

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

MARIANA GARROUX MONTEZUMA

**GERAÇÃO DE METANO A PARTIR DA CODIGESTÃO DE LIXIVIADO
DE ATERRO SANITÁRIO E LODO DE ESGOTO**

Ilha Solteira
2023

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GESTÃO E REGULAÇÃO DE
RECURSOS HÍDRICOS - PROFÁGUA**

MARIANA GARROUX MONTEZUMA

**GERAÇÃO DE METANO A PARTIR DA CODIGESTÃO DE LIXIVIADO
DE ATERRO SANITÁRIO E LODO DE ESGOTO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais. Especialidade: Gestão e Regulação de Recursos Hídricos

Nome do orientador

Renato Grillo

Nome do coorientador

Cristina Rossi Nakayama

Ilha Solteira

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Montezuma, Mariana Garroux.

M781g Geração de metano a partir da codigestão de lixo de aterro sanitário e lodo de esgoto / Mariana Garroux Montezuma. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
177 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Gestão e Regulação de Recursos Hídricos, 2023

Orientador: Renato Grillo

Co-orientador: Cristina Rossi Nakayama

Inclui bibliografia

1. Digestor anaeróbio. 2. Atividade metanogênica específica. 3. Recuperação energética em ETE.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "GERAÇÃO DE METANO A PARTIR DA CODIGESTÃO DE LIXIVIADO DE
ATERRO SANITÁRIO E LODO DE ESGOTO"**

AUTORA: MARIANA GARROUX MONTEZUMA

ORIENTADOR: RENATO GRILLO

COORIENTADORA: CRISTINA ROSSI NAKAYAMA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Gestão e Regulação de Recursos Hídricos, área: Instrumentos de Política de Recursos Hídricos pela Comissão Examinadora:

Renato Grillo

Prof. Dr. RENATO GRILLO (Participação Virtual)
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP)

Vivien Luciane Viaro

Prof.^a Dr.^a VIVIEN LUCIANE VIARO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Ambiental da Escola Politécnica / Universidade Federal da Bahia - UFBA

Marcelo Antunes Nolasco

Prof. Dr. MARCELO ANTUNES NOLASCO (Participação Virtual)
Laboratório de Saneamento e Tecnologias Ambientais / EACH - USP

Ilha Solteira, 05 de dezembro de 2023

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao *mistério do planeta*, que nos oferece tanto por descobrir. Sem ele não existiriam meninas curiosas fazendo experimentações, nem mulheres fazendo Ciência.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço imensamente meu grande amigo Antônio Sérgio C. Ferreira, o Juninho, pelo primeiro empurrão e argumento que motivaram este trabalho, e depois por todo apoio e carinho ao longo dessa pequena jornada de três anos.

Em segundo lugar, agradeço à Sabesp, e a todos os colegas que dão corpo a essa empresa, a qual por 10 anos tem contribuído para meu crescimento profissional. Em particular, agradeço a minha liderança imediata na ocasião, Rosmeiry V. Vicente, pelo incentivo intelectual, e pelo espaço que me concedeu a fim de conciliar a execução dessa pesquisa com minhas atribuições de rotina no trabalho.

Fiz uma escolha acertada ao optar pelo Profágua como Programa de Mestrado Profissional. E, na pessoa de seu coordenador, Prof. Dr. Jefferson Nascimento de Oliveira, a quem tive a honra de auxiliar em monitoria, agradeço a cada um dos professores que me apresentaram o universo da pós-graduação. Aos meus colegas da turma 2021, sou grata pelas trocas, sempre amigáveis e genuínas. Crescemos juntos.

Agradeço meus orientadores, Prof. Dr. Renato Grillo e Profa. Dra. Cristina Rossi Nakayama, a quem tive a grande sorte de encontrar, ambos atenciosos, generosos e inteligentes.

Agradeço meus queridos amigos do Laboratório da ETE Barueri, Jaqueline A. Barone, João Paulo V. Coppola, e Marco Antônio T. Benzatti, que além da parceria diária, acompanharam de perto meus dramas, me auxiliaram e contribuíram com a concretização dessa pesquisa. Agradeço também à Química Roseli D. Spósito pelas palavras de entusiasmo.

Agradeço a todos aqueles que apesar de não nomeados, contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho, equipe da Attend Ambiental, colegas do Laboratório da ETE ABC, fornecedores e profissionais diversos a quem consultei.

E por fim, agradeço a minha família, pelo amor que fortalece e anima, e pela compreensão nos momentos de ausência. Emília e Irene, minhas filhas extraordinárias, Mauricio Iocca Jr, meu companheiro amoroso e dedicado, minha tia-irmã Daniela G. Gonçalves de Oliveira, com suas dicas preciosas, e meus pais, Maria Alzira G. Montezuma e José Eduardo C. Montezuma que sempre acreditaram em mim. Obrigada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, agradeço também ao Programa de Mestrado Profissional em Rede Nacional em Gestão e Regulação de Recursos Hídricos - ProfÁgua, Projeto CAPES/ANA AUXPE Nº 2717/2015, pelo apoio técnico científico aportado até o momento.

“Embora a Terra primitiva não tivesse nenhum tipo de fruta ou, a rigor, de plantas, os fermentadores ancestrais banquetearam-se de açúcar. Experimentos laboratoriais que simulam a atmosfera energizada da Terra primitiva mostraram que muitos compostos orgânicos ricos em energia se formam espontaneamente. (...) A vida primitiva alimentou-se desses doces primevos substituindo os compostos de carbono e hidrogênio do ambiente por seus próprios corpos de composição semelhante, mas distintamente autopoéticos (sic).”

*Lynn Margulis e Dorion Sagan
em O Que é Vida?*

RESUMO

Estações de Tratamento de Esgoto não devem ser simples atenuadoras de passivos ambientais, e sim importantes fontes de recuperação de recursos materiais. Nesse contexto, subprodutos dos diversos processos de saneamento urbano possuem potencial para se inter-relacionar de modo a reduzir impactos e/ou otimizar a recuperação de matérias-primas e energia. O objetivo desta pesquisa é avaliar os efeitos da adição do lixiviado de aterro sanitário sobre a produção de metano em digestor anaeróbio convencional em ETE de grande porte. A avaliação foi realizada em escala de bancada fundamentando-se na Atividade Metanogênica Específica (AME), ensaio para o qual foi definido um protocolo volumétrico, produto desta pesquisa, cujo coeficiente de variação foi de 9,44% ao utilizar acetato como substrato. Caracterizou-se quimicamente duas amostras distintas de lixiviado, demonstrando a qualidade variável deste produto. No experimento 1, foram submetidas à degradação as misturas de lodo de processo mais lixiviado nas proporções v/v: 15%, 20%, 30% e 40%, adotando-se uma relação substrato/inóculo (S/I) de 1,5. Nos tratamentos com lixiviado obteve-se valores de AME ligeiramente menores do que no controle, porém com produções de metano acumulado superiores ($0,44 \text{ Nm}^3_{\text{CH}_4}/\text{kgSV}$ no tratamento 1). Detectou-se retardo do início da geração de metano de modo proporcional ao volume ofertado de lixiviado, possivelmente em razão da reorganização da microbiota. E, inferiu-se que a presença de substâncias húmicas no lixiviado contribui com a solubilização da matéria orgânica celular presente no lodo de processo. No experimento 2, a oferta de lixiviado a 15% v/v e relação S/I de 3,1, resultou em inibição, demonstrando que a carga orgânica volumétrica (COV) é um parâmetro operacional sensível. A adoção da codigestão de lixiviado e lodo de esgoto se mostra viável em percentuais conservadores de aplicação contínua, se obedecido um limite de aplicação em COV, resultando em produções maiores de biogás. Limites legais relativos ao lançamento de compostos nitrogenados em corpos hídricos, e utilização do lodo como biossólido, devem ser considerados como limitadores para projetos de codigestão como o proposto nesta pesquisa. No entanto, o sequestro e utilização comercial da amônia liberada na fase sólida, com consequente redução de seu retorno à fase líquida, além de potencialmente reenquadrar o efluente final, pode trazer retornos econômicos aos operadores do sistema, além de beneficiar a economia circular dos processos produtivos.

Palavras-chave: digestor anaeróbio; atividade metanogênica específica; recuperação energética em ETE.

ABSTRACT

Sewage Treatment Plants should not be simple mitigations of environmental liabilities, but rather important sources of recovery of material resources. In this context, by-products from the various urban sanitation processes have the potential to interrelate in order to reduce impacts and/or optimize the recovery of raw materials and energy. The objective of this research is to evaluate the effects of adding landfill leachate on methane production in a conventional anaerobic digester in a large WWTP. The evaluation was carried out on a bench scale based on Specific Methanogenic Activity (AME), an assay for which a volumetric protocol was defined, a product of this research, whose coefficient of variation was 9.44% when using acetate as substrate. Two distinct leachate samples were chemically characterized, demonstrating the variable quality of this product. In experiment 1, mixtures of leached plus process sludge were subjected to degradation in the following v/v proportions: 15%, 20%, 30% and 40%, adopting a substrate/inoculum (S/I) ratio of 1.5. In treatments with leachate, AME values were obtained slightly lower than in the control, but with higher accumulated methane production (0.439 Nm³CH₄/kgSV in treatment 1). A delay in the start of methane generation was detected in proportion to the volume of leachate offered, possibly due to the reorganization of the microbiota. And, it was inferred that the presence of humic substances in the leachate contributes to the solubilization of cellular organic matter present in the process sludge. In experiment 2, the supply of leachate at 15% v/v and a S/I ratio of 3.1 resulted in inhibition, demonstrating that the volumetric organic load (VOC) is a sensitive operational parameter. The adoption of co-digestion of leachate and sewage sludge proves to be viable at conservative percentages of continuous application, if a VOC application limit is observed, resulting in greater production of biogas. Legal limits relating to the release of nitrogenous compounds into water bodies, and the use of sludge as biosolids, must be considered as limitations for co-digestion projects such as the one proposed in this research. However, the sequestration and commercial use of ammonia released in the solid phase, with a consequent reduction in its return to the liquid phase, in addition to potentially reframing the final effluent, can bring economic returns to system operators, in addition to benefiting the circular economy of production processes.

Keywords: anaerobic digester; specific methanogenic activity; energy recovery in WWTP.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma do processo de recuperação de recursos a partir das saídas de uma Estação de Tratamento de Esgoto típica.....	16
Figura 2 - Fluxograma das etapas do metabolismo anaeróbico	23
Figura 3 – Quadro comparativo do rendimento energético de algumas reações comuns na degradação anaeróbia	24
Figura 4 - Determinação gráfica da taxa máxima de produção de metano	30
Figura 5 - Síndromes típicas de curvas de produção acumulada de biogás	31
Figura 6 - Reelaboração visual do Experimento 1 realizado por Wang <i>et al.</i> (2015)	33
Figura 7 - Quadro de receita para a solução tampão e nutricional recomendada para testes de AME.	37
Figura 8 - Quadro síntese do protocolo utilizado para o ensaio de AME	42
Figura 9 - Mecanismos de ação dos ácidos húmicos na digestão anaeróbia	49
Figura 10 - Localização geográfica da ETE Barueri	53
Figura 11 - Vista geral de dois digestores anaeróbios da ETE Barueri.....	54
Figura 12 - Diagrama da inclusão do chorume no processo de tratamento da ETE Barueri....	54
Figura 13 - Desenho experimental (A) e registro fotográfico (B) do ensaio preliminar.....	66
Figura 14 - Desenho experimental (A) e registro fotográfico (B) do Experimento 1	68
Figura 15 - Desenho experimental (A) e registro fotográfico (B) do Experimento 2	70
Figura 16 - Registro fotográfico dos recursos instrumentais para ensaio de CST e de tempo de filtração.....	71
Figura 17 - Print de tela com o detalhamento dos parâmetros utilizados para caracterizar o afluente industrial (chorume).....	73
Figura 18 - Gráfico de produção acumulada de metano durante teste de repetibilidade utilizando acetato como substrato a 30°C	74
Figura 19 - Gráfico de produção acumulada de metano durante teste de linearidade utilizando glicose como substrato a 30°C	77
Figura 20 - Gráfico de produção acumulada de metano durante Ensaio Preliminar, a 30°C...83	83
Figura 21 - Recomendações de projeto para digestores de mistura completa.....	85
Figura 22 - Gráfico de produção acumulada de metano durante EXP1, a 30°C	89
Figura 23 - Diagrama representativo das unidades taxonômicas operacionais presentes no inóculo aclimatado (ASS) e não aclimatado (USS).....	93
Figura 24 - Produção acumulada de metano a partir da codigestão de lodo misto e gordura, óleo e graxa, em diversas proporções, utilizando inóculo aclimatado (ASS) e não aclimatado (USS)	94
Figura 25 – Sinalização dos pontos de inflexão nas curvas de produção acumulada de metano do EXP1.....	95
Figura 26 - Resultado da AME e BMP obtidos em cada tratamento do EXP1, a 30°C.....	97
Figura 27 - Aspecto visual do sobrenadante do licor reacional dos tratamentos, após 53,3 dias de ensaio no EXP1.....	99
Figura 28 - Representação da distribuição da matéria orgânica residual, nas frações particulada e solúvel, ao fim do ensaio	101
Figura 29 - Diagrama representativo das relações entre os principais compostos presentes no lixiviado.....	103
Figura 30 - Valores máximos permitidos no biossólido destinado para aplicação em solos .	105

Figura 31 - Gráfico de produção acumulada de metano durante EXP2, a 30°C	107
Figura 32 - Curva da correlação entre o <i>CST</i> e a concentração de sólidos do lodo	111
Figura 33 - Correlação entre carga coloidal e tempo de sucção capilar	112
Figura 34 - Diagrama da simulação do Biowin, sem adição de chorume	113
Figura 35 - Gráfico de destruição de sólidos voláteis (%) pelo digestor sem adição de chorume	113
Figura 36 – Gráfico da proporção relativa de nitrogênio proveniente dos retornos em relação à entrada bruta, no cenário sem adição de chorume	114
Figura 37 – Diagrama da simulação do Biowin, com adição de chorume	114
Figura 38 – Gráfico de destruição de sólidos voláteis (%) pelo digestor com adição de chorume	115
Figura 39 – Gráfico da proporção relativa de nitrogênio proveniente dos retornos em relação à entrada bruta, no cenário com adição de chorume	115
Figura 40 – Quadro comparativo e esboço visual das curvas obtidos em cada teste	119
Figura 41 – Elaboração visual das montagens adotadas em cada teste	120
Figura 42 – Avaliação respirométrica da taxa de consumo de oxigênio pelo lodo ativado da ETE Barueri, em condições de presença e ausência de contribuição de END	124
Figura 43 - Diagrama aperfeiçoado da inclusão do chorume no processo de tratamento de uma ETE	126

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Faixas de pH ideais para a degradação de alguns substratos.....	22
Tabela 2 – Nutrientes necessários para o crescimento da população de arqueias metanogênicas	36
Tabela 3 – Condições recomendadas para o inóculo utilizado no teste AME.	38
Tabela 4 – Características do lixiviado em função da idade do aterro sanitário	45
Tabela 5 – Ensaio analítico empregados na caracterização do LP	58
Tabela 6 – Ensaio analítico empregados na caracterização do inóculo.....	58
Tabela 7 – Ensaio analítico básicos empregados na caracterização dos lixiviados	59
Tabela 15 – Qualidade das amostras originais utilizadas no ensaio de repetibilidade	62
Tabela 16 – Montagem do ensaio de repetibilidade	62
Tabela 18 – Qualidade das amostras originais utilizadas no ensaio de linearidade	62
Tabela 19 – Montagem do ensaio de linearidade, com glicose como substrato.....	63
Tabela 8 – Qualidade das amostras originais utilizadas no ensaio preliminar	64
Tabela 9 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EP com LAS – V.....	65
Tabela 10 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EP com LAS – J.....	66
Tabela 11 – Qualidade das amostras originais utilizadas no EXP1	67
Tabela 12 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EXP1 com LAS – V....	68
Tabela 13 – Qualidade das amostras originais utilizadas no EXP2	69
Tabela 14 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EXP2 com LAS – V (lote 2) e LAS - J.....	70
Tabela 17 – Obtenção da AME do teste de repetibilidade, adotando o trecho do 4° ao 8,7° dia	75
Tabela 20 – Obtenção da AME do teste de linearidade, adotando o trecho do 0,7° ao 2,1° dia	77
Tabela 21 – Caracterização analítica das amostras utilizadas na pesquisa.....	79
Tabela 22 – Caracterização analítica de metais nas amostras de lixiviado (lote 1) utilizadas na pesquisa	81
Tabela 23 – Resultados analíticos do EP aos 12,8 dias de ensaio	84
Tabela 24 – Cálculo do percentual de DQO removida no EP	86
Tabela 25 – Comparativo entre a carga solúvel inicial e final, no EP.....	86
Tabela 26 – Obtenção da AME do Ensaio Preliminar	87
Tabela 27 – Concentração de amônia livre no início da incubação, calculada com base na equação 12.....	90
Tabela 28 – Obtenção da AME do EXP1, a partir das curvas de produção acumulada de metano	96
Tabela 29 – Obtenção do <i>BMP</i> do EXP1, a partir do volume acumulado de metano.....	97
Tabela 30 – Obtenção da carga de aplicação máxima a partir dos resultados do EXP1	98
Tabela 31 – Resultados analíticos após 53,3 dias de ensaio no EXP1	100
Tabela 32 – Cálculo do percentual de DQO removida no EXP1	102
Tabela 33 – Resultados analíticos, e calculado, de metais após finalização do EXP1.....	104
Tabela 34 – Comparativo entre resultados analíticos e calculados para metais dissolvidos no tratamento 1 do EXP1	106
Tabela 35 – Obtenção da AME do EXP2, a partir das curvas de produção acumulada de metano	108

Tabela 36 - Resultados analíticos após 22,7 dias de ensaio no EXP2.....	109
Tabela 37 – Resultados de CST para o lodo parcialmente digerido no EXP2	110
Tabela 38 – Resultados de tempo de filtração para o lodo parcialmente digerido no EXP2 .	112
Tabela 39 – Comparação entre parâmetros diversos obtidos nas duas simulações.....	116

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AV	Acidez volátil
AAV	Alcalinidade dos ácidos voláteis
AB	Alcalinidade bicarbonato
AGV	Ácidos orgânicos voláteis de cadeia curta
AI	Alcalinidade intermediária
AME	Atividade Metanogênica Específica (SMA em inglês)
AP	Alcalinidade parcial
APHO	Acetogênicas produtoras de hidrogênio obrigatórias
AT	Alcalinidade total
BMP	<i>Biochemical Methane Potential</i> (Potencial de Geração de Metano)
Cb	Carga biológica
CNTP	Condições Normais de Temperatura e Pressão
COV	Carga orgânica volumétrica
CST	<i>Capillary suction time</i>
CV	Coeficiente de variação
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
EP	Ensaio preliminar
EXP1	Experimento 1
EXP2	Experimento 2
LAS	Lixiviado de aterro sanitário
LAS-J	Lixiviado de aterro sanitário jovem
LAS-V	Lixiviado de aterro sanitário velho
LP	Lodo de processo (afluente ao digestor anaeróbico da ETE Barueri)
NTK	Nitrogênio Kedhjal
S/I	Relação alimento (substrato) por microrganismo (inóculo)
SMWW	<i>Standard Methods for Water and Wastewater</i>
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> (Reator Anaeróbico de Fluxo Ascendente)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Objetivos gerais	18
1.2	Objetivos específicos	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	DIGESTORES ANAERÓBIOS	19
2.1.1	Monitoramento físico químico	20
2.1.2	Metabolismo anaeróbio	22
2.1.3	Compostos prejudiciais ao metabolismo anaeróbio	25
2.2	ENSAIO DE ATIVIDADE METANOGENICA ESPECÍFICA (AME)	28
2.2.1	Proporcionalidade entre biomassa e substrato	32
2.2.2	Montagem e outras variáveis de interesse	35
2.2.3	Medição do biogás.....	39
2.2.4	Consolidação de informações para compor o protocolo de ensaio de AME	42
2.3	LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO.....	43
2.3.1	Metabolização anaeróbia de lixiviado de aterro sanitário.....	46
2.3.2	Codigestão do lixiviado de aterro sanitário.....	50
3	METODOLOGIA.....	53
3.1	ÁREA DE ESTUDO	53
3.2	CONDIÇÕES OPERACIONAIS DOS ATERROS SANITÁRIOS	56
3.3	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS UTILIZADAS	57
3.4	ASPECTOS GERAIS DO ENSAIO DE AME	60
3.4.1	Montagem e execução	60
3.4.2	Medição do volume produzido	60
3.4.3	Validação de método para o ensaio de AME.....	61
3.5	QUANTIFICAÇÃO DO EFEITO DE CODIGESTÃO	63
3.5.1	Ensaio preliminar (EP)	64
3.5.2	Configuração do Experimento 1 (EXP1).....	67
3.5.3	Configuração do Experimento 2 (EXP2).....	69
3.5.4	Cálculo da produção teórica de metano com base na DQO ofertada.....	71
3.6	SIMULAÇÃO EM SOFTWARE DE MODELAGEM GLOBAL (BIOWIN®).....	72

3.6.1	Dados de entrada	73
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
4.1	ENSAIO DE REPETIBILIDADE	74
4.2	ENSAIO DE LINEARIDADE	76
4.3	ENQUADRAMENTO DOS TIPOS DE LIXIVIADO	78
4.4	CODIGESTÃO DE LODO DE PROCESSO E LIXIVIADO	82
4.4.1	Resultados do Ensaio Preliminar	83
4.4.2	Resultados do Experimento 1	88
4.4.2.1	<i>Análise da montagem adotada no EXP1</i>	88
4.4.2.2	<i>Análise das curvas obtidas no EXP1</i>	90
4.4.2.3	<i>Análise dos valores de AME e BMP obtidos no EXP1</i>	95
4.4.2.4	<i>Análise dos resultados analíticos obtidos no EXP1</i>	98
4.4.3	Resultados do Experimento 2	107
4.4.3.1	<i>Análise da montagem adotada e AME obtida no EXP2</i>	107
4.4.4	Efeitos sobre a capacidade de desaguamento do lodo digerido	110
4.5	SIMULAÇÃO DOS EFEITOS GLOBAIS DA CODIGESTÃO	113
4.6	VIABILIDADE DA CODIGESTÃO DE LIXIVIADO EM ETE	119
4.6.1	Sugestões para o planejamento de futuras ETes	125
5	CONCLUSÃO	127
5.1	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	129
	REFERÊNCIAS	131
	APÊNDICE A – Protocolo Volumétrico para o Ensaio de Atividade Metanogênica Específica	140
	APÊNDICE B - Dados brutos do ensaio de repetibilidade	154
	APÊNDICE C – Dados brutos do ensaio de linearidade	159
	APÊNDICE D – Dados brutos do ensaio preliminar	161
	APÊNDICE E – Dados brutos do experimento 1	167
	APÊNDICE F – Dados brutos do experimento 2	175

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2015, o Brasil juntamente com outras nações, assumiu o compromisso de implementar uma nova política global para uma agenda sustentável, a qual deve promover desenvolvimento econômico com observância às questões ambientais e sociais, a ser alcançada até 2030. Dezesete Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) foram estabelecidos para orientar esse caminho de maneira mensurável e estruturada.

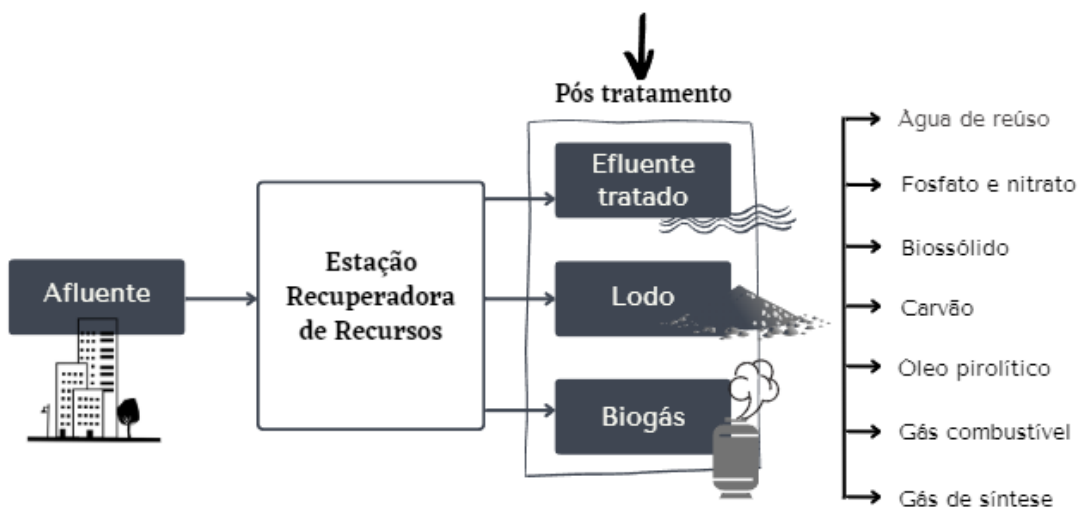
Dentre esses, merecem destaque dentro do escopo deste trabalho, os ODS 6 – Água Potável e Saneamento, ODS 9 – Indústria, Inovação e Infraestrutura, e o ODS 11 – Cidades e Comunidades Sustentáveis. Nesse contexto, o propósito maior desta pesquisa é contribuir para a definição de estratégias de organização urbana no âmbito do saneamento básico, de modo a suprir demandas energéticas sem abrir mão da manutenção da qualidade de nossos corpos hídricos.

Atualmente, com o crescimento populacional das cidades, aliado a um aumento da demanda por recursos naturais, tanto para irrigação e fertilização do solo para produção de alimentos, quanto para geração de energia para os processos industriais, se fortalecem conceitos como o da economia circular, ecologia industrial, e abordagem NEXUS formulada pela FAO (*Food and Agriculture Organization*). Esses termos sintetizam a ideia de que os processos produtivos, nos quais também se inserem as unidades que integram o sistema de saneamento básico, precisam ser reformulados no sentido de se retroalimentarem compondo uma rede/ciclo similar àquelas observadas na natureza.

Nesse sentido, técnicas de codigestão vêm sendo estudadas a fim de aumentar o rendimento dos processos de geração de energia, biossólidos e/ou nutrientes; em um novo cenário no qual a ETE (Estação de Tratamento de Esgoto), antes entendida como atenuadora de um passivo ambiental, passa a ser entendida como estação recuperadora de recursos (figura 1).

O lodo gerado por uma ETE, seja ele oriundo de processos físicos primários de separação ou oriundo de tanques de aeração (lodo ativado), é comumente estabilizado biologicamente em digestores, desaguado, e então destinado a aterros sanitários. O lixiviado gerado no aterro (chorume), por sua vez, é comumente pré-tratado *in loco* para atender aos padrões para seu lançamento em sistemas de tratamento de esgoto ou lançamento direto em águas superficiais (vide art. 19-A do Dec. Estadual 8468/76). O envio às ETEs via rede coletora ou caminhões costuma ser a solução preferencial em razão dos baixos custos envolvidos (Ahn *et al.*, 2002 *apud* Abbas *et al.*, 2009, p. 2).

Figura 1 - Fluxograma do processo de recuperação de recursos a partir das saídas de uma Estação de Tratamento de Esgoto típica.



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

As opções técnicas de tratamento dado ao chorume de aterro são diversas e, além do tratamento biológico aeróbio e/ou anaeróbio em ETEs, incluem: recirculação interna no próprio aterro, reatores biológicos combinados em bateladas sequenciais, químicas e físicas diversas (por ex. flotação, coagulação, adsorção, borbulhamento, precipitação, troca iônica, e oxidação química), e por meio de membranas de filtração avançada (Abbas *et al.*, 2009). Sendo que tais métodos podem ser estrategicamente combinados entre si a fim de alcançar melhores resultados.

Em digestores, a codigestão tem potencial para melhorar a taxa de produção de metano, pois pode promover um ambiente favorável ao estabelecimento de rotas sintróficas e/ou sinérgicas de degradação. Além disso, um cosubstrato pode incrementar o microambiente anaeróbio com nutrientes que contribuem para o alcance de proporções ótimas entre carbono, nitrogênio e fósforo (C: N: P). E mais, a codigestão pode operar como um instrumento de diluição de compostos tóxicos provenientes de algum dos cosubstratos.

Mais especificamente a codigestão de chorume com lodo de esgoto, permite equilibrar a carga de fósforo deste, com a elevada carga de nitrogênio amoniacal daquele, até um certo limite e em função da condição inicial de cada um desses cosubstratos.

O digestor anaeróbio se apresenta como um melhor sumidouro para o lixiviado de aterro do que sistemas aerados com biofilme suspenso (lodo ativado), isto porque a respiração anaeróbia é eficiente na degradação de elevadas cargas orgânicas, sem para isso demandar

gastos energéticos proporcionalmente maiores; além disso, a microbiota aeróbia pode ser significativamente afetada pelas altas concentrações de nitrogênio amoniacal e ter sua sedimentabilidade afetada (Loukidou; Zouboulis, 2001, *apud* Abbas *et al.*, 2009, p. 3).

Hombach, Oleszkiewicz e Lagasse (2003) mencionam que um estudo realizado pelo *North End Water Pollution Control Center* (NEWPCC) identificou que a incorporação de chorume na fase líquida de ETE pode representar um aumento muito significativo em carga, o que pode prejudicar a nitrificação, além de gerar ocorrências de entumescimento filamentosos do lodo ativado. O chorume com uma DBO de 25.600 mg/L, conforme medido em uma amostra local em 1999, aumentou a carga orgânica no NEWPCC em 9,6 % (Hombach; Oleszkiewicz; Lagasse, 2003), o que consequentemente representa um aumento de custos.

