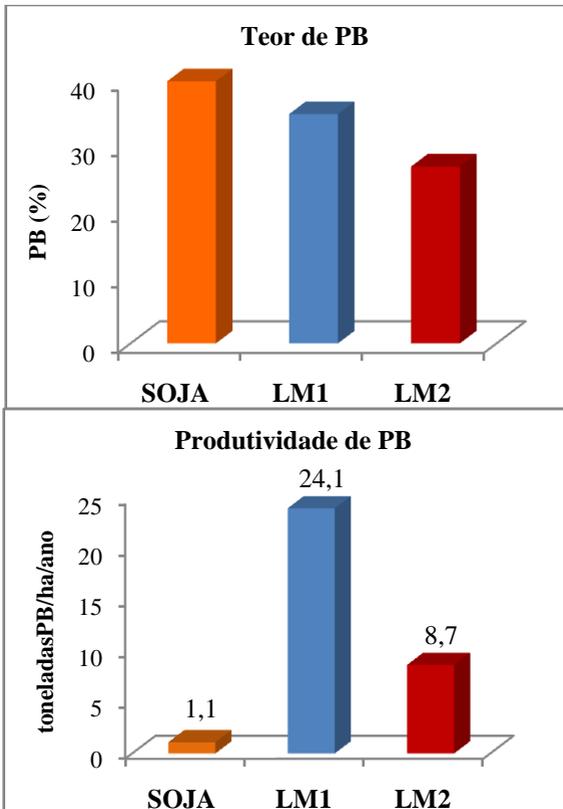


Figura 74: Teor e produtividade de proteína bruta (PB) entre a soja\* e a biomassa de lemnas produzidas em LM1 e LM2. \* base de cálculo segundo EMBRAPA SOJA (2010), 2.666kg/ha, com 40%PB.

É importante ressaltar que, nas amostras de biomassa de lemnas submetidas às análises, podem ocorrer diversos organismos aderidos nas raízes e frondes, como protozoários, larvas de insetos, microcrustáceos, algas, além do biofilme bacteriano aderido. Esses organismos podem interferir na porcentagem de proteína detectada nas amostras, sendo a remoção destes uma prática inviável. Por outro lado, quando o objetivo da utilização da biomassa é a alimentação de peixes, a presença destes organismos aderidos pode ser benéfica, considerando que os mesmos fazem parte da alimentação natural de peixes onívoros, como a tilápia.

Mohedano (2004) observou que tilápias alimentadas com dietas contendo lemnas (*Lemna valdiviana*), como fonte de proteína, obtiveram o mesmo crescimento do que aquelas alimentadas com ração comercial (28%PB). Assim, conclui-se que, apesar das flutuações, o teor e a produtividade de proteína bruta na biomassa de lemnas foram satisfatórios comparando-se com outras pesquisas similares. Porém a produtividade de proteína pode ser incrementada com um manejo de remoção de biomassa adequado, evitando-se altas densidades na cobertura de lemnas.



Figura 75: Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com a biomassa de lemnas frescas produzidas nas lagoas de tratamento (LM1 e LM2). Peixes com cerca de 400g.

Recentemente, alguns estudos vêm comprovando a utilização da biomassa de *Landoltia punctata* como uma alternativa viável na produção de biocombustíveis (etanol). Para ilustrar, Cheng e Stomp (2009) afirmam que, após uma hidrólise enzimática do amido, a biomassa de lemnas cultivadas em dejetos suínos pode produzir cerca de 26% de etanol em relação ao peso seco. Transpondo este valor para a produtividade de biomassa obtida no presente estudo (em LM1), as lagoas de lemnas poderiam produzir cerca de 15.000L de etanol/ha/ano sendo este valor 2,5 vezes maior do que a produção oriunda do milho. Este fato desponta para outros possíveis usos da biomassa de lemnas para a valorização do tratamento de efluentes.

## **Avaliação dos aspectos morfológicos e de sanidade vegetal**

### **Avaliação da população de lemnas nas lagoas**

Durante o período de avaliação foram observadas diversas mudanças no aspecto das populações de *Landoltia punctata*, nas lagoas de tratamento. Assim, foram registrados eventos de difícil mensuração, mas de fundamental importância para o manejo, pois refletem avaliações simples e rápidas feitas à primeira vista, podendo gerar um diagnóstico prático. Os principais eventos observados e destacados foram: Manchas esbranquiçadas; sobreposição intensa; arraste pelo vento; contaminação por *Wolffiaspp*; contaminação por algas e abertura de clareiras.

Nos períodos com maior densidade de lemnas nas lagoas apareceram manchas com colorações distintas que variaram entre o amarelado, branco e cinza (cores de 4 a 8 conforme a tabela de cores descritas nas tabelas 4 e 5 pg 69). Ao analisar a composição das manchas foram notadas algumas características importantes. Em primeiro lugar observou-se a ocorrência de 2 tipos de manchas, as quais foram chamadas de: 1- manchas de super-população e 2- manchas de necroses. As manchas de super-população são caracterizadas pela coloração amarelada (4, 5 e 6) a cinza (8) onde observa-se um nítido emaranhado de lemnas com muitos indivíduos presos em baixo da camada superficial. Nesse emaranhado as plantas que estão por baixo entram em decomposição formando uma “pasta cinzenta” (figura 76A). Acredita-se que a principal causa dessas manchas seja a elevada densidade de plantas, porém existe um segundo fator observado, o qual é considerado de grande importância, pois essas manchas podem ter início durante o manejo de coleta de biomassa. Ou seja, quando a rede coletora é passada sobre a superfície provoca fortes turbulências na água arrastando parte da biomassa para o fundo, essas plantas, ao emergirem de volta, ficam presas sob a cobertura original e morrem por falta de luz e CO<sub>2</sub>.

Já as manchas de necrose apresentam coloração branca (7) e são compostas por frondes (folhas) mortas, despigmentadas, as quais permanecem flutuando (figura 76F). Essas manchas são atribuídas a mortalidade rápida em alguma região específica da lagoa, cujas causas podem ser toxidade, doenças, ou a senescência (envelhecimento) natural. No caso da senescência natural, as manchas brancas indicam que a biomassa não está sendo removida em quantidade suficiente. Pois,

cada fronde “mãe” produz cerca de 10 frondes “filhas” antes de entrar em senescência e morrer, contudo mesmo depois de morta a fronde continua flutuando e competindo por espaço e luz (SKILICORN et al., 1993). Ou seja, se a biomassa não for removida adequadamente aumentará o número de frondes mortas. A densidade média de plantas em LM1 (mais de 700g/m<sup>2</sup>) foi visualmente classificada com sendo alta, pois houve sobreposição de plantas e manchas durante quase todo o período.

A ação de ventos fortes e prolongados afeta negativamente a população de lemnas, tanto em lagoas de tratamento como no ambiente natural (LANDOLT E KENDELER, 1987; IQBAL, 1999; POTT, 2000). Na região litorânea de Santa Catarina são comuns ventos fortes do quadrante sul durante o outono/inverno e do quadrante nordeste durante a primavera/verão. Deste modo, as lagoas de lemnas avaliadas neste estudo sofreram ações negativas dos ventos durante o período experimental. Esse fato foi observado principalmente nos meses de julho e agosto, onde ventos do quadrante sul deslocaram a biomassa de lemnas para a borda das lagoas abrindo uma grande clareira e permitindo a incidência de luz solar na coluna d'água (figura 77D). Esse fato propiciou o desenvolvimento de algas prejudicando o tratamento e o desenvolvimento das lemnas, devido à competição por nutrientes (figura56- clorofilaa).

Como foi dito anteriormente, a formação de clareiras na cobertura de lemnas deve ser evitada para maximizar a eficiência das lagoas no tratamento do efluente. Contudo essas clareiras podem ser um indicador, sugerindo modificações no manejo. Por exemplo, se as clareiras tornam-se abundantes (mesmo sem a ação do vento) a remoção da biomassa deve ser suspensa até a reestruturação da cobertura, com o fechamento destas aberturas. As clareiras estão relacionadas com baixas densidades da cobertura de lemnas, ou com a ação de ventos, sendo que no último caso o fechamento das clareiras é rápido ocorrendo alguns minutos após o fim das rajadas de vento.

A partir do mês de setembro foi observada a contaminação das lagoas de lemnas por outras macrófitas da sub-família *Lemnoideae*, as wolfias (*Wolffia* spp.)(figuras78). As plantas do gênero *Wolffia* se adaptam às mesmas condições das outras lemnáceas sendo invasoras comuns. Essas plantas são bastante pequenas (com menos de 1mm) e não possuem raízes, são comumente dispersas por aves aquáticas ou até anfíbios. Assim a contaminação por wolfias teve início em LM2 passando rapidamente para LM1, sendo que a dinâmica da população

variou bastante ao longo do período avaliado. Essas macrófitas são menos eficientes na remoção de nutrientes e produzem menos proteína quando comparadas aos gêneros *Lemna* e *Landoltia* (BERGMAN et al., 2000). Esse fato indica que se a invasão por wolfias for intensa, o tratamento e a valorização do efluente podem ser prejudicados.

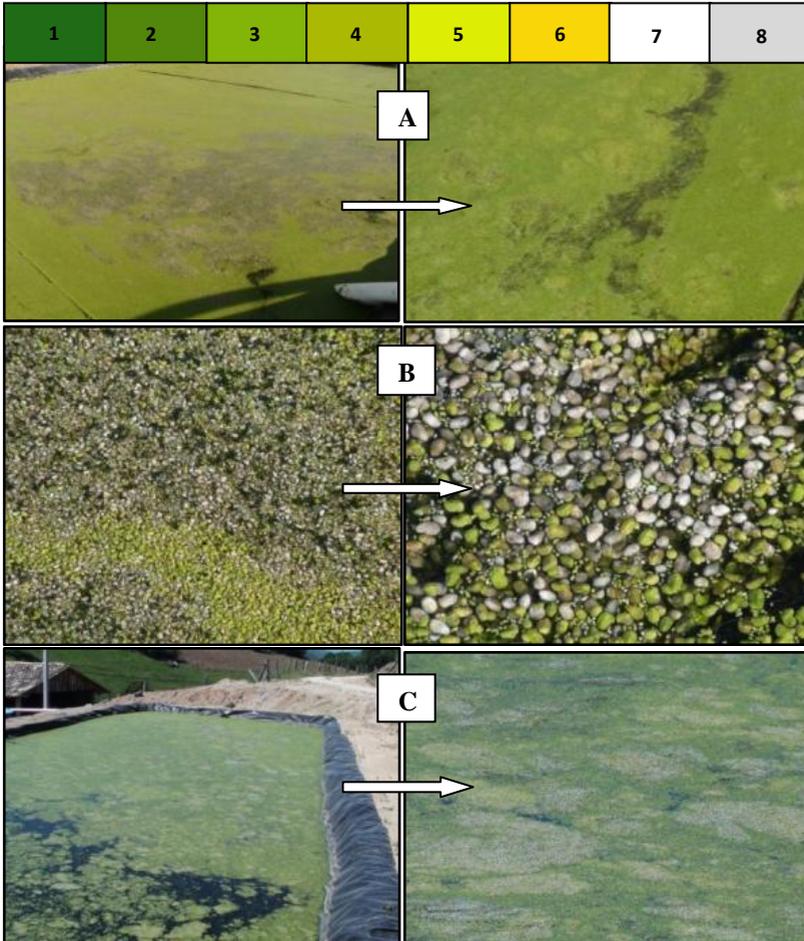


Figura 76: Diferentes aspectos da população de lemnas observados ao longo do experimento: (acima) paleta de cores; (A) Manchas de superdensidade, amareladas a cinzas. (B) Manchas de necroses, esbranquiçadas. (C) Clareiras e diversas manchas, no mesmo período.

Além da contaminação por wolfias e algas, em alguns períodos, observou-se também fenômenos pontuais de infestações de moscas (dípteros) tendo ocorrido apenas em LM1 no período crítico, com elevada DQO e temperatura (novembro) (Figura 77B). Gomes (2010) e Fernandes (2009) observaram dípteros similares em lagoas de estabilização no tratamento de dejetos suínos e de lixiviados, deste modo acredita-se que estas não consumam as lemnas, como habito alimentar, mas sim microalgas (no caso dos estágios larvais). Em LM2 foram observadas grandes populações de anfíbios, em diferentes estágios de desenvolvimento (girinos, juvenis e adultos) (figura 77C). Por possuírem respiração cutânea ou branquial (dependendo da fase) esses organismos não são comuns em ambientes contaminados, com pH extremo, com elevadas concentrações de amônia ou salinizados. Assim, os anfíbios foram vistos como indicadores da boa qualidade do efluente em LM2.

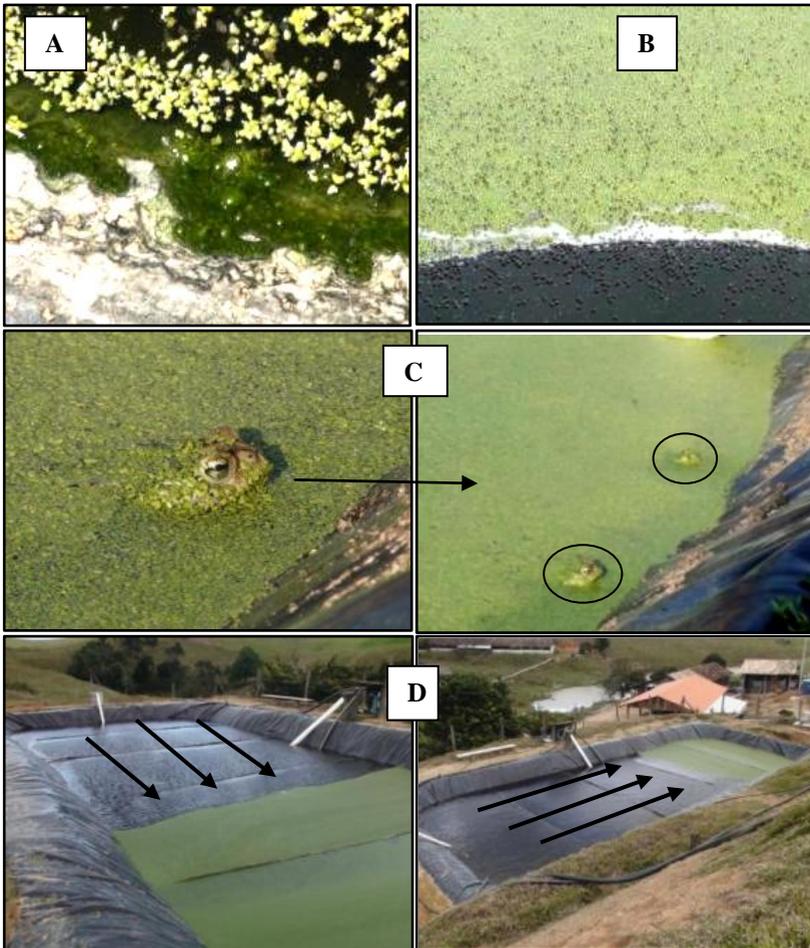


Figura 77: Fatores de possíveis interferências nas lagoas de lemnas: (A) Desenvolvimento de algas; (B) Infestação de moscas (dípteros); (C) desenvolvimento de anfíbios (apenas em LM2); (D) Ação de ventos fortes sobre a cobertura de lemnas.

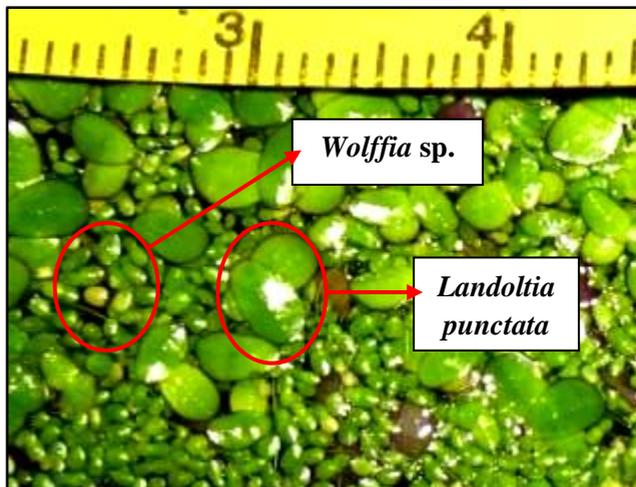


Figura 78: Proliferação de *Wolffia* spentre as frondes de *L. punctata*.