No entanto, mesmo para o tratamento anaeróbio, o chorume de aterro pode conter variados compostos recalcitrantes, por exemplo metais pesados e orgânicos de baixa biodegradabilidade, a depender da idade do aterro sanitário fonte desse rejeito. Segundo Abba, *et al.* (2009), os processos biológicos de tratamento são mais efetivos quando o lixiviado provém de aterros mais jovens, onde a relação entre a demanda bioquímica de oxigênio e a demanda química de oxigênio (DBO/DQO) tende a ser maior que 0,5.

É importante salientar que a ETE possui sua circulação interna própria, na qual o filtrado do adensamento e/ou desaguamento retorna ao início da fase líquida, arrastando consigo os compostos porventura recalcitrantes ao tratamento anaeróbio. Ademais, ao final do tratamento em fase sólida, o incremento na concentração de metais advindos do chorume, no lodo desaguado, pode alterar suas características de maneira a inviabilizar determinados usos posteriores.

A atividade de pesquisa sobre o efeito de compostos recalcitrantes do lixiviado sobre a microbiota de digestores, e sobre a dinâmica da ETE, não está esgotada, sendo a codigestão de chorume e esgoto doméstico em reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB) o foco da maioria dos trabalhos na área. Pouco se sabe a respeito dos efeitos provocados pela mistura volumétrica de lixiviado de idades diferentes e lodo de esgoto, a fim de obter incrementos na produção de metano, ou inibição aceitável nessa produção, sem que isso gere consequências adversas nas demais etapas de uma ETE de lodos ativados.

1.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar possíveis impactos da adição de lixiviado de aterro sanitário como co-substrato a ser administrado na fase sólida de ETEs visando aumento da geração de metano.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) caracterizar quimicamente dois tipos de lixiviado de aterro sanitário;
- b) elaborar um procedimento metodológico para realização do ensaio de atividade metanogênica específica (AME), com definição de seu coeficiente de variação;
- c) contribuir para a definição de uma taxa de aplicação máxima de lixiviado de aterro sanitário que pode ser incorporada ao digestor sem a ocorrência de efeitos negativos significativos sobre a microbiota;
- d) identificar possíveis alterações nas propriedades físico-químicas do lodo desaguado após a codigestão do lixiviado com lodo de esgoto;
- e) utilizando software de modelagem, verificar possíveis alterações nas diversas etapas de tratamento da ETE Barueri decorrentes da codigestão do lixiviado com lodo de esgoto;
- f) sugerir condições de projeto para construção ou adequação de ETEs a fim de incorporar a codigestão de lixiviado em seu processo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura teve por objetivo buscar informações científicas a respeito das variáveis que afetam os objetivos almejados neste trabalho, ou a interpretação dele, quais sejam: as propriedades de funcionamento e controle de um digestor anaeróbio, a dinâmica metabólica da microbiota anaeróbia, as opções metodológicas e variáveis de interesse para o ensaio de atividade metanogênica específica e sua aplicação, a caracterização química típica do lixiviado de aterro sanitário, e o estado da arte acerca da codigestão de lixiviado em ETE.

A busca por artigos relacionados aos assuntos mencionados foi feita no Google Acadêmico por meio das seguintes expressões ou palavras-chave, preferencialmente em inglês: “*anaerobic digestion*”, “*anaerobic + toxicity, methanogenesis*”, “*anaerobic biodegradability*”, “*specific methanogenic activity*”, “*biochemical methane potential*”, *leachate*, *leachate + landfill*, *leachate + sludge*, *leachate + co-digestion*, *validation + essay + BMP*. Os periódicos científicos utilizados foram principalmente: Springer, IWA Publishing, ACS Publications, MDPI, e Wiley Online Library.

2.1 DIGESTORES ANAERÓBIOS

Reatores anaeróbios são amplamente utilizados no tratamento de esgoto, tanto na fase líquida quanto na fase sólida, nos mais diversos formatos, e em variadas combinações com reatores aeróbios. São utilizados principalmente na etapa de estabilização do lodo nas estações de tratamento, isto é, para oxidação da matéria orgânica complexa em elementos mais simples e, em última instância, essencialmente na transformação da matéria carbonácea em CO_2 e CH_4 .

Reatores aeróbios são comparativamente mais eficientes na promoção dessa oxidação, no entanto, a alta eficiência se dá às custas de um alto fornecimento de energia para viabilizar a aeração dos tanques. Além disso, a energia liberada sob presença de oxigênio é muito maior, de modo que parte desta, cerca de 30 a 40%, é usada nos processos anabólicos de crescimento celular. Geralmente, todo esse lodo excedente fruto do crescimento celular, mais o lodo sedimentável próprio do esgoto, são oxidados em reatores anaeróbios, pois nestes o crescimento celular é mínimo, de modo a gerar pouca DQO residual.

Além disso, reatores anaeróbios suportam bem cargas mais elevadas, o que é uma característica da fase sólida das Estações. Ademais, o metano gerado é um combustível de

elevado poder calorífico, podendo ser utilizado de forma cíclica para promover aquecimento do próprio biodigestor.

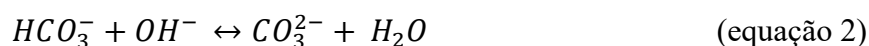
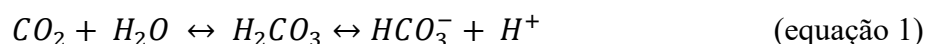
É importante salientar que a capacidade de carga de um reator anaeróbio não depende de nenhuma condição ambiental adicional, como o oxigênio para os processos aeróbios. O potencial de carga de um reator anaeróbio é, em princípio, ditado pela quantidade de lodo viável que pode ser retida no reator, pela qualidade do contato entre esse lodo viável e a matéria orgânica residuária, e pelas taxas dos processos metabólicos dentro do consórcio microbiano (Monteggia, 1997).

No entanto, o tratamento anaeróbio também possui desvantagens, por exemplo, a baixa eficiência na remoção de DBO para o alcance dos níveis legais exigidos. E, apesar da sua operação ser considerada simples, exige um bom monitoramento dos parâmetros operacionais, pois digestores podem ser muito suscetíveis a choques hidráulicos ou de cargas orgânicas, à presença de compostos tóxicos, ou à ausência de nutrientes (Chernicharo, 2016).

2.1.1 Monitoramento físico-químico

A alcalinidade é um dos principais parâmetros utilizados para monitoramento de digestores anaeróbios. Trata-se da capacidade de neutralizar ácidos fortes, ou seja, capacidade de tamponamento de uma amostra. Essa capacidade decorre da presença de alguns compostos específicos, em maior ou menor quantidade.

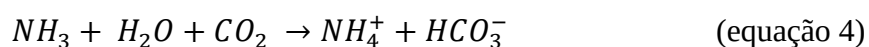
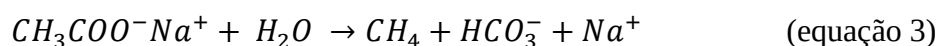
Em reatores anaeróbios, a presença de gás carbônico em dissolução no meio líquido é o principal elemento que garante capacidade de tamponamento na faixa de pH de 6,0 a 7,5. O gás carbônico, que é produzido metabolicamente pelos microrganismos, reage com a água formando ácido carbônico, o qual se dissocia em condição de equilíbrio, de modo a promover uma regulação da concentração do íon hidrogênio e hidroxila (equação 1 e 2) (Chernicharo, 2016).



Em pH 4, quase todo CO_2 estará na forma de molécula livre, já em pH 13, quase todo CO_2 estará dissolvido na forma de carbonato. O ponto de equilíbrio químico entre as formas gasosas e solúveis no sistema ocorrerá em pH 6,52 (Amaral; Steinmetz; Kunz, 2019b). Porém,

o grau de dissolução do gás carbônico no meio líquido também depende da pressão parcial desse gás na fase aérea do reator.

Processos metabólicos de digestão dos compostos orgânicos que geram como produto final os cátions, também podem contribuir com alcalinidade, por exemplo: oxidação do acetato de sódio levando à formação de bicarbonato de sódio; e oxidação da amônia presente em proteínas e aminoácidos em amônio, o qual reage com o ácido carbônico formando bicarbonato de amônia.



A produção de alcalinidade em reatores anaeróbios também pode se dar em razão da formação de sais de ácidos voláteis, já que, na presença deles, a alcalinidade bicarbonato é convertida em alcalinidade de ácidos voláteis, pois estes são mais fortes (Chernicharo, 2016). Porém, o tamponamento promovido pela alcalinidade de ácidos voláteis ocorre na faixa de pH entre 3,75 e 5,75, e por isso é considerada de baixa importância. A literatura especializada recomenda um limite máximo de 30% de alcalinidade de ácidos voláteis em relação à alcalinidade bicarbonato para um bom funcionamento do digestor. Inclusive, sob presença elevada de ácidos voláteis pode ser indicado suplementar a alcalinidade bicarbonato perdida.

Já a acidez de uma amostra é a capacidade quantitativa que ela tem de reagir com uma base até um determinado pH. E, a razão ácidos voláteis/alcalinidade também é adotada como um referencial de controle no processo de digestão anaeróbia. A razão entre 0,3 a 0,4 sinaliza um processo de digestão anaeróbia instável e, se a razão exceder 0,8, o processo de geração de metano pode cessar por completo. A razão ácidos voláteis/alcalinidade almejada deve estar entre 0,1 e 0,2 (Wpcf, 1987; Lee *et al.*, 2015 *apud* Yoon *et al.*, 2017, p. 5).

Com relação ao pH do meio, sabe-se que ele afeta de forma diferente cada grupo de microrganismo presente em reatores anaeróbios. Chernicharo (2016, p.84) cita, por exemplo, que “valores de pH abaixo de 6,0 e acima de 8,3 devem ser evitados, uma vez que estes podem inibir por completo os microrganismos formadores de metano”. Já as bactérias acidogênicas são muito menos sensíveis às variações de pH, visto que se mostram ativas até mesmo em pH baixo como 4,5, de modo que a produção de ácidos em um reator pode estar ocorrendo concomitantemente à interrupção da metanogênese (Chernicharo, 2016).

Além disso, segundo Chernicharo (2016) o pH ótimo também varia em função do tipo de substrato fornecido como alimento. A tabela 1 explicita essa variação.

Tabela 1 – Faixas de pH ideais para a degradação de alguns substratos.

Substrato	pH ótimo
Formiato	6,8 a 7,3
Acetato	6,5 a 7,1
Propionato	7,2 a 7,5

Fonte: Lettinga *et al.* (1996) *apud* Chernicharo (2016, p. 84).

Outro parâmetro indicador da qualidade do processo anaeróbio em digestores é a pressão parcial de hidrogênio, que segundo Chernicharo (2016) não deve exceder 10^{-4} atm em digestores, sendo 10^{-6} atm o valor usualmente encontrado.

2.1.2 Metabolismo anaeróbio

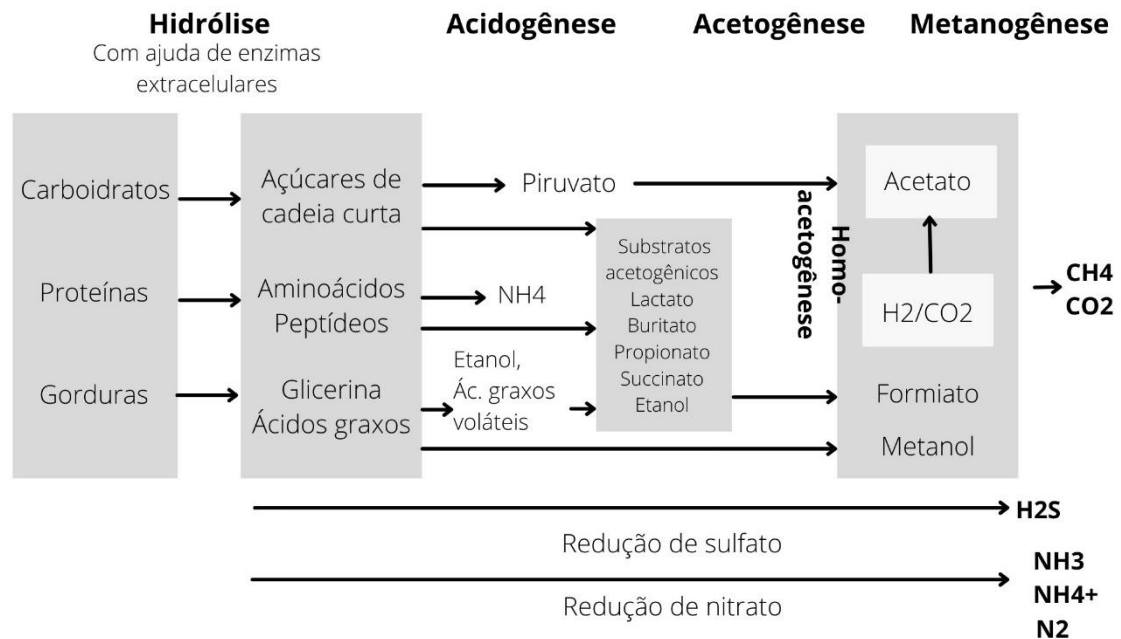
A microbiologia da digestão anaeróbia envolve a interação de vários grupos de organismos, de modo que se utiliza o termo ‘consórcio bacteriano’ para expressar essa condição. Dentro do digestor anaeróbio a matéria orgânica complexa é convertida essencialmente em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia por meio de reações metabólicas de fermentação (sem acceptor final de elétrons) ou respiração (utilizando aceptores de elétrons inorgânicos como NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2).

As espécies biológicas presentes em reatores anaeróbios dividem-se em dois domínios diferentes, o *Eubacteria* e o *Archaea*. Simplificadamente, esses organismos se organizam em quatro etapas distintas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (figura 2).

Harper e Pohland (1986), detalham essas quatro etapas em nove processos principais: i) hidrólise de polímeros orgânicos a monômeros orgânicos; ii) conversão dos monômeros orgânicos a hidrogênio, bicarbonato, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e outros produtos orgânicos como etanol e ácido lático; iii) oxidação de produtos orgânicos reduzidos a hidrogênio, bicarbonato, e ácido acético por meio das acetogênicas produtoras de hidrogênio obrigatórias; iv) respiração acetogênica do bicarbonato através da homoacetogênese; v) oxidação de produtos orgânicos reduzidos a bicarbonato e acetato por meio de bactérias redutoras de nitrato e bactérias redutoras de sulfato; vi) oxidação do acetato a bicarbonato por meio de bactérias redutoras de nitrato e bactérias redutoras de sulfato; vii) oxidação do

hidrogênio por meio de bactérias redutoras de nitrato e bactérias redutoras de sulfato; viii) fermentação metanogênica do acetato; ix) respiração metanogênica do bicarbonato.

Figura 2 - Fluxograma das etapas do metabolismo anaeróbico



Fonte: adaptado de Deublein e Steinhauser (2011) e Amaral, Steinmetz e Kunz, (2019a).

A hidrólise é um processo lento, que pode ser favorecido pelo aumento da temperatura, e afetado pelo valor do pH, concentração de nitrogênio amoniacal, e produtos da acidogênese (Chernicharo, 2016).

Na sequência, bactérias acidogênicas fermentam açúcares, peptídeos, ácidos graxos e glicerol, em ácidos orgânicos, hidrogênio e dióxido de carbono, além de cetonas e álcoois (Chernicharo, 2016). E, este é o grupo que mais se beneficia energeticamente da oxidação da matéria orgânica, pois são as reações espontâneas com maior rendimento, liberando mais energia (figura 3).

Figura 3 – Quadro comparativo do rendimento energético de algumas reações comuns na degradação anaeróbia

Nº	Etapa		ΔGo ¹ /reação)
Acidogênese			
1	Glicose a acetato	C ₆ H ₁₂ O ₆ + 2H ₂ O → 2CH ₃ COO ⁻ + 2CO ₂ + 2H ⁺ + 4H ₂	-206
2	Glicose a propionato	C ₆ H ₁₂ O ₆ + 2H ₂ → 2CH ₃ CH ₂ COO ⁻ + 2H ₂ O + 2H ⁺	-358
3	Glicose a butirato	C ₆ H ₁₂ O ₆ → CH ₃ CH ₂ CH ₂ COO ⁻ + 2CO ₂ + H ⁺ + 2H ₂	-255
Acetogênese			
4	Bicarbonato a acetato	2HCO ₃ ⁻ + 4H ₂ + H ⁺ → CH ₃ COO ⁻ + 4H ₂ O	-104,6
5	Propionato a acetato	CH ₃ CH ₂ COO ⁻ + 3H ₂ O → CH ₃ COO ⁻ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 3H ₂	76,1
6	Propionato a acetato	CH ₃ CH ₂ COO ⁻ + 2HCO ₃ → CH ₃ COO ⁻ + H ⁺ + 3HCOO ⁻	72,2
7	Butirato a acetato	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COO ⁻ + 2H ₂ O → 2CH ₃ COO ⁻ + H ⁺ + 2H ₂	48,1
8	Etanol a acetato	CH ₃ CH ₂ OH + H ₂ O → CH ₃ COO ⁻ + H ⁺ + 2H ₂	9,6
9	Lactato a acetato	H ₃ CHOHCOO ⁻ + 2H ₂ O → CH ₃ COO ⁻ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 2H ₂	-4,2
Metanogênese e Sulfetogênese			
10	Acetato a metano	CH ₃ COO ⁻ + H ₂ O → CH ₄ + HCO ₃ ⁻	-31
11	Hidrogênio a metano	H ₂ + $\frac{1}{4}$ HCO ₃ ⁻ + $\frac{1}{4}$ H ⁺ → $\frac{1}{4}$ CH ₄ + $\frac{3}{4}$ H ₂ O	-33,9
12	Formiato a metano	HCOO ⁻ + $\frac{1}{4}$ H ₂ O + $\frac{1}{4}$ H ⁺ → CH ₄ + 3H ₂ O	-32,6
13	Bicarbonato a metano	HCO ₃ ⁻ + 4H ₂ + H ⁺ → CH ₄ + 3H ₂ O	-135,6
14	Sulfato a sulfeto	SO ₄ ²⁻ + 4H ₂ + H ⁺ → HS ⁻ + 4H ₂ O	-151,9

Fonte: Adaptado de Foresti (1994), Lettinga *et al.* (1996), Aquino e Chernicharo (2005, *apud* Chernicharo, 2016, p. 43).

As acetogênicas convertem compostos orgânicos intermediários, como propionato e butirato, em acetato, ampla quantidade de hidrogênio e dióxido de carbono. Elas podem ser divididas em: próton redutoras obrigatórias, também denominadas ‘acetogênicas produtoras de hidrogênio obrigatórias’ (APHO); e aquelas que consomem o hidrogênio juntamente com gás carbônico para produzir acetato, também denominadas ‘homoacetogênicas’ (Borja e Rincón, 2017).

Bactérias acetogênicas são também chamadas de sintróficas, pois seu desempenho dentro do consórcio depende das acidogênicas e das arqueias metanogênicas. Essa condição pode ser demonstrada pelas reações de 5 a 9 que aparecem na figura 3. Como se vê, tratam-se de reações termodinamicamente desfavoráveis (ΔG_o^1 positivo), e para que ocorram é necessário que a pressão parcial de hidrogênio seja mantida extremamente baixa, da ordem de 10^{-4} a 10^{-6} atm (Harper e Pohland, 1986).

A metanogênese é realizada por arqueias estritamente anaeróbias e, portanto, só se desenvolvem em ambientes onde O_2 , NO_3^- , Fe^{3+} e SO_4^{2-} , estão ausentes ou em baixas concentrações (Chernicharo, 2016). Dolfing e Bloeman (1985) segregaram as arqueias metanogênicas em 3 subgrupos distintos: aquelas que utilizam somente H_2 - CO_2 (formiato) para produção de metano; aquelas que utilizam somente acetato para produção de metano; e aquelas que podem utilizar tanto formiato quanto acetato para produção de metano.

As acetoclásticas se distinguem das metanogênicas hidrogenotróficas por formarem metano e gás carbônico a partir de acetato ou metanol (fonte de energia), enquanto estas formam metano a partir de hidrogênio (fonte de energia) e gás carbônico ou formiato (aceptor final) (Chernicharo, 2016). Cerca de 70% do metano produzido no digestor é proveniente da clivagem do acetato pelos microrganismos metanogênicos acetoclásticos.

Bactérias sulfato e nitrato redutoras liberam sulfeto e amônia gasosa para o meio. As sulfato redutoras são muito versáteis, pois possuem competência para utilizar uma ampla gama de substratos, incluindo toda a cadeia de ácidos orgânicos voláteis, hidrogênio, metanol, etanol, glicerol, açúcares, aminoácidos, acetato, além de compostos fenólicos e aromáticos (Chernicharo, 2016).

Segundo Foresti (1999), quando existe presença de metais pesados no ambiente interno ao digestor, esses organismos atuam equilibrando esse fator de toxicidade para as metanogênicas, já que os sulfetos de metais pesados têm solubilidade muito baixa, o que os torna bio-indisponíveis.

Chen, Cheng e Creamer (2008) dividem as sulforedutoras em 2 grupos: aquelas que oxidam seus substratos de forma incompleta, reduzindo compostos como lactato a acetato e CO_2 ; e aquelas que o fazem de maneira completa convertendo acetato a gás carbônico e HCO_3^- .

É a capacidade de utilizar, tanto acetato quanto hidrogênio como substratos, o que faz desses organismos competidores com as metanogênicas (Harper e Pohland, 1985). Podem competir também com as acetogênicas e as acidogênicas por propionato, butirato e H_2 (Mccartney; Oleszkiewicz, 1993; Colleran *et al.*, 1995 *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4047).

2.1.3 Compostos prejudiciais ao processo anaeróbio

Nesta seção serão apresentados os compostos que são comumente reportados como potencialmente tóxicos ou inibidores para a digestão anaeróbia, quais sejam: amônia, sulfeto, íons de metais leves, metais pesados, e compostos orgânicos (xenobióticos) (Chen; Cheng;

Creamer, 2008). As concentrações limite descritas em literatura variam bastante entre si, em função de mecanismos que afetam a sensibilidade dos microrganismos a esses compostos, ou o poder de ação dos mesmos, por exemplo, aclimatação, antagonismo, sinergismo, condições ambientais e complexação (Chen; Cheng; Creamer, 2008).

A amônia é encontrada em duas formas inorgânicas diferentes em meio aquoso, como íon NH_4^+ ou como amônia livre NH_3 , sendo que esta apresenta maior potencial inibidor por ser permeável à membrana dos organismos (Baere *et al.*, 1984 *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4045). Já no ambiente intracelular, o trabalho de Whittman *et al.* (1995, *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4045) sugere que a amônia age modificando o pH, aumentando a demanda energética de manutenção celular, e inibindo enzimas específicas.

Tendo em vista o equilíbrio químico entre as formas de amônia mencionado acima, um aumento no pH pode resultar em aumento de toxicidade, por deslocar a reação no sentido de formação de amônia livre. E, como as arqueias metanogênicas são mais sensíveis ao excesso de amônia (Kayhanian, 1994 *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4045), sua inibição pode provocar um acúmulo de ácidos orgânicos no meio, o que por sua vez leva a um decaimento do pH e deslocamento do equilíbrio no sentido de formação de NH_4^+ . Nesse cenário, a dinâmica entre esses compostos pode provocar um estado estável de digestão, mas com baixa produção de metano (Angelidaki; Ahring, 1993; Angelidaki *et al.*, 1993, *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4045).

A revisão feita por Chen, Cheng e Creamer (2008), em mais de 20 trabalhos, identificou que a concentração de amônia que provocou redução de 50% na produção de metano variou de 1,7 a 14 g/L. No entanto, cabe lembrar que outras variáveis atuam nessa dinâmica podendo diminuir ou aumentar os efeitos dessas concentrações. Três trabalhos revisados por Chen, Cheng e Creamer (2008) demonstram que os íons de sódio (Na^+), cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}), por exemplo, atuam de forma antagônica com a amônia, isto é, a toxicidade de um íon é reduzida pela presença do outro íon.

Segundo Chen, Cheng e Creamer (2008), o sulfeto provoca efeitos inibitórios na digestão anaeróbia por meio de dois mecanismos diferentes: um deles se deve ao favorecimento metabólico das bactérias sulfato-redutoras que competem com os demais microrganismos por substratos em comum; ou por efeitos tóxicos diretos sobre os diversos grupos do consórcio (inclusive as próprias sulfato-redutoras). No entanto, a sensibilidade de cada grupo de microrganismo não é o mesmo. Acetogênicas e sulfato-redutoras são mais tolerantes ao sulfeto, já as metanogênicas, por sua vez, possuem um grau de sensibilidade maior (O'Flaherty *et al.*, 1998b *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4049).

Apesar de Parkin *et al.* (1990) relatarem que o S^{2-} é inibitório na faixa de 100-800 mg/L, e o H_2S na faixa de 50-400 mg/L, é preciso considerar outras condicionantes que influenciam nesse efeito, por exemplo, o pH, a relação DQO/SO_4^{2-} , e as concentrações iniciais de cada grupo do consórcio. Segundo Chernicharo (2016), o sulfeto é inibidor para arqueias metanogênicas quando a relação DQO/SO_4^{2-} é inferior a 7, a depender do pH.

Íons de metais leves como o Na^+ , potássio (K^+), Mg^{2+} , Ca^{2+} e alumínio (Al^{3+}) também são citados na revisão de Chen, Cheng e Creamer (2008) como compostos que merecem atenção. E segundo o que levantaram, existem diversos sinergismos e antagonismos possíveis entre eles. Desse modo, cabe avaliar o cenário de potencial toxicidade tendo em vista todo o balanço de concentrações para os íons de interesse.

O trabalho de Fernandez e Foster (1994, *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4050) sugere que o K^+ tem ação inibitória mais pronunciada sobre as bactérias acidogênicas, pois o acetato fornecido como substrato gerou a mesma produção de metano, tanto no controle, quanto no tratamento com concentração elevada desse íon.

Os metais pesados identificados por Jin *et al.* (1998, *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4052) como mais preocupantes para a digestão anaeróbia são o cromo (Cr), ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), zinco (Zn), cádmio (Cd) e níquel (Ni). Seu efeito tóxico é atribuído à desregulação da função enzimática bem como desconfiguração de suas estruturas, tendo em vista que se ligam ao grupo tiol em moléculas proteicas, e substituem metais naturais em grupos protéticos enzimáticos (Vallee; Ulner, 1972 *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4052). Além disso, assim como os metais leves, podem exibir efeitos sinérgicos ou antagonísticos quando misturados (Lin, 1992; Lin, 1993 *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4053).

No entanto, apenas em sua forma solúvel esses metais pesados são tóxicos para os microrganismos (Oleszkiewicz; Sharma, 1990). E, soma-se a isso a influência do teor de sólidos presente no meio, que reduz seus efeitos inibidores. E, por isso, Hickey *et al.* (1989, *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4052) sugerem que a pesquisa científica nesse tema pode ser mais comparável se os valores de concentração limite forem expressos em miligrama de metal por grama de sólidos totais voláteis (SV).

Alguns compostos orgânicos também afetam negativamente a eficiência da digestão anaeróbia, por se acumularem na membrana celular dos organismos, desregulando seu gradiente iônico, e assim provocando a sua ruptura (Heipieper *et al.*, 1994; Sikkema *et al.*, 1994 *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4053). E, podem influenciar a gravidade desse efeito: a concentração no meio, concentração da biomassa viva, o tempo de exposição, idade

celular, o padrão alimentar dos organismos, aclimação e temperatura (Yang; Speece, 1986 *apud* Chen; Cheng; Creamer, 2008, p. 4053).

A revisão de Chen, Cheng e Creamer (2008), com base em 27 estudos variados, identificou como potencialmente tóxicos à digestão anaeróbia: alquil benzeno, benzeno halogenado, nitrobenzeno, fenol e alquil fenol, fenol halogenado, nitrofenol, alcano, alifático halogenado, álcool, álcool halogenado, aldeído, éter, cetona, acrilato, ácido carboxílico, amina, nitrila, amida, piridina e seus derivados; bem como alguns ácidos graxos de cadeia longa, surfactantes e detergentes.

É importante considerar que os compostos orgânicos que são pouco solúveis em água ou que possuem elevado poder de aderência a superfícies ou sólidos podem se acumular dentro dos digestores anaeróbios a despeito de seu tempo de detenção hidráulico (Chen; Cheng; Creamer, 2008).

2.2 ENSAIO DE ATIVIDADE METANOGÊNICA ESPECÍFICA (AME)

Segundo Aquino *et al.* (2007, p.192):

A atividade metanogênica específica (AME) pode ser definida como a capacidade máxima de produção de metano por um consórcio de microrganismos anaeróbios, realizada em condições controladas de laboratório, para viabilizar a atividade bioquímica máxima de conversão de substratos orgânicos a biogás.

O metano (CH_4), em ambiente anaeróbio, é o principal produto gerado a partir da oxidação das moléculas reduzidas de matéria orgânica. E sua produção expressa suficientemente bem o estado global de desenvolvimento do consórcio bacteriano.

As utilidades do ensaio de AME são variadas: i) identificar substratos tóxicos ou inibidores à microbiota; ii) verificar a degradabilidade de substratos específicos; iii) monitorar mudanças na eficiência de reatores anaeróbios; iv) estimar a máxima carga orgânica aplicada; v) e avaliar parâmetros cinéticos.

É importante distinguir o ensaio de AME daquele denominado *Biochemical Methane Potential (BMP)*, em português Potencial Bioquímico de Metano, o qual é conduzido da mesma forma que o AME, porém, expresso diferentemente. O AME é a medição da taxa máxima de geração de metano, por grama de inóculo exposto; enquanto o *BMP* é a quantificação do metano acumulado até a digestão completa, por grama de substrato fornecido ou removido (equação 5). Astals *et al.* (2020) tratam o AME como um ensaio ‘metabólico’, já que expressa a cinética da reação de degradação.

$$BMP = \frac{\text{Máximo de metano acumulado (ml)}}{DQO \text{ removida (g)}} \quad (\text{equação 5})$$

Holliger, Fruteau-de-laclos e Hack (2017) compararam os resultados do teste *BMP* em escala laboratorial com resultados obtidos em plantas de escala real, utilizando-se os mesmos substratos e cargas de exposição nas duas situações. Nesse estudo, os autores obtiveram taxas de geração de metano muito similares (80-90% em relação à escala real), que seguiam os mesmos padrões semanais, durante 7 a 9 meses de acompanhamento. O que demonstra a validade do teste *BMP* como estratégia de experimentação laboratorial, ao menos de forma eficiente para substratos mais convencionais como os que foram testados: lodo de esgoto, resíduos alimentares provenientes de restaurantes e supermercados, e resíduos de podas urbanas.