#### Aspectos morfológicos de indivíduos (clones de lemnas)

No estudo de lagoas de tratamento com macrófitas é consensual que as características físico-químicas da água, onde se desenvolvem as lemnaáceas, afetam diretamente a morfologia e fisiologia dessas plantas (LANDOLT, 1986; CEDEGREEN e MADSEN, 2002). Assim, alguns parâmetros morfológicos, como comprimento de raízes, comprimento das frondes e coloração podem ser indicadores da qualidade da água e do estado fisiológico das plantas (CROSS, 2006). Como a absorção de nutrientes, alvo do presente estudo, é um processo fisiológico que depende da saúde dos organismos, esses parâmetros morfológicos foram avaliados durante o experimento e serão discutidos a seguir.

No presente estudo, foram medidas as raízes de 250 (clones) indivíduos ao longo do período de avaliação. Observou-se que o comprimento médio das raízes foi significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) entre as lemnas desenvolvidas em LM1 e LM2 sendo  $21,5 \pm 9,1$  e  $26,8 \pm 10,8$  mm respectivamente. Esse fato deve-se, provavelmente, as diferenças na concentração de nitrogênio entre as duas lagoas, sendo este nutriente mais abundante em LM1. A figura 79 demonstra a dispersão de dados correlacionando o comprimento de raízes e a concentração de  $N-NH_3$ . Considera-se que houve uma correlação negativa (fraca) entre os dois fatores, ou seja, quanto maior a concentração de amônia, menor o comprimento das raízes das lemnas.

Este dado é confirmado por Cedegreen e Madsen (2002), em um estudo com *Lemna minor*, onde afirmam que a área das raízes, assim como das folhas, cresce com a diminuição do nitrogênio disponível no meio. Contudo, o atual experimento se deu em escala real eliminando a possibilidade de isolar os fatores condicionantes do crescimento, como a concentração de outros nutrientes, densidade de cobertura, temperatura, etc.

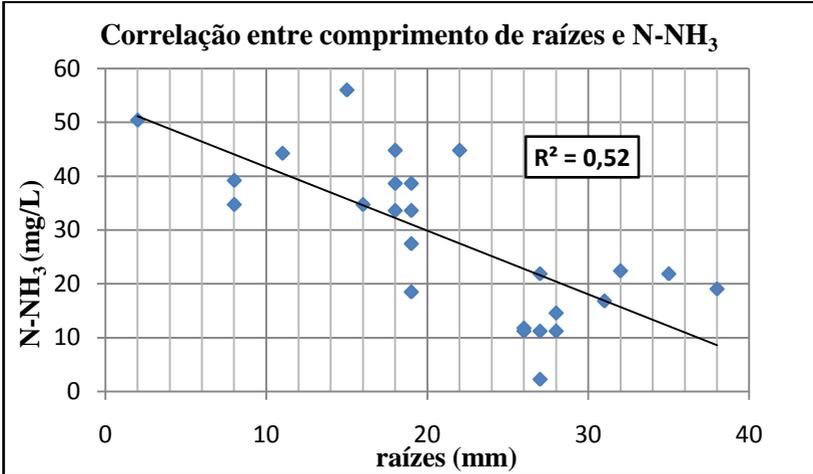


Figura 79: Correlação entre comprimento das raízes e a concentração de N-NH<sub>3</sub>, em LMI.

Ao analisar a variação dos dados para o comprimento de raízes ao longo do período experimental nota-se uma grande amplitude. Na figura 80 observa-se que nos meses de agosto e novembro a média do tamanho das raízes foi baixa coincidindo com períodos de extremas densidades de cobertura (figura 69 –densidade de biomassa) e de elevação nas concentrações de nitrogênio amoniacal (Figura 60 - amônia). A experiência empírica, decorrente de observações feitas ao longo de três anos, aponta para o fato de que o comprimento das raízes entre 20 e 30mm são indicadores de bom estado fisiológico para *Landoltia punctata* em lagoas de tratamento de dejetos suínos. De forma complementar observou-se também uma grande amplitude no comprimento de raízes entre indivíduos dentro de uma mesma amostra, este fato deve-se, provavelmente, a presença de frondes novas, cujas raízes ainda estão em crescimento.

Assim é evidente que existe uma “resposta” na morfologia destes organismos para as variações na composição do efluente e que este parâmetro pode auxiliar no diagnóstico do tratamento e consequentemente nas práticas de manejo.

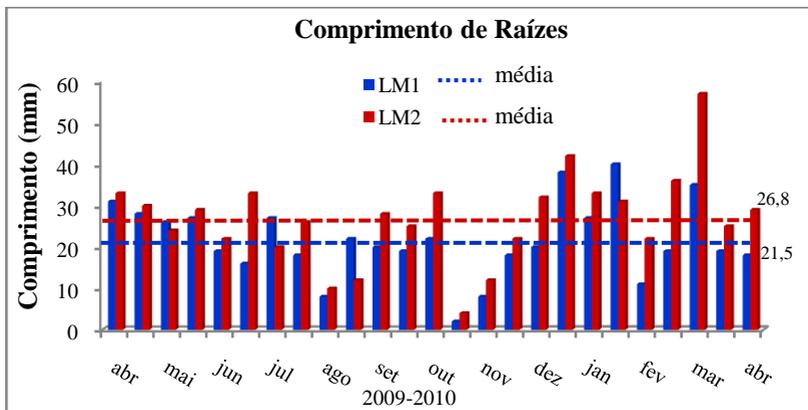


Figura 80: Variação do comprimento das raízes das lemnas o longo do período experimental, em LM1 e LM2 e os respectivos valores médios

Para o comprimento das frondes (folhas) o comportamento observado foi bastante similar ao das raízes havendo uma proporcionalidade entre as duas estruturas, ou seja, quando as raízes eram pequenas, as frondes geralmente se apresentavam diminutas também. Em concordância, Cedegreen e Madsen (2002) esclarecem que as lemnáceas absorvem nitrogênio tanto pelas raízes como pelas frondes, e a concentração deste nutriente afeta a área de absorção da planta como um todo. Esse fato é ilustrado na figura 81, onde vê-se na imagem (A) frondes com 1,8mm, em média, e raízes com 4mm, já na imagem (B) vê-se frondes com 4,5mm e raízes com 34mm. Do mesmo modo, este parâmetro foi significativamente diferente ( $p < 0,05$ ), entre LM1 e LM2 sendo  $3,8 \pm 1,1$  e  $3,1 \pm 1,0$ mm respectivamente.

A competição por nutrientes, luz e  $\text{CO}_2$  pode ser a causa das grandes diferenças no tamanho das frondes encontradas em uma mesma amostra. A princípio pode-se deduzir que o comprimento das frondes não é um bom parâmetro para uma avaliação rápida e prática, no diagnóstico de lagoas de tratamento com lemnas. Pois, além de ser

muito variável, é também um parâmetro de difícil avaliação devido a pequena dimensão, sendo necessária uma precisão de 0,1mm e conseqüentemente requerendo equipamentos, como lupa, ou interpretações digitais.



Figura 81: Exemplo de tamanhos de frondes e raízes entre amostras (dias 04/11/09 e 12/01/10)

### **Avaliação da coloração das lemnas como método analítico de sanidade vegetal**

A observação da cor para a avaliação da sanidade de vegetais é, primeiramente, uma ação empírica e intuitiva, pois folhas amareladas passam uma impressão de senescência, em qualquer espécie vegetal. Contudo, a sistematização através da paleta de cores, desenvolvida para este estudo, proporcionou uma melhor mensurabilidade deste parâmetro como um indicador da sanidade vegetal.

Segundo Cross (2006) é esperado que 2 a 5% das frondes, em uma população saudável, sejam senescentes tornando-se amareladas e permanecendo flutuantes mesmo depois de mortas. Esse fato confirma que a presença de frondes amarelas e brancas é comum, mesmo em populações saudáveis, porém quando essa proporção aumenta pode indicar problemas de sanidade na população (SKILICORN et al., (1993). A remoção de nutrientes, almejada no processo de tratamento, é dependente do estado fisiológico destes organismos, ou seja, a boa saúde destes vegetais garante o sucesso em seu crescimento e a consequente remoção de nutrientes. A pigmentação verde (clorofila) é um indicador de atividade fotossintética, pois folhas com pouca clorofila (amareladas) possuem uma capacidade fotossintética reduzida ou nula (TAIZ e ZIGER, 2006). Conclusivamente, a atividade fotossintética é responsável pela incorporação de oxigênio no sistema de tratamento, tendo participação na nitrificação e oxidação de matéria orgânica.

Assim, utilizando –se a paleta de cores desenvolvida para este estudo (tabelas 4 e 5, pg 74), conforme descrito no item 4.1.7 (pg 72-74) foi realizada uma avaliação do estado da sanidade da população de lemnas, nas lagoas de tratamento, com base na cor predominante na população amostrada. Observou-se que LM1 apresentou uma população levemente mais saudável do que LM2 diferentemente do que era esperado, pois LM1 recebe cargas de amônia mais elevadas. Contudo LM2 é mais rasa estando mais sujeita às variações, também, não era esperado que LM2 chegasse a concentrações de fósforo tão baixas como em julho/agosto e março e talvez a deficiência deste nutriente, ou de outro não avaliado, pode ter afetado a sanidade desta população Na figura. 82 (A1 e B1) pode ser observada uma amostra da população de lemnas coletada em janeiro de 2010, em ambas as lagoas, as quais encontram-se saudáveis, com coloração verde escuro e sem necroses. Já em C1 e D1 destacam-se amostras coletadas em novembro apresentado populações debilitadas, com frondes amareladas, brancas e cinzas

indicando morte e decomposição de uma parcela da cobertura de lemnas, principalmente em LM2. Esse mesmo evento ocorrido em novembro é verificado em diversos parâmetros avaliados anteriormente, onde verifica-se aumentos na concentração de nitrogênio, clorofila *a*, sólidos suspensos e uma brusca diminuição na densidade de lemnas atribuída a fatores inerentes ao ciclo reprodutivo das macrófitas. É notório também que em janeiro a pluviosidade foi bastante elevada diluindo a concentração de amônia.

A coloração “1” (estado ótimo), obtida em plantas padrão cultivadas em meio nutritivo foi raramente observada nas populações de lemnas, nas lagoas de tratamento, devido às situações de estresse impostas pelo meio. Landolt e Kandeler (1987) citam que o sombreamento de populações de lemnas promove um escurecimento na coloração das frondes, contudo, tanto nas lagoas como para as plantas utilizadas como padrão, a insolação foi direta sem nenhum bloqueio para radiação solar (presença de árvores, muros, etc.).

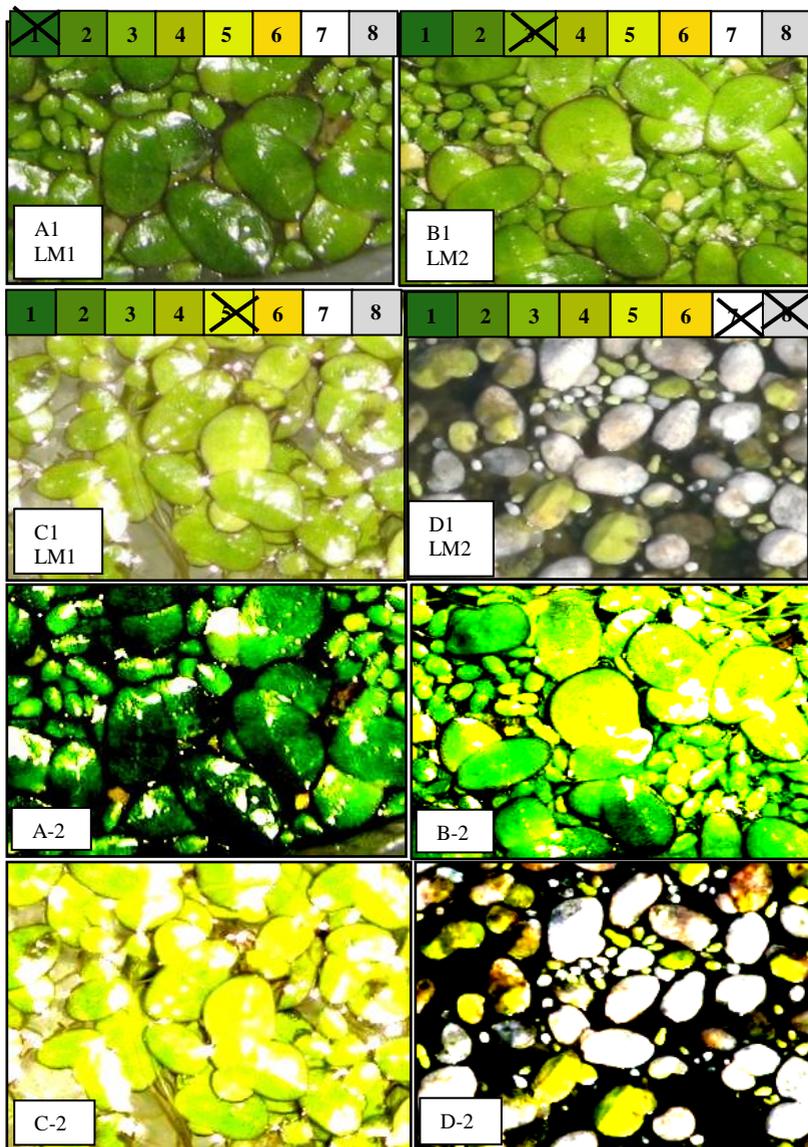


Figura 82: Imagens para avaliação da sanidade vegetal segundo a coloração: (A-1) janeiro - LM1; (B-1) janeiro - LM2; (C-1) novembro - LM1; (D-1) novembro - LM2. (A-2 a D-2) Mesmas imagens com 80% de contraste. As cores dominantes estão marcadas com um “X” sobre a paleta.

A variação das cores atribuídas ao estado de sanidade das plantas, ao longo do período experimental, pode ser observada na figura 83. A soma dos valores da escala de cores em LM1 foi 89 e em LM2 92 este também é um indicador de que a sanidade da população em LM1 permaneceu melhor. Pois, quanto maior o número atribuído a cor da escala pior o estado de saúde da população amostrada. Novamente pode-se constatar nesta figura que o pior período para a saúde das lemnas foi em novembro seguido pelo mês de agosto. Acredita-se que os fortes ventos incidentes neste período tenham sido um fator de estresse para a população de lemnas como foi citado anteriormente.

É importante destacar que o número de frondes amostradas, durante todo o período experimental, pode ter sido baixo ao comparar-se com a população total das lagoas e, talvez, as amostras possam ser pouco representativas. Pois, em uma cobertura de lemnas, sem sobreposição, é esperada uma densidade de 10frondes/cm<sup>2</sup> somando uma população mínima de aproximadamente 1,5 milhões de frondes, somente em LM1.

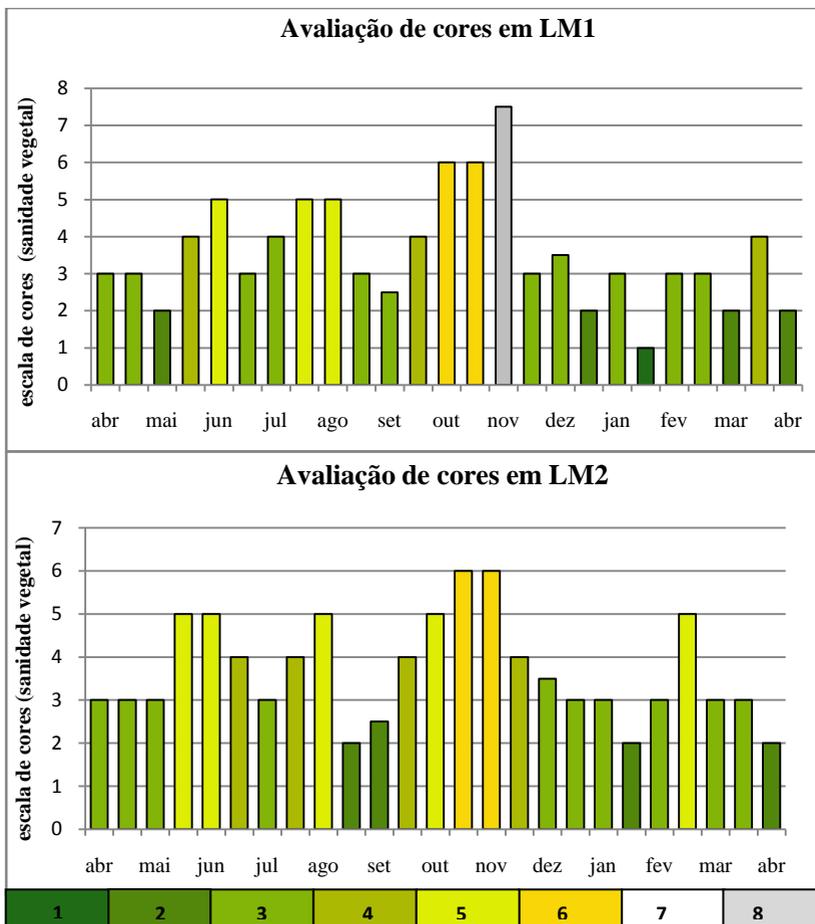


Figura 83: Atribuição de cores para a biomassa de lemnas desenvolvida em LM1 e LM2 ao longo do período experimental, como um indicador de sanidade. Estado ótimo = 1 e 2; Bom = 3; Regular = 4 e 5; Ruim = 6; Mortas = 7 e 8.

As manchas de necroses, cloroses e infestações fungicas foram observadas na fronde senescentes como processo natural de envelhecimento. Contudo, esses sintomas de disfunção também foram observados em frondes novas e verdes, durante o período de maior densidade populacional nas lagoas (de julho a setembro). A correlação entre a densidade e a sanidade da população parece ser frequente, pois as frondes que permanecem submersas nos emaranhados de raízes são

rapidamente atacadas por fungos e bactérias entrando em decomposição. A utilização do aumento do contraste em 80% auxiliou no reconhecimento destas manchas conforme indica a figura 84.

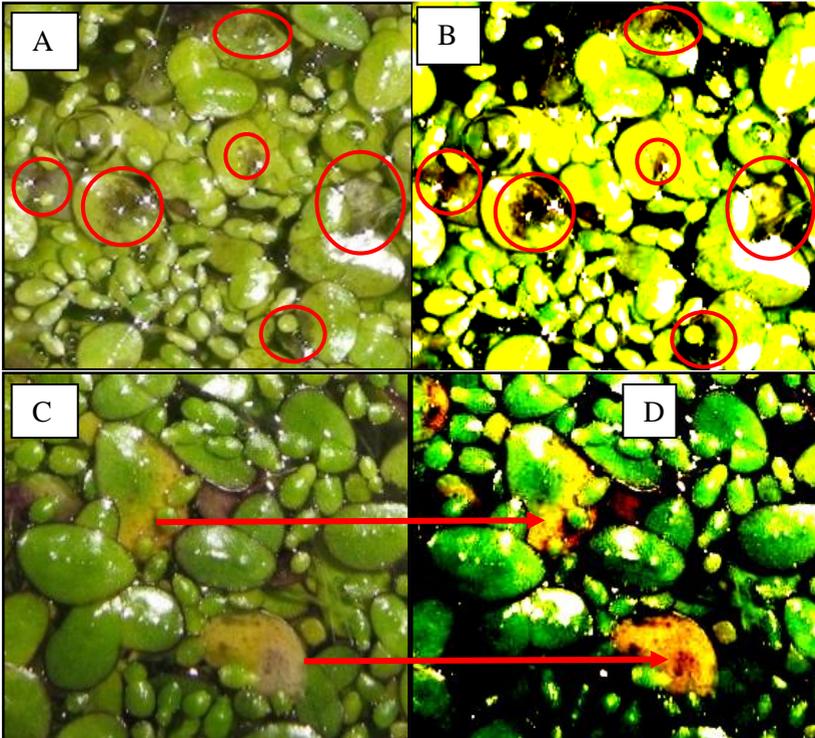


Figura 84: Necroses e cloroses em frondes amostradas nas lagoas de tratamento. A e B população de LM1 em agosto (círculos vermelhos destacando as lesões na imagem com contraste em 80%)

Existem hoje no mercado diversos sistemas digitais para avaliação da sanidade de plantas através de análises de coloração. Nestes, as plantas são incubadas em estufas com câmeras filmadoras acopladas, as quais capturam imagens sendo simultaneamente interpretadas por *softwares* específicos (figura 85). Estas práticas são realizadas para testes ecotoxicológicos e avaliações de fisiologia vegetal, porém para avaliação de lemnas em lagoas de tratamento, como indicadores da qualidade do efluente ou da eficiência do tratamento, não foram encontrados registros.

O aumento no contraste das imagens que auxiliou nas análises das cores é uma técnica simples que pode ser feita em softwares de visualização de imagens como o Microsoft Office Picture Manager ou mesmo diretamente no Microsoft Word.

Assim o estudo desenvolvido nesta pesquisa pode contribuir para o diagnóstico e manejo de lagoas de tratamento com lamas, através de verificações visuais e comparações colorimétricas que podem ser feitas a campo, através de uma paleta de cores. Mas para isso é aconselhável o desenvolvimento de outros estudos, a fim de se aprimorar a técnica isolando os fatores de estresse, em experimentos com condições controladas.

## 5.2. Remoção de nutrientes e fixação de CO<sub>2</sub> em altas concentrações (experimento piloto)

A seguir serão apresentados e discutidos os resultados referentes ao experimento em bancada, o qual foi desenvolvido para verificar os efeitos de diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> no desenvolvimento da lemnácea *Landoltia punctatae* na remoção de nutrientes pelas mesmas. Os resultados provêm do monitoramento desenvolvido sobre três repetições de cada ensaio no período entre novembro de 2008 e fevereiro de 2010.

### 5.2.1 Pré-cultura

Durante o início do cultivo das lemnas nos reatores experimentais observou-se um período de latência, onde o crescimento foi baixo ou quase nulo. Segundo Cross (2006) e Landesman et al, (2005) essa fase é esperada para estes organismos quando são transferidos para um novo ambiente e refere-se ao período de adaptações metabólicas. Após a primeira semana, a taxa de crescimento apresentou uma elevação, estabilizando em 20g/semana em cada reator. Este crescimento é bastante inferior ao encontrado para as lemnas produzidas no ambiente natural, sob radiação solar, mesmo em lagoas de tratamento. Por exemplo, nas lagoas de tratamento avaliadas no presente estudo (LM1), a produção semanal para uma área equivalente a do reator fotossintético (825cm<sup>2</sup>) seria 105g/semana.

Não se sabe ao certo os motivos desta baixa produtividade nos reatores, mas podem estar relacionados à iluminação artificial, pois foram constatadas alterações morfológicas típicas da influência luminosa, como por exemplo, redução da área foliar e despigmentação homogênea (figura 86). Outro fator que parece causar estresse sobre lemnas cultivadas em bancada é a prática de biometria total, pois nesse processo as plantas são removidas, secas com papel toalha, pesadas em balança e depois introduzidas nos reatores novamente. Esse manejo, feito a cada dois dias, pode ter prejudicado o crescimento esperado.



Figura 85: Diferença morfológica entre lemnas (*Landoltia punctata*) cultivadas nos reatores fotossintéticos e sob iluminação solar, com o mesmo meio nutritivo.

### 5.2.2 Monitoramento da concentração de CO<sub>2</sub> na fase gasosa

Os dados utilizados para essa avaliação são resultado do agrupamento das repetições dos tratamentos, em médias. As repetições rejeitadas pela análise de variância (Teste de Tukey) foram desconsideradas. Assim o número amostral de cada tratamento está expresso na tabela 17.

Tabela 17: Número de amostras para cada tratamento

<b>Tratamentos</b>	<b>Número de amostras (N)</b>
<b>Ct</b>	8
<b>C1</b>	7
<b>C2</b>	6
<b>C3</b>	9

De acordo com a figura 87, a concentração de CO<sub>2</sub> sofreu uma brusca redução logo nos primeiros três dias de experimento, para todos os tratamentos do ensaio 1 (Ct, C1 e C2). Esta figura descreve claramente que as lemnas consumiram o dióxido de carbono até exaurir este recurso dentro dos reatores. Muler *et al.*, (1977) citam que em 40ppm de CO<sub>2</sub> o crescimento das lemnas é nulo, assim, acredita-se que ao atingir baixas concentrações, a fixação do carbono não ocorre impedindo o crescimento das plantas. Ao observar o tratamento C2 nota-se uma fase de decaimento linear suave no primeiro dia passando para um decaimento exponencial, no segundo e terceiro dia, estabilizando novamente após o quarto dia. Esse comportamento pode indicar que devido, ao pequeno volume da fase gasosa nos reatores (20L) o CO<sub>2</sub> foi consumido até tornar-se limitante para o desenvolvimento das lemnas.

Para o segundo ensaio (Ct e C3), a elevada concentração sob a qual as lemnas foram expostas parece não ter causado efeitos deletérios, sendo que a fixação de carbono proporcionou uma redução de 100.000 para 63ppm  $\pm$  50 em 7 dias (figura 88). Assim, a redução da concentração de CO<sub>2</sub> no tratamento C3 foi cerca de 15 vezes maior do que no tratamento C2. Ao analisarmos os resultados obtidos, para ambos aos ensaios (Ct, C1, C2 e C3), verifica-se que a concentração de dióxido de carbono foi reduzida a níveis mínimos possíveis para a fixação biológica pelas lemnas (figura 88 e tabela 18). Esse fato indica que a carga de CO<sub>2</sub>, isso é, a massa total do gás (em mg) nos reatores, não foi suficiente para sustentar o crescimento máximo das plantas. Contudo, esse fato permitiu observar alguns pontos importantes. Primeiramente, concentrações de CO<sub>2</sub> cerca de 260 vezes superior a atmosférica não inibiu o crescimento das lemnas e também demonstrou a importância da manutenção deste gás em concentrações suficientes para o desenvolvimento destas plantas.

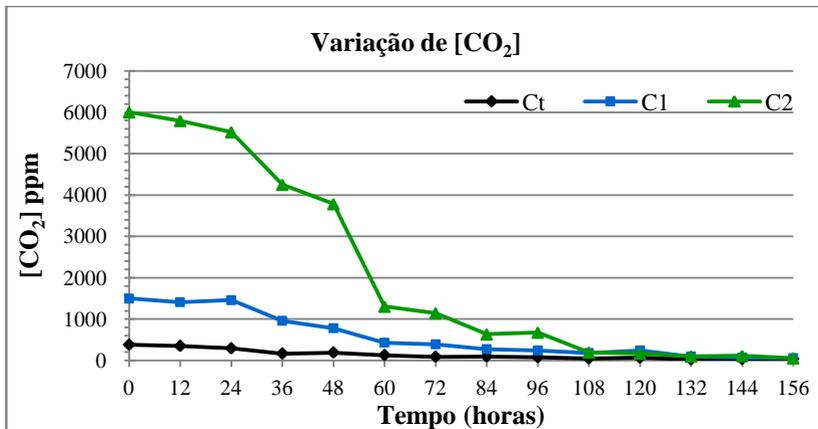


Figura 86: Variação na concentração de [CO<sub>2</sub>] na fase gasosa, entre os tratamentos (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm).

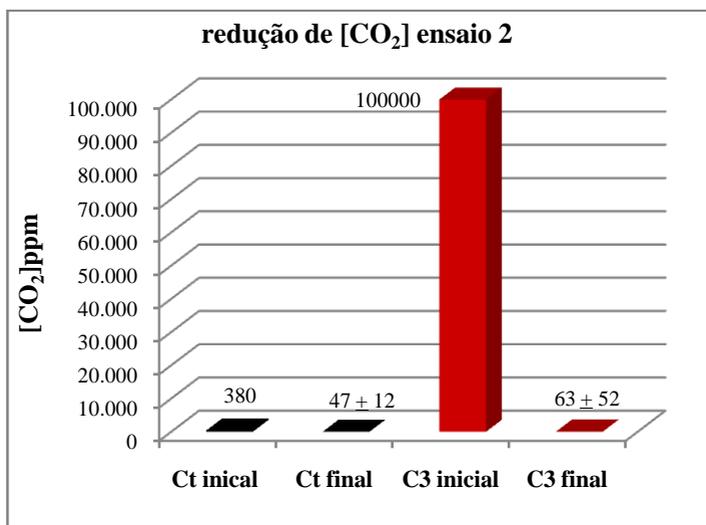


Figura 87: Redução da concentração de CO<sub>2</sub> no ensaio 2 (Ct = 380ppm; C3= 100.000ppm).

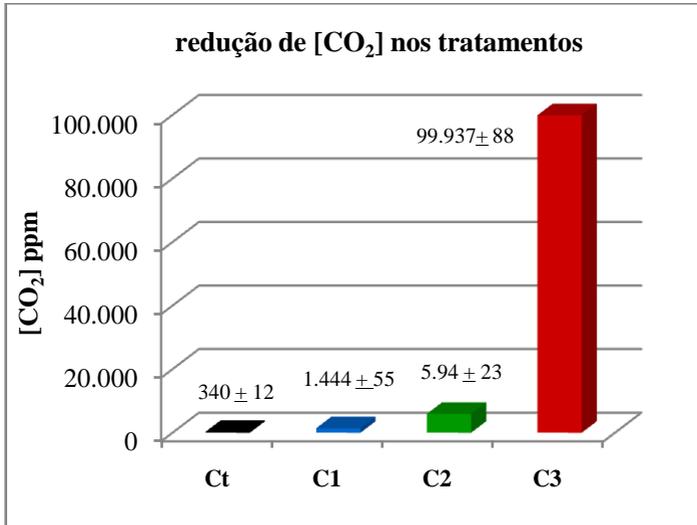


Figura 88: Concentração de CO<sub>2</sub> média e desvio padrão reduzida em todos os tratamentos avaliados (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm).

A carga de CO<sub>2</sub> removida foi proporcional à carga aplicada, pois como as plantas removeram praticamente todo o CO<sub>2</sub> disponível, quanto maior a carga, maior a remoção. A tabela 18 apresenta um balanço do dióxido de carbono na fase gasosa, dentro dos reatores. Nota-se que para as concentrações C2 e C3 a carga removida foi acima de 99% em relação a carga aplicada, contudo permanece uma quantidade residual próxima a 2mg. Filbin e Hough (1985) estudaram a atividade fotossintética de *Lemna minor* através da assimilação de carbono radioativo (<sup>14</sup>C), ao longo das estações do ano e obtiveram uma taxa de 2,48mgC/g/h, em média. No presente estudo não foi possível avaliar a taxa de absorção por unidade de massa (mg/g/h), pois a pesagem da biomassa somente pôde ser realizada no início e no fim dos testes, por outro lado foi determinada a taxa de absorção de CO<sub>2</sub> por reator e por área, as quais foram 7,23mgC/h e 7,15gC/m<sup>2</sup>/dia, respectivamente, para C3 (tabela 19). Este resultado é inferior quando comparado com Filbin e Hough (1985), os quais realizaram seu estudo sob condições atmosféricas normais para a concentração de gás carbônico, durante períodos de apenas 1,1/2h.

Tabela 18: Balanço de CO<sub>2</sub> nas câmeras de crescimento considerando a fase gasosa.

<b>Balanço de CO<sub>2</sub> na fase gasosa</b>				
<b>Tratamento</b>	<b>Ct</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
<b>[CO<sub>2</sub>]ppm inicial</b>	380	1.500	6.000	100.000
<b>[CO<sub>2</sub>]ppm final</b>	47a	56bc	52b	63c
<b>Redução [CO<sub>2</sub>] (%)</b>	89,21	96,27	99,13	99,94
<b>vol. CO<sub>2</sub>aplic. (mL)</b>	7,86	31	124	2070
<b>vol. CO<sub>2</sub>remov. (mL)</b>	7,04	29,89	123,12	2068,7
<b>carga CO<sub>2</sub>aplic.(mg)</b>	15,41	60,76	243,04	4057,2
<b>carga CO<sub>2</sub>remov. (mg)</b>	13,79a	58,59b	241,32c	4054,64d

(Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm)

### 5.2.3 Avaliação sobre a biomassa de lemnas

O crescimento da biomassa é o principal indicador da fixação de carbono e do estado fisiológico das lemnas, pois subentende-se que além do metabolismo basal, as plantas investem energia e nutrientes para o desenvolvimento. Assim, como pode ser observado na tabela 19, o tratamento que proporcionou o maior crescimento para a biomassa foi a concentração C3 (100.000ppm). Os demais tratamentos não proporcionaram um crescimento expressivo devido a indisponibilidade de gás carbônico, como citado anteriormente. Mesmo assim, a taxa de crescimento específico em C3 (0,10 g/g) foi menor do que a taxa obtida nas lagoas de tratamento avaliadas no presente estudo (0,24g/g, em LM1).