A execução do AME é feita com medições periódicas da produção de metano em reatores contendo uma mistura de biomassa, substrato e solução nutritiva. O volume de metano encontrado é plotado em um gráfico de volume acumulado por tempo de reação (figura 4). A curva, de forma característica, exibe um primeiro trecho linear de maior inclinação, seguido de uma fase de estabilização.

A derivada do segmento linear da curva, ou o coeficiente linear da função de primeiro grau deste trecho, corresponde à taxa máxima de produção de metano, a qual deve ser dividida pela massa de inóculo, ou biomassa, medida indiretamente em termos de sólidos totais voláteis (SV). Segundo Aquino *et al.* (2007), a AME deve ser obtida a partir do trecho linear que corresponda ao consumo mínimo de 50% do substrato adicionado.

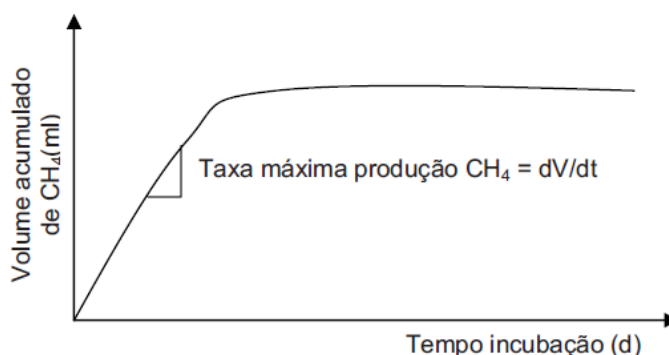
O trecho inicial de degradação se comporta como uma reação de ordem zero porque o substrato está em excesso e o único fator determinante para a geração de biogás é a condição ou capacidade do inóculo (Soto; Méndez; Lema, 1993). Sem excesso de substrato ficaria impraticável definir se um baixo desempenho na geração de gás se relaciona com a inibição e/ou baixa qualidade do inóculo utilizado, ou com uma quantidade limitada de alimento fornecido.

Segundo o protocolo alemão VDI 4630 (2006) e Filer, Ding e Chang (2019), a curva de produção de biogás x tempo, pode apresentar formatos/síndromes diferentes em função do tipo de substrato oferecido. Na figura 5, observa-se: a situação normal da curva; degradação retardada, por exemplo, quando o substrato complexo demanda mais tempo de solubilização ou hidrólise; diauxia ou degradação em duas etapas, quando oferta-se mais de um substrato ou

obtem-se subprodutos de biodegradabilidade distinta; e inibição total, quando a produção de gás é inferior àquela apresentada pelo teste branco.

A AME pode ser expressa em ml CH₄/g SV.dia, ou seja, o resultado final é normalizado pela biomassa inoculada e o valor indica a máxima quantidade de gás metano que cada grama de biomassa é capaz de gerar no período.

Figura 4 - Determinação gráfica da taxa máxima de produção de metano



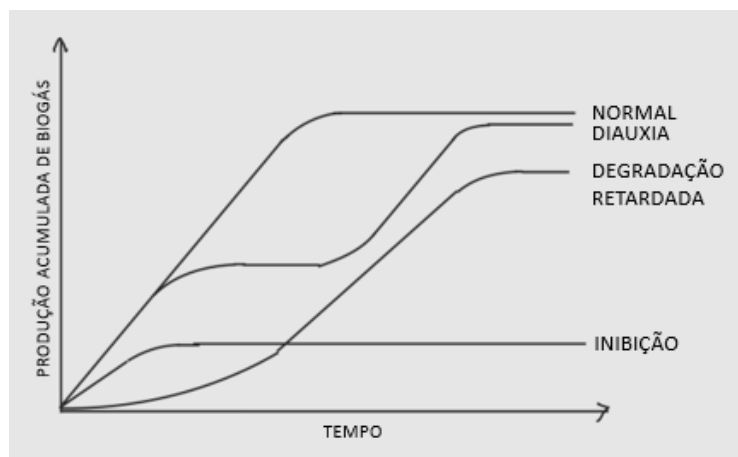
Fonte: Chernicharo (2016).

Outros autores optam por expressá-la em g DQO/g SV.dia, ou g DQO/g SSV.dia, e para tal convertem o volume de CH₄ gerado em DQO. Essa conversão se origina do cálculo estequiométrico da reação de oxidação do metano, de onde se obtém que 1 mol de metano corresponde a uma demanda de 64 g de DQO. No entanto, o volume ocupado por 1 mol de metano varia em função da temperatura e da pressão atmosférica do ambiente no qual se desenvolveu o teste. Nas condições normais de temperatura e pressão CNTP (0 °C e 1 atm), 1 mol de qualquer gás ocupa 22,7 L, sendo assim, procede-se com o ajuste desse volume em função das condições de trabalho através da equação 6 (Aquino *et al.*, 2007):

$$\left(\frac{P_1 V_1}{T_1}\right)_{CNTP} = \left(\frac{P_2 V_2}{T_2}\right)_{LAB} \quad (\text{equação 6})$$

Independentemente da unidade de expressão adotada para a AME, é necessário que ela corresponda à CNTP a fim de que se preserve a condição de comparabilidade com resultados obtidos por outros pesquisadores. A pressão de vapor da água também precisa ser descontada nos cálculos da AME, como forma de padronização.

Figura 5 - Síndromes típicas de curvas de produção acumulada de biogás



Fonte: Adaptado de VDI 4630 (2006).

Até o momento, a principal referência internacional em análises de água e águas residuárias, o Standard Methods for Water and Wastewater (APHA, 2022), ainda não definiu um método padronizado para a determinação da atividade metanogênica de lodos anaeróbios. Em nível nacional, também não há um protocolo definido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Já na literatura técnica, as metodologias utilizadas diferem entre si nos procedimentos adotados para a montagem dos reatores (concentração de inóculo, tipo e concentração de substrato, relação alimento/microrganismo, uso e tipo de solução nutritiva, tempo de incubação, etc), na forma de quantificação do metano produzido, na relevância dada aos gases de menor geração anaeróbia, e na expressão do resultado.

O trabalho de Pham *et al.* (2013) se propôs a comparar a precisão analítica entre diferentes procedimentos *BMP*, com diferentes métodos de medição de metano. Foi identificada uma diferença significativa entre os diferentes procedimentos, em razão da temperatura de incubação, escolha dos nutrientes, e pressão do gás no *headspace* do frasco de reação. No entanto, não houve significativa diferença entre os dois métodos testados para contabilização do metano gerado, quais sejam: análise em cromatografia gasosa, e lavagem do CO₂ por meio de solução alcalina.

2.2.1 Proporcionalidade entre biomassa e substrato

A proporção entre biomassa e substrato dentro dos frascos de reação é de fundamental importância para obtenção de uma boa curva, e consequentemente bons resultados. Essa

proporção não é dada somente pela concentração de substrato e inóculo (S/I), mas também pela sua carga dentro dos reatores, já que a relação S/I é calculada em função da massa adicionada de cada um desses parâmetros.

Parra *et al.* (2015) avaliaram o efeito da relação S/I sobre o *BMP*, utilizando-se resíduos sólidos municipais e o lodo do digestor anaeróbio de uma ETE doméstica. Identificaram, assim como Harper e Pohland (1986), que razões abaixo de 2 (em SV) garantem melhores resultados, pois o excesso de alimento desestabiliza o processo anaeróbio devido ao acúmulo de ácidos graxos voláteis, promovendo uma acidificação que não estabiliza por conta da baixa capacidade de tamponamento do sistema. No entanto, é preciso assegurar que a carga de substrato permita a obtenção de uma cinética química de ordem zero na primeira fase de degradação.

O protocolo alemão VDI 4630 (2006) recomenda que a relação S/I deve ser $\leq 0,5$ a fim de evitar inibição provocada por compostos intermediários da degradação anaeróbia, como ácidos graxos de cadeia curta e íons de hidrogênio. E a concentração máxima do substrato, sendo recomendado o uso de celulose, não deve exceder 10% em SV.

Partindo do pressuposto de que a quantidade de substrato fornecido depende da quantidade de inóculo dentro do frasco de reação, Penna (1994) dedicou parte de seu trabalho a avaliar o impacto da relação substrato/inóculo (S/I), de modo a encontrar esse valor ideal para ensaios de AME. E como conclusão, verificou que os valores ótimos de S/I variavam em função da concentração inicial de inóculo.

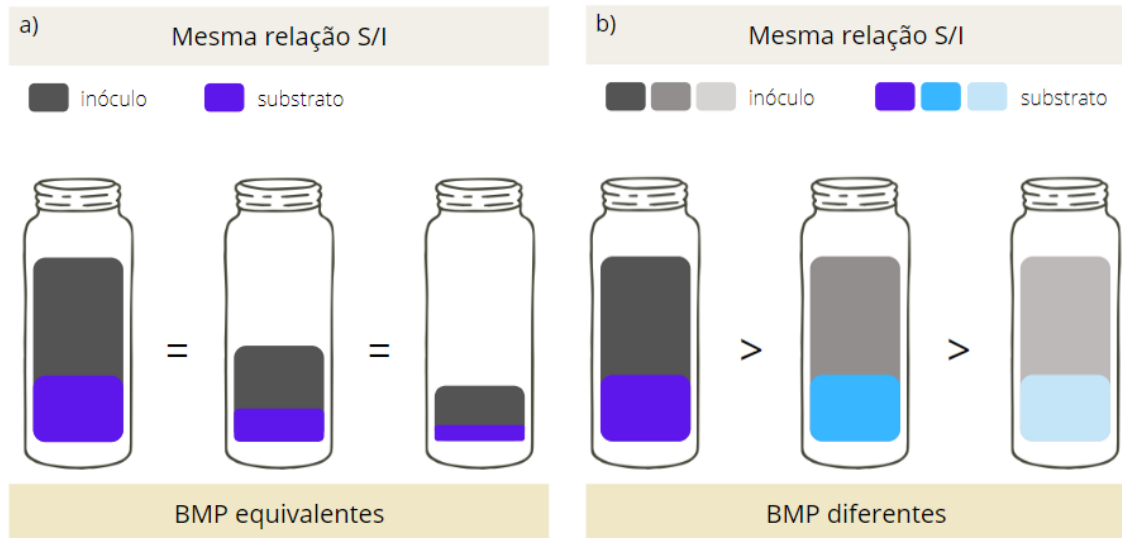
Monteggia (1997) recomenda a utilização de uma concentração inicial de 2 g/L de ácido acético enquanto substrato. Já a concentração recomendada de inóculo situa-se na faixa de 2 a 5 g SSV/L, sendo que, valores na faixa superior deste intervalo reduzem o tempo total de duração do ensaio (Monteggia, 1997), em razão de refletir-se em uma quantidade menor de alimento por microrganismo.

O procedimento elaborado por Abreu e Araújo (2010) usa como exemplo um teste de AME no qual a concentração de substrato fornecido é de 2,17 g DQO/L (tanto para acetato, quanto para formiato), e a relação S/I adotada é de 0,5 g DQO/g SV, ou seja, concentração inicial de inóculo da ordem de 4,34 g/L de SV.

O trabalho de Wang *et al.* (2015), por sua vez, é relevante em razão da configuração experimental adotada e dos resultados obtidos. Com o intuito de identificar o limite inferior da faixa de trabalho para a concentração inicial de substrato, eles compararam o *BMP* obtido a partir de montagens experimentais com a mesma relação S/I (fixa em 0,5), porém com variações tanto na concentração inicial de inóculo, quanto na carga de substrato ofertada. A carga de substrato foi ajustada de duas maneiras diferentes: por meio do volume, maior ou menor,

inserido no frasco; ou por meio de diluição, com consequente variação na concentração inicial de substrato (figura 6).

Figura 6 - Reelaboração visual do Experimento 1 realizado por Wang *et al.* (2015)



Nota: a) tratamento sem diluição (mesma concentração de substrato); e b) tratamento com diluição.
 Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Como conclusão, Wang *et al.* (2015) afirmam que a diluição do inóculo ou substrato pode introduzir subestimações no potencial de geração do metano. Recomendam evitar diluições que conduzam a uma concentração de substrato (celulose) inferior a 10 g SV/L. Este limite é proposto porque é semelhante ao limite superior do protocolo alemão VDI 4630 (2006) e, assegura mais de 85% do potencial máximo de metano em todos os testes realizados no estudo deles.

Sendo assim, curiosamente, o limite mínimo de concentração de trabalho para o substrato, sugerido por Wang *et al.* (2015), se aproxima do limite máximo proposto no VDI 4630. No entanto, concentrações de substrato inferiores a 10 g de SV/L continuarão a ser utilizadas quando o inóculo for caracterizado por um baixo conteúdo em SV, a fim de assegurar uma relação S/I estável (Wang *et al.*, 2015).

Além da comparação estatística entre os resultados de *BMP* obtidos em cada tratamento, Wang *et al.* (2015) também inseriram as informações no modelo matemático de Monod, que descreve o crescimento biológico em situações com limitação da fonte de alimento, e o R^2 foi relevante. Essa aderência ao modelo de Monod demonstra que as concentrações menores de substrato são entendidas pelo consórcio bacteriano como uma menor oferta de alimento, mesmo a relação S/I se mantendo igual em todos os tratamentos. Desse modo, conclui-se que

idealmente deve-se buscar diluir pouco as amostras originais no momento da montagem dos reatores, a fim de não dificultar a difusão do substrato.

Soto, Méndez e Lema (1993) procuraram definir matematicamente como calcular os valores ideais para as concentrações de substrato e inóculo em montagens experimentais anaeróbias, tomando por base a equação de Monod. Segundo esses autores, é necessário que a concentração de substrato seja muito maior do que o valor estimado para o K_s (concentração de substrato correspondente à meia velocidade de crescimento específico).

Além disso, é preciso atender a seguinte condição (equação 7) para que a concentração de inóculo permita o comportamento cinético de ordem zero (Soto; Méndez; Lema, 1993):

$$\frac{X_0}{Y_{xs}} \gg (S_0 - S) \quad (\text{equação 7})$$

Onde:

X_0 : concentração inicial de inóculo

Y_{xs} : razão entre a taxa de crescimento da população pela taxa de consumo de um substrato

S_0 : concentração inicial de um substrato

S : concentração limitante de substrato

Como derivação da equação 7, obtém-se (Soto; Méndez; Lema, 1993):

$$X_0 = S_0 Y_{xs} \quad (\text{equação 8})$$

Sendo assim, para definir matematicamente a proporcionalidade entre as duas concentrações seria necessário conhecer a Y_{xs} do consórcio como um todo, ou ao menos do grupo de crescimento mais lento. Para substratos típicos, como acetato ou glicose, esse valor pode ser obtido em literatura, mas para substratos mistos como o utilizado neste trabalho, a obtenção do Y exigiria a realização de ensaios trabalhosos direcionados para isso. Portanto, optou-se por definir a proporção entre inóculo e substrato empiricamente a partir de testes prévios e valores corriqueiramente praticados na literatura.

2.2.2 Montagem e outras variáveis de interesse

Quando o interesse é avaliar somente a capacidade de geração de metano, é comum que se use somente sais de acetato como substrato, haja vista que são principalmente as bactérias acetoclásticas que geram esse gás. No entanto, segundo Harper e Poland (1986, *apud* Aquino *et al.*, 2007, p.193) e Pavlostathis e Giraldo-Gomez (1991, *apud* Aquino *et al.*, 2007, p.193) a

opção pelo uso de acetato como fonte de energia “subestima em no mínimo 30% a capacidade máxima de produção de metano, uma vez que microrganismos hidrogenotróficos têm maiores taxas de crescimento que os acetoclásticos”.

Os nutrientes básicos necessários para um eficiente desenvolvimento da massa microbiana estão intimamente relacionados com a constituição básica da célula dos organismos envolvidos. Essa composição das células microbianas é definida de forma empírica, e na tabela 2 apresenta-se um exemplo dessa composição química para os microrganismos metanogênicos, que são também aqueles que exibem uma menor taxa de crescimento celular.

Para Aquino *et al.* (2007) a solução de nutrientes ideal, ou água de diluição, deve conter macro (N-NH_4^+ , P-PO_4^{3-} , Mg, Ca) e micronutrientes (Fe, Ni, Zn, Co...), além de um grau de alcalinidade (NaHCO_3 ou $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$) a fim de promover tamponamento da solução, e um agente redutor ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) que contribua para garantir a anaerobiose.

A revisão feita por Aquino *et al.* (2007) não encontrou consenso em todo o material consultado acerca da necessidade da adoção de solução de nutrientes, porém eles identificaram que existe uma tendência na literatura nacional e internacional em adotá-la. A sugestão final é para que se adote a receita proposta por Souza *et al.* (2005) (figura 7). Além disso, a complementação da receita com 50 mg/L de extrato de levedura (fonte de vitaminas) também é sugerida (Aquino *et al.*, 2007).

O inóculo utilizado para a realização do ensaio de AME é retirado de um reator/digestor em operação, e portanto, naquela amostra, além das bactérias de interesse, pode haver também um resíduo de matéria orgânica ainda não estabilizada, a qual dentro do frasco de reação no laboratório pode incrementar a produção de gás, além do substrato adicionado para o teste, ou seja, de forma não contabilizada.

Tabela 2 – Nutrientes necessários para o crescimento da população de arqueias metanogênicas

Macronutrientes		Micronutrientes	
Elemento	Concentração (g/kg SST)	Elemento	Concentração (g/kg SST)
Nitrogênio	65	Ferro	1.800
Fósforo	15	Níquel	100
Potássio	10	Cobalto	75
Enxofre	10	Molibdênio	60
Cálcio	4	Zinco	60
Magnésio	3	Manganês	20
		Cobre	10

Fonte: Lettinga *et al.* (1996) *apud* Chernicharo (2016).

Dessa forma, a fim de evitar distorções no resultado da AME, é recomendável que se incube os frascos de reação até que a produção de metano se estabilize, antes da adição do substrato-teste. No protocolo alemão VDI 4630 (2006) recomenda-se adotar essa pré-incubação do inóculo por uma semana na temperatura de trabalho.

Outra forma de descontar a produção residual do inóculo é montar reatores como brancos, isto é, incubados com água de diluição no lugar de substrato, no entanto essa prática demanda mais recursos materiais (garrafas, gás de cromatografia, espaço em incubadora, etc). Segundo Holliger *et al.* (2016), quando o frasco branco produzir mais do que 20% do total de metano gerado no frasco teste, é indicado incubar previamente o inóculo até que a matéria orgânica residual seja toda degradada.

O protocolo alemão VDI 4630 (2006) recomenda que a biomassa a ser utilizada nos ensaios de fermentação tenha pelo menos 50% de SV em relação ao ST. Já Filer, Ding, Chang (2019), recomendam que a biomassa atenda as condições básicas da tabela 3.

Figura 7 - Quadro de receita para a solução tampão e nutricional recomendada para testes de AME.

Solução	Nutriente	Concentração (mg/L)	Finalidade
1	NaHCO ₃	1.000	Fonte de alcalinidade
	KH ₂ PO ₄	650	Macronutriente e fonte de alcalinidade
	K ₂ HPO ₄	150	Macronutriente e fonte de alcalinidade
	NH ₄ Cl	500	Macronutriente
	MgCl ₂	100	Macronutriente
	CaCl ₂ .2H ₂ O	100	Macronutriente
	Na ₂ S.7H ₂ O	50	Agente redutor
	Extrato levedura	50	Fonte de vitaminas
2	FeCl ₃ .6H ₂ O	2000	Micronutrientes
	ZnCl ₂	50	
	CuCl ₂ .2H ₂ O	30	
	MnCl ₂ .4H ₂ O	500	
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	50	
	AlCl ₃ .6H ₂ O	50	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	2000	
	NiCl ₂ .6H ₂ O	50	
	H ₃ BO ₃	10	

Notas:

- à solução 1 deve-se adicionar 1 mL/L de indicador de potencial redox (pE) e observar a coloração final, como a seguir: incolor = baixo pE, rosa ou roxo = alto pE.
- à solução 2 deve-se adicionar 1 mL/L de HCl concentrado, para evitar a formação de precipitados.
- no momento de utilização das soluções, adicionar 1 mL da solução 2 por litro da solução 1, perfazendo uma solução única, que deverá ser adicionada aos frascos de reação.

Fonte: adaptado de Aquino *et al.* (2007).

Astals *et al.* (2020) conduziram experimento com o propósito de avaliar o tempo e temperatura de armazenamento do inóculo e concluíram que o armazenamento ideal deve ser de, no máximo um mês e preferencialmente de até 14 dias, sob 4°C. Os pesquisadores também relatam que o ensaio de AME é mais suscetível ao tempo de armazenamento do inóculo do que o ensaio de *BMP*, já que o primeiro é mais rápido do que o segundo, além de avaliar a capacidade metabólica/cinética da biomassa e não sua capacidade total de produzir metano (Astals *et al.*, 2020).

Tabela 3 – Condições recomendadas para o inóculo utilizado no teste AME.

Parâmetro	Faixa recomendada	Unidade
pH	$7 \leq x \leq 8,5$	n.a.
Acidez volátil	< 1	g CH ₃ COOH/L
NH ₄	< 2,5	g NH ₄ /L
Alcalinidade total	> 1,5	g CaCO ₃ /L
Concentração	15 a 20	g SV/L
Armazenamento	1 a 5 dias à 25°C	n.a.
Taxa de geração endógena de metano	~ 50	ml CH ₄ /g SV

Fonte: adaptado de Filer, Ding e Chang (2019).

Quanto ao substrato, Holliger *et al.* (2016) recomendam que ele seja idealmente fresco, porém se necessário armazenar, que esse procedimento seja feito a 4°C por 2 a 5 dias. Se necessário um tempo maior, recomendam que se congele o substrato a -20°C e, no momento de descongelá-lo, isso seja feito primeiramente a 4°C promovendo assim uma elevação gradual e suave da temperatura. Substratos como o lodo de esgoto, se passarem pelo processo de congelamento e descongelamento, podem ter suas propriedades alteradas provocando uma significativa alteração no valor do *BMP* (Holliger *et al.*, 2016).

Quanto à homogeneização, Wang *et al.* (2016) detectaram em seus experimentos que esse é um parâmetro particularmente importante para lodos viscosos, já para lodos mais diluídos, a homogeneização é relevante para a liberação das bolhas de gás da fase líquida para a fase aérea, porém não é um fator significativo em termos de melhora na eficiência de oxidação da matéria orgânica. Já o protocolo alemão VDI 4630 (2006), considera suficiente a homogeneização dos reatores uma vez ao dia.

Acerca do tempo de duração do ensaio, Aquino *et al.* (2007) sugerem finalizar o ensaio quando a curva de produção de metano faz a passagem da fase exponencial para a estacionária. Porém, recomendam “[...] verificar se a produção acumulada de metano ao final da fase exponencial atingiu o mínimo de 50% da produção teórica” (Aquino *et al.*, 2007, p. 195). Tal verificação pode ser impraticável em se tratando do uso de substratos mistos particulados como o lodo de esgoto.

Segundo Holliger, Fruteau-de-laclos e Hack (2017), considera-se que o ensaio de *BMP* está terminado quando a produção diária desse gás é < 1% do volume total acumulado de metano produzido desde o início do teste.

2.2.3 Medição do biogás

A medição do biogás gerado em um teste de AME pode se dar essencialmente por duas técnicas distintas: manométrica ou volumétrica. A manométrica consiste basicamente na conversão do registro de pressão gerada dentro do frasco-teste em volume de biogás. Para tal procede-se anteriormente com uma calibração dessa relação. Lembrando que a partir de um certo limite de pressão no *headspace*, parte do gás metano pode se manter dissolvido na coluna de líquido, interferindo na medição do volume gerado. De modo que, torna-se necessário: definir uma faixa de trabalho, a qual é mantida através da liberação periódica dessa pressão interna (purga); adicionar o metano dissolvido no líquido na contabilização final.

Os métodos volumétricos por sua vez, podem ser divididos em 3 tipos: medição direta do volume gerado por meio de seringa esmerilhada, medição indireta em função do número de moles encontrados em volume fixo e pressão constante, e medição direta do volume de metano após lavagem em solução alcalina. Cada uma dessas configurações apresenta particularidades e exigências instrumentais diferentes.

A medição de volume associada à avaliação da composição do biogás consiste em coletar diariamente o gás formado através de seringas esmerilhadas, as quais não oferecem resistência à entrada gasosa. O volume obtido em equalização com a pressão atmosférica ambiente é registrado e, posteriormente a amostra é injetada em um cromatógrafo gasoso a fim de determinar o percentual de cada gás presente na mistura.

O percentual de metano encontrado por cromatografia, multiplicado pelo volume de biogás gerado, conhecendo-se a temperatura e pressão atmosférica no local de trabalho, por meio da equação geral dos gases, viabiliza o cálculo do volume de metano gerado.

No entanto, é preciso considerar alguns ajustes importantes no cálculo para mensuração de metano produzido. O protocolo alemão VDI 4630 (2006) estabelece que o volume de biogás medido na seringa após inserção no reator precisa ser corrigido segundo a equação 9, pois é preciso descontar o volume ocupado pelo vapor de água presente no *headspace*, além de adequar o valor à CNTP.

$$V_0^{tr} = V \cdot \frac{(p - p_w) \cdot T_0}{p_0 \cdot T} \quad (\text{equação 9})$$

Onde:

V_0^{tr} = volume de biogás produzido

V = volume medido na seringa

p = pressão da fase gasosa no momento da leitura

p_w = pressão de vapor d'água na temperatura ambiente

p_0 = pressão atmosférica na CNTP
 T_0 = temperatura na CNTP
 T = temperatura de trabalho do teste

Outro ajuste necessário é considerar a presença do gás inerte utilizado na troca de atmosfera no momento da montagem dos reatores. Segundo o VDI 4630 (2006) é preciso ajustar as concentrações dos componentes do biogás encontrados na cromatografia, em função da diluição promovida pelo gás inerte (equação 10), se este não estiver incluído no método cromatográfico aplicado.

$$C_{korr}^{tr} = C_{t2}^{tr} + (C_{t2}^{tr} - C_{t1}^{tr}) \frac{V_K}{V_B} \quad (\text{equação 10})$$

Onde:

C_{korr}^{tr} = concentração corrigida de biogás (já descontada umidade)

C^{tr} = concentração medida dos componentes do biogás no gás seco

V_K = volume do *headspace*

V_B = volume de biogás produzido

t = tempo de medição ($t_2 > t_1$)

Já o método de medição do número de moles encontrados em volume fixo e pressão constante, parte da correlação previamente obtida em curva de calibração, entre a área cromatográfica do pico de metano e sua correspondente quantidade de moles. Variando-se os volumes de um padrão de metano injetados no cromatógrafo é possível traçar uma curva de calibração correlacionando a área cromatográfica com o número de moléculas desse gás, pois já se conhece de antemão o número de moles injetados por meio da equação geral dos gases (equação 11). Deve-se também corrigir a área cromatográfica obtida em função da Resposta Térmica Relativa (RTR) para o metano e gás de arraste utilizado (Steil, 2001).

$$P \cdot V = n \cdot R \cdot T \quad (\text{equação 11})$$

Esse método envolve a amostragem diária de um volume fixo de gás do frasco de reação (0,5 ml por ex.), o que deve ser feito utilizando uma seringa com trava de pressão. E, como ao longo do ensaio a pressão interna dos frascos de reação se mantém maior, aumenta-se o risco de perdas durante a amostragem, além da geração de um maior potencial de difusão dos gases para dentro da fase líquida. Nesse método, a pressão dentro do frasco de reação e na seringa são iguais, bem como a temperatura no momento da leitura, sendo assim o número de mols

encontrado em 0,5 ml de amostra pode ser proporcionalmente aplicado ao volume de *headspace* no reator.

Por fim, o terceiro método de medição volumétrico se dá por meio da lavagem do biogás em solução de hidróxido de sódio (15%), com absorção de todo gás carbônico gerado. Assume-se que o residual gasoso seja majoritariamente composto por metano, o qual é então medido diretamente em seringa ou proveta, a depender do arranjo instrumental definido. Sendo assim, caso seja interessante avaliar a produção de outros gases além do metano, este não seria um método indicado, além do risco associado ao uso do hidróxido de sódio.

A despeito dos métodos manométrico e volumétricos apresentados, Richards *et al.* (1991) desenvolveram o chamado método gravimétrico, a fim de avaliar o desempenho cinético da degradação anaeróbia em determinado intervalo temporal. Esse método, de uso bem menos frequente que os demais, envolve pesagens periódicas dos frascos de reação após as retiradas de biogás; e também, a conversão do biogás em massa perdida a partir dos pesos molares dos dois principais gases constituintes (CH_4 e CO_2). E, neste método, também são aplicados ajustes a fim de descontar a massa correspondente ao vapor d'água (assumindo uma atmosfera interna saturada), e padronização na CNTP.

Segundo os autores, o novo método proposto, que na verdade são dois, se baseiam na: i) medição direta da variação de massa do reator; ii) e na medição da produção mássica de biogás, permitindo uma determinação mais rápida e simplificada das taxas de remoção de massa, além da detecção (por comparação) de possíveis vazamentos de gás pelo septo de borracha (Richards *et al.*, 1991).

Experimentos realizados por Hafner e Astals (2019) demonstraram que o risco de perdas de gás pelo septo e, conseqüentemente da pressão interna do reator, são maiores durante os 5 primeiros dias de ensaio, a depender da qualidade do septo utilizado. A verificação foi realizada comparando-se resultados obtidos pelo método manométrico e método gravimétrico, sendo que o vazamento detectado em alguns dos tratamentos realizados não se manifestou perceptivelmente na forma da curva de ensaio.

Além disso, nas suas condições de trabalho, os pesquisadores identificaram que montagens com *headspace* pequenos, por exemplo abaixo de 25%, estão sujeitos a maiores riscos de vazamento e erros de medição. Uma das possíveis causas de erros se dá no momento da determinação precisa do volume de *headspace*. Sugerem ainda que, para uma fração de *headspace* de 50%, o limite de 1 bar (ou possivelmente 2 bar) de pressão interna possa ser suficiente para obtenção de um desvio médio menor que 10% entre métodos (Hafner; Astals, 2019).

2.2.4 Consolidação de informações para compor o protocolo de ensaio de AME

Figura 8 - Quadro síntese do protocolo utilizado para o ensaio de AME

Quadro síntese do protocolo utilizado para o ensaio de AME		
Parâmetro de ensaio	Valor/Proceder	Fonte (s) de Referência (s)
Tempo limite de armazenagem do inóculo	Até 30 dias à 4°C	Astals <i>et al.</i> , 2020
Tempo limite de armazenagem do substrato	Até 5 dias à 4°C, ou à -20°C para períodos maiores	Holliger <i>et al.</i> , 2016
Limite de SV/ST no inóculo	> 0,5	VDI, 2006
Limite de SV/ST no substrato	> 0,8	VDI, 2006
Mínimo de alcalinidade no inóculo	>1,5 g CaCO ₃ /L	Filer, Ding e Chang, 2019
Gás utilizado na troca de atmosfera	Deve estar presente no padrão de calibração da cromatografia gasosa	VDI, 2006
Volume aéreo (<i>headspace</i>) no frasco reator	Idealmente > 25%, permitindo geração de pressão positiva	Hafner e Astals, 2019
Carga de substrato	Dado pelo teste prévio (com a menor diluição possível)	Wang <i>et al.</i> , 2015; Montezuma, 2023
Relação S/I	Dado pelo teste prévio (~0,5)	Penna, 1994; Montezuma, 2023
Modo de agitação	Diário (antes da medição, quando houver)	VDI, 2006
Tempo de pré incubação	~7 dias, porém pode variar em função da taxa de aplicação e TDH no digestor fonte do inóculo	Hafner e Astals, 2019; Montezuma, 2023
Configuração da solução nutritiva	Apresentada na figura 7	Chernicharo, 2016
Garantia da selagem do reator	Pesagem do reator antes e depois de cada medição e purga	Richards <i>et al.</i> , 1991; Hafner <i>et al.</i> , 2018
Cálculo para desconto do volume de vapor d'água e conversão à CNTP	Apresentada na equação 9	VDI, 2006
Incerteza do método	±9,44%, a 30°C com oferta de acetato	Montezuma, 2023

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Com base na revisão de literatura apresentada nas seções anteriores, estabeleceram-se normativas, boas práticas, e condições mínimas que, juntamente com resultados de ensaios experimentais, permitiram a elaboração de um procedimento próprio para o ensaio de AME, o qual se configura como produto desta pesquisa (Anexo 1).

No Quadro da figura 8 são apresentados alguns desses parâmetros de maneira concisa.

2.3 LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO

O lixiviado de aterro sanitário é um composto misto resultante da junção de água pluvial percolada, água produzida pela metabolização de resíduos, e a água inerente aos resíduos. Ele se caracteriza por grandes quantidades de matéria orgânica dissolvida, sais, íons de metais pesados, e outros compostos orgânicos de maior ou menor complexidade (Liu *et al.*, 2015).

Sem manejo adequado, o lixiviado de aterro sanitário é nocivo ao meio ambiente e à saúde humana, podendo contaminar águas superficiais e subterrâneas. No tratamento de esgotos, sua fração solúvel caracteristicamente alta, pode afetar a atividade microbiana, provocar incrustação em membranas, diminuir a eficiência de processos de coagulação, interagir com contaminantes orgânicos, além de alterar o comportamento de metais pesados no que diz respeito a transporte, estabilidade e biodisponibilidade (Yang, Meng e Meng, 2019).

O clima, a técnica construtiva do aterro sanitário e seus métodos de compactação, a hidrogeologia, a composição dos resíduos, e a idade do aterro são fatores que influenciam qualitativamente e quantitativamente nas características e geração do lixiviado (Dabaghian *et al.*, 2018). A sazonalidade em particular, pode provocar alterações significativas nas propriedades do chorume. Teng *et al.* (2021) reportam que a elevação da temperatura no verão reduz as concentrações de DQO e DQO solúvel, pH, nitrogênio total, e condutividade. Análises realizadas por Yang, Meng e Meng (2019) indicam que a presença de compostos aromáticos é maior no verão do que no inverno, provavelmente devido à maior taxa de metabolização biológica sob temperaturas mais altas.

Segundo Teng *et al.* (2021), a concentração de metais pesados no chorume tende a diminuir com a idade do aterro, pois nesse processo ocorre um aumento do pH, o qual contribui para reduzir a solubilidade dos metais.

A relação DQO/DBO, que expressa a recalcitrância de uma amostra, tende a crescer conforme a idade do aterro sanitário aumenta. A baixa biodegradabilidade decorre da presença de compostos aromáticos provenientes de lignina e proteínas, como os ácidos fenil acético e fenil propiônico, compostos acíclicos, e solventes organoclorados (Rita, 2002). Tais compostos advêm de resíduos industriais que são dispostos nos aterros juntamente com resíduos sólidos urbanos.

Atualmente, em razão do crescimento do uso e liberação de contaminantes emergentes, também tem se percebido um aumento destes no lixiviado de aterros sanitários (Teng *et al.*, 2021). São, por exemplo: poluentes persistentes, disruptores endócrinos, produtos

farmacêuticos (anti-inflamatórios, estimulantes, analgésicos, etc) e cosméticos, genes resistentes a antibióticos, e subprodutos da desinfecção. Até mesmo microplásticos de 70 tipos diferentes já foram encontrados no lixiviado de aterro (He *et al.*, 2019 *apud* Teng *et al.*, 2021, p. 2).

Compostos fenólicos estão presentes em grandes concentrações (superiores a 10 mg/L) em razão da liberação de bisfenol A e 2,4 di-terc-butilfenol (Aziz *et al.*, 2018 *apud* Teng *et al.*, 2021, p. 2).

A presença comum de ácidos húmicos e fúlvicos no chorume, é resultante do processo de degradação e polimerização da matéria orgânica em aterros. Esses compostos são heterogêneos, de peso molecular moderado, e de coloração amarelada. Eles estão presentes massivamente na natureza, são quimicamente funcionais, e modulam ciclos elementares em ambientes aquáticos e terrestres. Ácidos fúlvicos e húmicos possuem, em sua estrutura, ácidos carboxílicos e grupos fenólicos em abundância, e em razão disso atuam no tamponamento do pH e complexação de metais (Klapper *et al.*, 2002).

Os parâmetros básicos comumente utilizados para caracterizar o chorume são: DQO (variando de 100 a 70.900 mg/L), DBO, relação DBO/DQO (variando de 0,04 a 0,7), carbono orgânico total (COT), pH (variando de 5,8 a 8,5), sólidos suspensos, condutividade, determinados sais e íons (variando de 150 a 5000 mg/L para cloreto, 10 a 8.000 mg/L para sulfato, e 600 a 7.500 mg/L para bicarbonato), nitrogênio amoniacal (variando de 50 a 2.200 mg/L), nitrogênio Kjeldahl (variando de 0,2 a 13.000 mg/L), e metais (variando de 0,01 a 10.000 mg/kg) (Kjeldsen *et al.*, 2002 *apud* Teng *et al.*, 2021, p. 2).

Torres-Lozada *et al.* (2014) investigaram a composição de variados parâmetros analíticos em 20 amostras de lixiviado de aterros de diversas idades (tabela 4). Com relação à quantificação do nitrogênio amoniacal, considerando que o equilíbrio entre suas formas iônica e gasosa é influenciada pelo pH, e que a forma gasosa é a principal responsável pela toxicidade à microbiota, os autores optaram por utilizar a equação 12 (Anthonisen *et al.*, 1976 *apud* Torres-Lozada *et al.*, 2014, p. 247) para obter um valor mais coerente a respeito da potencial toxicidade provocada pelo nitrogênio amoniacal.

$$\text{NH}_3 \text{ (mg/L)} = \frac{\left(\frac{17}{14}\right) \cdot (\text{N amoniacal} \cdot 10^{\text{pH}})}{\left(\frac{K_b}{K_w} + 10^{\text{pH}}\right)} \quad (\text{equação 12})$$

Onde:

$$K_b/K_w \text{ (constantes de dissociação do amoníaco e da água)} = e^{(6344/273 + ^\circ\text{C})}$$

Tabela 4 – Características do lixiviado em função da idade do aterro sanitário

Parâmetros	Lixiviado jovem		Lixiviado interm.		Lixiviado velho	
	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.
pH	8,26	7,77	8,5	7,6	9,58	8,18
Condutividade (mS/cm)	36,7	27,1	23,5	16,2	20,6	11,6
AGV (meq/L)	295	70	100	50	62,5	45
Alc. total (mg CaCO ₃ /L)	36300	12400	10746	7344	8694	1689
Dureza total (mg CaCO ₃ /L)	4324	1251	1863	866	2700	400
DBO (mg/L)	13391	1171	1594	496	165	78
DQO (mg/L)	25455	9181	6638	3673	2197	1105
COT (mg/L)	7840	3531	3025	1240	999	415
ST (mg/L)	33796	17673	17950	10596	9345	5472
SDT (mg/L)	33703	17041	17775	10473	8877	5382
NTK (mg/L)	2492	2184	2072	1204	1095	9,2
NH ₃ livre (mg NH ₃)	1090	187	787	237	257	4,1
N amoniacal (mg N-NH ₃ /L)	2184	1050	1848	1008	956	9,2
Cl ⁻ (mg/L)	4200	2121	3099	1398	2420	800

Fonte: Adaptado de Torres-Lozada *et al.*, 2014.

A presença de nitrogênio total e amoniacal no chorume, é maior em aterros de idade jovem, porque é na fase inicial em que ocorre a degradação de compostos orgânicos brutos com desaminação de proteínas (Kulikowska; Klimiuk, 2008 *apud* Torres-Lozada *et al.*, 2014, p. 250). Ziyang *et al.* (2009), por sua vez, identificaram que a proporção de nitrogênio amoniacal em relação ao total diminui com o aumento da idade do aterro, ao passo que há um incremento das formas nitrogenadas mais oxidadas (nitritos e nitratos).

A razão da correlação positiva entre o aumento da idade do aterro e o valor do pH do chorume é a diminuição na produção de ácidos graxos voláteis (AGV), ao passo que o aterro sai da fase acidogênica (até 95% da matéria orgânica nos aterros jovens) e entra na fase metanogênica, com liberação de biogás (Torres-Lozada *et al.*, 2014).

Para uma avaliação mais detalhada acerca dos constituintes presentes na fração solúvel do lixiviado, análises químicas mais específicas já foram utilizadas por variados pesquisadores, por exemplo: espectroscopia UV-vis, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de fluorescência, determinação da composição elementar, espectrometria de massa de ressonância

de ciclotron de íons e transformação de Fourier (FT-ICR-MS), cromatografia por exclusão de tamanho (SEC).

Segundo Teng *et al.* (2021), várias tecnologias são utilizadas no tratamento do lixiviado de aterro: dentre os tratamentos biológicos cita-se, por exemplo, uso de lodo ativado e reator de leito fluidizado; já entre os tratamentos químicos cita-se, por exemplo, o Fenton, e a precipitação química; e por fim, a adoção de processos adsorptivos e filtração em membrana, como exemplos de tratamentos físico-químicos. No entanto, é necessário considerar o custo, a eficiência, e a especificidade de tratamento associado a cada uma dessas técnicas, tendo em vista as características próprias do chorume que se pretende tratar (Teng *et al.*, 2021). A literatura também recomenda o tratamento combinado de técnicas a fim de otimizar recursos e energia.

Cavalcante (2014), a partir de dados históricos de 1998 a 2012, projetou a produção de lixiviado de aterro sanitário na região metropolitana de São Paulo (RMSP), considerando os padrões de precipitação, percolação, operação dos aterros, manejo e forma de disposição dos resíduos sólidos, semelhantes aos de 2012. Para 2023, sua projeção superava 2 milhões de metros cúbicos de LAS no ano, isto é, cerca de 228,3 m³/h.

2.3.1 Metabolização anaeróbia de lixiviado de aterro sanitário

Nesta seção estão reunidas informações acerca da potencial biodegradabilidade, ou toxicidade anaeróbia, dos compostos complexos comumente encontrados em lixiviado de aterro sanitário.

De forma geral, a metabolização anaeróbia de compostos de difícil degradação é afetada, positiva ou negativamente, por alguns condicionantes, quais sejam: tempo de aclimação dos organismos aos compostos, tempo de exposição oferecido, presença de outros substratos com graus diferentes de assimilação, disponibilidade natural ou artificial de aceptores de elétrons no meio reacional, e pela sintrofia entre diferentes grupos de organismos. Além disso, podem haver sinergias desconhecidas quando se trabalha com a oferta de substratos mistos.

Segundo Jordening e Winter (2005, p.236) a degradação anaeróbia de compostos aromáticos foi primeiro documentada por Tarvin & Buswell em 1934. Uma ampla variedade de compostos aromáticos mononucleares, como benzoato, fenóis, e vários monômeros de lignina, foi convertida a metano e CO₂ (Tarvin; Buswell, 1934 *apud* Jordening; Winter, 2005). De lá para cá, principalmente após a década de 80, muitos pesquisadores vêm se debruçando sobre essa questão, impulsionados pela necessidade de remediação de solos e ambientes

aquáticos, ecossistemas anóxicos ou anaeróbios, contaminados por xenobióticos derivados de petróleo e rejeitos da indústria.

Muitos pesquisadores costumam investigar a degradação anaeróbia de compostos recalcitrantes isolando linhagens ou espécies de interesse, outros o fazem por meio de um “microcosmo”, que seria uma comunidade elaborada e controlada artificialmente, com o intuito de simular aquela que habita um ecossistema natural. É importante considerar que a dinâmica ecológica dos organismos anaeróbios é diferente daquela manifestada pelos organismos aeróbios, isto porque, naquele a manutenção do metabolismo individual se dá de maneira comunitária ou sintrófica, numa interdependência na qual o indivíduo, ou alguns indivíduos, não se sustenta isoladamente.

A biodegradabilidade do lixiviado de aterro sanitário é maior quando ele provém de plantas jovens, em que a DQO é alta (acima de 10.000 mg/L), a relação DQO/DBO está na faixa de 2,5 a 1,25, com presença elevada de ácidos graxos voláteis de cadeia curta, ainda que a concentração de nitrogênio amoniacal seja alta (Forgie, 1988; Hamada e Matsunaga, 2000 *apud* Gomes, 2008, p. 9).

Ácidos húmicos e fúlvicos são reportados como promotores de inibição mais pronunciada à etapa de hidrólise do que à metanogênica (Ghasimi *et al.*, 2016; Khadem *et al.*, 2017; Yap *et al.*, 2018).

Yap *et al.* (2018) sugeriram uma correlação entre a intensidade da atividade microbiana (no que diz respeito à velocidade de produção de enzimas hidrolíticas) e a resiliência aos ácidos húmicos. Seu experimento demonstrou que concentrações de ácido húmico abaixo de 2g/L podem retardar a hidrólise de carboidratos e, concentrações acima de 5g/L inibem tanto a hidrólise de carboidratos quanto de proteínas, bem como a etapa de metanogênese acetoclástica; além disso, sugerem que o grau de inibição provocada por ácidos húmicos é variável em função do tipo de enzima exposta. Seus testes realizados por meio do AME, sob presença de ácidos húmicos, resultaram em inibição parcial sobre as arqueias metanogênicas acetoclásticas na concentração de 10 g/L e, total na concentração de 20 g/L.

Segundo a revisão de He *et al.* (2023) a respeito dos efeitos provocados pelos ácidos húmicos na digestão anaeróbia de lodo ativado de excesso, foram observados efeitos positivos sobre solubilização de compostos, acidogênese e acetogênese; enquanto efeitos positivos e negativos foram observados sobre a hidrólise e a metanogênese. Os mecanismos apontados como responsáveis por esses comportamentos são: atuação dos ácidos húmicos como surfactantes, mediadores na transferência de elétrons, aceptores finais de elétrons, além da

capacidade de regulação sobre a função e estrutura da microbiota, bem como sobre o funcionamento de suas enzimas (figura 9).

He *et al.* (2023) reportam que as estratégias de mitigação do efeito tóxico dos ácidos húmicos sobre a metanogênese são diversas: extração, pré-tratamentos, aplicação de íons metálicos e materiais de carbono, estão entre essas possibilidades.

Azman *et al.* (2015) identificaram que a adição de sais de magnésio, cálcio e ferro são capazes de se ligar às moléculas de ácidos húmicos, mitigando assim seu efeito inibitório sobre a hidrólise.

Espinosa-Illórens *et al.* (2012) demonstraram em seus experimentos que processos de digestão anaeróbia não degradam substâncias húmicas, pelo contrário, produzem esses compostos, elevando sua concentração original.

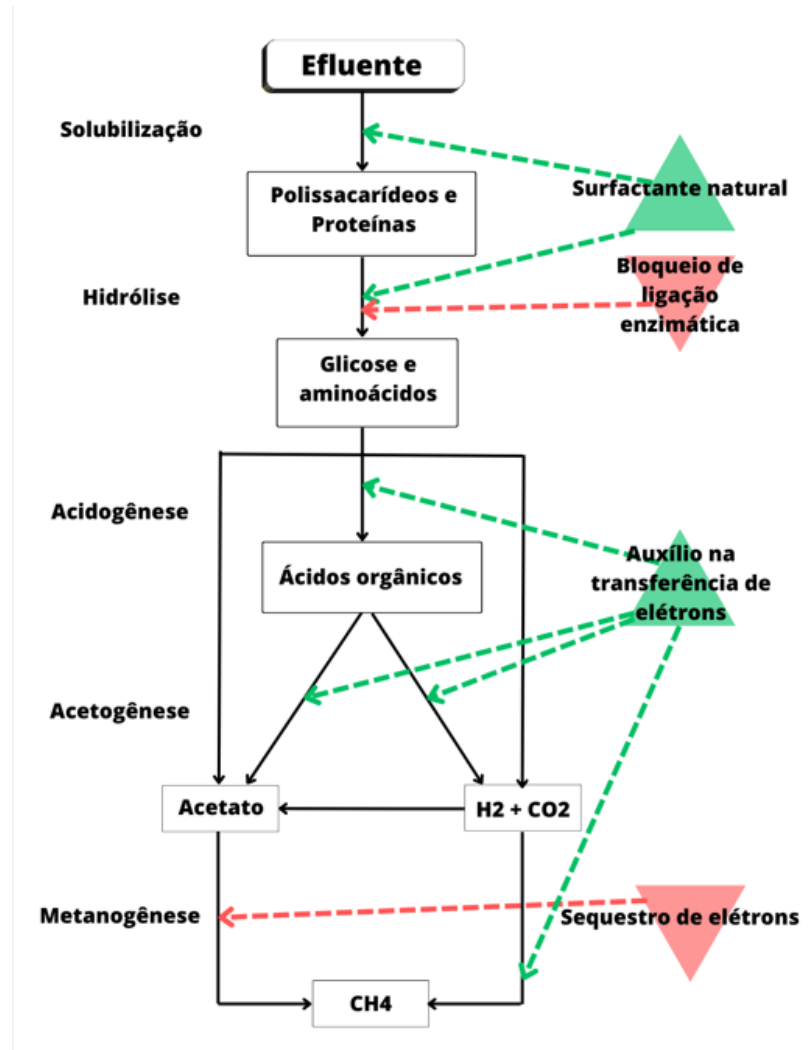
Anéis aromáticos são bastante estáveis, no entanto, sua degradação aeróbia é vastamente documentada, sendo facilitada pela presença de oxigênio ou do grupo hidroxila. Assim, é essencial que os processos metabólicos de degradação anaeróbia de aromáticos substituam as etapas dependentes de oxigênio, presentes na metabolização aeróbia, por reações alternativas com a formação de intermediários centrais distintos.

Segundo Weelink, Van Eekert e Stams (2010) os compostos aromáticos são termodinamicamente agentes redutores favoráveis para o crescimento, pois a energia de Gibbs necessária para sua oxidação é alta sob presença de diferentes aceptores de elétrons (ClO_3^- , O_2 , NO_3^- , Fe^{3+} , SO_4^{2-} , CO_2).

Fuchs (2008) afirma que a presença de baixas concentrações de oxigênio (condição denominada 'microaeróbia') pode facilitar para alguns microrganismos a introdução de grupos hidroxila no anel benzênico de alguns compostos monoaromáticos, facilitando posteriormente sua decomposição por meio de rotas metabólicas anaeróbias. Estudos em curso, ainda sem conclusão definitiva, sugerem que o grupo hidroxila pode ser proveniente da água presente no meio reacional (Weelink, Van Eekert e Stams, 2010).

Quanto ao gasto de reservas energéticas para a redução dos compostos monoaromáticos, bactérias nitrato-redutoras recuperam esse investimento energético por meio da quebra completa do ácido C7-dicarboxílico formado a partir da quebra do anel. Esse ácido, via beta oxidação, é convertido a três moléculas de acetil-CoA que serão finalmente oxidadas no ciclo do ácido cítrico (Jordening; Winter, 2005). Já bactérias fermentadoras (acidogênicas) e sulfato-redutoras recuperam um pouco dessa energia dispendida com a degradação completa de intermediários de cadeia aberta (Jördening; Winter, 2005).

Figura 9 - Mecanismos de ação dos ácidos húmicos na digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de He *et al.*, 2023

Os compostos fenólicos sob degradação anaeróbia, originam moléculas intermediárias distintas, quais sejam: resorcinol (1,3-dihidroxibenzeno) ou floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno); estas duas moléculas também são inicialmente reduzidas, convertidas em produtos alicíclicos e então oxidadas a acetil-CoA (Heider; Fuchs, 1997).

Com relação à biomassa proveniente de digestores anaeróbios, Healy e Young (1978, *apud* Evans; Fuchs, 1988, p. 304) verificaram conversão de fenol e catecol em metano e CO₂ por consórcios adaptados de esgoto em menos de uma semana.

Compostos alifáticos clorados são comuns em lixiviados de aterros sanitários em razão de serem frequentemente utilizados como solventes industriais e desengraxantes. Long *et al.* (1993) avaliaram a digestão anaeróbia de 12 tipos de alifáticos clorados, tanto isoladamente quanto adicionados à uma mistura de glicose, acetato, benzoato e fenol. O metabolismo

anaeróbio degradou 7 dos 12 compostos analisados, no entanto, com formação de muitos subprodutos, os quais só foram degradados no tratamento aeróbio subsequente. O grupo também identificou que os alifáticos clorados são consumidos com maior eficiência quando ofertados isoladamente, ao invés de incorporados a substratos mistos de fácil assimilação.

Segundo Rabus *et al.* (2001, *apud* Jördening; Winter, 2005, p. 231) a degradação de alcanos em meios anaeróbios inicia com a ligação de seu átomo de carbono terminal ao fumarato por meio de uma reação radical, resultando em um derivado de alquil succinato. Esse mecanismo ocorre de forma similar tanto para bactérias sulfato quanto nitrato redutoras (Wilkes *et al.*, 2002, *apud* Jördening; Winter, 2005, p. 231). Ao menos até 2005, Jördening e Winter (2005) não identificaram nenhum trabalho que documentasse a degradação anaeróbia de etileno, propileno, propino, e homólogos com mais de 6 átomos de carbono.

2.3.2 Codigestão do lixiviado de aterro sanitário

Barba *et al.* (2010) mencionam que a codigestão de lixiviado de aterro sanitário com águas residuárias domésticas é vista como favorável em razão do aporte de nitrogênio em forma amoniacal proveniente do lixiviado, e do fósforo por parte do efluente doméstico, permitindo assim suprimir ou reduzir adição de nutrientes em busca de um equilíbrio ideal. Segundo Chernicharo (2016), a relação DQO: N: P deve ser da ordem de 350: 5: 1 em reatores anaeróbios.

Barba *et al.* (2010) avaliaram a codigestão de lixiviado de aterro sanitário com efluente doméstico, em 5 tratamentos distintos em relação à proporção volumétrica entre chorume e substrato, em reatores de fluxo fechado: 0%, 10%, 20%, 30% e 100%. E, a proporção máxima que pôde ser co-digerida anaerobicamente sem a ocorrência de inibição foi de 10%. Em seu experimento eles não corrigiram o pH, e utilizaram no ensaio de *BMP* uma relação S/I máxima de 2,7.

Hombach, Oleszkiewicz e Lagasse (2003) avaliaram a codigestão de chorume com lodo de esgoto doméstico em digestores anaeróbios. A eficiência do processo foi determinada em função da remoção de SV e em termos de geração de metano (*BMP*). Os autores também utilizaram o ensaio de tempo de sucção capilar (CST) para avaliar a capacidade de desidratação da mistura lodo mais chorume, e identificaram que o lodo misto co-digerido tem melhor capacidade de desidratação do que o lodo de esgoto sozinho. Os autores não consideraram as concentrações de metais pesados na mistura um fator de impedimento para uso posterior do lodo co-digerido desaguado como biossólido. O trabalho encontrou uma queda na produção de

metano, de 4% e 8% a menos em relação ao controle, para 20% e 25% de adição de lixiviado respectivamente.

Santos (2009) avaliou a codigestão de chorume proveniente de aterro em fase metanogênica com esgoto doméstico em reatores anaeróbios de fluxo ascendente (UASB) em escala de bancada. O percentual de aplicação volumétrica máxima foi de 10%. Até 2,5% não ocorreu impacto negativo significativo na eficiência de remoção de DQO e DBO. De 2,5% em diante os efeitos observados foram significativos.

Montusiewicz (2014) examinou a codigestão de lixiviado de aterro maduro com lodo de esgoto, depois que a microbiota do digestor anaeróbio foi bioaumentada com adição do produto comercial Arkea®, o qual contém organismos metanogênicos. O autor encontrou boa eficiência de tratamento, em termos de remoção de sólidos voláteis e produção de metano, na proporção volumétrica de 5% de chorume. No entanto, o efeito do procedimento de bioaumentação perdurou por apenas 3 meses.

Montusiewicz e Lebiocka (2011) obtiveram bons resultados ao co-digerir lixiviado de aterro sanitário de idade intermediária com lodo de esgoto, nas proporções de 1:20 (5%) e 1:10 (10%). Houve aumento do valor de *BMP* nas duas situações (16,9% e 6,2%, respectivamente).

Gao *et al.* (2021) investigaram como a adição de lixiviado de aterro sanitário intermediário (LAS-I) beneficia a digestão anaeróbia de lodo ativado de excesso (proveniente do tratamento secundário em fase líquida). Também foram estudados os efeitos do LAS-I sobre as quatro etapas da digestão anaeróbica; sobre as propriedades físico-químicas do lodo ativado de excesso; os efeitos do ácido húmico e metais pesados na codigestão anaeróbica; e as mudanças provocadas na estrutura e diversidade da comunidade microbiana.

O estudo de Gao *et al.* (2021) concluiu que: a adição moderada de LAS-I no lodo ativado de excesso pode melhorar significativamente sua solubilização, hidrólise, acidogênese e até mesmo a produção de metano; o ácido húmico e os metais pesados presentes no chorume são compostos que atuam positivamente na degradação do lodo ativado de excesso; mais detalhadamente, identificaram que os ácidos húmicos favorecem a hidrólise e a acidificação, mas prejudicam a metanogênese; o efeito dos metais pesados variou em função da dose aplicada, quando em excesso eles inibem a digestão anaeróbica, porém em dose moderada melhoram o desempenho; ácidos húmicos complexam os íons metálicos aliviando sua toxicidade; o LAS-I age sobre a estabilidade dos flocos de lodo tornando-os menores; a abundância relativa de micróbios responsáveis pela hidrólise e acidogênese aumenta na presença do LAS-I.

Guven *et al.* (2018) avaliaram a codigestão de lixiviado de aterro, com lodo desaguado de esgoto, e fração orgânica de resíduos sólidos urbanos. No geral, nas misturas testadas, a eficiência de remoção de sólidos voláteis, bem como o potencial de geração de metano, aumentou a medida que o percentual de lixiviado diminuía. O lixiviado utilizado por eles possuía 41.080 mg/L de DQO, 7.500 mg/L de SV, e 3.100 mg/L de nitrogênio total Kjeldahl (NTK).

O trabalho de Berenjkari, Islam e Yuan (2019) demonstrou que, a fim de aumentar a produção de metano, o lixiviado de aterro sanitário maduro (LAS-V) pode ser co-digerido com lodo de esgoto em dose pequena, isto é, até 20% em volume. O lixiviado utilizado por eles continha 1.180 mg/L em DQO, 2.000 mg/L em SV, e 1.890 mg/L em nitrogênio total (NT).

Azarmanesh *et al.* (2023) identificaram em sua revisão que muitos trabalhos que visam avaliar processos de codigestão falham ao ofertarem cargas orgânicas volumétricas acima do ideal, resultando na geração excessiva de compostos intermediários que acabam por distorcer seu resultado. Sendo assim, é importante definir uma montagem experimental que considere não somente a proporção volumétrica entre co-substratos, mas também a soma de suas cargas.