Segundo Landolt e Kandeler (1987), o teor de carbono na biomassa de lemnas coletadas no ambiente natural pode variar entre 30 e 50%. Assim, no presente estudo, a concentração deste elemento na biomassa de lemnas apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, onde C3 apresentou 38% e Ct 26%(tabela 19). Este parâmetro é de grande importância para avaliar o carbono fixado, uma vez que para organismos autotróficos fotossintetizantes, o carbono incorporado nas moléculas orgânicas é oriundo do CO<sub>2</sub>. Deste modo, é importante notar que o tratamento C3, além de produzir mais biomassa, também fixou mais CO<sub>2</sub> por unidade de biomassa. Em concordância,

Andersen e colaboradores (1985), observaram uma produção de biomassa cerca de 2,5 vezes maior para lemnas (*Lemna gibba*) cultivadas sob 6000ppm do que em 350ppm de CO<sub>2</sub> (127.5 e 52,7mg de biomassa seca em 6 dias, respectivamente). Para esses mesmos autores, a taxa de fixação de carbono aumentou de 15 para 40mgCO<sub>2</sub>/dm<sup>2</sup>/h ao elevar a concentração de CO<sub>2</sub> de 350 para 6000ppm. Estes concluem que a concentração ótima de gás carbônico para o crescimento das lemnas é muito superior ao que é encontrado para outras plantas (1000 a 2000ppm). Este fato é reforçado pela existência de estômatos não funcionais (ficam sempre abertos) e pela alta taxa de crescimento (PRAK et al., 1990). Também, deve ser levado em consideração que, segundo Driever (2005) a inibição do crescimento de lemnas por alta densidade de biomassa, em lagoas de tratamento, se dá pela competição por CO<sub>2</sub> e nutrientes. Neste caso a manutenção de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> pode incrementar a taxa de crescimento mesmo em altas densidades de biomassa.

Ao extrapolar os dados obtidos nos reatores (em C3) para a escala das lagoas de tratamentos conclui-se que a biomassa produzida removeria cerca de 25tC/ha/ano. Por outro lado, se os dados obtidos por Andersen et al (1985), ao acrescentar 6000ppm de CO<sub>2</sub>, forem extrapolados para a lagoa de tratamento avaliada neste estudo (LM1), a taxa de crescimento da biomassa passaria de 0,24 para 0,35 g/g , ou de 180 para 263g/m<sup>2</sup>/dia. Para uma biomassa com 40% de carbono, a remoção de CO<sub>2</sub> atmosférico pode chegar a 138tCO<sub>2</sub>/ha/ano. Considerando os achados de Lindeman (1972), que com a exposição de lemnas a um atmosfera de 50.000ppm de CO<sub>2</sub> obteve uma taxa de fixação de 3,6gCO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>/h, a remoção de gás carbônico em lagoas de tratamento poderia chegar a 315tCO<sub>2</sub>/ha/ano. Esse valor é cerca de 20 vezes superior à fixação de CO<sub>2</sub> proporcionada pelo reflorestamento com eucaliptos (14t/ha/ano), sendo essa uma importante ferramenta utilizada para o sequestro de carbono, em projetos de MDL.

Deste modo, acredita-se que, futuramente, as lagoas de lemnas possam ser vistas como uma tecnologia que contribui para a redução da emissão de GEE em sistemas de tratamento de efluentes, ao absorver o dióxido de carbono emitido pela queima de biogás, por exemplo. Contudo, ainda são necessários estudos, em escalas mais próximas da realidade para o tratamento de dejetos suínos, considerado as emissões decorrentes da ação de microorganismos, para o devido balanço de massa no ciclo do carbono.

Tabela 19: Avaliação da biomassa de lemnas nos diferentes tratamentos

	<b>Ct</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
<b>Peso inicial (g)</b>	30	30	30	30
<b>Peso final (g)</b>	30,6±0,5	31,1±0,8	33,15±1	61,23±4,2
<b>Umidade (%)</b>	94	93,8	92	90,5
<b>Peso adquirido seco (mg)</b>	36a	79,2b	252c	2.966d
<b>Cresc. Específico(g)</b>	0,6	1,1	3,15	31,23
<b>Taxa de cresc. (g/g/dia)</b>	0,003	0,005	0,014	0,102
<b>COT na biomassa (%)</b>	26a	33b	32b	38c
<b>C fixado (mg)</b>	9,36	26,14	80,64	1127,40
<b>Tax. fixação (mgC/h)</b>	0,06	0,17	0,52	7,23
<b>CO<sub>2</sub> fixado (mg)</b>	34,29	95,74	295,38	4129,68
<b>Proteína Bruta (%)</b>	15±2a	17±3a	26±4b	31±2b

(Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm)

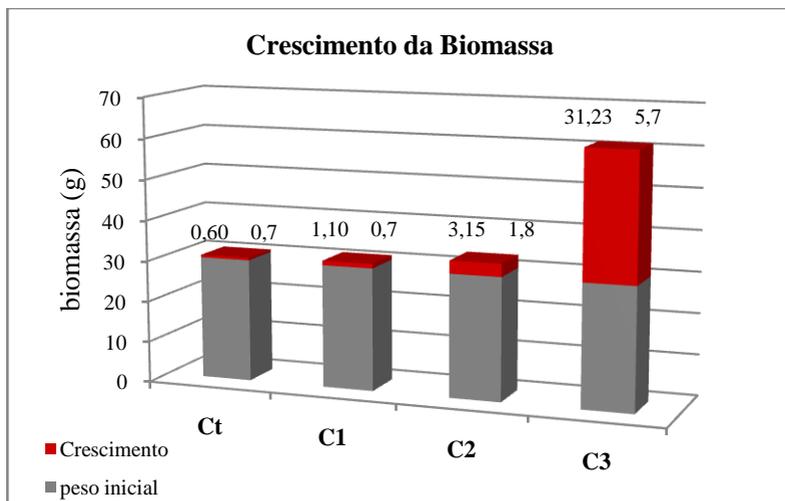


Figura 89: Crescimento da biomassa (em vermelho) sob as diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> avaliadas (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm).

## 5.2.3 Monitoramento da fase aquosa

### 5.2.3.1 Remoção de nutrientes do meio líquido

No ambiente natural, a concentração de nutrientes, como fonte de nitrogênio e fósforo é geralmente, o principal fator limitante para o desenvolvimento de lemnas, sendo que o  $\text{CO}_2$  está presente em concentrações praticamente constantes. Contudo, no estudo em reatores, o meio de cultura forneceu os nutrientes sem escassez, sendo que o  $\text{CO}_2$  foi o fator determinante para o crescimento e consequentemente para a absorção de nutrientes pelas lemnas. Assim observa-se nas figuras 91 e 92 que o tratamento C3, o qual disponibiliza mais  $\text{CO}_2$ , apresentou a maior remoção de nitrato, assim como de fosfato. Ao compararmos com a figura 87, nota-se que o decaimento de  $\text{CO}_2$ , de  $\text{NO}_3$  e  $\text{PO}_4$  ocorreu mais acentuadamente no mesmo período, entre 24 e 108h.

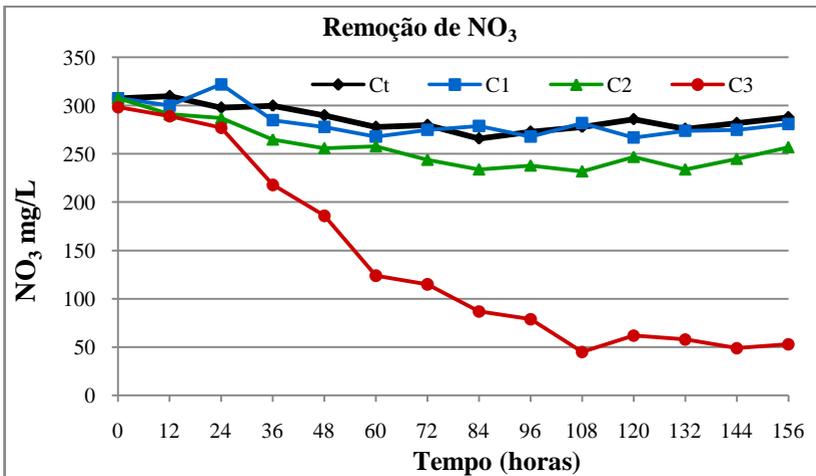


Figura 90: Variação da concentração média de nitrato nos tratamentos avaliados (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm).

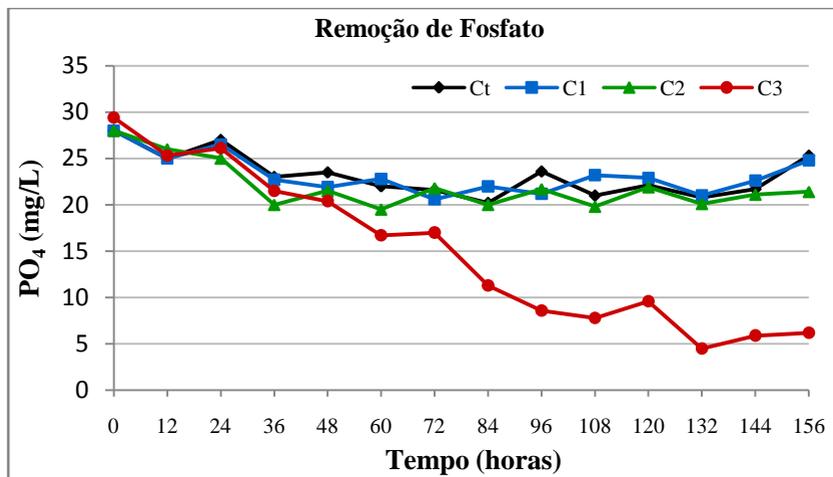


Figura 91: Variação da concentração média de fosfato nos tratamentos avaliados (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm).

Tabela 20: Redução de nitrato entre os tratamentos

<b>Nitrato (NO<sub>3</sub>)</b>				
	<b>Ct</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
<b>[ ] Inicial (mg/L)</b>	308	308	308	298
<b>[ ] Final (mg/L)</b>	288a	281a	257b	53c
<b>[Δ] (mg/L)</b>	20	27	51	245
<b>Eficiência (%)</b>	6	9	16	82
<b>Carga aplic. (mg)</b>	1231	1231	1231	1193
<b>Carga remov.(mg)</b>	79a	107b	203c	981d
<b>Taxa de remoção (mg/L/h)</b>	0,13	0,17	0,33	1,57
<b>Tax. rem.superficial (mg/m<sup>2</sup>/dia)</b>	296	400	760	3.786

(Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm)

Tabela 21: Redução de fosfato entre os tratamentos

<b>Fosfato (PO<sub>4</sub>)</b>				
	<b>Ct</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
[ ] <b>Inicial</b> (mg/L)	28	28	28	29
[ ] <b>Final</b> (mg/L)	25a	25a	21b	6c
[Δ] (mg/L)	3	3	7	23
<b>Eficiência (%)</b>	10	11	24	79
<b>Carga aplic.</b> (mg)	112	112	112	118
<b>Carga remov.</b> (mg)	11a	13a	26b	93c
<b>Taxa de remoção</b> (mg/L/h)	0,02	0,02	0,04	0,15
<b>Tax. rem.superficial</b> (mg/m <sup>2</sup> /dia)	40	48	96	344

(Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm)

De acordo com as tabelas 20 e 21, as taxas de remoção de nitrato e fosfato foram consideravelmente maiores nos tratamentos com concentrações de CO<sub>2</sub> mais elevadas (principalmente em C3). Cheng e colaboradores (2002b) avaliaram a remoção de N e P por lemnas (*Landoltia punctata*) cultivadas *in vitro* (sob [CO<sub>2</sub>] atmosférico) e obtiveram taxas de 0,9 e 0,13mg/L/h respectivamente. No presente estudo, as taxas de remoção de nutrientes no tratamento C3 (1,57mgNO<sub>3</sub>/L/h e 0,15mgPO<sub>4</sub>/L/h) foram superiores as encontradas por Cheng et al. (2002b), principalmente para remoção de nitrogênio sendo 58% maior. Contudo, na pesquisa de Cheng avaliou-se o nitrogênio total, ao passo que no presente estudo o nitrato foi a única fonte de nitrogênio nos reatores fotossintéticos.

Ao extrapolar os dados obtidos no tratamento C3 para lagoas de tratamento, a taxa de remoção de nitrogênio atingiria 3,8g/m<sup>2</sup>/dia, sem considerar a remoção via nitrificação/desnitrificação. Este valor é bastante elevado, sendo superior àqueles encontrados para a taxa de remoção de nitrogênio na maioria dos estudos com lagoas de lemnas. Para exemplificar citam-se taxas de 0,61g/m<sup>2</sup>/dia (LYERLY, 2004); 0,95g/m<sup>2</sup>/dia (CHENG *et al* 2002b) 0,54g/m<sup>2</sup>/dia (KORNER E VERMAAT *et al.*, 1998); 1,2g/m<sup>2</sup>/dia(BENJAWAN E KOOTTATEP, 2007). Esta discussão pode ser encontrada no ítem 5.1.3.1 (avaliação de nitrogênio – pg 104-109).

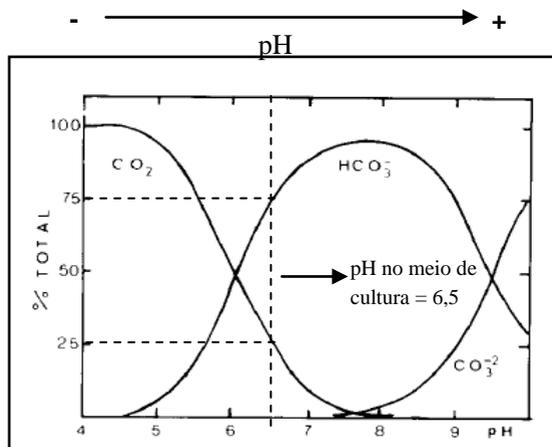
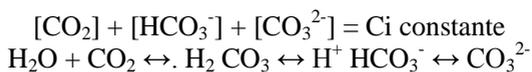
Diferentemente do que ocorre em lagoas de tratamento, a única via de eliminação de nitrogênio nos reatores fotossintéticos é a incorporação pela biomassa, uma vez que nesse ambiente a ação de

bactérias (desnitrificação) é desconsiderada. Assim, a remoção de nitrogênio e fósforo foi proporcional ao crescimento da biomassa nos reatores.

### 5.3.2 Monitoramento do CO<sub>2</sub> dissolvido

A concentração de dióxido de carbono dissolvido (CO<sub>2</sub>D) apresentou pequenas variações, diferentemente do que era esperado. Pois, com o aumento da concentração deste gás na fase gasosa (aumento da pressão parcial de CO<sub>2</sub>) existe a tendência de sua dissolução no meio líquido por difusão. Contudo parece que a camada flutuante de lemnas pode ter causado uma barreira física para a difusão do CO<sub>2</sub>, do meio gasoso para o meio líquido. Em lagoas de tratamento, ou no ambiente natural, existe a produção de dióxido de carbono a partir da respiração e fermentação por organismos heterotróficos, contudo no experimento aqui descrito essas atividades biológicas são consideradas nulas.

Apesar de a quantidade de carbono inorgânico (Ci) no meio líquido permanecer constante, a sua forma pode variar principalmente em função do pH (figura 93), mantendo o equilíbrio segundo a equação a seguir:



Fonte: Adaptado de Eshel e Beer (1986)

Figura 92: Formas de carbono inorgânico dissolvido, em função do pH.

Na presença de algas é esperada a elevação do pH devido à remoção de  $\text{CO}_2$  dissolvido pela fotossíntese, contudo, segundo Esher e Beer (1986) apenas 5% do carbono fixado pelas lemnas provém do meio aquoso. Cross (2006) acrescenta que os estômatos das lemnas (estruturas para trocas gasosas em plantas superiores) estão voltados para a atmosfera realizando as trocas gasosas no meio gasoso. Porém, no presente estudo, observa-se uma redução do  $\text{CO}_2$  dissolvido, assim como uma leve elevação do pH, demonstrando que em situações de estresse por falta de  $\text{CO}_2$ , as lemnas removem carbono inorgânico de meio aquoso (figura 94). Esse tipo de informação parece ser divergente entre os pesquisadores, pois Fabin e Hough (1985) afirmam que 85% do carbono fixado por *Lemna minor* pode ser oriundo do meio aquoso, isso em lagos ricos em carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), ou seja, com pH acima de 8 (figura 93).