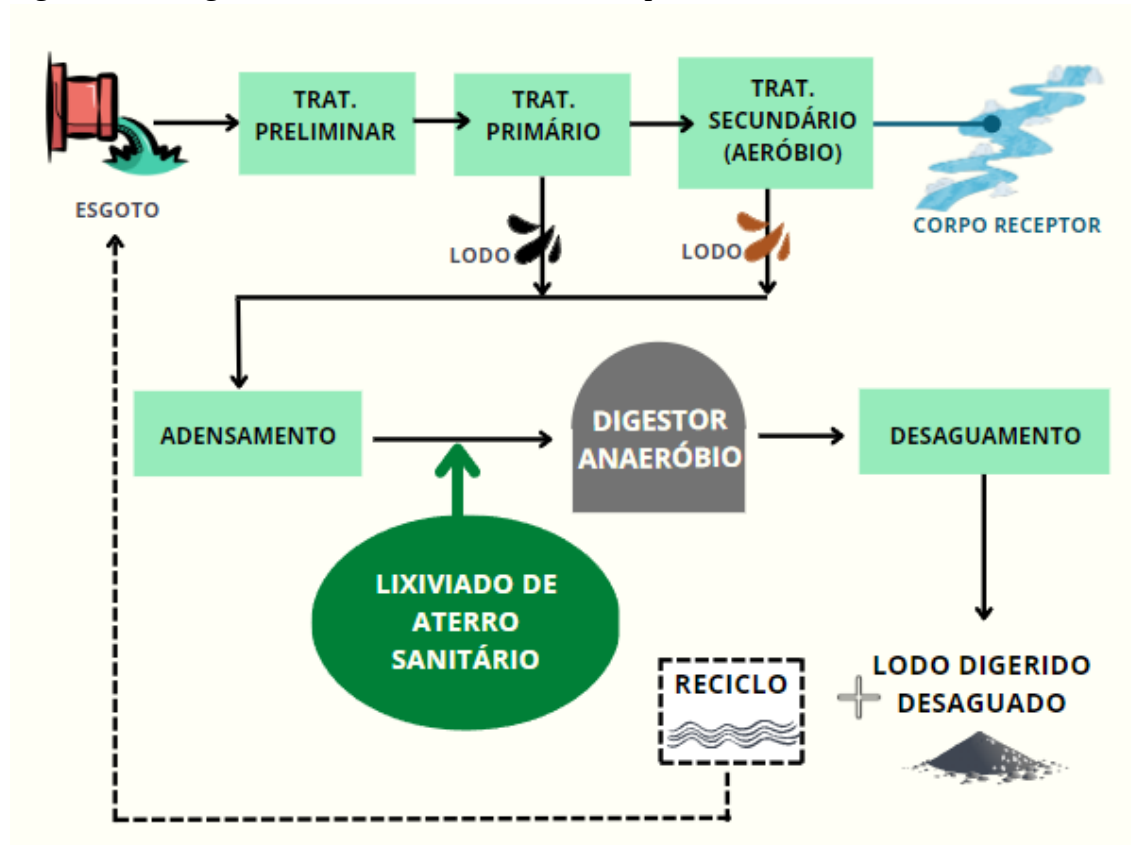
Bocchiglieri (2010) esclarece que a viabilidade da codigestão de LAS com esgoto sanitário, de maneira geral, não se limita à definição de uma proporcionalidade máxima em volume, já que outros efeitos decorrentes dessa mistura precisam ser avaliados. O mesmo vale para o lodo de esgoto. Dentre os efeitos secundários que demandam avaliação complementar, pode-se citar: possível deslocamento do equilíbrio entre espécies de amônia (gasosa e iônica), influência da variável temperatura, impacto na produção de lodo, produção de espuma na fase líquida, capacidade de sedimentabilidade de flocos de lodo ativado ou de desaguamento de lodo digerido, e acumulação de metais pesados.

Figura 11 - Vista geral de dois digestores anaeróbios da ETE Barueri



Fonte: registro fotográfico da autora.

Figura 12 - Diagrama da inclusão do chorume no processo de tratamento da ETE Barueri



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tendo em vista que o presente estudo utiliza o inóculo e o lodo de processo da ETE Barueri, procurou-se conhecer a realidade do digestor real em termos dos parâmetros

operacionais: carga orgânica volumétrica (COV), carga hidráulica volumétrica (CHV) e tempo de detenção hidráulica (TDH). Procedeu-se com os cálculos baseando-se na realidade do ano de 2020. A escolha deste ano como referência se deve às condições de elevada disponibilidade de equipamentos na fase sólida (adensadores por gravidade, centrífugas de adensamento, e digestores anaeróbios), se aproximando de uma situação de normalidade. Dessa forma, evita-se inconsistências de cálculo.

Os valores médios, do ano de 2020, para SV do lodo de processo (LP) e SV do inóculo (lodo digerido) foram respectivamente de 19,4 kg/m³ e 15,6 kg/m³, já a vazão média afluyente aos digestores no período foi de 2764,8 m³/d. Assumindo 6 digestores anaeróbios disponíveis no período, com um preenchimento útil de 61,2%, obtém-se um volume útil total de 38.548,66 m³.

As equações x, z e y foram utilizadas para o cálculo do TDH, CHV e COV respectivamente.

$$TDH = \frac{V}{Q} \quad (\text{equação 13})$$

Onde:

V: volume total do reator (m³)

Q: vazão afluyente (m³/d)

$$CHV = \frac{1}{TDH} \quad (\text{equação 14})$$

$$COV = \frac{Q \times S_0}{V} \quad (\text{equação 15})$$

Onde:

S₀ : concentração de substrato afluyente (kg SV/m³)

$$TDH = \frac{38.548,66}{2.764,8} = 13,9 \text{ dias}$$

$$CHV = \frac{1}{13,9} = 0,07 \text{ m}^3/\text{m}^3.\text{d}$$

$$COV = \frac{2.764,8 \times 19,4}{38.548,66} = 1,39 \text{ kgSV/m}^3.\text{d}$$

Em termos de projeto, a carga orgânica volumétrica estipulada para os digestores, conforme cadernos operacionais elaborados pela empresa Hidroservice, é de 1,6 a 6,4 kgSV/m³.d. No entanto, esta faixa de trabalho não pode ser tomada como referencial pois foi definida considerando o aquecimento dos biodigestores, sistema inoperante no momento de realização desta pesquisa.

A carga biológica ou carga de lodo (C_b), que é a carga orgânica aplicada diariamente por carga de biomassa presente no reator, pode ser calculada pela equação 16. Ela reflete a proporção de alimento por microrganismo (S/I) em um reator de fluxo contínuo.

$$C_b = \frac{Q \times S_0}{M} \quad (\text{equação 16})$$

Onde:

M: massa de microrganismos presentes no reator (kgSV)

$$C_b = \frac{2.764,8 \times 19,4}{601.359,1} = 0,089 \text{ kgSV/kgSV.d}$$

Sendo assim, obtém-se uma C_b de 0,09 kgSV/kgSV.d, que sabidamente pode ser maior, já que o SV médio do inóculo (lodo digerido) abarca também o residual de matéria orgânica que não foi eficientemente degradada no digestor. Multiplicando-se o TDH típico pela C_b chega-se em uma relação S/I de 1,2.

Já a alcalinidade projetada para os digestores da ETE Barueri, obtida em consulta aos cadernos operacionais elaborados pela empresa Hidroservice, varia de 1800 – 2000 mg CaCO₃/L; e a acidez volátil, segundo a mesma referência, situa-se entre 50 – 300 mg HAc/L.

3.2 CONDIÇÕES OPERACIONAIS DOS ATERROS SANITÁRIOS

As amostras de lixiviado foram obtidas em junho e julho de 2023, diretamente do caminhão que destina este rejeito ao pré-tratamento na Attend Ambiental, uma empresa especializada no pré-tratamento de efluentes não domésticos, na vizinhança da ETE Barueri.

O efluente pré-tratado da Attend Ambiental, desde 2015, é lançado na linha afluenta à ETE Barueri segundo limites estabelecidos no Decreto Estadual nº 8468/76 (Art. 19-A), e em acordo entre as partes.

Dois tipos de lixiviado foram analisados, um deles proveniente de um aterro sanitário, jovem, de 2 anos de operação e outro proveniente de outro aterro sanitário, velho, de 22 anos

de operação. O nome das empresas não foi aberto para divulgação neste trabalho em razão do acordo de confidencialidade entre a Attend Ambiental e seus clientes.

As amostras, após preservação inicial de uma pequena fração destinada a realização da caracterização analítica, foram mantidas sob refrigeração a 4°C. Até a realização do Experimento 1, as amostras de lixiviado se mantiveram sob refrigeração por 8 dias. Após esse período as amostras foram mantidas sob congelamento a -4°C. No momento do pré-tratamento e montagem do Experimento 2, as amostras foram degeladas em temperatura ambiente de maneira gradual.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS UTILIZADAS

A fim de evitar efeitos decorrentes de fatores externos às condições experimentais, o lodo de processo (LP) da ETE Barueri, que é co-substrato e fonte de alimento para os ensaios de AME, foi caracterizado segundo os parâmetros da tabela 5.

O lodo de processo em questão é uma mistura (de proporções variáveis) do lodo primário proveniente dos decantadores primários, e do lodo secundário proveniente de tanques de lodo ativado, ambos adensados.

O inóculo utilizado foi coletado na telescópica de saída do digestor, em melhores condições, da ETE Barueri. Antes de proceder com sua caracterização segundo parâmetros da tabela 6, o mesmo foi distribuído em reatores de vidro fechados com batoque de borracha de butila e tampa de rosca, os quais foram incubados em estufa a 30°C por uma semana. Durante esse período, a produção de biogás resultante da degradação da matéria orgânica residual foi removida por meio de selo hídrico, sem necessidade de contabilização volumétrica. O objetivo deste procedimento é remover toda matéria orgânica residual, e desse modo obter um valor de SV que corresponda exclusivamente à microbiota.

A caracterização dos lixiviados de aterro sanitário foi realizada em função de parâmetros básicos listados na tabela 7, sendo que as análises químicas para metais foram contratadas e realizadas pelo Laboratório Controle Analítico, devidamente acreditado neste parâmetro.

Tabela 5 – Ensaio analíticos empregados na caracterização do LP

Parâmetro	Método
Sólidos totais	Gravimétrico
Sólidos voláteis	Gravimétrico
Sólidos suspensos totais	Gravimétrico
Sólidos suspensos voláteis	Gravimétrico
DBO (carb)	Manométrico
DQO total	Titulométrico
DQO solúvel	Titulométrico
Acidez volátil	Titulométrico
Alcalinidade bicarbonato	Titulométrico
Alcalinidade de ácidos voláteis	Titulométrico
Alcalinidade total	Titulométrico
Nitrogênio amoniacal	Colorimétrico (Nessler ¹)
Nitrogênio Kjeldahl	Colorimétrico
Nitrogênio total	Colorimétrico
Nitrito + Nitrato	Colorimétrico
Fósforo total	Colorimétrico
Condutividade	Potenciométrico
pH	Potenciométrico

SMWW = Standard Methods for Water and Wastewater

¹ Adaptado do SMWW, 4500 NH₃ B e C

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tabela 6 – Ensaio analíticos empregados na caracterização do inóculo

Parâmetro	Método
Sólidos totais	Gravimétrico
Sólidos voláteis	Gravimétrico
Sólidos suspensos totais	Gravimétrico
Sólidos suspensos voláteis	Gravimétrico
Acidez volátil	Titulométrico
Alcalinidade bicarbonato	Titulométrico
Alcalinidade de ácidos voláteis	Titulométrico
Alcalinidade total	Titulométrico
Condutividade	Potenciométrico
pH	Potenciométrico

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Os metais identificados nas amostras de lixiviado foram: Fe, manganês (Mn), Cu, cromo (Cr), Cd, Ni, Zn, chumbo (Pb), mercúrio (Hg), lítio (Li), Na, Ca, K. Para tal, o lixiviado foi armazenado em frascos de polipropileno sob refrigeração a 4 °C, previamente lavados com solução de ácido nítrico 1:1, e preservados com ácido nítrico até pH < 2. Para análise dos metais dissolvidos a amostra foi previamente filtrada com membrana de 0,45 µm, e então, armazenada e preservada da mesma forma.

Tabela 7 – Ensaio analíticos básicos empregados na caracterização dos lixiviados

Parâmetro	Método
Sólidos totais	Gravimétrico
Sólidos voláteis	Gravimétrico
Sólidos suspensos totais	Gravimétrico
Sólidos suspensos voláteis	Gravimétrico
Sólidos dissolvidos totais	Gravimétrico
Sólidos dissolvidos voláteis	Gravimétrico
DQO total	Titulométrico
DQO solúvel	Titulométrico
DBO (carb)	Manométrico
Nitrogênio total	Colorimétrico
Nitrogênio Kjeldahl	Colorimétrico
Nitrogênio amoniacal	Colorimétrico (Nessler)
Nitrito + Nitrato	Colorimétrico
Acidez volátil	Titulométrico
Alcalinidade bicarbonato	Titulométrico
Alcalinidade de ácidos voláteis	Titulométrico
Alcalinidade total	Titulométrico
Cloreto	Potenciométrico
Fósforo total	Colorimétrico
Metais totais	Espectroscopia de Emissão de Plasma
Metais dissolvidos	Espectroscopia de Emissão de Plasma
Condutividade	Potenciométrico
pH	Potenciométrico

Nota: SMWW = Standard Methods for Water and Wastewater

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Para análise de fósforo total, as amostras foram preservadas com H₂SO₄ até pH 2 e mantidas em refrigeração a 4°C pelo prazo máximo de 24 horas. Já para análise do cloreto, as amostras foram mantidas em refrigeração em frasco de polipropileno, sem preservação, por até 7 dias. As demais análises foram realizadas imediatamente ao recebimento das amostras.

3.4 ASPECTOS GERAIS DO ENSAIO DE AME

3.4.1 Montagem e execução

Os reatores para ensaio de AME foram montados em triplicata, em frascos tipo Schott de 1000 ml e/ou 500 ml, com roscas vazadas e tampas de borracha de bromobutila.

Com relação ao percentual de volume deixado como *headspace* nos frascos de reação, o valor adotado esteve sempre acima de 25% do volume total do recipiente, variando em função das condições das amostras originais. A troca de atmosfera dos frascos reatores foi realizada sob fluxo de nitrogênio por cerca de 3 minutos, tanto na fase líquida quanto na aérea.

Adotou-se agitação manual diária, antes de cada medição (intermitente) e os reatores foram incubados no escuro a 30°C, em estufa incubadora modelo 347 CD, marca Fanem, no Laboratório Operacional da ETE Barueri.

Para as diluições necessárias à montagem dos reatores, com o objetivo de ajustar a relação S/I e a carga orgânica de substrato ofertada, foi utilizada a solução nutritiva apresentada na seção 2.2.2.

3.4.2 Medição do volume produzido

O modelo de cromatógrafo gasoso utilizado é um Micro GC C2V-200 da marca Thermo Scientific®, que opera com argônio como gás de arraste numa pressão de 90 kPa, detecção por condutividade térmica, temperatura de injeção de 120°C, colunas capilares de 60 x 100 x 12,5 mm, e loop de injeção.

Como a injeção em loop demanda um fluxo de entrada, e, portanto, um volume maior de amostra, não é possível adotar o método de medição do metano que se baseia na avaliação quantitativa desse gás indiretamente pela área cromatográfica. Isto porque esse método demanda que o volume amostrado na seringa (com trava de pressão) seja pequeno, de modo a manter a mesma pressão encontrada no interior do reator.

Ou seja, para adoção do método volumétrico, levando em consideração o equipamento mencionado (MicroGC, C2V-200), é fundamental a geração de uma suficiente pressão positiva de biogás, pois o *loop* do cromatógrafo gasoso demanda que a amostra seja injetada em um fluxo que, considerando também a necessária lavagem do sistema interno de injeção, acaba por consumir uma quantidade grande de amostra: cerca de 7 ml. Além disso, são realizadas no

mínimo 3 leituras de cada amostra, com o descarte de valores atípicos, e uso do valor médio obtido.

Assim, neste estudo adotou-se o método de medição do volume de metano gerado por meio de seringas esmerilhadas de vidro de 100 ml (marca Artiglass). O percentual de metano na amostra, obtido a partir da análise cromatográfica, é multiplicado pelo volume de biogás medido com a seringa de vidro. Por fim, o valor obtido é corrigido matematicamente para a CNTP e metano seco segundo a equação 9 (seção 2.2.3).

A cada medição, a pressão positiva dentro do reator é igualada à atmosférica com a purga do excesso de biogás em selo hídrico.

3.4.3 Validação de método para o ensaio de AME

O ensaio de atividade metanogênica específica, na metodologia proposta neste trabalho, foi validado quanto à sua repetibilidade e linearidade. A repetibilidade do ensaio consiste em determinar a variabilidade analítica, precisão, ou incerteza de um ensaio. Por meio de um número suficiente de réplicas, calcula-se o coeficiente de variação dos resultados por meio da equação 19.

$$CV (\%) = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{média}} \times 100 \quad (\text{equação 19})$$

Já a linearidade do ensaio consiste em demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. No caso do AME, o teste de linearidade foi pensado de modo a demonstrar que a variação na carga de substrato e de inóculo utilizadas na montagem, se obedecidas a mesma relação S/I, chegam a um mesmo resultado.

O ensaio de repetibilidade foi montado utilizando-se as amostras originais descritas na tabela 15, obedecendo-se a montagem descrita na tabela 16. Foram seis réplicas alimentadas com acetato e incubadas a 30°C. O inóculo foi pré-digerido por 7 dias a 30°C antes da montagem. O coeficiente de variação foi obtido somente para a AME, e não para o BMP.

Tabela 8 – Qualidade das amostras originais utilizadas no ensaio de repetibilidade

Amostras originais	
Concentração inóculo (gSV/L)	14,3
Concentração inóculo (gSSV/L)	8,1
Relação SV/ST no inóculo	0,56
Relação AAV/AB no inóculo	0,21
Relação AV/AT no inóculo	0,06
Concentração acetato (gDQO/L)	40
Nota: AAV = alcalinidade de ácidos voláteis; AB = alcalinidade bicarbonato; AV = acidez volátil; AT = alcalinidade total.	

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tabela 9 – Montagem do ensaio de repetibilidade

Parâmetro	Réplicas iguais
Carga de substrato (gDQO)	2
Concentração de substrato (gDQO/L)	6
Carga de inóculo (g SV)	4
Concentração de inóculo (g SV/L)	11
Relação S/I (SV/SV)	0,5
Volume de reação (ml)	350
Volume de <i>headspace</i> (ml)	850
Montagem do reator	
Volume de substrato (ml)	50
Volume de inóculo (ml)	279,7
Solução nutritiva (ml)	20,3

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tabela 10 – Qualidade das amostras originais utilizadas no ensaio de linearidade

Amostras originais	
Concentração inóculo (gSV/L)	11,8
Concentração inóculo (gSSV/L)	4,2
Relação SV/ST no inóculo	0,58
Relação AAV/AB no inóculo	0,24
Relação AV/AT no inóculo	0,05
Concentração glicose (gDQO/L)	15

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

O ensaio de linearidade foi montado utilizando-se as amostras originais descritas na tabela 18, obedecendo-se as montagens descritas na tabela 19, sendo que o Tratamento 1 foi montado

em frasco de 1L, e o Tratamento 2 em frasco de 500ml. As duas montagens foram executadas em triplicata, ambas alimentadas com glicose e incubadas a 30°C. O inóculo foi pré-digerido por 7 dias a 30°C antes da montagem.

Tabela 11 – Montagem do ensaio de linearidade, com glicose como substrato

Parâmetro	Tratamento 1	Tratamento 2
Carga substrato (gDQO)	2	1
Concentração substrato (gSV/L)	4,2	4,2
Carga inóculo (gSV)	4	2
Concentração inóculo (gSV/L)	8,3	8,3
Relação S/I (DQO/SV)	0,5	0,5
Volume de reação (ml)	480	240
Montagem do reator		
Volume de LP (ml)	133,3	66,7
Volume de inóculo (ml)	339,0	169,5
Diluyente (ml)	7,7	3,8

Nota: S/I = substrato/inóculo

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

3.5 QUANTIFICAÇÃO DO EFEITO DE CODIGESTÃO

Com o objetivo de identificar o percentual máximo em volume, e em carga de aplicação, para o qual não há redução significativa na produção de metano pelo digestor, utilizou-se o ensaio de AME, bem como o ensaio de *BMP*, em reatores de fluxo fechado (batelada). O primeiro visa avaliar efeitos sobre a velocidade de degradação da microbiota, isto é, revelar variações em sua capacidade metabólica sob ação do substrato misto. Já o segundo, visa quantificar o volume máximo de metano gerado a partir do substrato misto ofertado.

O valor de AME obtido é relevante em termos de projeto, pois estima a taxa com que será gerado metano por dia no digestor real. Já o *BMP* fornece informações sobre a biodegradabilidade do alimento misto.

O experimento consistiu em expor o inóculo da ETE Barueri à mistura de lodo de processo (LP) e lixiviado de aterro sanitário (LAS), em diferentes percentuais de chorume em volume. Na literatura correlata, os pesquisadores costumam dosar o volume de lixiviado, sobre o volume que aflui a um reator anaeróbio (v/v), independentemente de sua carga orgânica.

Hombach, Oleszkiewicz e Lagasse (2003), Montusiewicz e Lebiocka (2011), e Berenjkari, Islam e Yuan (2019), a fim de garantir uma quantidade suficiente de alimento típico na montagem de seus reatores, fora a parcela de lixiviado, adotam a proporção de 60% de lodo

afluente (substrato) para 40% de lodo digerido (inóculo), em volume. Essa prática faz com que a relação S/I se eleve acima do corriqueiramente defendido como ideal para obtenção de um bom resultado no ensaio de AME, qual seja: 0,5 DQO/SV. De qualquer modo, montagens com lixiviados de concentração orgânica elevada, dosados em proporções de médias a altas, não se tornam viáveis com a adoção da relação S/I de 0,5.

3.5.1 Ensaio preliminar (EP)

Anteriormente ao ensaio definitivo, ou Experimento 1, decidiu-se testar montagens com 0%, 5%, 10% e 15% de lixiviado (v/v), de duas qualidades distintas (jovem e velho), com a adoção de uma relação S/I de 0,5 (DQO/SV).

Tabela 12 – Qualidade das amostras originais utilizadas no ensaio preliminar

Amostras originais	
Concentração LP (DQO)	17,5 g/L
Concentração inóculo (SV)	11,9 g/L
Concentração inóculo (SSV)	6.8 g/L
Concentração LAS-J (DQO)	19,9 g/L
Concentração LAS-V (DQO)	10,9 g/L

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Na tabela 8 está descrita a qualidade das amostras originais que foram utilizadas na execução do ensaio preliminar. Nas tabelas 9 e 10 está descrita a montagem realizada para cada tratamento e tipo de chorume (LAS - V e LAS - J).

A manutenção das mesmas cargas de inóculo e de substrato em todos os tratamentos, visa eliminar variáveis relacionadas à montagem do ensaio que poderiam influenciar na análise do resultado, a qual se baseia na comparação entre tratamentos e grupo controle.

Além disso, a manutenção de um mesmo volume de reação visa evitar distorções de resultado, entre os tratamentos, decorrentes da diferença de volume de *headspace* e pressão interna provocada pelo biogás gerado.

Tabela 13 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EP com LAS – V

Parâmetro	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
Carga substrato (g DQO)	0,5	0,5	0,5	0,5
Concent. substrato (g DQO/L)	4,2	4,2	4,2	4,2
Carga inóculo (g SV)	1	1	1	1
Concent. inóculo (g SV/L)	8,3	8,3	8,3	8,3
Relação S/I (DQO/SV)	0,5	0,5	0,5	0,5
Volume de reação (ml)	120	120	120	120
LAS - V em volume (%)	0	5	10	15
Montagem do reator				
Volume de LP (ml)	28,6	21,7	14,9	8,1
Volume de LAS (ml)	0	6,0	12,0	18,0
Volume de inóculo (ml)	84,0	84,0	84,0	84,0
Solução nutritiva (ml)	7,4	8,2	9,0	9,9
DQO: N: P	100: 4: 1	128: 7: 1	185: 13: 1	312: 28: 1
pH	7,47	7,55	7,51	7,51
LAS – V em carga (%)	0%	23,9%	47,8%	71,6%

Nota: S/I = substrato/inóculo; LP = lodo de processo; LAS = lixiviado de aterro sanitário.

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

No momento da montagem, antes da troca de atmosfera, foi medido o pH de todos os tratamentos e controle, e em um primeiro momento optou-se por não o ajustar. A figura 13 representa esquematicamente a configuração do ensaio preliminar.

O teste foi conduzido até o momento em que as curvas de produção acumulada de metano entraram em sua fase de estabilização. Os tratamentos com LAS – J apresentaram inibição bastante pronunciada ao longo de todo período, o que demonstrou o impacto causado pelo pH fora da faixa ideal de trabalho da microbiota, a despeito de uma sutil aclimação que será discutida subsequentemente neste trabalho. Já os tratamentos com LAS –V, pelo contrário, apresentaram aumento na velocidade de metabolização do substrato em relação ao controle, o que sinalizou a necessidade de montar o Experimento 1 com percentuais de aplicação de lixiviado mais elevados, tendo em vista o objetivo de determinar a concentração a partir da qual se manifesta inibição.

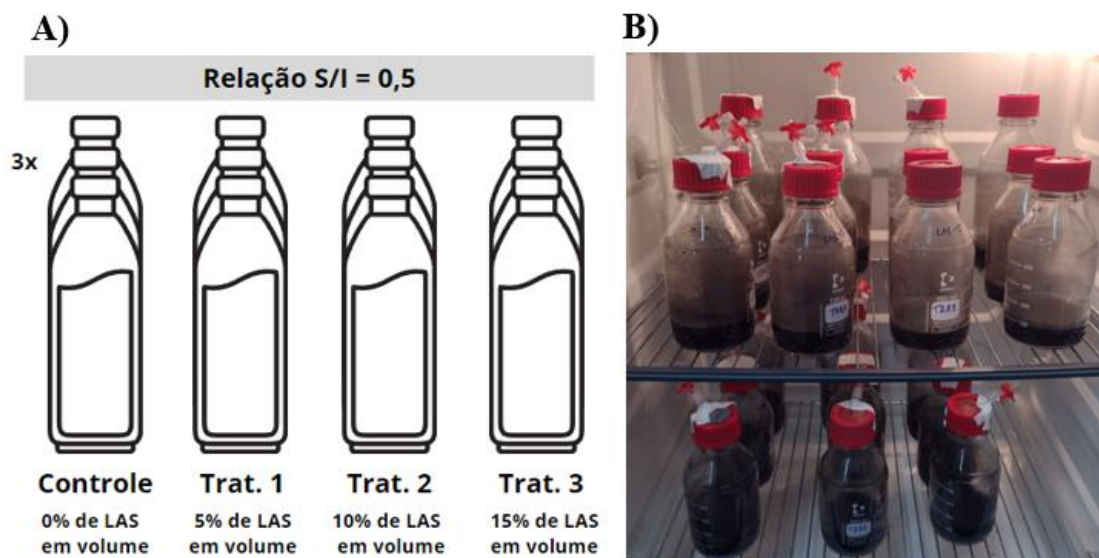
Tabela 14 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EP com LAS – J

Parâmetro	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
		1	2	3
Carga substrato (g DQO)	0,5	0,5	0,5	0,5
Concent. substrato (g DQO/L)	4,2	4,2	4,2	4,2
Carga inóculo (g SV)	1	1	1	1
Concent. inóculo (g SV/L)	8,3	8,3	8,3	8,3
Relação S/I (DQO/SV)	0,5	0,5	0,5	0,5
Volume de reação (ml)	120	120	120	120
LAS – J em volume (%)	0	5	10	15
Montagem do reator				
Volume de LP (ml)	28,6	24,8	21,1	17,4
Volume de LAS (ml)	0	6,0	12,0	18,0
Volume de inóculo (ml)	84,0	84,0	84,0	84,0
Solução nutritiva (ml)	7,4	5,1	2,9	0,6
DQO: N: P	100: 4: 1	115: 7: 1	134: 11: 1	162: 16: 1
pH	7,47	8,12	8,53	8,76
LAS - J em carga (%)	0%	13,1%	26,2%	39,2%

Nota: S/I = substrato/inóculo; LP = lodo de processo; LAS = lixiviado de aterro sanitário.

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Figura 13 - Desenho experimental (A) e registro fotográfico (B) do ensaio preliminar



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Os parâmetros utilizados para comparar resultado entre tratamentos e controle no EP foram: i) alcalinidade total, ii) alcalinidade bicarbonato, iii) alcalinidade de ácidos voláteis, iv) acidez volátil, v) pH, e vi) DQO filtrada. Para tal, o licor reacional das triplicatas de cada

tratamento, misturadas entre si, foi centrifugado e separado em duas fases para realização das análises no sobrenadante. Apenas o pH foi analisado no licor reacional antes da centrifugação.

3.5.2 Configuração do Experimento 1 (EXP1)

Para o EXP1 foi utilizado somente o lixiviado de aterro velho (LAS – V). Para tal, as amostras que estavam congeladas por 12 dias enquanto ocorria o ensaio preliminar (EP), foram descongeladas gradualmente à temperatura ambiente.

Na tabela 11 está descrita a qualidade das amostras originais que foram utilizadas na execução do Experimento 1, onde aplicou-se os percentuais 0%, 15%, 20%, 30% e 40% em volume. Na tabela 12 está descrita a descrição da montagem realizada para cada tratamento (figura 14). Optou-se por adotar valores similares de relação S/I, qual seja aproximadamente 1,5, ainda que este valor esteja acima de 0,5. Para isso foi necessário afrouxar a proporção volumétrica de 60:40 (lodo de processo: inóculo) adotada por outros pesquisadores (Hombach; Oleszkiewicz; Lagasse, 2003; Montusiewicz; Lebiocka, 2011; Berenjkar; Islam; Yuan, 2019).