Quando o pH atinge valores acima de 7,5 praticamente todo carbono inorgânico que se apresentava como  $\text{CO}_2$  dissolvido está na forma de bicarbonatos e carbonatos (figura 93). Deste modo, pode-se observar na figuras 94 e 95 que, com o declínio do  $\text{CO}_2$  D houve um leve aumento no pH, com exceção para o tratamento C3. Por outro lado, Esher e Beer (1986) afirmam que:

*“Apenas em sistemas fechados o  $\text{CO}_2$  oscila em função do pH. Esse fenômeno é utilizado por cientistas, no preparo de soluções com diversas concentrações de  $\text{CO}_2$  e  $\text{HCO}_3$ , para o estudo da fotossíntese em plantas aquáticas submersas. Quando a solução é marcada com carbono radioativo ( $^{14}\text{C}$ ), o radioisótopo rapidamente se distribui através das diversas formas químicas de carbono inorgânico, em suas respectivas proporções.”*

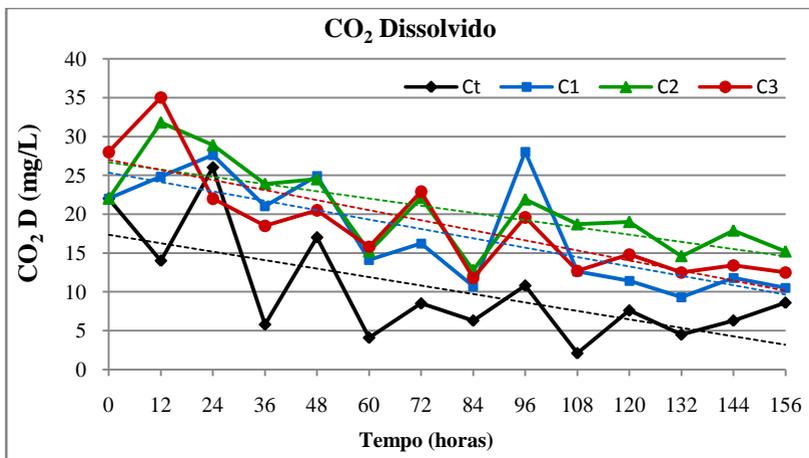


Figura93: Variação da concentração média de CO<sub>2</sub> dissolvido, ao longo do período experimental (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm).As linhas pontilhadas representam tendência linear.

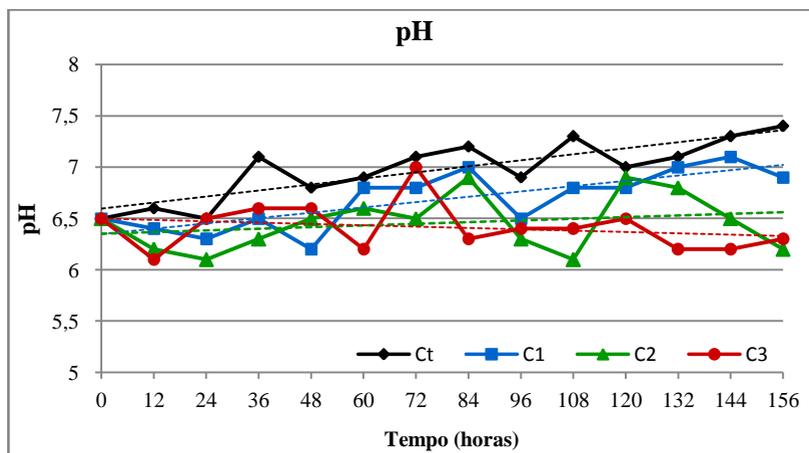


Figura 94: Variação média do pH nos reatores fotossintéticos, ao longo do período experimental, nos diferentes tratamentos (Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm). As linhas pontilhadas representam a tendência linear.

Ao observar a figura 94 nota-se que há um aumento na concentração de  $\text{CO}_2$  dissolvido, nas primeiras 12 horas dos ensaios, devido ao aumento na concentração deste gás na fase gasosa. Também é notório que, tanto o pH como o  $\text{CO}_2\text{D}$ , sofreram oscilações constantes entre os períodos luminosos e escuros formando uma linha tipo “zig-zag”. Esse fato é esperado devido às reações fotossintéticas de fixação do carbono (Ciclo de Calvin) ser dependentes de luz, ou seja, a fixação do dióxido de carbono ocorre no período luminoso, já no período escuro a respiração mitocondrial é responsável pela emissão deste gás, porém em menor proporção (TAIZ e ZIGER, 2006).

A carga de  $\text{CO}_2$  dissolvido foi mais relevante para os tratamentos com menor concentração de  $\text{CO}_2$  na fase gasosa (Ct e C1). Pois ao comparar as tabelas 22 e 23, onde estão expressas as cargas removidas e aplicadas, nota-se que para o tratamento C3 a carga de  $\text{CO}_2$  dissolvido (112mg) é irrelevante quando comparada a carga no meio gasoso (4.057mg). Este efeito é visível na tabela 22, onde se pode perceber que a carga de  $\text{CO}_2$  dissolvido possui valores próximos entre os tratamentos, já a carga removida de  $\text{CO}_2$  gasoso aumentou acentuadamente de Ct para C3. Esse fato confirma que o  $\text{CO}_2$  gasoso é preferencialmente absorvido pelas lemnas, tanto em situações de elevadas concentrações como na escassez deste gás.

Tabela 22: Avaliação do dióxido de carbono dissolvido nos tratamentos

	<b><math>\text{CO}_2\text{D}</math></b>			
	<b>Ct</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
[ ] <b>Inicial</b> (mg/L)	22	22	22	28
[ ] <b>Final</b> (mg/L)	9	11	15	13
[ $\Delta$ ] (mg/L)	13	12	7	16
<b>Eficiência</b> (%)	61	52	31	55
<b>Carga aplic.</b> (mg)	88	88	88	112
<b>Carga remov.</b> (mg)	54	46	27	62

(Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm)

Tabela 23: Balanço de CO<sub>2</sub> removido, em ambas as fases (meio líquido e gasoso).

	<b>Carga CO<sub>2</sub> G* remov.</b>	<b>Carga CO<sub>2</sub>D** remov.</b>	<b>CO<sub>2</sub>D+CO<sub>2</sub>G remov.</b>	<b>CO<sub>2</sub> fixado pela biomassa</b>
<b>Ct</b>	13,79	53,6	67,39	34,29
<b>C1</b>	58,59	46	104,59	95,74
<b>C2</b>	241,32	27,2	268,52	295,38
<b>C3</b>	4054,64	62	4116,64	4129,68

(Ct = 380ppm; C1 = 1.500; C2 = 6.000ppm; C3= 100.000ppm)

\* CO<sub>2</sub> G = CO<sub>2</sub> na fase gasosa;

\*\* CO<sub>2</sub>D = CO<sub>2</sub> dissolvido

De acordo com os dados discutidos aqui, torna-se evidente que o aumento na concentração de gás carbônico pode ser benéfico para a remoção de nutrientes e produção de biomassa, em lagoas de lemnas. Por possuir a maior taxa de crescimento entre os vegetais superiores, a taxa de fixação de CO<sub>2</sub> por m<sup>2</sup> pode ser relevante para a inclusão desta tecnologia em projetos que visam a redução de GEE. Assim, os impactos ambientais oriundos da emissão de efluentes, tanto líquidos como gasosos, podem ser minimizados por uma mesma tecnologia, simultaneamente. Além dos benefícios ambientais, o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> pode incrementar a valorização da biomassa produzida durante o tratamento, pois, tanto a taxa de crescimento como o teor de proteína podem ser elevados nesta situação.

Contudo, devem ser conduzidos outros experimentos que possam abranger todos os elementos que interferem no ciclo do carbono, em lagoas de tratamento, os quais não ocorreram nos reatores em condições controladas. A respiração de microorganismos e a alcalinidade dos dejetos suínos, por exemplo, são fatores que podem contribuir para a emissão de CO<sub>2</sub> nas lagoas de tratamento. Também, recomenda-se para experimentos futuros que a concentração de dióxido de carbono permaneça constante durante os ensaios, para possibilitar a verificação dos efeitos da exposição prolongada das lemnas às concentrações de CO<sub>2</sub> elevadas.

## 6. CONCLUSÕES

- O sistema de lagoas de lemnas avaliado demonstrou ser bastante eficiente para o polimento do efluente de suinocultura, sob as condições reais de produção. Além da almejada remoção de nitrogênio e fósforo, com eficiências médias de 98 e 94% respectivamente, ocorreu também a redução significativa de *E. coli* (3 log de LA para LM2) e matéria orgânica oxidável (97% para DQO e 95% para DBO<sub>5</sub>). Para isso, o TDH e o aporte de oxigênio dissolvido tiveram uma importante participação, pois constatou-se que o efluente passou de uma condição anaeróbia para aeróbia (3mg/L) após as lagoas de lemnas. De modo geral, as lagoas produziram um efluente clarificado, sem a turbidez característica da presença de algas e sólidos em suspensão.
- A remoção das cargas de nutrientes e matéria orgânica ocorreu, principalmente, em LM1 sendo que em LM2 o efluente apresenta um polimento mais tênue, ou seja, cerca de 90% da redução das características poluentes ocorreu logo em LM1. Assim, dependendo da finalidade do reuso do efluente, apenas LM1 já poderia ser suficiente para o polimento proposto.
- Observando o comportamento de ambas as lagoas conclui-se que em baixas concentrações de nitrogênio (abaixo de 20mgNTK/L), a remoção deste elemento dá-se, preferencialmente, pela absorção direta pela biomassa, já em concentrações mais elevadas, a desnitrificação parece ser a principal via de remoção de nitrogênio.
- A espécie *Landoltia punctata* apresentou rusticidade para suportar elevadas concentrações de amônia, comuns em dejetos suínos. Após a mistura do afluente em LM1, as lemnas suportaram concentrações superiores a 180mg/L sendo valores acima da capacidade reportada na literatura. Este dado reforça a potencialidade desta espécie no tratamento de efluentes da suinocultura.
- Com a variação anual dos parâmetros avaliados conclui-se que a eficiência das lagoas de lemnas sofreu mais interferência do manejo do que da sazonalidade (clima). Ou seja, não foi possível isolar os efeitos do clima na eficiência das lagoas, pois as variações

na composição do afluente e na densidade de biomassa de lemnas (devido ao manejo) foram os principais fatores de interferência. Com os resultados apresentados neste estudo, aliados às experiências de observação empírica, conclui-se que o manejo de remoção de biomassa é um ponto chave para o sucesso do tratamento proposto. Pois, tanto as altas densidades de lemnas, como as baixas, implicam em perda de eficiência na redução de nutrientes e matéria orgânica. Deste modo, em concordância com experiências de outros autores, a densidade da população de lemnas deve manter-se entre 300 e 600g/m<sup>2</sup>.

- De acordo com as avaliações da produtividade de proteína nas lagoas foi constatada a potencialidade de valorização do tratamento, pelo aproveitamento da biomassa de lemnas como alimento protéico. Assim, além da produção do biogás como um subproduto do sistema de tratamento, também conta-se com a biomassa de lemnas para auxiliar no balanço econômico de sistemas de tratamento de efluentes no meio rural. Para ilustrar este fato, constatou-se uma produtividade de 24t de PB/ha/ano, obtida em LM1, com um teor médio de 35%. Contudo, com a inclusão dessa biomassa na confecção de rações balanceadas, acredita-se que o retorno (conversão alimentar) pode ser ainda mais elevado. Conforme este pensamento, as lagoas de lemnas podem contribuir para a sustentabilidade da atividade suinícola ao incrementar a dimensão ambiental e econômica simultaneamente.
- Assim conclui-se que a observação de manchas na população e das diversas colorações das frondes pode ser uma importante prática para determinar a remoção de biomassa, ou cargas de amônia na aplicação do efluente, por exemplo. Contudo, serão necessários mais estudos, em condições controladas, para a determinação de aspectos da morfologia de lemnas que possam servir como bioindicadores da qualidade do efluente.
- A partir dos resultados avaliados acredita-se na potencialidade do uso de lagoas de lemnas, como uma tecnologia eficiente na remoção de GEE, principalmente em uma atmosfera com elevadas concentrações de gás carbônico. Contudo, apenas os dados obtidos nos ensaios em bancada não permitem concluir que as lagoas de lemnas podem ser utilizadas como uma tecnologia para o sequestro

de carbono. Pois, devido à ação de organismos heterotróficos, presentes nas lagoas de tratamento, o balanço de carbono se dá de forma mais complexa do que nos reatores em bancada, sendo necessários estudos em escalas mais próximas da realidade nas lagoas.

- As informações constatadas, tanto pelos ensaios aqui desenvolvidos, como na literatura específica, permite concluir que elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico podem elevar a eficiência de remoção de nutrientes (N e P) por macrófitas lemnáceas. Os resultados apontam para a possibilidade de utilização do CO<sub>2</sub>, oriundo da combustão de biogás, como um suplemento que maximiza o tratamento de efluentes em lagoas de lemnáceas, ao estimular a fotossíntese. Para ilustrar afirma-se que, dentre as concentrações de CO<sub>2</sub> avaliadas (Ct - 380, C1 - 1500, C2 - 6.000 e C3 - 100.000ppm), os melhores resultados para o crescimento das lemnas, remoção de nutrientes e fixação de CO<sub>2</sub> foram obtidos em C3 (100.000ppm).
- O dióxido de carbono em concentrações bastante elevadas (cerca de 260 vezes superior a concentração atmosférica natural) não causou efeitos tóxicos ao desenvolvimento das lemnas, por outro lado, estimulou o crescimento desses organismos. Contudo, o sucesso para o desenvolvimento das lemnas sob a concentração C3 (100.000ppm), nos reatores fotossintéticos, parece estar relacionado mais com a massa de CO<sub>2</sub> disponível do que com a concentração em si, pois observou-se que o CO<sub>2</sub> foi esgotado nos outros tratamentos (CT, C1 e C2), impossibilitando o crescimento das lemnas.
- A falta de dióxido de carbono, um fenômeno que ocorrem em lagoas de lemnáceas com altas densidades de biomassa, pode reduzir o teor de proteína e a taxa de crescimento da biomassa. Esse fato possui interferência direta na eficiência de tratamento quando se almeja a remoção de nutrientes.
- A cobertura de lemnas sobre a lâmina d'água causa uma barreira física para a difusão do CO<sub>2</sub>, ocorrendo pouca interferência deste gás sobre o pH do efluente. Este resultado reforça a possibilidade do uso de CO<sub>2</sub>, em altas concentrações, nas lagoas de tratamento

sem prejudicar a biota por quedas no valor do pH. Assim, a concentração de  $\text{CO}_2$  dissolvido não sofreu o grau de variação que era esperado pela interação com as altas concentrações deste gás no meio gasoso. Este é um fator positivo, pois as lemnas absorvem mais  $\text{CO}_2$  do meio gasoso do que do meio aquoso, isso devido à posição de seus estômatos (voltados para o ar). Contudo, foi observado que quando o dióxido de carbono atmosférico torna-se escasso, as plantas podem utilizar o  $\text{CO}_2$  dissolvido, porém em menor quantidade.

- Em termos gerais, o  $\text{CO}_2$  em 100.000ppm influenciou positivamente no crescimento das lemnas e conseqüentemente na absorção de nutrientes (N e P) do meio líquido, sendo um resultado positivo quando se almeja o tratamento de efluentes e produção de biomassa protéica. Contudo são necessários novos estudos onde a concentração de  $\text{CO}_2$  permaneça constante para a verificação dos efeitos prolongados da exposição a tais condições.

## 7. RECOMENDAÇÕES

Para complementar os resultados aqui obtidos, para polimento do efluente de suinocultura em escala real, recomenda-se a avaliação em experimentos com cargas constantes, no intuito de contemplar os efeitos da sazonalidade. Para isso, pode-se utilizar efluente sintético de suinocultura em lagoas piloto, mantendo-se a composição do afluente das lagoas sempre constante.

Em regiões com ventos fortes recomenda-se o desenvolvimento de estruturas flutuantes que impeçam o arraste das lemnas para as margens, pois os bambus utilizados nesta pesquisa não desempenharam bem esta função. Também, seria útil a confecção de um equipamento para a coleta de biomassa que facilitasse o manejo, sem causar estresse às macrófitas.

As lemnas cultivadas em condições artificiais, neste estudo, apresentaram um desenvolvimento mais lento quando comparadas àquelas produzidas em condições naturais (ao ar livre). Assim, recomendam-se modificações no ambiente de cultivo (iluminação, meio de cultura, temperatura, etc.) para atingir condições ótimas de crescimento, para ensaios futuros.

Para estudos posteriores, recomenda-se atenção sobre a carga (massa) de CO<sub>2</sub> aplicada e não somente à concentração deste gás. Deste modo, as câmeras de crescimento devem ter um volume suficiente para conter este gás em quantidades que não prejudiquem o crescimento das macrófitas, principalmente em baixas concentrações.