Tabela 15 – Qualidade das amostras originais utilizadas no EXP1

Amostras originais	
Concentração LP (DQO)	25,1 g/L
Concentração inóculo (SV)	10,1 g/L
Concentração inóculo (SSV)	7,35 g/L
Concentração LAS-V (DQO)	19,9 g/L

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Em termos de comparabilidade entre tratamentos entende-se que a preservação de uma mesma relação S/I é mais indicada do que a preservação da proporção volumétrica 60:40, já que a adição volumétrica de chorume, somada à manutenção desta proporção 60:40, provoca significativa variação em um parâmetro importante que é a quantidade de alimento disponível para cada unidade de microrganismo.

O teste foi conduzido até a degradação virtualmente completa do substrato, isto é, até o momento no qual a produção diária de metano corresponda a menos de 1% do volume acumulado. A avaliação de desempenho se baseou na comparação com o grupo controle, pelo(a): i) valor da AME; ii) volume de gás produzido (BMP); iii) e comparação entre parâmetros de interesse.

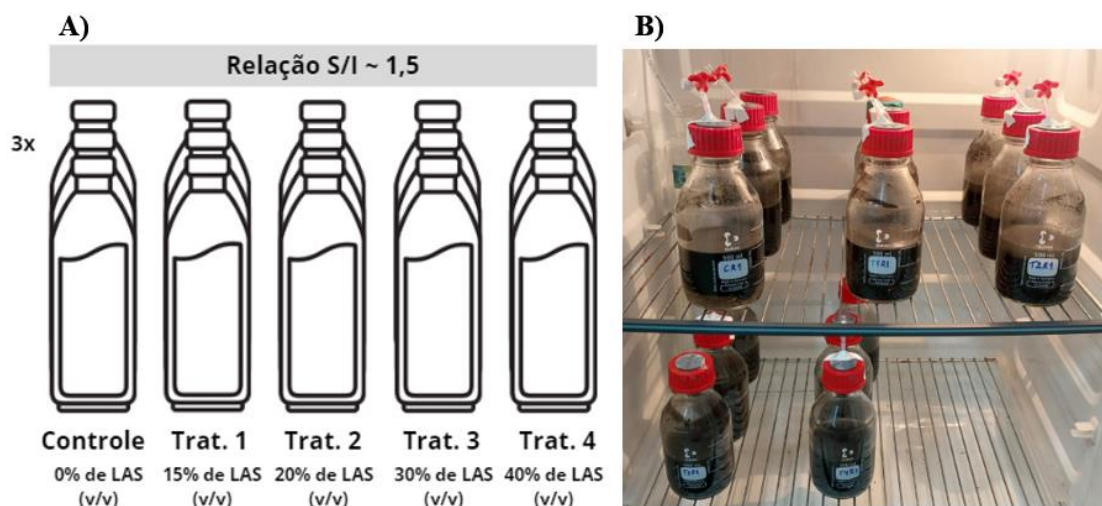
Tabela 16 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EXP1 com LAS – V

Parâmetro	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
Carga substrato (g DQO)	2,9	2,7	2,8	2,6	2,6
Concent. subs. (g DQO/L)	9,5	9,0	9,2	8,8	8,7
Carga inóculo (g SV)	1,9	1,9	1,8	1,8	1,7
Concent. inoc. (g SV/L)	6,3	6,2	6,0	5,9	5,8
Relação S/I (DQO/SV)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Volume de reação (ml)	300	300	300	300	300
LAS - V em volume (%)	0	15	20	30	40
Montagem do reator					
Volume de LP (ml)	114,0	71,4	62,4	33,6	9,0
Volume de LAS (ml)	0,0	45,0	60,0	90,0	120,0
Volume de inóculo (ml)	186,0	183,6	177,6	176,4	171,0
Solução nutritiva (ml)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DQO: N: P	172: 5: 1	248: 13: 1	289: 17: 1	456: 37: 1	1130: 113: 1
pH	7,23	7,37	7,42	7,5	7,57
LAS - M em carga (%)	0%	33,3%	43,2%	68,0%	91,4%

Nota: S/I = substrato/inóculo; LP = lodo de processo; LAS = lixiviado de aterro sanitário.

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Figura 14 - Desenho experimental (A) e registro fotográfico (B) do Experimento 1



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Os parâmetros utilizados para comparar resultado entre tratamentos e controle foram: i) alcalinidade total, ii) alcalinidade bicarbonato, iii) alcalinidade de ácidos voláteis, iv) acidez volátil, v) pH, vi) nitrogênio amoniacal, vii) DQO filtrada, viii) DBO filtrada, ix) sólidos voláteis, e x) condutividade. Para tal, o licor reacional das triplicatas de cada tratamento, misturadas entre si, foi centrifugado e separado em duas fases para realização das análises no

sobrenadante. Apenas os sólidos voláteis, a condutividade e o pH foram analisados no licor reacional antes da centrifugação.

O tratamento 2 foi escolhido para investigação de alterações na disponibilidade dos metais após a degradação anaeróbia e para tal, foi submetido a análise de metais totais e dissolvidos, assim como o controle. Procedendo-se com a correta filtração do sobrenadante em membrana de 0,45 µm, no caso da análise da fração dissolvida, bem como armazenamento em frascaria adequada e pré-lavada, e preservação com ácido nítrico em pH < 2.

3.5.3 Configuração do Experimento 2 (EXP2)

O EXP2 foi conduzido a fim de verificar: i) o impacto do ajuste do pH sobre a velocidade de geração de metano; ii) e desempenho da codigestão do LAS-V (lote 2) e LAS-J a 15% em v/v, adotando-se uma relação S/I superior (3,1). Para tal, as amostras de LAS-V (lote 2) e LAS-J foram descongeladas gradualmente à temperatura ambiente antes da montagem dos reatores.

Tabela 17 – Qualidade das amostras originais utilizadas no EXP2

Amostras originais	
Concentração lodo de processo (DQO)	19,4 g/L
SV/ST lodo de processo	67%
Concentração inóculo (SV)	6,8 g/L
Alcalinidade total inóculo	2400 mgCaCO ₃ /L
Acidez volátil inóculo	105,1 mg/L
SV/ST inóculo	58%
Concentração LAS-V (DQO)	22,4 g/L
Concentração LAS-J (DQO)	10,9 g/L

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Na tabela 13 está descrita a qualidade das amostras originais que foram utilizadas na execução do Experimento 2, onde aplicou-se somente os percentuais de 0% e 15% de LAS em volume (figura 15). Na tabela 14 está descrita a montagem realizada para cada tratamento.

A fim de avaliar a capacidade de desaguamento da mistura lodo de processo e lixiviado, após 22,7 dias de ensaio, o licor reacional dos tratamentos foi submetido à análise de tempo de sucção capilar (CST). Para tal utilizou-se um aparelho de CST, fabricado pela Triton Eletrônica Ltd (figura 16).

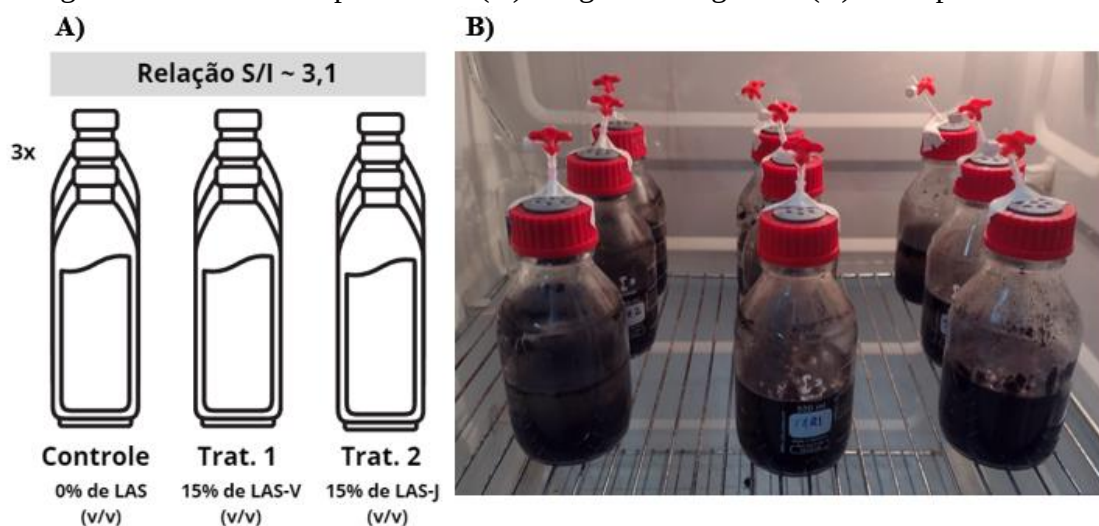
Tabela 18 – Parâmetros de interesse para montagem dos reatores no EXP2 com LAS – V (lote 2) e LAS - J

Parâmetro	Controle	Tratamento 1 (LAS-V)	Tratamento 2 (LAS-J)
Carga substrato (g DQO)	3,0	3,1	2,8
Concent. subs. (g DQO/L)	10,1	10,3	9,4
Carga inóculo (g SV)	1,0	1,0	0,9
Concent. inoc. (g SV/L)	3,3	3,4	3,1
Relação S/I (DQO/SV)	3,1	3,1	3,1
Volume de reação (ml)	300	300	300
LAS - V em volume (%)	0	15	15
Montagem dos reatores			
Volume de LP (ml)	156	107,1	119,9
Volume de LAS (ml)	0,0	45,0	45,0
Volume de inóculo (ml)	144	147,9	135,2
Solução nutritiva (ml)	0,0	0,0	0,0
pH (natural)	7,22	7,42	8,77
pH (ajustado)	7,10	7,10	7,10
LAS - M em carga (%)	0%	32,7%	17,4%

Nota: S/I = substrato/inóculo; LP = lodo de processo; LAS = lixiviado de aterro sanitário.

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Figura 15 - Desenho experimental (A) e registro fotográfico (B) do Experimento 2



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

O aparelho consiste basicamente em um tubo de aço inoxidável, em formato de funil, que se apoia sobre um papel absorvente (papel filtro Whatman nº 17). Uma placa de acrílico sustenta essa montagem, a qual contém sensores de umidade que remetem informação a um

controlador, que por sua vez expressa o resultado na unidade segundos. Quanto maior o tempo que a água leva para alcançar os sensores, menor a capacidade de filtrabilidade de um lodo.

Figura 16 - Registro fotográfico dos recursos instrumentais para ensaio de CST e de tempo de filtração



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Como complementação dessa avaliação também foi feita a análise de tempo de filtração, um método desenvolvido na ETE Barueri para avaliar rotineiramente a eficiência do polímero catiônico utilizado no desaguamento do lodo digerido na Estação.

O procedimento básico consiste em dosar uma solução de polímero a 0,5% em 200 ml de amostra de lodo digerido, obedecendo uma taxa de aplicação de 10 kg polímero por tonelada de ST de lodo. Após um tempo de reação de aproximadamente 7 minutos sob mistura, a amostra floculada é então forçada (por bomba de vácuo) a passar por um sistema de filtração composto de funil de Büchner, forrado com filtro de fibra de vidro, acoplado a uma proveta (figura 16).

O tempo que a amostra leva para atravessar a unidade de filtração até totalizar 100 ml na proveta é cronometrado e utilizado como parâmetro de comparação entre amostras, por refletir a capacidade de desaguamento de lodos após a adição de polímero. A fim de definir o volume de dosagem de solução de polímero, foi realizada primeiramente a análise de ST das amostras obtidas nos tratamentos do EXP2 ao fim do teste.

3.5.4 Cálculo da produção teórica de metano com base na DQO ofertada

Tendo em vista que o substrato misto adotado neste trabalho não possui uma fórmula química definida, para todos os cálculos da produção teórica de metano utilizou-se a relação estequiométrica estabelecida por Chernicharo (2016), na qual 1g de DQO corresponde a geração de 350 ml de metano na CNTP.

A relação entre a taxa de produção de metano em volume e a DQO equivalente (ou removida do despejo) é corrigida em função da temperatura do ensaio por meio da equação 17 e 18.

$$Q_{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}}{f(T)} \quad (\text{equação 17})$$

$$f(T) = \frac{P \times K_{DQO}}{R \times (273 + T)} \quad (\text{equação 18})$$

Onde:

Q_{CH_4} : produção volumétrica de metano (m³/dia);

DQO_{CH_4} : carga de DQO removida no reator e convertida em metano (gDQO);

$f(T)$: fator de correção para a temperatura operacional do reator (kgDQO/m³);

P : pressão atmosférica (1 atm);

K_{DQO} : DQO correspondente a 1 mol de CH₄ (64 gDQO/mol);

R : constante dos gases (0,08206 atm.L/mol.K);

T : temperatura operacional do reator (°C).

3.6 SIMULAÇÃO EM SOFTWARE DE MODELAGEM GLOBAL (BIOWIN®)

O biowin é um software desenvolvido pela empresa EnviroSim® para modelagem global de ETEs, e que foi adquirido pela Sabesp, tendo sido utilizado para projetar o cenário futuro da ETE Barueri para o ano de 2024 com dados reais calibrados. Essa simulação previamente elaborada para 2024, foi utilizada no âmbito desta pesquisa com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão do chorume sobre a fase líquida e sobre outros atributos de interesse no processo da fase sólida, com especial destaque sobre a recirculação de amônia.

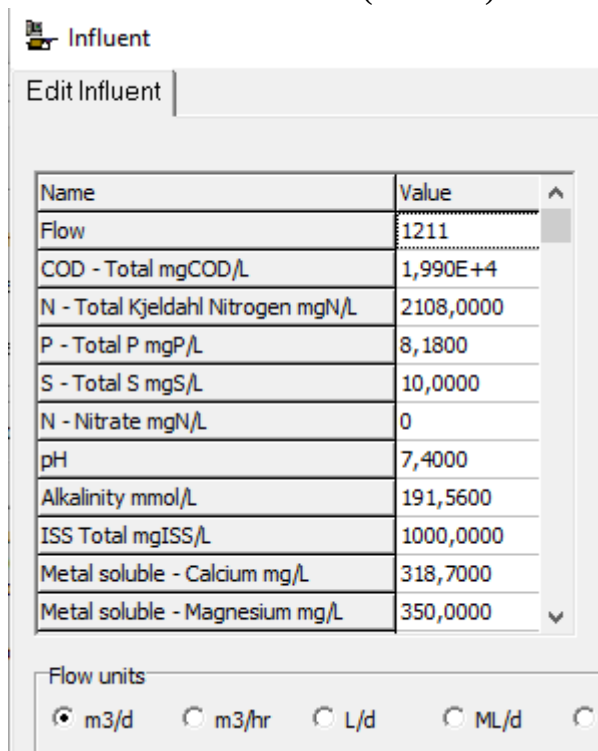
Foram realizadas simulações estacionárias e dinâmicas, considerando período de 6 meses de duração, do cenário sem chorume, e com chorume a 15% v/v, sendo este inserido à montante do digestor juntamente com o lodo de processo.

Os dados relativos ao número de unidades disponíveis em cada etapa, bem como qualidade do afluente à Estação foram iguais nos dois cenários. Adotou-se como dimensionamento da sua capacidade operacional: 14 decantadores primários; 14 tanques de aeração; 21 decantadores secundários; 8 adensadores por gravidade; 10 digestores anaeróbios. Demais unidades, como por exemplo, centrífugas e sopradores, foram mantidos em igual número nas duas simulações.

3.6.1 Dados de entrada

O modelo permite a inclusão de efluente não doméstico (END) em qualquer ponto de interesse da Estação, porém é limitado no número de parâmetros utilizados para caracterizar esse END. Na figura 17 estão detalhados quais são esses parâmetros e os valores que foram utilizados para qualificar o lixiviado, ou END, em questão.

Figura 17 - Print de tela com o detalhamento dos parâmetros utilizados para caracterizar o afluente industrial (chorume)



Name	Value
Flow	1211
COD - Total mgCOD/L	1,990E+4
N - Total Kjeldahl Nitrogen mgN/L	2108,0000
P - Total P mgP/L	8,1800
S - Total S mgS/L	10,0000
N - Nitrate mgN/L	0
pH	7,4000
Alkalinity mmol/L	191,5600
ISS Total mgISS/L	1000,0000
Metal soluble - Calcium mg/L	318,7000
Metal soluble - Magnesium mg/L	350,0000

Flow units

☒ m3/d
 ☐ m3/hr
 ☐ L/d
 ☐ ML/d
 ☐

Fonte: tela do software Biowin.

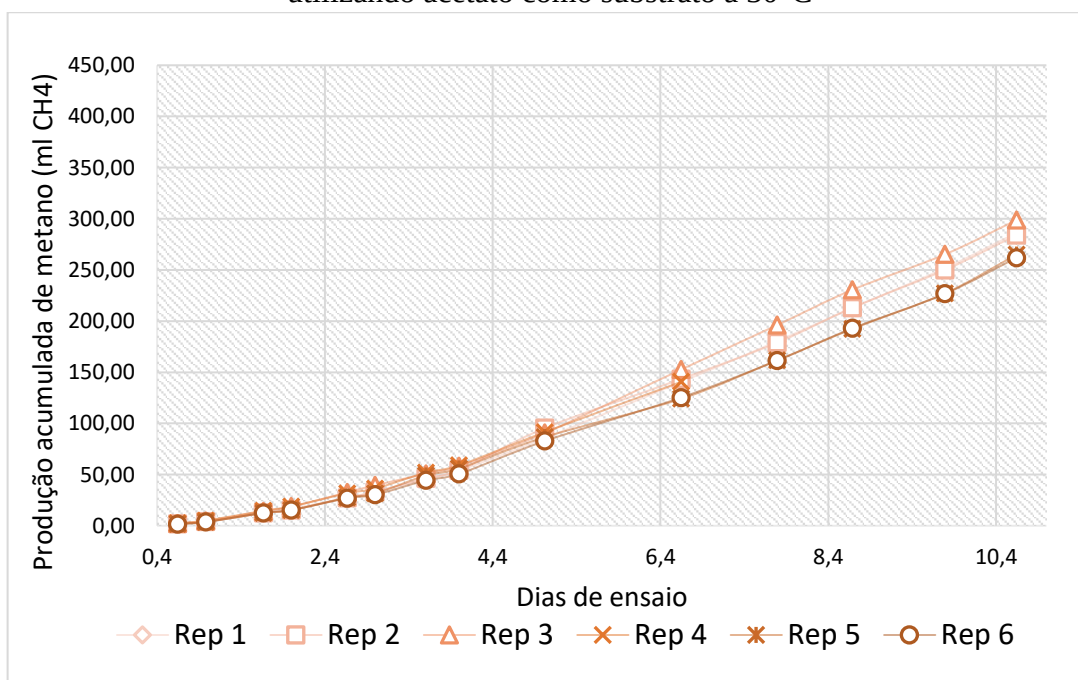
Quanto aos parâmetros operacionais configurados para o digestor, foi adotada em ambas simulações a temperatura de trabalho de 30 °C e 10 unidades em operação, sendo que hoje na ETE Barueri operam somente 8, estando 2 em fase de obra. O uso de 10 unidades, ao invés de 8, representa um ganho de capacidade e aumento do TDH, para uma ETE que já se encontra com sua fase sólida subdimensionada. O lançamento de lixiviado em codigestão com lodo de processo demanda uma folga operacional de capacidade que o viabilize. A adição de duas unidades a mais representa um ganho de 25% em vazão afluente aos digestores.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ENSAIO DE REPETIBILIDADE

O gráfico da figura 18 apresenta o resultado da curva de metano acumulado ao longo dos 10,6 dias de ensaio. Nota-se que a curva apresenta uma síndrome típica de degradação retardada, com o trecho linear iniciando aproximadamente no 4º dia de incubação. Sabe-se que a velocidade de crescimento das arqueias acetoclásticas é a menor dentro da comunidade anaeróbia do digestor, o que explica essa fase inicial mais lenta. De todo modo, o inóculo estava com boas condições de qualidade.

Figura 18 - Gráfico de produção acumulada de metano durante teste de repetibilidade utilizando acetato como substrato a 30°C



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

A réplica 4 apresentou problemas de estanqueidade e foi removida do teste no 6º dia de ensaio.

A obtenção da AME depende da escolha do melhor trecho linear, isto é, aquele em que a reta correspondente alcance valores de R^2 superiores a 0,99. O trecho escolhido foi aquele que vai do 4º ao 8,7º dia (tabela 17). Demais tentativas constam no Anexo I ao fim deste trabalho.

Tabela 19 – Obtenção da AME do teste de repetibilidade, adotando o trecho do 4º ao 8,7º dia

Réplica	R²	Coef. Linear	AME (mlCH₄/gSV.d)
1	0,9994	33,911	8,478
2	0,9973	32,923	8,231
3	0,9992	37,081	9,270
5	0,9948	28,472	7,118
6	0,9977	29,768	7,442

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Sendo assim, feitos os cálculos de desvio padrão e média entre os resultados de AME para cada réplica, calculou-se o coeficiente de variação (CV).

$$CV = \frac{0,765}{8,108} = 9,44\%$$

O coeficiente de variação encontrado foi coerente e satisfatório, tanto quando comparado àqueles encontrados para outros ensaios biológicos, por exemplo a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) em que a incerteza é de 15% para 198 mg/L, quanto quando comparada à incerteza de ensaios gravimétricos, como o SST que é de 10%, segundo o SMWW (APHA, 2020).

Carrillo-Reyes *et al.* (2020), em seu artigo, validaram dois métodos distintos para realização do ensaio de Potencial de Produção de Biohidrogênio (*BHP*), os quais se assemelham aos métodos utilizados para obtenção da AME e do *BMP*. O coeficiente de variação intralaboratorial (repetibilidade) obtido por eles, foi de 13% para o método manual e 9% para o método automatizado (AMPTS).

Considera-se que a população utilizada no ensaio de repetibilidade do presente trabalho não foi alta, cinco, enquanto os manuais de validação recomendam sete réplicas ou mais. Convém realizar novamente o ensaio de repetibilidade utilizando outros substratos, por exemplo, o lodo de processo de ETE. Além disso, não foi realizada a homogeneização do inóculo, por meio de peneiramento ou liquidificação, o que poderia reduzir a incerteza associada à montagem.

Segundo Angelidaki *et al.* (2009), a AME de lodo alimentado com acetato deve ser de no mínimo 0,1 gDQO/gSSV.d. Convertendo a unidade de expressão, o resultado médio encontrado no ensaio de repetibilidade foi de 0,04 gDQO/gSSV.d, isto é, um valor bastante inferior ao preconizado pelos autores mencionados. No entanto, este resultado não invalida o coeficiente

de variação, já que este não depende da qualidade do inóculo, que no caso foi o mesmo utilizado em todas as réplicas. O CV deve expressar a soma das incertezas embutidas em montagem, incubação, preparação de amostra, ou seja, elementos que estão presentes independentemente da qualidade do inóculo.

A obtenção do CV é necessária, pois ele é o critério a partir do qual se poderá afirmar se diferenças obtidas na AME entre tratamentos diferentes são significativas ou não. Neste trabalho, foram tratadas como significativas todas as diferenças de resultado que superam 9,44% da incerteza própria do ensaio.

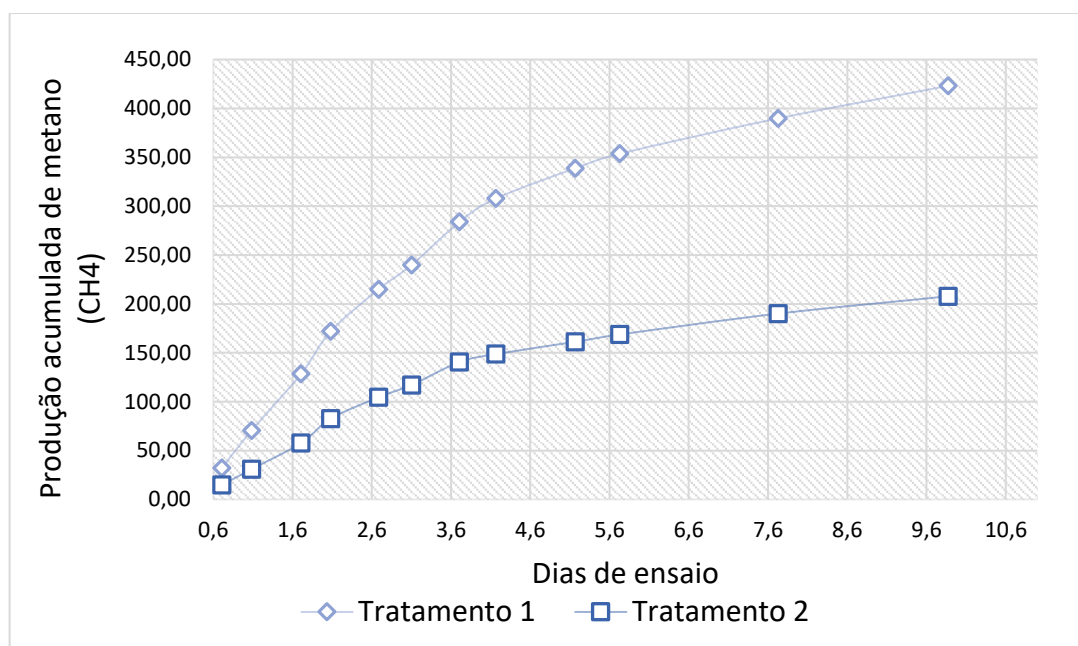
4.2 ENSAIO DE LINEARIDADE

O gráfico da figura 19 apresenta o resultado da curva de metano acumulado (média das triplicatas) ao longo dos 9,9 dias de ensaio. Nota-se que as curvas apresentam uma síndrome típica e similar, com o trecho linear iniciando já no 1º dia de incubação, já que a glicose é um substrato facilmente assimilável, e que, portanto, não demanda hidrólise. O inóculo utilizado estava com boas condições de qualidade.

A obtenção da AME depende da escolha do melhor trecho linear, isto é, aquele em que a reta correspondente alcance valores de R^2 superiores a 0,99. O trecho escolhido foi aquele que vai do 0,7º ao 2,1º dia (tabela 20). Resultados de cada triplicata isoladamente constam no Anexo I ao fim deste trabalho.

Os valores de AME obtidos para cada tratamento podem ser considerados iguais, pois sua diferença é menor do que o coeficiente de variação do método. E, quatro pontos estão inclusos no trecho linear selecionado, o que atesta a boa execução do ensaio. Este teste demonstra que, se atendidas boas condições de montagem, inóculos iguais devem manifestar taxas cinéticas de geração de metano similares, já que essa taxa está diretamente relacionada com a capacidade metabólica do inóculo quando sujeito à uma fonte de alimento, que no caso foi a mesma para os dois tratamentos.

Figura 19 - Gráfico de produção acumulada de metano durante teste de linearidade utilizando glicose como substrato a 30°C



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tabela 20 – Obtenção da AME do teste de linearidade, adotando o trecho do 0,7º ao 2,1º dia

Tratamento	R ²	Coef. Linear	AME (mlCH ₄ /gSV.d)
1	0,9983	100,23	25,06
2	0,9901	48,22	24,11

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tanto a proporção S/I de 2:4, quanto a de 1:2, se mostraram suficientes para obtenção de um trecho inicial linear de produção de metano, bem como geração de pressão positiva ao longo dos 12 dias de ensaio.

A utilização de apenas acetato como fonte de carbono e energia subestima em no mínimo 30% a capacidade máxima de produção de metano (AME), pois as metanogênicas que consomem hidrogênio têm maiores taxas de crescimento do que as que consomem acetato (Harper; Pohland, 1986, Pavlostathis; Giraldo-Gomez, 1991, *apud* Aquino *et al.*, 2007, p. 193). Os dois testes de validação apresentados neste trabalho confirmam esse comportamento, já que foram montados com a mesma relação S/I e com inóculo proveniente da mesma fonte, ainda que não da mesma data, gerando valores de AME que se diferenciam em 67%.

4.3 ENQUADRAMENTO DOS TIPOS DE LIXIVIADO

Os resultados da caracterização das amostras utilizadas no âmbito desta pesquisa, quais sejam: lixiviado velho (LAS – V), lixiviado jovem (LAS – J), lodo de processo (LP) lotes 1 e 2, e inóculo pré-digerido lotes 1 e 2, estão apresentados nas tabelas 21 e 22.

Com relação aos dois tipos de lixiviado, os resultados obtidos contrariam a caracterização típica para lixiviados jovens e velhos na literatura revisada. O parâmetro DBO/DQO por exemplo, resultou em valor superior no lixiviado velho em relação ao jovem, ainda que este último também tenha sido alto. Lixiviados de aterros velhos comumente possuem relações DBO/DQO baixas em razão do acúmulo de compostos recalcitrantes. Esse resultado revela que essa observação não é uma regra geral.

O mesmo se observa com relação ao parâmetro pH, para o qual se esperava um aumento deste valor ao passo que o aterro envelhece, visto que as reações metanogênicas se sobressaem às fermentativas. Nesta caracterização observou-se o contrário, o pH do LAS-J estava muito mais básico, e tamponado, do que o LAS-V, porém o pH do LAS-V não estava ácido, e sim mais próximo do neutro.

O nitrogênio amoniacal, da mesma forma, contrariou expectativas pois estava alto nas duas qualidades de lixiviado. Na revisão feita por Torres-Lozada *et al.* (2014) sua concentração em chorumes velhos não superava o máximo de 956 mg/L, e nesta caracterização observou-se praticamente o dobro disso.

As formas nitrogenadas oxidadas, nitratos e nitritos, alcançaram um valor maior no LAS-J, quando se esperava uma concentração maior deles no LAS-V, contrariando o que foi sugerido por Ziyang *et al.* (2009).

A DQO do LAS-V também estava bastante alta, superando em 9 vezes o limite máximo encontrado na revisão de Torres-Lozada *et al.* (2014) para aterros velhos. Já o parâmetro DQO solúvel merece destaque, pois resultou em valores praticamente iguais à DQO total nos dois tipos de chorume, corroborando a informação corrente de que este tipo de rejeito contém uma carga orgânica em sua maioria solubilizada.