Com o intuito de avaliar os efeitos de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> em lagoas de tratamento com lemnáceas recomenda-se estudos em maior escala, com lagoas piloto. Neste caso será possível avaliar o balanço de CO<sub>2</sub> considerando os processos biológicos dos microorganismos abundantes neste ambiente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIPECS 2009. Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. **Produção de Carne Suína 2004 a 2009**. **Disponível em:** <<http://www.abipecs.org.br/pt/estatisticas/mercado-interno.htm>> Acesso em 09 nov. 2010.
- ABIPECS. 2002. Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. **Relatório Anual 2002**. ABIPECS, 46p.
- ALAEERTS, G.; MAHBUBAR, R.; KELDERMAN, P. Performance analysis of a full-scale duckweed-covered sewage lagoon. **Water Research** 30 (4), 843-852. 1996.
- ANA 2009. Agência Nacional das Águas **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil [mapas] : demandas consuntivas**. **Disponível em:** <[http://www.ana.gov.br/bibliotecavirtual/arquivos/20100517124320\\_M D.36\\_CRH\\_2009\\_Demandas\\_consuntivas\\_\\_\\_Brasil\\_ANEXO\\_IV\\_SUBSTITUI\\_MD.11.pdf](http://www.ana.gov.br/bibliotecavirtual/arquivos/20100517124320_M D.36_CRH_2009_Demandas_consuntivas___Brasil_ANEXO_IV_SUBSTITUI_MD.11.pdf)> Acesso em 02 nov. 2010
- ANDERSEN, H., DONN, C., NILSEN, S., HAUGSTAD, M. K. Growth, photosynthesis and photorespiration of *Lemna gibba*: response to variations in CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> concentrations and photon flux density. **Photosynthesis Research**, 6 (1) 87-96. 1985.
- ANDRADE, D. F; OGLIARI, P. J.. **Estatística para ciências agrárias e biológicas: com noções de experimentação**. Editora da UFSC. Florianópolis, SC. 438p. 2007.
- ANGONESE, A. R.; CAMPOS, A. T.; WALTER, R. A. Potencial de Redução de Emissão de Equivalente de Carbono de Uma Unidade Suinícola Com Biodigestor. **Eng. Agric.** vol.27 (3)2007
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 20ed., Washington, 1002p. 2005
- APG (Angiosperm Phylogeny Group) II. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Bot. J. Linnean Soc.**, 141: 399-436, 2003.

APHA . (American Public Health Association) – AWWA (American Water Works Association) – WEF (Water Environment Federation). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th Edition, 2005.

AQUASAN, L.L.C.. **The aquasan process: wastewater treatment, food production and water reclamation**. Aquasan, L.L.C.: Bethesda, USA. 1995.

ARANA, L. V..**Princípios químicos da qualidade da água em aquíicultura**. Florianópolis, Ed. UFSC, 116p. 1997

ARAUJO, I.S. **Avaliação de Lagoas Facultativa Aerada e de Maturação, em Escala Real, Como Etapas Secundária e Terciária de Sistema de Tratamento de Dejetos Suínos**. Tese (Doutorado) em Eng. Ambiental, UFSC. Florianópolis 237p. 2007.

AISSE, M.M.; OBLADEN, N. L.; PREVEDELLO, S.M **Teoria da Biodigestão Anaeróbica**. Curitiba; Lhisama; 53 p. 1981.

AWUAH, E. Environmental conditions and pathogen removal in macrophyte-and algal-based domestic wastewater treatment. **Water Science and Technology**. 44: (6): 11-18p.2001.

AYAZ, S. C. & AKCA, L. Treatment of wastewater by natural systems. **Environment International**. 26: (3) 189 –195.2001

BAIRAGI, A.; GHOSH, K.S.; SEN, S.K.; RAY, A.K. Duckweed (Lemma polyrhiza) leaf meal as a source of feedstuff in formulated diets for rohu (Labeo rohita Ham.) fingerlings after fermentation with a fish intestinal bacterium. **Bioresource Technology**. 85 (1): 17-24. 2002.

BAREA, L. C.; ALEM SOBRINHO, P. Comportamento de lagoa de polimento na Região Metropolitana de Curitiba e possibilidade de uso de lentilhas d'água para melhoria da qualidade do efluente. **Sanare (SANEPAR)**, v. 24, p. 46-60. 2006.

BARTHEL, L.**Lagoas de alta taxa, maturação e aguapés em sistema de tratamento de dejetos suínos: avaliaçãoe desempenho e dinâmica planctônica**.Tese (Doutorado) em Eng. Ambiental. UFSC. 175p. 2007.

BELLI F.; P. **Stockage et odeur des dejections animales.** Cas du lisier de porc. Tese doutorado. Universite de Rennes. 191 p.1995.

BELLI F. P.; CASTILHO JR. A. B.. COSTA, R. H. R tecnologias para o tratamento de dejetos de suínos. **Rev. Bras. Eng. Agric Amb.** 5 (1): 9-15. 2001.

BENJAWAN, L. KOOTTATEP, T. Nitrogen remove in recirculation duckweed ponds system. **Water Science and Technology.** 55 (11) 103-110p. 2007.

BERGMANN, B. A., CHENG; J. CLASSEN, J.; STOMP, A.M.. "Nutrient removal from swine lagoon effluent by Duckweed." **Transactions of the ASAE**42(2): 263-269p.2000.

BJOERNDHAL, G., NILSEN, S. Growth potential of *Lemna gibba*: Effect of CO<sub>2</sub> enrichment at high photon flux rate. **Aqua. Bot.** 22 (1) 79-82, 1985.

BONOMO, L.; PASTORELLI, G.; ZAMBON, N. Advantages and limitations of duckweed-based wastewater treatment systems. **Water Science and Technology** 35 (5), 239-246.1997

BOWKER D.W.; DUFFIELD A.N; DENNY P. Methods For the Isolation, Sterilization and Cultivation Of *Lemnaceae*. **Freshwater Biol.** 10:385-388. 1980.

BRADLEY, G. H. Some Factors Associating with the Breeding of Anopheles Mosquitoes.. **Journal of Agriculture Research.** (44): 381-399. 1932.

BRASIL. Lei nº 9.433 – 8 jan. 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal e altera o art 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 9 jan. 1997. p. 470.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n. 357 – 17 mar. 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões do lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 mar. 2005a.

CAICEDO, J.R., VAN DER STEEN, N.P., ARCE, O.; GIJZEN, H.J. Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodella polirrhiza*). **Wat. Res.** 34: (15): 3829-3835. 2000.

CAICEDO, J. R., C. ESPINOSA, M. ANDRADE AND H. J. GIJZEN. "Effect of anaerobic pretreatment on environmental and physiochemical characteristics of duckweed based stabilization ponds." **Water Science and Technology** 45(1): 83-89. 2002.

CAICEDO, J.R. **Effect of Operational Variables on Nitrogen Transformations in Duckweed Stabilization Ponds**. Tese. Delft, The Netherlands. 163pp. 2005.

CETESB. 2003. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 2003**. Disponível em: <[www.cetesb.sp.gov.br](http://www.cetesb.sp.gov.br)>. Acesso em: 05 de maio de 2007.

CHAIPRAPAT, S. **Modeling Nutrient Uptake Process and Growth Kinetics of Duckweed Spirodela Punctata 7776 for Nutrient Recovery From Swine Wastewater**. Dissertation of North Carolina State University. 107pp. 2002.

CEDERGREEN, N. AND T. V. MADSEN. "Nitrogen uptake by the floating macrophyte *Lemna minor*." *New Phytol* **155**(2): 285-292. 2002.

CEZARINI NETO, C. **Modelo de Compensação de CO<sub>2</sub> para Empresas Poluidoras do Ar: Um Estudo de Caso do Vale do Itapocu, Região Nordeste de Santa Catarina**. Dissertação. Florianópolis. PPG Eng. de Produção, UFSC.

CIRAM/EPAGRI. **Inventário das Terras da Sub-bacia Hidrográfica do Rio Coruja/Bonito**. Município de Braço do Norte, SC. Florianópolis 2000.

CHENG J.; BERGMAN, B. A.; CLASSEN, J. J.; STOMP. A. M.; HOWARD, J. W., Nutrient Recovery from Swine Lagoon Water by *Spirodela punctata*. **Bioresource Technology** (81) 81-85,2002a.

CHENG, J.LANDESMAN, L. BERGMAN, B. A. CLASSEN, J. J. HOWARD, J. W; YAMAMOTO, Y. T. b Nutrient Removal from Swine Lagoon Liquid by *Lemna minor*. **Am. Soc. Agric, Eng.** 45 (4): 1003-1010.2002b.

CHENG, J. J.; STOMP A. M.Growing Duckweed to Recover Nutrients from Wastewaters and for Production of Fuel Ethanol and Animal Feed. **CLEAN – Soil, Air, Water.** 37 (1): 17–26, 2009.

COSSU, .R.; HAARSTED, K.; LAVAGNIOLO, C. M LITTRRU, P. Removal of Municipal Solid WasteCOD and NH<sub>4</sub> by phyto-reduction. **Ecological Engineering** (16) 459-470,2001.

COSTA, R. H. R.; BAVARESCO, A. S. L. ; MEDRI, W. ; PHILIPPI, L. S. 2000. Tertiary treatment of piggery wastes in water hyacinth ponds. **Water Science and Technology**, London, v. 42, n. 10-11, p. 86-93.

CROSS, J.W. 2006.**The charms of duckweed**. Disponível em: <<http://www.mobot.org/jwccross/duckweed/duckweed.htm>> Acesso em: Nov. 2010.

CULLEY, D. D. & MYERS, R.W. **Effect of harvest rate on duckweeds yield and nutrient extraction dairy waste lagoon**. In D.D. Culley and J.B. Frye (eds.) U.S. Department of Energy Final Report. School of Forestry and Wildlife Management, Louisiana state University, Baton Rouge. 6pp.1978.

CULLEY, D. D.; E. EPPS,E. A."Use of duckweed for waste treatment and animal feed." **Journal WPCF45**(2): 337-347.1973.

CULLEY, D.D.; REJMANKOVA, E.; KVET, J.; FRYE, J.B.. Production, chemical quality and the use of duckweeds (Lemnaceae) in aquaculture, waste management, and animal feeds. **J. World Maricul. Soc.** 12(2):27-49,1981.

DAL MAGO, A. **Avaliação de Biodigestores Com o Uso de Dejetos De Suínos, em Braço do Norte eem Concórdia-SC.** Dissertação (Mestrado em Eng. Ambiental). UFSC. Florianópolis. 152pp, 2009.

DRIEVER, S. M. EGBERT, V. N. H., ROIJACKERSR. M. M. Growth Limitation of Lemna Minor due to High Plant Density **Aquatic Botany**.81(3) p 245-251.2005,

EDWARDS, P. **Reuse of human wastes in aquaculture. A technical review**, UNDP – World Bank Water Research Program, Washington D.C. THE WORLD BANK, .350p.1992.

EL-SAYED, A.F.M.. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, 179:149-168. 1999.

EL-SHAFAI, S.A.; GIJZEN, H.J.; NASR, F.A.; EL-GOHARY, F.A. Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. **Environmental Research**, 95: 231-238.2004.

EL-SHAFAI, S.A.; EL-GOHARY, F.A.; NASR, F.A.; VAN DER STEEN, N.P.; GIJZEN, H.J. Nutrient Recovery from domestic wastewater using a UASB-duckweed ponds system. **Bioresource Technology**, 98: 798-807, 2006.

EMBRAPA Suínos e Aves. **Síntese de Atividades da Embrapa Suínos e Aves: 1998 – 1999.** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves.116p.2000.

EMBRAPA, 2001. Projeto Metano de Ruminantes. **Influência do manejo de produção animal sobre as emissões de metano em bovinos de corte.** Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/clima/pecuaria/layout.php?redir=principal.php>>. Acesso em Agosto de 2009.

EMBRAPA, 2002. **Primeiro inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa** - Relatórios de Referência Emissões de Metano da Pecuária. Ministério da Ciência e Tecnologia, 16p.

EMBRAPA SOJA 2010 (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Soja em Números (2008-2009)**. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/index.php?cod\\_pai=2&op\\_page=294](http://www.cnpsa.embrapa.br/index.php?cod_pai=2&op_page=294)> Acesso em: NOV. 2010.

ESHEL, A.; BEER, S. Inorganic Assimilation by *Spirodela polyrrhiza*. **Hydrobiologia**, 132 149-153p. 1986)

ESPINOSA, H. M. 2001. **Impactos e Conflitos na Gestão de Recursos Hídricos do Sul de Santa Catarina, Brasil**. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/encuen/hector.pdf>> Acesso em: nov. 2010.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos da limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

EYSTER, C. Optimization of the physiological activity of the giant duckweed *Spirodela polyrrhiza*. **Final Report. Monsanto**, Dayton Ohio. 200pp 1966.

FASAKIN, E.A., BALOGUN ; B.E. FASARU. Use of duckweed, *Spirodela polyrrhiza*, L. Schleiden, as a protein feedstuff in practical diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research** 30: 313-318.1999.

FAO. **Livestock's long shadow**. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome. 319 p. 2006.

FERNANDES, H. **A dinâmica da biota em um sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 195 p. 2009.

FILBIN, G.J.; HOUGH, R.A.. Photosynthesis, photorespiration and productivity in *Lemna minor* L. **Limnology and Oceanograph** 30:322-334,1985.

GAPONKO, V. I. e STAZHETSKII, V. Change in Rates of Photosynthesis and Chlorophyll Content in Duckweed in Connection with age and illumination. **Sov. Plant, Physiol.** 16 (6) 825-832.1969.

GAIGHER, I.G.; PORATH, D.; GRANOTH, G. Evaluation of duckweed (*Lemna gibba*) as feed for tilapia (*O. niloticus* x *O. aureus*) in a recirculating unit. Amsterdam **Aquaculture** 41: 235-244p. 1984.

GOHARY, F. A; NASR, F. A.; WAHAAB, R. A. Integrated low-cost wastewater treatment for reuse in irrigation. **Biomedical and Environmental Science** 13(1): 37-43p, 2000,

GOMES, M. C.L.R. **Polimento de efluentes de sistema de tratamento de dejetos suínos em filtro de pedras e lagoa-filtro**. Dissertação (Mestrado) em Eng. Ambiental UFSC.181p. 2010.

GIJZEN, H. & KHONDKER M. **An overview of the ecology, physiology, cultivation and application of duckweed**, literature review. Report of Duckweed research Project, Dhaka, Bangladesh.1997

GIJZEN, H.J. & MULDER, A. The nitrogen cycle out of balance., **Water Res.**, 21: 38-40p.2001.

GUPTA M, CHANDRA P. Lead Accumulation and Toxicity in *Vallisneria Spirallis* (L.) and *Hydrilla verticillata* (F.). **J Environ Sci Health A** 29:503-516p.1994.

HAMMOUDA, O., GABER, A.; ADBEL-HAMMED M.S. Assessment of the effectiveness of treatment of waste-water-contaminated aquatic systems with *Lemnagibba*. **Enz. Microb. Tech.** 17, 317-323.1995.

HAMID, M. A.; CHOUDHURY, S. D.; RAZZAK, M.A.; ROY, C.R. Effects of feeding an aquatic weed *Lemna trisulca* as a partial replacement of fish meal on the performance of growing ducklings. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** 61 (1): 137 – 139p.1993.

HASAN, M. S.; P. EDWARDS. Evaluation of duckweed (*L.Perpusilla* and *Spirodela polyrriza*) as feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture** 104: 315-326. 1992.

HEIDEMANN, A. R, Remoção de Metais Pesados (Zn E Cu) em Sistemas de Tratamento de Dejetos Suínos com Lagoas de Lemnas (*Landoltia Punctata*). **TCC Ciências biológicas UNISUL**. 2009.

HENN, A., **Avaliação de Dois Sistemas de Manejo e Dejetos em uma Pequena Propriedade Produtora de Suínos – Condição de Partida**. Dissertação. PPGA/ UFSC 157p.2005.

HOSSAIN, M.A. & SHIKHA, F.H.. Apparent protein digestibility coefficients of some low protein ingredients for African catfish, *Clarias gariepinus*. **Bangladesh-Journal-of-Zoology**. 25 (1): 77-82 p. 1997.

HOUGHTON, J. T. **GLOBAL WARMING: THE COMPLETE BRIEFING**. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS (2ed) 300pp., 2004.

IBGE, 2008. Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. **Contas Nacionais Trimestrais – Indicadores de Volumes e Valores Correntes**. Disponível em <[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=1226&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1226&id_pagina=1)> Acesso em: set. 2009.