Tabela 21 – Caracterização analítica das amostras utilizadas na pesquisa

Parâmetro	Lote 1				Lote 2		
	Lixiviado velho (LAS - V)	Lixiviado jovem (LAS - J)	Lodo de Processo (LP)	Inóculo pré-digerido	Lixiviado velho (LAS - V)	Lodo de Processo (LP)	Inóculo pré-digerido
DQO tot (mg/L)	19984	10973	17476	*	22444	25125	*
DQO sol (mg/L)	19007	10775	153/141	*	17331	951	*
DBO carb (mg/L)	15820	5300	*	*	9880	*	*
DBO/DQO	0,79	0,48	*	*	0,44	*	*
pH	7,56	9,85	6,64	7,43	7,49	6,51	7,6
SST (mg/L)	1960	560	*	9420	700	*	13200
SSV (mg/L)	960	200	*	6800	400	*	7350
SSF (mg/L)	1000	360	*	2620	300	*	5850
ST (mg/L)	22800	45170	16820	20420	27140	25140	16820
SV (mg/L)	9190	10610	11590	11900	13373	17340	10120
SF (mg/L)	13690	34560	5230	8520	13767	7800	6700
SV/ST	0,40	0,23	0,69	0,58	0,49	0,69	0,60
SDT (mg/L)	20576	45572	*	*	25347	*	*
SDV (mg/L)	8340	11584	*	*	12206	*	*
SDF (mg/L)	12236	33988	*	*	13140	*	*
N-NH ₃ (mg/L)	1884,9	2057,2	47,6	*	2153,1	97,5	*
NTK (mg/L)	2108	2120	703	*	4469	680	*
NT (mg/L)	2179	2285	758	*	4709	726	*
NO ₂ + NO ₃ (mg/L)	71,4	165	55,1	*	239	46,1	*
P tot (mg/L)	8,18	3,07	175	*	16,44	147,8	*
Cloreto (mg/L)	5381	19048	*	*	5503	*	*
AV (mgHac/L)	6428,6	3375,8	129,6	88,9	6724,1	344,4	602,4
AB (mgCaCO ₃ /L)	4437	4903,5	142	1923	4494	177,5	1311
AAV (mgCaCO ₃ /L)	5141	2529	120	294,5	5433,5	325	642
AAV/AB	1,16	0,52	0,85	0,15	1,2	1,83	0,49
AT (mgCaCO ₃ /L)	9578	7432,5	262	2217,5	9927,5	502,5	1953
Condut. (mS/cm)	29,3	57,4	0,97	4,18	33,9	1,26	4,04

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

O cloreto, por sua vez, foi encontrado em concentração elevada, nos dois tipos de lixiviado, em relação ao limite encontrado por Torres-Lozada *et al.* (2014). Sendo que no LAS-J sua concentração estava elevadíssima, o que também refletiu nos parâmetros condutividade e SDT.

A alcalinidade total dos dois tipos de chorume é alta, porém dentro da ordem de grandeza esperada em relação à revisão de Torres-Lozada *et al.* (2014). No entanto, o LAS-V estava com alcalinidade ligeiramente maior ainda que seu pH estivesse menor.

A acidez volátil foi identificada pelo método titulométrico, e portanto, foi expressa em unidade distinta daquela utilizada pelos pesquisadores citados. De todo modo, resultou em valores bastante elevados em relação às qualidades de amostras habitualmente encontradas em ETEs. Nota-se também uma correspondência proporcional entre os valores de acidez volátil e alcalinidade de ácidos voláteis entre os lixiviados caracterizados.

Ainda que o trabalho de Torres-Lozada *et al.* (2014) tenha observado a diferença sazonal entre as estações do ano de 2012, a coleta das 20 amostras de lixiviado se concentrou em células de apenas 3 aterros sanitários, correspondendo aos 3 tipos de classes de idade avaliadas: jovem, intermediária e velha. Trata-se, portanto, de um recorte muito particular, mais ainda se considerarmos que a dinâmica de produção e qualidade do lixo disposto na Colômbia pode não se equivaler ao gerado na RMSP, Brasil.

De todo modo, essas considerações podem ajudar a explicar as diferenças na ordem de grandeza entre os resultados comparados para alguns dos parâmetros, mas não ajudam a explicar por que, na mesma época, e na mesma região urbana, um aterro de idade elevada se comporta, em muitos aspectos, como jovem, da maneira relatada aqui.

O aterro sanitário fonte do lixiviado velho possui 22 anos de operação, mas ainda não foi encerrado, e possivelmente é a dinâmica operacional dele que influenciou na caracterização obtida. Segundo Bocchiglieri (2010), um aterro é composto por resíduos velhos e novos, e se ainda ativo, estes últimos são dispostos diariamente. O lixiviado coletado nas várias células, operantes e inoperantes, comumente é drenado para uma única lagoa de armazenamento, ou seja, quase sempre não existe essa segregação entre chorume de célula antiga e chorume de célula recente. Desse modo, o lixiviado de aterro de 22 anos, e ainda operante, que foi utilizado nesta pesquisa, na verdade corresponde a um lixiviado misto.

Quanto ao lodo de processo (LP), tanto o lote 1 utilizado no Ensaio Preliminar, quanto o lote 2 utilizado no Experimento 1, estavam com um baixo teor de sólidos voláteis, em ambos os casos 69%. O recomendado é que os substratos ofertados no ensaio de AME tenham pelo menos 80% de carga orgânica. Essa qualidade indesejada pode ser mais sentida no grupo controle dos experimentos, já que nos demais tratamentos, o lixiviado altamente degradável incrementa a carga ofertada.

Tabela 22 – Caracterização analítica de metais nas amostras de lixiviado (lote 1) utilizadas na pesquisa

	LAS - Velho		LAS - Jovem	
	Total (mg/L)	Dissolvido (mg/L)	Total (mg/L)	Dissolvido (mg/L)
Li	0,149	0,097	0,735	0,236
Na	2950	3187	10230	9900
K	1976	2256	4667	4024
Ca	579,6	318,7	29,4	25,83
Pb	< 0,005	0,007	< 0,0005	< 0,0007
Cd	< 0,0003	< 0,0003	< 0,0003	< 0,0003
Cu	0,134	0,172	1,35	0,596
Cr	0,221	0,177	0,244	0,214
Fe	47,75	9,295	6,91	2,664
Ni	0,326	0,485	0,78	0,619
Hg	< 0,0015	< 0,0015	< 0,0015	< 0,0015
Mn	6	0,779	0,486	0,326
Zn	0,809	0,448	17,69	9,446
As	0,042	0,021	0,008	0,007

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

O lote 2 de LP estava com concentração de nitrogênio amoniacal particularmente mais alta, assim como sua acidez volátil, provavelmente em razão de alguma oscilação operacional da ETE no momento da coleta. No entanto, o impacto do nitrogênio amoniacal no LP é irrelevante nas montagens adotadas, isto porque o volume utilizado é relativamente baixo, sendo o lixiviado muito mais carregado desse composto, e mesmo no grupo controle o impacto continua pequeno, tendo em vista a resistência das bactérias anaeróbias a essa substância. Conforme reportado por Chen, Cheng e Creamer (2008), que analisaram mais de 20 trabalhos, a concentração de amônia que provocou redução de 50% na produção de metano variou de 1,7 a 14 g/L.

Já a elevação da acidez volátil poderia ser mais problemática se viesse acompanhada de queda acentuada no pH, o que não ocorreu. Na montagem executada no EXP1, nenhum dos pH dos reatores ficou abaixo de 7.

A caracterização dos metais mostrou que os lixiviados utilizados possuem teores elevados de metais alcalinos: sódio, potássio e cálcio. Se considerarmos a incerteza associada ao método de análise de cada metal, não há muita diferença entre a concentração deles na forma total e

dissolvida, de modo que podemos concluir que esses metais alcalinos encontram-se em sua maioria ionizados, conferindo condutividade para o chorume.

Quanto aos demais metais analisados, foi identificada uma concentração elevada de zinco no lixiviado jovem em contraposição ao velho, cerca de 50% dele se encontra na forma dissolvida. Já o manganês, está presente no lixiviado velho majoritariamente de maneira indisponível, porém se alteradas as condições ambientais, poderia se dissociar no meio aumentando assim sua reatividade.

Segundo a revisão feita por Mudhoo e Kumar (2013), o grau de inibição provocada pelos metais ‘pesados’ depende de alguns fatores como sua concentração nas formas solúvel ou iônica, tipo das espécies químicas, e quantidade e distribuição da biomassa no digestor, considerando também as mudanças que ocorrem no meio reacional durante as etapas da digestão anaeróbia. Ou seja, são variáveis complexas, o quê demandaria uma avaliação mais aprofundada acerca da contribuição isolada desses metais ‘pesados’ para a potencial toxicidade global do lixiviado.

O ferro, dentre os metais não alcalinos, se apresenta numa concentração comparativamente mais elevada nos dois tipos de lixiviado, tanto na fração dissolvida quanto associada. No entanto, segundo a literatura consultada, os valores estão abaixo do reportado como tóxico à digestão anaeróbia (Jackson-Moss; Duncan, 1990).

Com relação aos limites legais estabelecidos no Decreto Estadual nº 8468/76 para alguns metais, merecem destaque as concentrações de cobre e zinco obtidas no lixiviado jovem, 1,35 mg/L e 17,69 mg/L, respectivamente. O valor encontrado para o cobre se situa no limiar, enquanto o valor encontrado para o zinco supera os limites máximos permitidos na referida lei para lançamento de efluentes em sistema de esgotos (art. 19-A), qual seja: 1,5 mg/L e 5 mg/L, respectivamente.

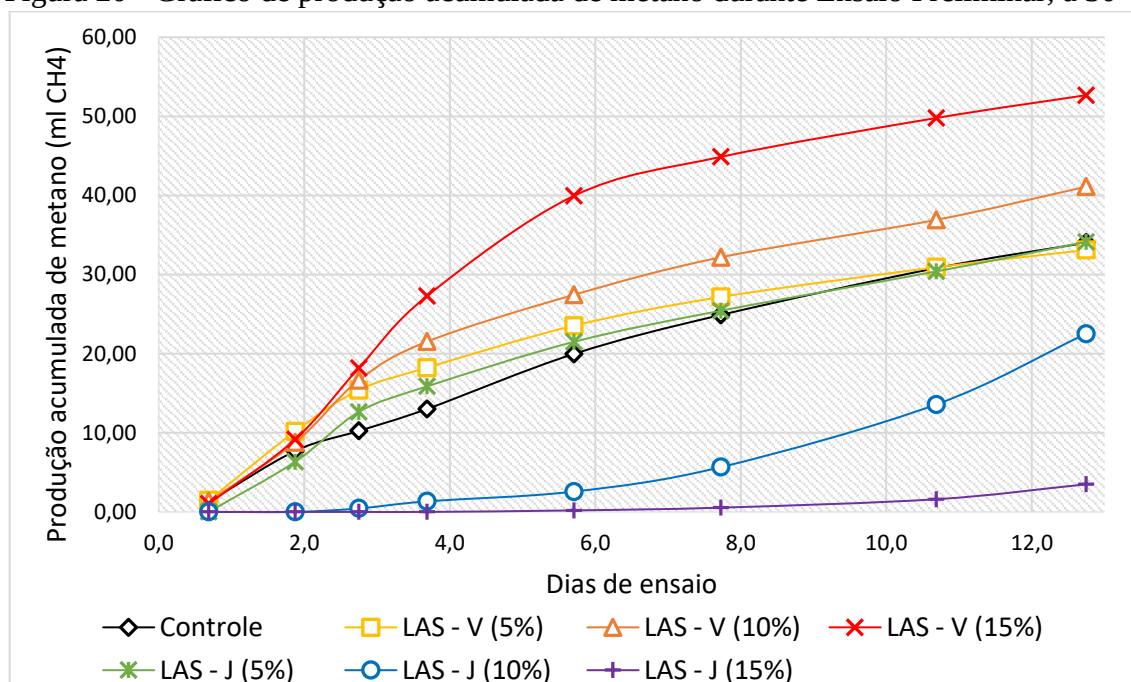
4.4 CODIGESTÃO DE LODO DE PROCESSO E LIXIVIADO

Nesta seção serão apresentados os resultados e discussão acerca dos ensaios que envolvem a codigestão do lixiviado com o lodo de esgoto, quais sejam: Ensaio Preliminar (EP), Experimento 1 (EXP1) e Experimento 2 (EXP2).

4.4.1 Resultados do Ensaio Preliminar

O gráfico da figura 20 apresenta o resultado da curva de metano acumulado (média das triplicatas) ao longo dos 12,8 dias de EP. Para sua confecção foram removidos valores considerados inconsistentes, por exemplo, em decorrência de eventuais vazamentos de biogás pelo septo de borracha. Os resultados detalhados, obtidos em cada triplicata isoladamente, constam no Anexo I ao fim deste trabalho.

Figura 20 - Gráfico de produção acumulada de metano durante Ensaio Preliminar, a 30°C



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

As curvas dos tratamentos que utilizaram LAS-V, e LAS-J a 5%, apresentam um ligeiro abaulamento provocado por uma degradação sutilmente retardada, já nas curvas correspondentes aos tratamentos que utilizaram LAS-J a 10% e 15%, esse abaulamento é mais pronunciado. As curvas geradas poderiam ser mais definidas quanto às fases de “aclimação” e trecho linear, se o volume reacional fosse maior, o que consequentemente geraria mais pressão positiva a cada leitura, e assim, mais pontos compondo a curva. Tal execução não ocorreu em razão de intercorrências que fizeram com que esse ensaio preliminar precisasse ser remontado com volumes reacionais menores. Também sugere-se que uma relação S/I mais elevada seria indicada para a qualidade do lodo de processo utilizado, o que foi praticado no EXP1.

De qualquer forma, os resultados obtidos mostram que a oferta de percentuais maiores de LAS-V acima de 5%, fizeram com que a produção acumulada de metano aumentasse em

relação ao controle. Já a oferta de LAS-J, por sua vez, inibiu cada vez mais essa produção ao passo que o volume desse tipo de chorume aumentou. A DQO residual no sobrenadante de cada tratamento, bem como o pH, ao fim dos 12,8 dias de ensaio segue explicitado na tabela 23.

Tabela 23 – Resultados analíticos do EP aos 12,8 dias de ensaio

	DQO (mg/L)	AB (mgCaCO₃/L)	AAV (mgCaCO₃/L)	AT (mgCaCO₃/L)	AV (mgHac/L)	pH
Controle	481	1671,5	268,5	1940	91,2	7,44
T1 LAS-J (5%)	585	2005	395	2400	115,2	7,53
T2 LAS-J (10%)	1029	2200	660	2860	274,3	7,66
T3 LAS-J (15%)	3575	1900	1132,5	3032,5	1040	7,72
T1 LAS-V (5%)	893	2062,5	453,5	2516	112,3	7,56
T2 LAS-V (10%)	811	2388,5	581,5	2970	117,5	7,62
T3 LAS-V (15%)	756	2921,5	565,5	3487	111,7	7,73

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

No EP, o pH dos reatores não foi corrigido propositalmente, de modo que já se imaginava que esse parâmetro, acima do limite superior da faixa de trabalho dos microrganismos, poderia causar inibição nos tratamentos com LAS-J. O quê não se imaginava era que o pH pudesse cair ao longo dos dias de ensaio, criando as condições necessárias para as arqueias metanogênicas iniciarem sua atividade metabólica.

A DQO residual no sobrenadante dos tratamentos é coerente com os fenômenos de favorecimento e inibição da geração de metano pelo LAS-V e LAS-J, respectivamente. O aumento do volume de LAS-J resultou em mais DQO residual no sobrenadante. Já o aumento do volume de LAS-V resultou em menos DQO residual no sobrenadante.

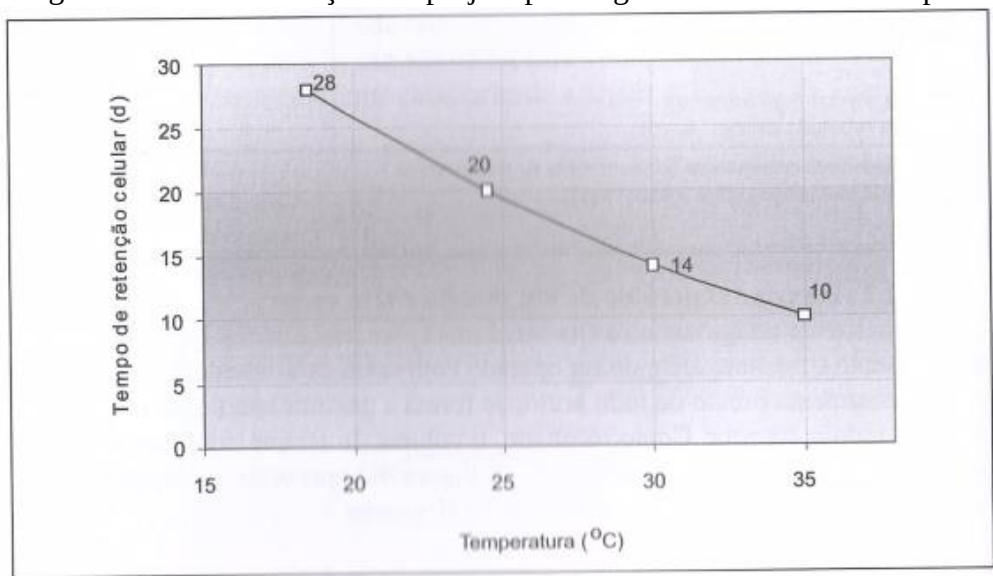
O cálculo teórico da DQO removida em função do metano gerado segue explicitado na tabela 24. Nela é possível observar que nenhum dos tratamentos obteve remoção igual ou acima de 50% da carga ofertada aos 12,8 dias de ensaio, ainda que a curva da maior parte desses reatores já estivesse em fase de queda na velocidade de degradação. A remoção do controle e tratamentos com 5% de LAS-V e LAS-J se assemelha. Já a remoção dos tratamentos com 10% e 15% de LAS-V foram as maiores aos 12,8 dias de ensaio. Os tratamentos com 10% e 15% de LAS-J, por sua vez, tiveram as menores eficiências de conversão a metano.

É surpreendente que, mesmo após 12,8 dias de incubação sob condições ideais de temperatura, não se tenha atingido a degradação de ao menos 50% da DQO ofertada no controle e tratamentos com LAS-V. E, a baixa velocidade de degradação observada, aparentemente não

está relacionada com o lixiviado velho, pois este possuía uma boa condição de biodegradabilidade demonstrada pela alta relação DBO/DQO de 0,79, embora o ensaio de DBO tenha sido executado com a amostra diluída, o que reduz a concentração de compostos potencialmente tóxicos. Ademais, essa baixa velocidade de degradação e produção acumulada de metano, se deu também no grupo controle, o qual não recebeu lixiviado.

Segundo Metcalf e Eddy (1991, *apud* Chernicharo, 2016, p. 132), o tempo de retenção celular (ou detenção hidráulica) para projeto de digestores de mistura completa, segue a estimativa apresentada na figura 21. Ou seja, 14 dias para operação a 30°C, de modo que em 12,8 dias de ensaio de bancada esperava-se uma eficiência superior na remoção da DQO sobrenadante.

Figura 21 - Recomendações de projeto para digestores de mistura completa



Fonte: adaptado de Metcalf & Eddy (1991)

No entanto, o tempo de retenção celular mencionado refere-se a um lodo misto, isto é uma mistura entre lodo primário e lodo de excesso, e na ETE Barueri no período em que o LP (lote 1) utilizado foi coletado, o digestor estava sendo alimentado com um volume superior de lodo de excesso em relação ao lodo primário, o que altera substancialmente a qualidade do alimento ofertado. O lodo secundário exige solubilização e hidrólise, o que retarda a velocidade de degradação anaeróbia. Tal alteração de qualidade foi discutida de maneira mais profunda no âmbito do EXP1.

Tabela 24 – Cálculo do percentual de DQO removida no EP

Reator	Volume de metano acumulado na CNTPT (ml)	DQO equivalente removida (g)	Relação entre o removido e o ofertado (%)
Controle	34,03	0,097	19%
T1 LAS -J (5%)	34,14	0,098	20%
T2 LAS -J (10%)	22,53	0,064	13%
T3 LAS -J (15%)	3,49	0,010	2%
T1 LAS -V (5%)	33,11	0,095	19%
T2 LAS -V (10%)	41,12	0,117	23%
T3 LAS -V (15%)	52,69	0,151	30%

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Ao analisar a DQO filtrada ao fim dos 12,8 dias de ensaio comparativamente à DQO solúvel inicialmente ofertada, conforme tabela 25, percebe-se que nos tratamentos com LAS-J a 10% e 15%, ainda que não tenha sido gerado metano, houve hidrólise e possivelmente geração de ácidos orgânicos em dissolução no meio reacional (acidogênese), o que também deve ter contribuído para a queda do pH nesses tratamentos mencionados.

Tabela 25 – Comparativo entre a carga solúvel inicial e final, no EP

Reator	Carga solúvel inicial (g)	Carga solúvel residual (g)
Controle	0,004	0,06
T1 LAS -J (5%)	0,068	0,07
T2 LAS -J (10%)	0,132	0,12
T3 LAS -J (15%)	0,196	0,43
T1 LAS -V (5%)	0,117	0,11
T2 LAS -V (10%)	0,230	0,09
T3 LAS -V (15%)	0,343	0,09

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

A massa de matéria orgânica solúvel ofertada inicialmente no grupo controle foi bem menor do que nos tratamentos com presença de lixiviado, haja vista que este possui praticamente toda sua carga orgânica na forma solúvel. A carga solubilizada aumentou no grupo controle e no T3 com LAS-J. No primeiro caso, aumentou em razão do apontado acima, isto é, intensificação dos processos de solubilização e hidrólise da matéria orgânica particulada. No segundo caso, deve ter aumentado pois o processo de acidogênese ocorreu de maneira muito mais intensa do que a metanogênese que foi mínima.

A carga solubilizada se manteve praticamente igual no T1 e T2 com LAS-J, e T1 com LAS-V. Provavelmente porque os processos de hidrólise/acidogênese/acetogênese se equivaleram em velocidade metabólica com a metanogênese. Já nos tratamentos T2 e T3 com LAS-V houve diminuição da carga solubilizada inicialmente ofertada, em razão de terem sido os tratamentos com maior velocidade e acúmulo de metano gerado. Foram também os tratamentos com maior oferta inicial de matéria orgânica na forma solúvel.

Foram obtidos os valores de AME para cada um dos tratamentos, conforme tabela 26. Para cada tratamento foi necessário utilizar um trecho diferente identificado como linear. Para dois tratamentos, controle e T2 com LAS –J, foi necessário utilizar trecho com somente dois pontos, em razão da montagem do teste ter sido feita com um volume reacional baixo, o que implica em menor geração de pressão positiva limitando as leituras.

Tabela 26 – Obtenção da AME do Ensaio Preliminar

Tratamento	Trecho utilizado para obtenção da AME (dias)	AME (ml CH₄/g SV.dia)	AME (ml CH₄/g SSV.dia)	R²	Resultado em relação ao controle
Controle	0,7 a 1,9	5,3897	9,4556	1,000	não se aplica
LAS - V (T1)	0,7 a 2,8	6,7936	11,9186	0,997	maior
LAS - V (T2)	0,7 a 2,8	7,3584	12,9095	0,99	maior
LAS - V (T3)	0,7 a 3,7	8,8388	15,5067	0,9914	maior
LAS - J (T1)	0,7 a 2,8	6,0816	10,6695	0,993	igual
LAS - J (T2)	10,7 a 12,8	3,3714	5,9147	1,000	menor
LAS - J (T3)	não calculado em função da baixa produção				menor

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Também foi analisada a significância da diferença entre os valores de AME obtidos em relação ao controle, com base no coeficiente de variação do método obtido no âmbito deste trabalho, qual seja, 9,44%. Os tratamentos com LAS-V expressaram valores de AME significativamente maiores em relação ao controle. Já os tratamentos T2 e T3 com LAS-J expressaram valores de AME significativamente menores. No entanto, é preciso avaliar esses resultados de AME do Ensaio Preliminar com desconfiança, já que os parâmetros de montagem não foram os ideais, e consequentemente a forma da curva de metano acumulado também se mostrou pouco convencional.

Esse resultado preliminar sugere que a codigestão de LP com lixiviado de aterro sanitário em até 15% v/v pode aumentar a taxa de produção de metano. No entanto, a confirmação dessa observação, conforme o que foi exposto, demandaria uma nova montagem com oferta maior de

substrato, já que o LP utilizado tinha menos de 1% da sua carga orgânica em condições de assimilação direta (solúvel). O experimento também demonstrou que o ajuste do pH pode vir a ser uma ação fundamental a fim de viabilizar a codigestão entre os substratos estudados.

4.4.2 Resultados do Experimento 1

4.4.2.1 Análise da montagem adotada no EXP1

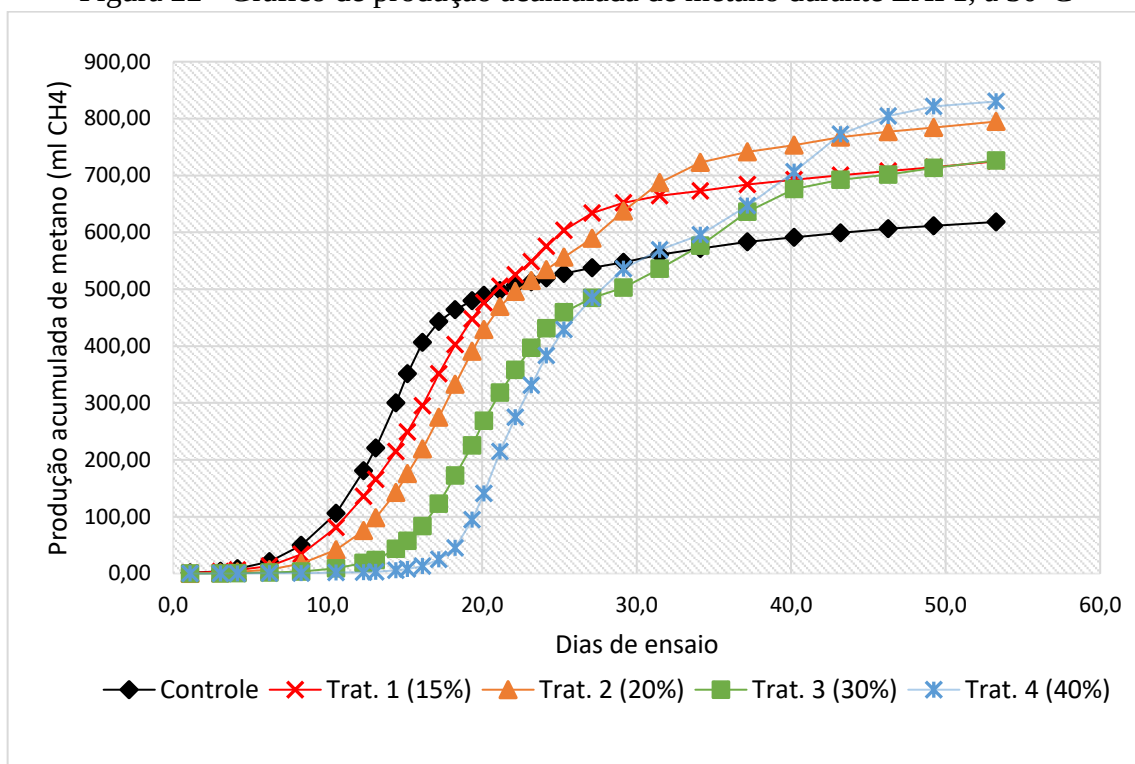
O gráfico da figura 22 apresenta o resultado da curva de metano acumulado (média das triplicatas) ao longo dos 53,3 dias de EXP1. Para sua confecção foram removidos valores considerados inconsistentes, por exemplo, em decorrência de eventuais vazamentos de biogás pelo septo de borracha. Os resultados detalhados, obtidos em cada triplicata isoladamente, constam no Anexo I ao fim deste trabalho.

Com relação à proporção DQO: N: P, as montagens adotadas estão em desacordo com aquela recomendada por Chernicharo (2016) para reatores anaeróbios, qual seja: 350: 5: 1. A manutenção de uma relação S/I idêntica para todos os tratamentos, e ainda a necessidade de fornecer o lixiviado nos percentuais volumétricos avaliados, distorcem a proporção DQO: N: P. No controle em particular, está à disposição metade da DQO recomendada. Já nos tratamentos com lixiviado ocorre um excesso de nitrogênio em relação aos demais nutrientes, ao passo que o fósforo está deficitário.

Essa condição relatada, acerca da proporção DQO: N: P em desacordo, pode ter influência sobre os resultados observados. A proporção entre os nutrientes não foi priorizada pois esse tipo de ajuste torna-se impraticável em uma escala real de processo, de modo que focou-se na distribuição de vazões, que indiretamente no teste de batelada, refere-se ao percentual volumétrico (v/v) adotado em cada tratamento.

A proporção DQO: N: P encontrada no controle, tanto do EP quanto do EXP1, demonstra que o lodo de processo da ETE Barueri, em termos de composição, oferece uma proporção DQO: N: P diferente do apregoado pela literatura técnica como desejável para um bom funcionamento do metabolismo anaeróbio.

Figura 22 - Gráfico de produção acumulada de metano durante EXP1, a 30°C



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

A montagem adotada no EP e no EXP1 são distintas, tanto em termos de percentual de *headspace* e volume de reação, quanto na proporcionalidade entre substrato e inóculo, resultando em uma relação S/I bastante diferente entre os dois testes, 0,5 e 1,5 respectivamente. Se compararmos as montagens do tratamento com 15% de lixiviado em v/v, quais sejam: tratamento 3 do EP, e tratamento 1 do EXP1; veremos que o percentual de lixiviado na carga ofertada em cada um dos testes é de 71,6% e 33,3% respectivamente. Essa diferença se deve à proporção adotada entre inóculo e lodo de processo, sendo a proporção relativa de inóculo maior no primeiro caso (EP).