IBGE. 2006. **Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/default.shtm>> Acesso em: ago. 2010.

IPCC, 1997. Convenção-quadro das Nações Unidas Sobre Mudanças Climáticas. O **Protocolo de Quioto**. Disponível em: [www.mct.gov.br](http://www.mct.gov.br). Acesso em: agosto de 2009

IQBAL, S. **Duckweed aquaculture. Potentials, possibilities and limitations, for combined wastewater treatment and animal feed production in developing countries**. Switzerland. SANDEC report n.6 91pp. mar.1999.

ISLAM, K. M. S. Feasibility of duckweed as poultry feed: A review. Bangladesh **Indian Journal of Animal Sciences**72 (6): 486-491p.2002.

ISO/DIS. **Water quality - Determination of toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) - Duckweed growth inhibition test.** Normalization; ISO/TC147/SC 5. 23pp.2003

ITOKAWA, H. HANAKI, K., MATSUO, T. Nitrous oxide production in high load biological nitrogen removal process under low COD/N ratio concentration, **Water Research.** 35 (3) 657-664. 2001.

JAKCSON, L. L. Large-scale swine production and water quality. In. THU, M.K e DURRENBERGHER, E.P. **Pigs, profits, and rural communities.** State University of New York, (6).103-122.1998.

KHAN, M.J.; STEINGASS H.; DROCHNER, W. Evaluation of some aquatic plants from Bangladesh through mineral composition, in vitro gas production and in situ degradation measurements. **Asian – Australian journal of animal Science.** 15 (4): 537-542p.2002.

KLARING, H. P.; HAUSCHILD, C.; HEIBNER, A., YOSEF, B. Model-based Control of CO<sub>2</sub> Concentration in Greenhouse at Ambient Levels Increases Cucumber Yield. **Agricultural and Meteorology** 14 (3): 208-216.2007.

KÖRNER, S.; DAS, S.K.; VEENSTRA, S.; VERMAAT, J.E. The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to *Lemna gibba*. **Aquatic Botany**(71): 71-78. 2001.

KÖRNER, S.; VERMAAT, J.E. The relative importance of *Lemna gibba*, bacteria and algae for the nitrogen and phosphorus removal in duckweed – covered domestic wastewater. **Water Research.** 32: (12) 3651- 366.1998.

- KÖRNER, S., LYATUU, G.B. ; VERMAAT, J.E. The influence of *Lemna gibba* on the degradation of organic material in duckweed-covered domestic wastewater. **Water Research**: 32 (10) 3092-3098.1998.
- LANDESMAN, L.; CHANG, J.; YAMAMOTO, Y.; GOODWIN, J. Nutritional value of wastewater-grown duckweed for fish and shrimp feed. **World Aquaculture** 33 (4): 39-40p.2002.
- LANDESMAN, L., PARKER N. C., FEDLER C. B., KONIKOFF, M. Modeling Duckweed Growth In Wastewater Treatment Systems.**Livestock Research for Rural Development**. 17 (6). 2005
- LANDOLT, E. & KANDELER. **The family of lemnaceae – a monographic study: Phytochemistry, physiology, application and bibliography. In Biosystematic Investigations in the Family of Duckweeds (Lemnaceae).** *Veröffentlichungen des geobotanischen Institutes der ETH*. Zürich. Stiftung Ruebel, Vol 4, n.95: 638pp.1987.
- LENG, R. A. **Duckweed - a tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment.** FAO Animal Production and Health Paper.231p. 1999.
- LEHNINGER, A.L. **Principles of Biochemistry.** Ed. Gruyter Berlin (Germany, F.R.) 1149pp, 1987.
- LES D. H., CRAWFORD, D. J.*Landoltia* (Lemnaceae), a New Genus of Duckweeds. **Journal for Botanical Nomenclature**. 9, (4)530-533p.1999.
- LINDEMAN, W. Reactivation of Fotosyntesis in dependence of wavelength in Phosphate Deficient *Lemna minor*. **Acta Bot. Neerl** (22) 553-568. 1972.
- LYERLY N. C. **Swine Wastewater Treatment In an Integrated System of Anaerobic Digestion and Duckweed Nutrient Removal: Pilot Study.** Dissertation. US, North Carolina State University 97pp,2004.

MBAGWU, L. & ADENIJI, H.A.. Nutritional content of duckweed (*Lemna paucicostata*) in the Kainji lake area. Nigeria, **Aquatic Botony**. 29, 357-366p.1988.

MEMON A. R.; DIÛDEM A.; AYLIN .Z.; VERTII,A. Heavy Metal Accumulation and Detoxification Mechanisms in Plants.**Turk J Bot** .25; 111-121p.2001.

METCALF & EDDY. “**Wastewater Engineering - Treatment, Disposal e Reuse**”. 3ª Edição. Editora McGraw-Hill Inc, 1334p.1991.

MKANDAWIRE, M.; BRACKHAG, C.; DUDEL, E. G. Semicontinuous Culture System for *Lemna gibab* Bioassay. **Applied Ecology and Environmental Research** 3(1) 19-27. 2005.

MIRANDA, C. R. **Avaliação de estratégias para sustentabilidade da suinocultura**. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 263pp.2005.

MFRURAL,2010. Piscicultura: **Compra e Venda**. Disponível em: <http://www.mfrural.com.br/busca.aspx?palavras=tilapia+piscicultura>. Acesso em: nov/2010.

MOHEDANO, R.A. **Tratamento de efluente e produção de alimento, em cultivo de tilápias (O.niloticus), através da macrófita aquática *Lemna valdiviana* (lemnaceae) – Uma contribuição para a sustentabilidade da aqüicultura**, Dissertação de mestrado, Universidade Fedral de Santa Catarina, Departamento de Aqüicultura, Florianópolis, 78pp. 2004.

MOHEDANO, Rodrigo de Almeida ; FRACALOSSI, D. M. ; RODRIGUES, J.B.R. . *Lemna valdiviana* uma planta que trata os efluentes e alimenta peixes cultivados. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. (87), p. 33-40, 2005.

MOREIRA, Adriana G.; SCHWARTZMAN, Stephan. **As Mudanças Climáticas Globais e os Ecossistemas Brasileiros**. Brasília: Instituto de Pesquisa, 2000.

MIRETZKY, P.; SARALEGUI, A.; CIRELLI, A.F. Aquatic Macrophytes Potential for the Simultaneous Removal of Heavy Metals. **Chemosphere**, 57: 997-1005 2004.

MIRETZKY, P.; SARALEGUI, A.; CIRELLI, A.F. Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. **Chemosphere**, 62: 247-254. 2006.

MULLER, P.; FELLER, U.; ERISMENN, K. H. Einfluss Verschiedener CO<sub>2</sub>-Konzentrationen auf Wachstum vom *lemna minor*. **Z. Pflanzenphysiologie**. (85) ,233-241p. 1977.

MUZAFFAROV, A. M.; TAUBAEV, T. T.; ABDIEV, M. Use of lesser duckweed in poultry feeding. (In Russian). **Uzb. Biol. Zh.** 12: 44-46p.1971.

MURADOV N. A.; FIDALGO B.; GUJAR A. C., RAISSI A. T. Pyrolysis of fast-growing aquatic biomass – *Lemna minor* (duckweed): Characterization of pyrolysis products. **Bioresource Technology** 101 8424–8428. 2010.

NASA (North American Space Agency) **Earth observatory** Disponível em: <[http://earthobservatory.nasa.gov/images/imagerecords/13000/13832/Maracaibo\\_AMO\\_2004245.jpg&imgrefurl=http://earthobservatory.nasa.gov/NaturalHazards/](http://earthobservatory.nasa.gov/images/imagerecords/13000/13832/Maracaibo_AMO_2004245.jpg&imgrefurl=http://earthobservatory.nasa.gov/NaturalHazards/)> Acesso em nov. 2010

NESPOULOUS, C. PELTIER, G. GANS, P. Photoassimilatory, Photorespiratory and Respiratory Gas Exchange in *Lemna minor*. **Plant. Physiol. Biochem.**, 27 (6) 863-871p.1989.

NICHOLAS R. A., STEVEN P. K. STERNBERG, KATHRYN C. Lead and nickel removal using *Microspora* and *Lemna minor*. **Bioresource Technology** 89, (1),41-48p. 2003.

NGO, V., Boosting pond performance with aquaculture. **Operations Forum** 4. 20-23.1987.

NOEMI R. AGAMI, M. ORON, G. A pilot study of constructed wetland using *Lemna giba* for treatment of domestic primary effluent in Israel. **Water Research**(38): 2241-2248. 2004.

NOZAILY1, A. F. ALAERTS, G., VEENSTRA, S. Performance of duckweed-covered sewage lagoon - Oxygen balance and cod removal. **Water. Research.** 34, (10): 2727-2733, 2000.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Tradução TRIBE, C. J. Editora Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro, RJ. 434 p. 1988

OGBURN, D. M. & OGBURN, N. Use of duckweed (*Lemna* sp.) grown in sugarmill effluent for milkfish (*Chanos chanos*) production. **Aquaculture and Fisheries Management.** 25 (5): 497 – 503. 1994.

OLIVEIRA, P. A V. (Coord.). **Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos**. Concórdia, SC: EMBRAPA/CNPISA, Documento n. 27, p.188. 1993.

OLIVEIRA, P. J. P. **Tratamento secundário e terciário de dejetos de suínos utilizando lagoas de alta taxa algal, aerada e maturação**. Dissertação, UFSC, Florianópolis, SC, 2002. 139p.

ORON, G., PORATH D. & JANSEN, H. Performance of duckweed species *Lemna gibba* on municipal waste'water for effluent renovation and protein production. **Biotechnology & Bioengineering** 29 (2), 258-268. 1987.

ORON, G., DE VEGT A.; PORATH D. Nitrogen removal and conversion by duckweed grown on wastewater. **Wat Res.** 22(2), 179-184. 1988.

ORON, G. Duckweed culture for wastewater renovation and biomass production. **Agricultural Water Management**, 26: 27-40. 1994.

OTTE, S. GROBBEN N.G., ROBERTSON, L.A., JETTEN, M. S., KUENEN, J. G. Nitrous oxide production by *Alcaligenes faecalis* under transient and dynamic aerobic and anaerobic conditions **Appl. Environ. Microbiol.** 62 (7). 2421-2426. 1996.

PARK, K.H.; HAHN W. K.; KANG; D.B. Lack of Correlation between Senescence and Stomatal Aperture in *Lemna gibba* G3 **Plant and Cell Physiology** 31 (5) . 731-733. 1990.

PORATH, D. & POLLOCK, J. Ammonia stripping by duckweed and its feasibility circulating aquaculture. **Aquatic. Bot.**, (13): 125-131 1982.

POTT, V. J. e CERVI A. C. A família Lemnaceae Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo..22 (2) 1- 29.1999.

POTT, V. J. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Corumbá -MS. Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal. Embrapa, 404pp 2000.

POTT V. J; POTT A. **Potencial de Uso de Plantas Aquáticas na Despoluição da Água**(EMBRAPA) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Campo Grande- MS.*ISSN 1517-3747 doc 133*. 2002a.

POTT, V. J.. Lemnaceae in: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G.G.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T. S.; BITTRICH, V.; KAJMEYAMA (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, vol. 2. São Paulo: FAPESP: HUCITEC, 2002b.

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. Traduzido para o português por BUENO, C.; SILVA, P. P. Editora Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro, RJ. 470 p.1996.

REED, S.C.; MIDDLEBROOKS, E.J.; CRITES, R.W. **Natural systems for Waste Management and Treatment**. McGraw-Hill, New York.1988.

RANGEBY, M. JOHANSSON, P.; PERNRUP, M. Removal of faecal coliforms in a wastewater stabilization pond system in Mindelo, Cape Verde. **Water Science and Technology**, 34 (11), 149-157.1996.

ROSE, A. SELWIN, E. Studies on wastewater treatment by *Lemna minor*. **Journal of Environmental Biology**. 21 (1): 43-46p. 2000.

ROTTA A.**Avaliação de Propriedades Suínicas Familiares às Legislações Ambientais Vigentes: Estudo de Caso em Propriedade Rural de Braço do Norte,SC**. TCC Eng. San e Amb. UFSC. 77pp. 2009.

SAFELY, L.M., CASADA, M.E., WOODBURY, J.W., ROOS, K.F. **Global methane emissions from Livestock and Poultry Manure.** Washington: US Environmental Protection Agency. EPA, 1992.

SAID, M.Z.; CULLEY, D.D.; STANDIFER, L.C.; EPPS, E.A.; MYERS, R.W.; BONEY, S.A. Effect of harvest rate, waste loading, and stocking density on the yield of duckweeds. Proc. **World Mariculture Society**. 10: 769-780. 1979.

SALOMON, K., R. **Avaliação Técnico-Econômica e Ambiental da Utilização do Biogás Proveniente da Biodigestão da Vinhaça em Tecnologias para Geração de Eletricidade.** Tese (doutorado) em Eng. Mecânica. Universidade Federal de Itajubá 219pp. 2007.

SANTA CATARINA. Secretaria de Estado do desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. **Resumo do projeto controle da degradação ambiental decorrente da suinocultura em Santa Catarina.** Florianópolis: SDM – Embrapa Suínos e Aves – DAS – EPAGRI – FATMA., (Programa Nacional do Meio Ambiente – PNMA II).2002.

SANTA CATARINA. 2000. Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina, de **Portaria nº. 01/04, Instrução normativa N. 11 Suinocultura.** Disponível em [http://www.fatma.sc.gov.br/download/IN\\_0312/htm/In\\_11\(Suinocultura\).htm](http://www.fatma.sc.gov.br/download/IN_0312/htm/In_11(Suinocultura).htm)> Acesso em: setembro de 2008.

SCORVO FILHO J. D. PINTO C.R.M.; PAIVA P.; VERANI; J.R, SILVA, A. L. Custo operacional de produção da criação de tilápias tailandesas em tanques-rede, de pequeno volume, instalados em viveiros povoados e não povoados. **Custos e @gronegócio on line**- v. 4, n. 2 - Mai/Ago – 2008

SEGANFREDO, M.A.; GIRROTO, A. F. **Custo de armazenagem e transporte de dejetos suínos usado como fertilizante do solo.** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves., 3p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 374p, 2004.

SELA, M.; GARTY J., TEL-OR E. The accumulation and the effect of heavy metals on the water fern *Azolla filiculoides*. **New Phytol** 112:7-12p. 1989.

SHARMA, S. S. AND GAUR, J. P. Potential of *Lemna polyrrhiza* for removal of heavy metals Ecological Engineering 4,(1): 37-43,1995.

SCHMIDTNIELSEN, K. **Fisiologia Animal Comparada**. Ed. Santos, São Paulo, SP. 583p. 1999

SKILICORN, P. W.; SPIRA, W; JOURNEY, W.**Duckweed aquaculture, a new aquatic farming system for developing countries**. The World Bank, Washington, D.C.1993.

SMITH, M.D.; MOELYOWATI, I. Duckweed based wastewater treatment (DWWT): design guidelines for hot climates. **Water Science and Technology**, 43 (11): 291-299.2001.

SMITH, G. R. A. **Harvesting Duckweed by Skimmin**. Dissertation (Master of Science) in Biological and Agricultural Engineering.North Carolina State University, 142p 2003

SPIES, A.**The sustainability of the pig and poultry industries in Santa Catarina, Brazil:a framework for change..** 370f. Thesis (PhD) -School of Natural and Rural Systems Management, The University of Queensland,.,Australia.2003.

SRINANTHAKUMAR, S. ARMORTHARAJ, M. Organic carbon decay in stream with biofilm kinetics. **Environmental Engineering**.(19): 102-119. 1983.

SULTANA, N.; CHOWDHURY, S. A.;HUQUE, K.S.; HUQUE, Q. M. E. Manure based duckweed production in shallow sink: Effect of nutrient loading frequency on the production performance of *Lemna purpusilla*. **Asian Australian Journal of Animal Sciences**. 13 (7): 1010- 1016p. 2000.

TAVARES, F.A.**Eficiência da *Lemna* sp no tratamento de efluentes líquidos de suinocultura e sua utilização como fonte alternativa de alimento para tilápias**. **Dissertação de mestrado**, Universidade Fedral de Santa Catarina, Departamento de Aqüicultura, Florianópolis.2004.

TAVARES, F.A.; RODRIGUES, J.B.R.; BELLI FILHO, P.; LOBO-RÉCIO, M.A.; LAPOLLI, F.R. Desempenho da macrófita *Lemnavaldiviana* no tratamento terciário de efluentes de suinocultura e sua contribuição para a sustentabilidade da atividade. **Biotemas**21 (1) p18, 2008.

TAVARES F. A. **Reúso de água e polimento de efluentes de lagoas de estabilização por meio decultivo consorciado de plantas da família Lemnaceae e tilápias.** Tese (Doutorado) Eng. Ambiental UFSC0, 260p. 2008.

TAIZ, L.; E ZIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 3 Ed. Porto Alegre; Artmed. 719pp. 2006.

TURAX, R.; CULLEY, D.; GRIFFITH, M.; JHONSON, W.; WOOD, J. Duckweed for chick feed? **Louisiana Agriculture** 16 (1): 8-9p. 1972.

VAN BUUREN J. C. L. AND HOBMA S. J. The Fecal Coliform Die-off at Posttreatment of Anaerobically Pretreated Wastewater. **Internal report.** The Netherlands. 1991

VAN DER STEEN, P., A. BRENNER AND G. ORON. "An integrated duckweed and algae pond system for nitrogen removal and renovation." **Water Science and Technology** 38(1): 335-343p. 1998.

VAN DER STEEN, P.; BRENNER A.; VAN BAUREN J; ORON G. Post-treatment of UASB reactor effluent in an integrated duckweed and stabilization pond system. **Water Research** 33 (3), 615-620p. 1999.

VERMAAT, J. E.; HANIF, M. K. Performance of common duckweed species (LEMNACEAE) and the waterfern *Azola filiculoides* on different types of wastewater. **Water Research** 32 (9):2569-2576p. 1998.

VROON R. & WELLER B. **Treatment of domestic wastewater in a combined UASB-reactor duckweed pond system.** Doktoraal verslagen, series Nr. 95-07, Dept. Env. Tech., Agric. University Wageningen, The Netherlands. 1995.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de esgotos.** v.1. Belo Horizonte: Depto. De Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 240p.1995.

VON SPERLING, M.. **Lagoas de estabilização.** Belo Horiznte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais. 196p. 2002.

VON SPERLING, M.. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** v.3. Belo Horizonte: Depto. De Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 452p. 2009.

ZIMMO, O. R.; ALSAED R. M.; GIJZEN H. J. Comparison between algae-based and duckweed-based wastewater treatment: Differences in environmental conditions and nitrogen transformation. **Water Science and Technology.** 42 (10-11) 215 – 222p. 2000.

ZIMMO, O. R.; ALSAED R. M.; STEEN N. P. GIJZEN H. J. Process performance assessment of algal- based and duckweed-based wastewater treatment systems. **Water Science and Technology.** 45 (1) 91-110p. 2002.

ZIMMO, O.; VAN DER STEEN, N., GIJZEN, H. Comparison of ammonia volatilization rates in algae and duckweed-based waste stabilization ponds treating domestic wastewater. **Water Research** 37: pp.4587-4594.2003.

ZIMMO, O. R.; ALSAED R. M.; STEEN N. P. GIJZEN H. Nitrogen mass balance across pilot scale algae and duckweed-based wastewater stabilization pounds. **Water Research.** 38, 913-920. 2004.

ZIRSCHKY, J. & REDD, S.C. The use of duckweed for wastewater treatment. **J.WPFC.**60: 1254-128. 1988.



## APÊNDICE A

Teste de Tukey para avaliar as diferenças entre as concentrações dos parâmetros nas quatro estações do ano, em ambas as lagoas de lemnas (LM1 e LM2).

\*\*\*\* na mesma coluna indica médias iguais.

### OD - LM1 /OD - LM2

inv	1,483333	****		ver	2,283333	****	
ver	1,800000	****		prim	2,780000	****	
out	2,116667	****		out	3,083333	****	
prim	2,760000	****		inv	3,900000	****	

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 33,297, df = 19,000

### NH<sub>3</sub> - LM1 / NH<sub>3</sub> -LM2

out	20,32000	****		out	4,25600	****	
ver	26,22667	****		ver	4,48000	****	
inv	28,09333	****		inv	9,14667	****	
prim	39,20000	****		prim	10,73333	****	

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 290,97, df = 19,000

### NTK - LM1/ NTK - LM2

inv	28,75667	****		out	10,36800	****	
out	31,82400	****		ver	13,96667	****	
ver	42,18667	****	****	inv	16,87000	****	
prim	65,05333		****	prim	17,36000	****	

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 89,848, df = 19,000

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
 Error: Between MS = 11504,, df = 21,000

### DQO - LM1 / DQO LM2

out	142,888€	****	out	86,1657	****
inv	155,9600	****	ver	89,5567	****
ver	180,6675	****	inv	98,7150	****
prim	290,6567	****	prim	120,8525	****

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
 Error: Between MS = 11504,, df = 21,000

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
 Error: Between MS = 2295,7, df = 21,000

### Clorofila LM1

ver	10,66667	****
out	14,41429	****
inv	25,08333	****
prim	71,65000	****

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
 Error: Between MS = 42,814, df = 17,000

### Pt - LM1 /Pt - LM2

out	5,22000	****	out	0,55333	****	
inv	6,01500	****	inv	1,29167	****	
ver	11,30500	****	ver	3,79833	****	
prim	13,78833	****	prim	12,31667		****

Valores médio máximos, mínimos e desvio padrão para o pH nas lagoas de lemnas (superfície e fundo) e no afluente.

	pH				
	Afluente (LA)	LM1 superfície	LM1 fundo	LM2 superfície	LM2 fundo
<b>Média</b>	7,38 c	7,00 a	6,77 b	6,96 a	6,68 b
<b>Desv. pad.</b>	±0,58	±0,41	±0,62	±0,54	±0,61
<b>Máximo</b>	8,50	8,11	7,60	8,30	8,18
<b>Mínimo</b>	0,58	0,06	0,62	0,54	0,61

## APÊNDICE B

Médias e desvios padrão das concentrações finais (monitoramento na fase aquosa)

N (amostras)	Ct			C1			C2			C3		
	NO <sub>3</sub>	PO <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub> D	NO <sub>3</sub>	PO <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub> D	NO <sub>3</sub>	PO <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub> D	NO <sub>3</sub>	PO <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub> D
	288	25,3	8,6	281	24,8	10,5	257	21,4	15,2	53	6,2	12,5
1	272	22	6	280	29	12	243	19	18	36	2	10
2	289	20	12	277	25	10	266	16	15	47	10	10
3	302	31	8	288	19	10	258	25	15	66	8	15
4	299	33	12	279	24	12	249	23	15	58	12	15
5	279	27	5	277	21	10	261	27	10	54	4	10
6	285	23	6	287	28	10	265	19	18	61	4	10
7	282	19	12	282	27	10	x	x	x	49	2	15
8	296	27	8	x	x	x	x	x	x	51	8	10
9	x	x	x	x	x	x	x	x	x	55	6	18
Média	288	25,25	8,6	281,4	24,71	10,57	257	21,5	15,16	53	6,2	12,5
DP	10,44	5,09	2,97	4,5	3,68	0,9	9,18	4,18	2,92	8,71	3,52	3,1

### APÊNDICE C

Teste de Tukey para determinar as diferenças nas concentrações finais dos parâmetros avaliados na fase aquosa ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ ,  $\text{CO}_2\text{D}$ )

\*\*\*\* na mesma coluna indica médias iguais

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 73,681, df = 26,000

#### $\text{NO}_3$

C3	53,0000	****	
C2	257,0000		****
C1	281,4286		****
Ct	288,0000		****

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 17,307, df = 26,000

#### $\text{PO}_4$

C3	6,22222	****	
C2	21,50000		****
C1	24,71429		****
Ct	25,25000		****

Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS =  
7,3325, df = 26,000

**CO<sub>2</sub>D**

Ct	8,62500	***		
C1	10,57143	***	***	
C3	12,55556		***	***
C2	15,16667			***

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS =

7,3325, df = 26,000

**[CO<sub>2</sub>] Final**

ct	41,12500	***		
c2	52,16667		***	
c1	55,85714		***	***
c3	62,66667			***

Tukey HSD test; (CO<sub>2</sub>)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 39,868, df = 26,000

## APÊNDICE E

Exemplo de tabela utilizada para agrupar os dados das repetições (Ct -380ppm) de cada tratamento e aplicação do teste de Tukey

	1° bateria	2° bateria.	3° bateria	1° bateria	2° bateria.	3° bateria	1° bateria	2° bateria.	3° bateria		
	RF2	RF2	RF2	RF3	RF3	RF3	RF7	RF7	RF7	Média	Desv. Pad
manhã	380	380	380	380	380	380	380	380	380	380	0
tarde	300	357	320	369	348	322	360	355	371	350	20
manhã	278	292	250	362	280	266	341	298	251	292	41
tarde	144	161	134	182	170	195	157	166	163	166	18
manhã	150	190	145	210	158	200	215	188	212	190	26
tarde	95	111	131	139	105	144	149	108	143	129	18
manhã	102	90	111	114	88	74	86	79	81	90	15
tarde	65	100	87	85	104	99	82	98	106	95	9
manhã	87	78	80	96	78	70	81	69	75	78	8
tarde	45	52	49	62	44	59	51	42	39	50	8
manhã	76	61	69	49	76	79	67	74	77	69	10
tarde	22	28	39	27	22	31	24	21	19	26	6
manhã	47	59	35	54	38	24	29	23	21	35	14
<b>Final</b>	<b>42</b>	<b>52</b>	<b>30</b>	<b>44</b>	<b>50</b>	<b>36</b>	<b>39</b>	<b>40</b>	<b>38</b>	<b>41</b>	<b>7</b>

## ANEXO 1

## BRASIL - OFERTA DE SUÍNOS PARA ABATE - 2004 A 2009

ESTADOS/ANO	2004	2005	2006	2007	2008	2009(1)	VAR 09/08
PRODUÇÃO INDUSTRIAL (MIL CABEÇAS)							
RS	4.791	5.242	5.609	5.800	6.366	7.059	10,9
SC	7.071	7.458	8.421	8.670	8.422	8.640	2,6
PR	4.587	4.781	5.009	5.084	5.166	5.673	9,8
SP	2.167	2.128	2.236	2.207	1.909	1.915	0,3
MG	2.697	3.249	4.037	4.193	4.521	4.747	5,0
MS	853	908	867	867	886	959	8,2
MT	976	1.293	1.359	1.416	1.686	1.835	8,8
GO	1.186	1.326	1.403	1.459	1.548	1.668	7,7
SUB TOTAL	24.328	26.384	28.942	29.697	30.505	32.495	6,5
OUTROS ESTADOS	2.221	1.646	1.782	2.108	2.188	2.192	0,2
TOTAL INDUSTRIAL	26.550	28.030	30.724	31.806	32.693	34.686	6,1
SUBSISTÊNCIA	6.759	5.921	5.816	5.036	5.045	4.694	-7,0
BRASIL	33.308	33.951	36.540	36.842	37.737	39.380	4,4

Fonte: Abipecs, Sips, Sindicatos RS e PR, Embrapa.

(1) - Estimativa.

## ANEXO 2

Normatização para testes toxicológicos com lemnas, da qual foram extraídas as informações para o cultivo em laboratório

---

DRAFT INTERNATIONAL STANDARD

ISO/DIS 20079

---

### **Water quality — Determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) — Duckweed growth inhibition test**

#### **1 Scope**

This International Standard specifies a method for the determination of the growth inhibiting response of substances and mixtures contained in water, treated municipal waste water and industrial effluents.

#### **2 Principle**

Plants of the species *Lemna minor* are allowed to grow as monocultures in different concentrations of the test substance over a period of seven days. The objective of the test is to quantify substance-related effects on vegetative growth over this period based on assessments of frond number, and also on assessments on biomass (total frond area, dry weight or chlorophyll). To quantify substance-related effects, growth rate in the test solutions is compared with that of the controls and the concentration bringing about a specified x % inhibition of growth rate is determined and expressed as the  $E_{C_x}$ .

#### **3 Normative references**

The following referenced documents are indispensable for the application of this document. For dated references, only the edition cited applies. For undated references, the latest edition of the referenced document (including any amendments) applies.

ISO 5667-16, *Water quality — Sampling — Part 16: Guidance on biotesting of samples*

ISO 10260, *Water quality — Measurement of biochemical parameters — Spectrometric determination of the chlorophyll-a concentration*

ISO/IEC 17025, *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*

#### **4 Terms and definitions**

For the purposes of this document, the following terms and definitions apply.

##### **4.1**

##### **test sample**

discrete portion of a sample (taken from i.e. receiving water, waste water, dissolved chemical substances or mixtures, products and compounds) pretreated according to the needs of this test (e. g. dissolution, filtering, neutralisation)

##### **4.2**

##### **dilution water**

water added to the test sample to prepare a series of defined dilutions

## ISO/DIS 20079

$$r = \frac{\ln x_{t2} - \ln x_{t1}}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

where

- $r$  is the growth rate per day ;
- $x_{t1}$  is the value of observation parameter at  $t_1$  days, d ;
- $x_{t2}$  is the value of observation parameter at  $t_2$  days, d ;
- $t_2 - t_1$  is the time period between  $x_{t1}$  and  $x_{t2}$  in days , d.

Mean values are only used as basic data if the parameter is measured destructively. In all other cases use the individual value of the replicates.

Calculate the growth rate for the total test period, or a rationale for selecting only a portion of the growth curve provided. For each test concentration and control, calculate the average specific growth rate with variance estimates.

Calculate the percent inhibition of growth rate for each test concentration, according to the following equation :

$$ir = \frac{rc - rt}{rc} \times 100 \quad (2)$$

where

- $ir$  is the inhibition of the average specific growth rates, in % ;
- $rc$  is the average specific growth rate of the control, in % ;
- $rt$  is the average specific growth rate of the treatment groups, in %.

## 12.2 Assessment of test validity

For all control vessels, table single values, mean values and coefficients of variation for quantified parameters in order to calculate :

- average specific growth rate ;
- doubling time ;
- multiplication factor within 7 d.

For the control of exponential growth, table the mean value and coefficients of variation of all observation parameters measured several times and plot the mean values as :

- growth curves (ln (observation parameters) versus time) ; or
- segmented growth rates ( $r$  versus time).

For additional quality control purposes :

- statement of complaints that validity criteria for reference toxicant tests have been met (e. g. using control charts).

## A.2 SIS medium as used by OECD

### A.2.1 Concentrations and stock solutions

Table A.4 — OECD 221 Draft, Oct. 2000 – Culture and test media for *Lemna minor* (modified Swedish Standard (SIS) growth medium)

Substance	Concentration		Element	Stock solution
	Stock solution g/l	Medium <sup>a</sup> mg/l		
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	15	75	NI <sup>b</sup>	II
NaNO <sub>3</sub>	8,5	85	NI	I
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	7,2	36	NI	III
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	4,0	20	NI	IV
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,34	13,4	NI	I
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,0	1,0	NI	V
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0,2	0,2	NI	V
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,010	0,010	NI	V
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,050	0,050	NI	V
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0,005	0,005	NI	V
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,010	0,010	NI	V
Na <sub>2</sub> EDTA	0,28	1,4	NI	VI <sup>c</sup>
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,168	0,84	NI	VI <sup>c</sup>
MOPS (buffer) <sup>d</sup>	490	490	NI	VII <sup>c</sup>
pH adjustment	Adjust to 6,5 ± 0,2 by addition of NaOH solution (6.4) or HCl (6.5).			
Sterilization	Sterilize stock solutions I to V by autoclaving (121 °C, 15 min) or by membrane filtration (pore diameter 0,2 µm) ; stock solutions VI (and optional VII) are sterilised by membrane filtration only (i.e. these should not be autoclaved).			
<sup>a</sup> Concentration of substance in medium. <sup>b</sup> NI = Not indicated. <sup>c</sup> Added after autoclaving. <sup>d</sup> MOPS buffer is only required when pH control of the test medium is particularly important (e.g., when testing metals or substances which are hydrolytically unstable).				

**ISO/DIS 20079****A.2.2 Preparation of the final concentration of SIS medium**

Add the following stock solutions to about 900 ml water (6.2) :

- 10 ml of stock solution I ;
- 5 ml of stock solution II, III, IV, VI ;
- 1 ml of stock solution V ;
- 1 ml of stock solution VII (optional).

The pH is adjusted to  $6,5 \pm 0,2$  by addition of a minimised volume of NaOH solution (6.4) or HCl (6.3). Adjust with water (6.2) to 1 000 ml.

If stock solutions are sterilized and appropriate water is used no further sterilisation is necessary. If sterilisation is done with the final medium stock solution VI (and optional VII) should be added after autoclavation (at 121 °C for 20 min).