Na tabela 27 está descrita a concentração de amônia livre no líquido reacional após a montagem dos reatores. Ela foi obtida a partir do resultado analítico do nitrogênio amoniacal, temperatura e pH, aplicando-se a equação 12, que considera o equilíbrio entre as espécies químicas de amônia (gasosa e iônica).

Tabela 27 – Concentração de amônia livre no início da incubação, calculada com base na equação 12

Tratamento	N-NH₃ (mg/L)	Amônia livre (mg/L)
Controle	37,1	0,6
1	305,9	7,3
2	397,3	10,7
3	576,4	18,5
4	756,9	28,5

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

A concentração de inibição provocada pela amônia livre na digestão anaeróbia varia dependendo do sistema de digestão anaeróbia, da natureza das bactérias envolvidas e das condições operacionais, como temperatura, pH e concentração total de sólidos. De todo modo, a concentração de inibição costuma estar na faixa de 1.000 a 3.000 mg/L de amônia livre, valor muito superior ao encontrado nos reatores ensaiados.

4.4.2.2 *Análise das curvas obtidas no EXP1*

As curvas de todos os tratamentos, inclusive controle, apresentaram síndrome nitidamente típica de degradação retardada. No entanto, o fenômeno responsável por esse retardo no início da produção de metano pode ter justificativas diferentes para o LP e o LAS-V isoladamente.

Conforme mencionado, o período no qual esta pesquisa foi conduzida coincidiu com aquele em que a ETE Barueri reduziu a vazão de envio de lodo primário aos digestores, em razão de ocorrências operacionais de acúmulo de areia na linha de recalque nos decantadores primários. A sobressalência de lodo de excesso em relação ao lodo primário na mistura afluente ao digestor, altera substancialmente a capacidade de produção de metano, tanto em termos de produção acumulada de metano, quanto na eficiência de remoção de voláteis.

Isso se deve ao fato de que o lodo de excesso é composto majoritariamente por células bacterianas emersas em matriz de exopolímeros, substâncias sabidamente difíceis de ser solubilizadas e posteriormente hidrolisadas. O experimento conduzido por Xu *et al.* (2018), inclusive, sugere que até mesmo a estrutura espacial do biofilme de exopolímeros presente no lodo de excesso pode influenciar no potencial de geração de metano.

Segundo Wang *et al.* (2016, *apud* Suschka & Grübel, 2017, p. 50), a digestão anaeróbia de lodo de excesso alcança somente 35 a 45% de remoção de SV. Xu *et al.* (2018), por sua vez,

reportam que o potencial de geração de metano (*BMP*) de lodo de excesso costuma se limitar em 190 a 290 mlCH₄/gSV, valor inferior aquele obtido pelo cálculo teórico, qual seja: 450 a 600 mlCH₄/gSV.

A qualidade do LP, dada pelas condições levantadas acima, implica na hidrólise como a etapa limitante da velocidade inicial de degradação, e esse pode ser o principal fator a retardar a curva de produção acumulada de metano para o grupo controle, cujo trecho de produção máxima inicia somente entre o 10° e o 12° dia.

Os períodos de aclimação observados no EXP1 estão relacionados não só com as características do lodo de processo utilizado, visto que a presença de um percentual maior de lodo secundário de excesso exige um tempo maior de solubilização e hidrólise, mas também se relaciona com a composição do chorume, mais especificamente com a concentração de alguns compostos de constituição molecular muito diferentes do habitual ofertado como alimento para os microrganismos.

Além disso, a própria relação S/I adotada, em 1,5, pode representar uma oferta de carga alta, com potencial de desequilibrar a digestão anaeróbia pela produção elevada de ácidos orgânicos nas primeiras etapas de degradação. Segundo Shofie *et al.* (2015), quando um reator opera em fluxo contínuo com uma taxa de aplicação de carga elevada, perturbações na digestão anaeróbia, em alguns casos, podem aparecer depois de 1 TDH. Segundo os autores, por isso os resultados de experimentos em batelada podem não fornecer todas as informações que se busca acerca de um fenômeno.

Durante a aclimação ocorrem ajustes graduais na comunidade microbiana, moduladas pelas mudanças graduais no ambiente, o que melhora sua performance ou sobrevivência (Madigou *et al.*, 2016 *apud* Puig-Castellví *et al.*, 2020, p. 2). Alguns microrganismos não resistem ao estresse causado por choques de cargas ou substratos novos, enquanto outros se adequam às novas condições, de modo que a microbiota sofre alterações que provocam uma redução em sua diversidade, com a dominância de alguns grupos particulares que se multiplicam de maneira mais favorável.

Alguns estudos já demonstraram a efetividade da aclimação prévia da microbiota anaeróbia a diversos substratos como resíduos alimentares, soro de leite, resíduos de frutas ou vegetais, ácidos húmicos, fenóis e amônia, a fim de minimizar efeitos de inibição, melhorando a eficiência da digestão e produção de biogás (Wilson *et al.*, 2013; Madigou *et al.*, 2016; Chang *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019 *apud* Kurade *et al.*, 2019, p. 4).

Li *et al.* (2018, *apud* Kurade *et al.*, 2019, p.4), por exemplo, aclimataram uma cultura de metanogênicas degradadoras de propionato obtendo melhora na tolerância ao ambiente

acidificado, com valores estáveis de geração de metano em pH entre 4,8 e 5,5. Chang *et al.* (2018 *apud* Kurade *et al.*, 2019, p.4) por sua vez, observaram uma geração 31% maior de hidrogênio a partir da aclimação de uma microbiota fermentadora de resíduos mistos de fruta.

O aumento da taxa de geração de metano, ou atividade metanogênica específica, de comunidades anaeróbias aclimatadas se deve ao consumo rápido do substrato, sem uma fase lag, e sem o acúmulo de compostos intermediários no digestor (King *et al.*, 2011 *apud* Kurade *et al.*, 2019, p.4).

Xing *et al.* (2020a) avaliaram a aclimação de longo período (550 dias) para codigestão de resíduo alimentar mais esterco de vaca em reatores de batelada sob diversos valores de relação S/I e proporção entre os co-substratos. Observaram que ao fim do período de aclimação, a microbiota estava apta a digerir uma oferta maior de carga orgânica e de proporção de resíduo alimentar. O sequenciamento genômico, por sua vez, mostrou que a estrutura da comunidade microbiana de bactérias, fungos e arqueias havia mudado, sendo esta a razão da melhora no desempenho.

Já o experimento subsequente de Xing *et al.* (2020b), com reatores operados em fluxo contínuo e os mesmos co-substratos, demonstrou que o inóculo previamente aclimatado foi eficiente na degradação de uma alta carga orgânica aplicada de resíduo alimentar isoladamente, isto é, sem a contribuição de carbono dada pelo esterco de vaca. Os pesquisadores concluíram que os filos Bacteroidetes e Proteobacteria, originários do esterco de vaca, porém em baixa abundância, foram amplificados não só na aclimação conjunta de resíduo alimentar com esterco de vaca, mas também na degradação isolada do resíduo alimentar.

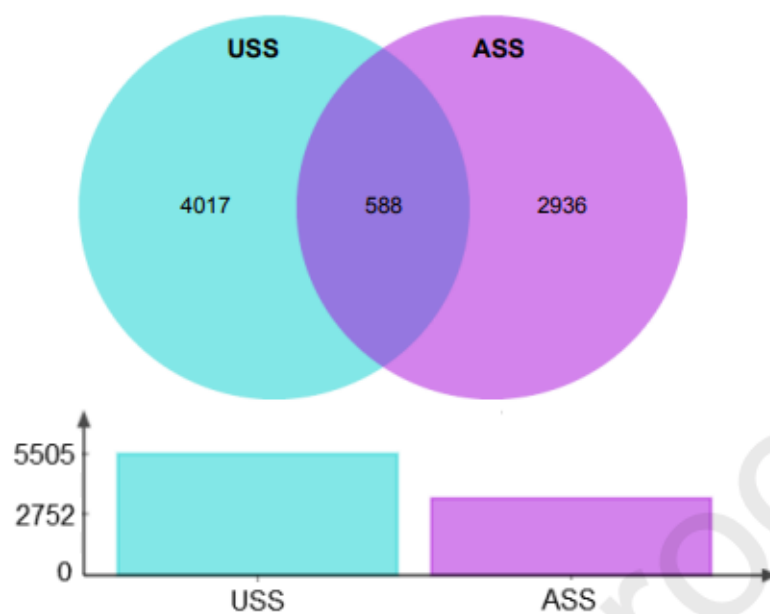
O experimento de Kurade *et al.* (2019) realizado com o objetivo de aclimatar a microbiota anaeróbia para codigestão otimizada de gordura, óleo e graxa, mais lodo misto de ETE, verificou que os filos predominantes no inóculo não aclimatado (USS) diferia daqueles predominantes no aclimatado (ASS). E mais, que o inóculo aclimatado (ASS) tinha uma variedade menor de filos em comparação com o não aclimatado (USS), ou seja, tornaram-se dominantes aqueles filos aptos à degradação do substrato misto oferecido (figura 23).

Kurade *et al.* (2019) testaram diversas proporções de lodo misto (MS) mais gordura, óleo e graxa (FOG), sendo que as proporções de 100:20 e 100:30 (MS:FOG) com inóculo aclimatado alcançaram a maior taxa de geração de metano (figura 24). As mesmas proporções, porém, com inóculo não aclimatado, tiveram desempenho muito inferior.

Yan *et al.* (2019) conseguiram aclimatar com sucesso reatores contínuos alimentados com resíduos sólidos orgânicos submetendo-os à adição de nitrogênio amoniacal em uma concentração máxima de 8,5 g/L, sem que a geração de metano reduzisse mais de 10% em

relação ao controle. Os autores também identificaram que nesse processo houve aumento na abundância relativa da espécie *Methanosarcina soligelidi*, de $< 0,4\%$ para mais de 94% conforme a carga de amônia aplicada aumentava. Por outro lado, a espécie *Methanosaeta concilii*, que era predominante no início, teve sua presença diminuída significativamente.

Figura 23 - Diagrama representativo das unidades taxonômicas operacionais presentes no inóculo aclimatado (ASS) e não aclimatado (USS)



Fonte: Kurade *et al.*, 2019.

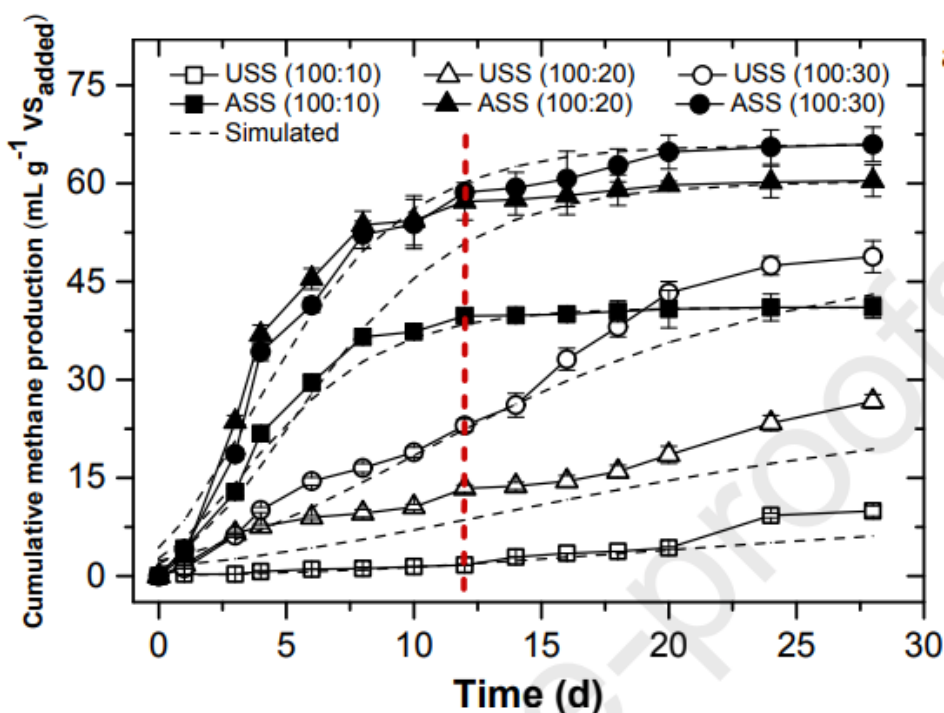
Tendo em vista todos esses exemplos, considera-se que ocorrerá a adaptação da microbiota à digestão conjunta de chorume e lodo de esgoto com o passar do tempo de exposição, de modo que o tempo dedicado à fase lag deve diminuir, se não desaparecer. É preciso considerar que o lixiviado já possui uma microbiota própria adaptada à sua composição, assim, em função das condições do novo ambiente, a comunidade resultante da junção entre lodo de esgoto e chorume deverá passar por uma reorganização seletiva de sua estrutura. Essa reorganização se dará também no âmbito da expressão enzimática mais apropriada.

Do controle até o tratamento 4, o tempo aguardado para início da degradação exponencial foi aumentando, culminando com o início do trecho de produção máxima aos 18 dias de ensaio para o tratamento 4, de modo que esse resultado sugere que, quanto maior o percentual de lixiviado em v/v, maior o tempo demandado para aclimação da microbiota.

As curvas exibidas pelos tratamentos de 1 e 4 possuem uma distinção importante em relação àquela do controle. Enquanto no controle obteve-se um trecho linear de produção máxima de metano com uma duração de cerca de 5 dias, seguido por uma desaceleração abrupta

na geração de metano; nos tratamentos com chorume, a duração do trecho linear é maior, em média de 8, 9, 8 e 6 dias para os tratamentos de 1 a 4, respectivamente.

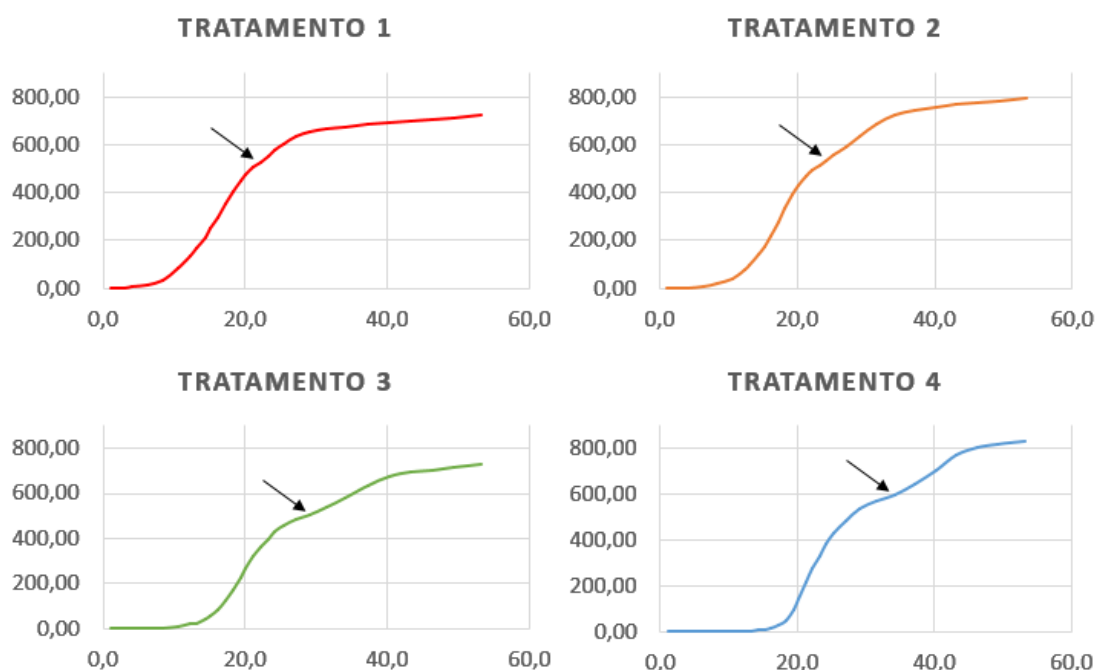
Figura 24 - Produção acumulada de metano a partir da codigestão de lodo misto e gordura, óleo e graxa, em diversas proporções, utilizando inóculo aclimatado (ASS) e não aclimatado (USS)



Fonte: Kurade *et al.*, 2019.

Além disso, nos tratamentos com adição de chorume há uma desaceleração na geração de metano seguida por um ligeiro aumento da velocidade (ponto de inflexão), uma síndrome que se assemelha, ainda que de maneira pouco pronunciada, a de diauxia (figura 25). Esse comportamento é mais visível conforme o percentual de chorume aumenta. Isto sugere que a matéria orgânica biodegradável do substrato misto é heterogênea e oxidada por etapas, ou seja, os compostos, ou grupo de compostos, presentes no substrato misto possuem uma cinética de degradação distinta e específica. Pode sugerir também que a degradação de um ou mais compostos pode gerar subprodutos, cuja velocidade de oxidação é menor, podendo provocar uma nova aclimação da microbiota.

Figura 25 – Sinalização dos pontos de inflexão nas curvas de produção acumulada de metano do EXP1



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

4.4.2.3 Análise dos valores de AME e BMP obtidos no EXP1

A obtenção da AME dos tratamentos do EXP1 se baseou em períodos distintos já que cada um deles teve sua produção máxima de metano iniciando em tempos diferentes (tabela 28). Os valores encontrados foram plotados em um gráfico de barras (figura 26), e a diferença encontrada entre tratamentos foi considerada significativa se superior ao coeficiente de variação do ensaio, qual seja, 9,44%.

O critério para escolha dos períodos lineares utilizados na obtenção da AME foi o de maior número de pontos possível de modo a obter uma reta de intersecção com R^2 acima de 0,99. Os tratamentos de 1 a 3 resultaram em taxas máximas de geração de metano menores do que o controle. Já o tratamento 4 resultou em um valor de AME ligeiramente maior do que o do controle.

Ainda que a AME dos tratamentos de 1 a 3 tenha sido menor do que o controle, essa diferença não deve representar uma inibição provocada pelo lixiviado de maneira taxativa, por três motivos: i) a diferença é pequena e pode decorrer de oscilações provocadas por externalidades sem nenhuma relação com a composição do alimento fornecido, sendo que o

experimento deveria ser reproduzido em condições similares de modo a corroborar o resultado encontrado neste trabalho; ii) ademais, a aclimação da microbiota com o passar do tempo de exposição tende a reduzir essa diferença observada na velocidade de degradação do substrato, e conseqüentemente de geração de metano; iii) e principalmente, em razão dos pontos de inflexão nas curvas (observação comentada na seção anterior), o metano acumulado em todos os tratamentos com chorume superou o volume acumulado no controle, o que demonstra a elevada biodegradabilidade da mistura.

Tabela 28 – Obtenção da AME do EXP1, a partir das curvas de produção acumulada de metano

Tratamento	Período	Coefficiente linear	R ²	AME (mlCH ₄ /gSV.d)	Diferença em relação ao controle
Controle	10,5 a 17,2	53,442	0,9929	28,4	Não se aplica
1	10,5 a 21,2	42,507	0,9949	22,9	-19%
2	12,3 a 23,2	44,291	0,9911	24,7	-13%
3	14,4 a 25,3	41,163	0,992	23,1	-19%
4	17,2 a 25,3	54,071	0,9902	31,3	+10%

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Quanto ao *BMP*, o mesmo foi calculado para cada tratamento (tabela 29) com base na DQO adicionada e não na DQO removida, pois os co-substratos utilizados não eram exclusivamente solúveis e a fração particulada da matéria orgânica não pode ser segregada daquela que compõe a massa viva de microrganismos ao fim do ensaio.

Os resultados de *BMP* obtidos no EXP1 confirmam o elevado grau de biodegradabilidade do LAS-V sugerido pela relação DBO/DQO encontrada na amostra bruta. Todos os tratamentos com chorume resultaram em produções significativamente maiores de metano em relação ao controle (figura 26), se considerarmos o coeficiente de variação obtido para o AME no âmbito desta pesquisa (9,44%).

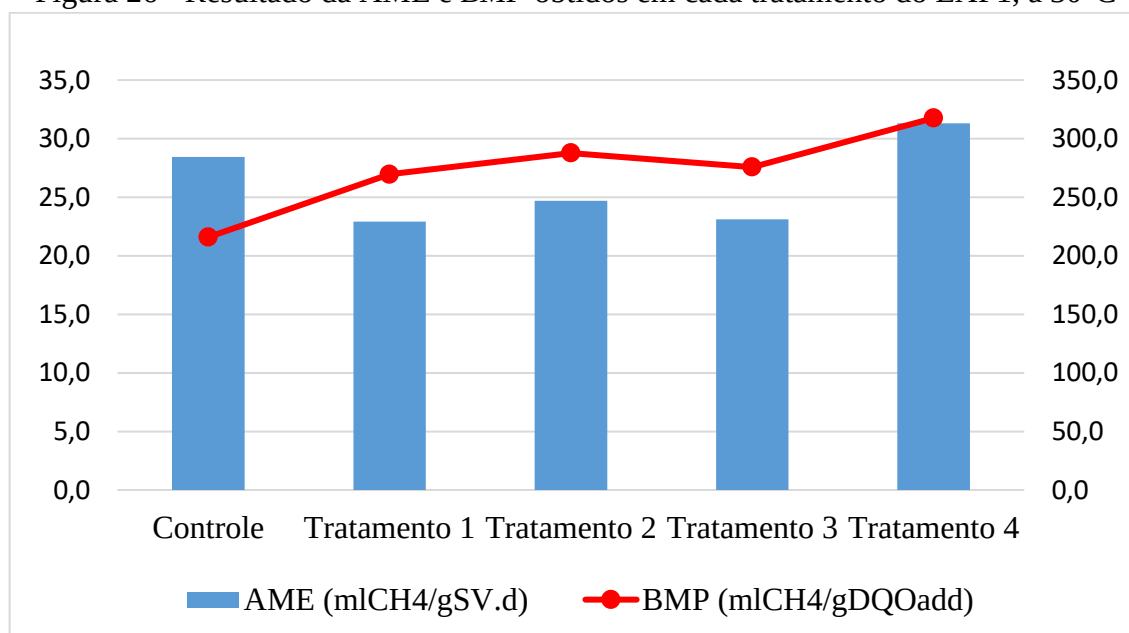
A produtividade do substrato misto composto por LP mais 15% de LAS-V em v/v, na geração de metano, foi de 0,439 Nm³CH₄/kgSV. Esse valor foi obtido a partir da massa de SV no substrato misto ofertado no tratamento 1, qual seja: 1,65 gSV, valor calculado a partir das soluções originais; e a partir do volume acumulado de metano após 53,3 dias de ensaio, qual seja: 724,89 ml de metano.

Garcia-Peña *et al.* (2011), Girotto *et al.* (2015), Poggi-Varaldo *et al.* (2014) *apud* Náthia-Neves *et al.* (2018, p. 2) reportam que a digestão anaeróbia a partir de resíduos orgânicos de

frutas e vegetais resulta em uma produtividade de 0,45 Nm³/kgSV em biogás. Assumindo que 60% do biogás é composto por metano, conclui-se que o resultado do tratamento 1, que representa um acréscimo conservador de lixiviado, é bastante promissor quando comparado com o valor referenciado pelo trabalho mencionado.

Considerando apenas o resultado obtido no EXP1, sugere-se que a codigestão de chorume com lodo de processo de ETE, nos percentuais v/v aplicados, é viável e não deve impactar negativamente a geração de metano, podendo inclusive contribuir com um aumento na sua geração, a depender de outros fatores operacionais, como por exemplo, o tempo de detenção hidráulica.

Figura 26 - Resultado da AME e BMP obtidos em cada tratamento do EXP1, a 30°C



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tabela 29 – Obtenção do BMP do EXP1, a partir do volume acumulado de metano

Tratamento	Volume de CH ₄ acumulado (ml)	BMP (mlCH ₄ /gDQO _{add})	Diferença em relação ao controle
Controle	618,27	215,9	Não se aplica
1 (15% de LAS)	724,89	269,6	+25%
2 (20% de LAS)	794,75	287,8	+33%
3 (30% de LAS)	726,44	275,7	+28%
4 (40% de LAS)	830,13	317,6	+47%

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

A partir do valor de AME obtido em cada tratamento, é possível calcular a carga orgânica volumétrica correspondente (tabela 30). Este cálculo foi realizado com base na equação 20 que consiste em multiplicar o valor de AME (em kgDQO/kgSV.d) pela concentração típica de SV no lodo digerido (15 kg/m³).

$$COV_{\text{máx}} = AME * SV_{\text{reator}} \quad (\text{equação 20})$$

Tabela 30 – Obtenção da carga de aplicação máxima a partir dos resultados do EXP1

AME (mlCH ₄ /gSV.d)	AME (kgDQO/kgSV.d)	COV _{máx} (kgDQO/m ³ .d)
28,4	0,081279	1,2
22,9	0,065494	0,9
24,7	0,070548	1,0
23,1	0,066011	0,9
31,3	0,089450	1,3

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Tomando como referencial a faixa de trabalho estipulada por Metcalf & Eddy (1991 *apud* Chernicharo, 2019, p. 133) para digestores operando na faixa mesófila de temperatura, e alta carga, qual seja: 1,6 a 3,2 kgSSV/m³.d; consideram-se os valores obtidos baixos, já que a DQO tende a superar valores equivalentes em SSV.

No entanto, é preciso considerar que a referida carga volumétrica foi calculada com base na AME de um ensaio de bancada que, por sua vez, pode não ter sido montado com oferta de substrato em condição de excesso, principalmente para o controle. Montagens que não oferecem as condições de excesso de substrato, não manifestam sua capacidade máxima de produção de metano, de modo que a AME resultante fica subestimada.

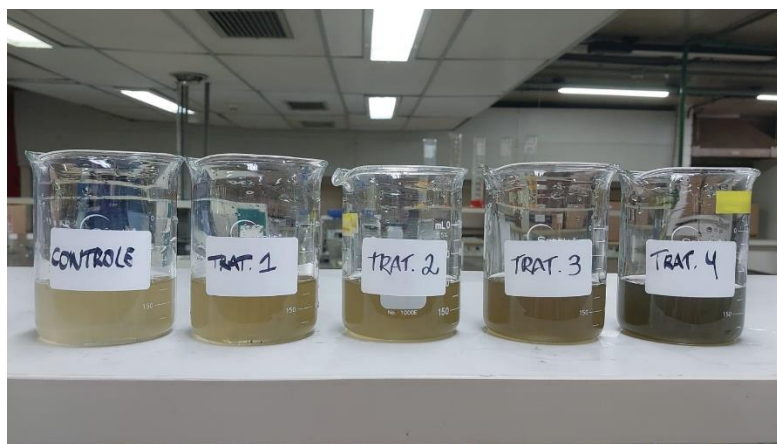
Observando o melhor resultado de AME no controle do Experimento 2, analisado em seção subsequente, fica a dúvida se possivelmente o controle do EXP1 foi montado com uma quantidade limitada de substrato ‘facilmente assimilável’, o que tornaria sua AME um referencial comparativo inconsistente. Não é possível afirmar isso com segurança tendo em vista que tanto o inóculo quanto o lodo de processo utilizados nos dois experimentos foram coletados em datas diferentes, e portanto, são qualitativamente distintos.

4.4.2.4 Análise dos resultados analíticos obtidos no EXP1

Os resultados analíticos obtidos a partir do sobrenadante e do licor reacional (figura 27), ao fim dos 53,3 dias de ensaio no EXP1, estão explicitados na tabela 31. De maneira geral, assim como há uma graduação na cor do sobrenadante, do controle ao tratamento 4, nota-se também a mesma graduação ascendente nos valores de pH, condutividade, alcalinidade, acidez volátil, DQO filtrada, sólidos fixos e amônia.

Valores gradualmente maiores de pH, condutividade, alcalinidade, acidez volátil, e amônia, eram esperados em decorrência do aumento gradual no percentual de lixiviado. No entanto, como a carga de DQO ofertada foi a mesma em todos os tratamentos e a produção de metano acumulado foi grosseiramente aumentando nessa sequência (com exceção do tratamento 3), esperava-se obter valores de DQO menores no filtrado em correspondência aos maiores valores de conversão a metano.

Figura 27 - Aspecto visual do sobrenadante do licor reacional dos tratamentos, após 53,3 dias de ensaio no EXP1



Fonte: registro fotográfico da própria autora.

Este resultado só pode ser justificado pela conversão da DQO ofertada na forma particulada em matéria orgânica solúvel, haja vista que as substâncias húmicas presentes no chorume têm a propriedade de melhorar a solubilização da matéria orgânica complexa (conforme descrito na seção 2.3.1). Ademais, a DQO é uma análise que indiretamente informa a quantidade de matéria orgânica em uma amostra, mas sem levar em consideração a capacidade biológica de degradação dela. Analisando os resultados de DBO/DQO no filtrado, com exceção do Tratamento 3, chega-se a conclusão que o residual de matéria orgânica solubilizada ao final do ensaio é, em grande medida, não degradável, sendo que essa proporção aparece também no controle.

A DQO residual ascendente no sobrenadante, do controle ao tratamento 4, também demonstra que a carga do filtrado do desaguamento, que retornará para a fase líquida na escala real, aumentará. Podendo se manter recalcitrante, ou não, após o tratamento aeróbio.

Verificou-se por meio do cálculo teórico da DQO correspondente ao volume de metano gerado (seção 3.5.4) que o trecho linear do tratamento controle, correspondente à taxa máxima de geração de metano, finalizou sem que 50% da matéria orgânica ofertada fosse degradada. Este desempenho abaixo do esperado pode estar relacionado com a qualidade, ou capacidade oxidativa, do inóculo utilizado, bem como com a qualidade do lodo de processo ofertado. Conforme relatado na seção 4.4.2.2, o mesmo possuía um percentual elevado de lodo de excesso em relação a lodo primário, e essa condição pode deprimir a produção de metano.

Tabela 31 – Resultados analíticos após 53,3 dias de ensaio no EXP1

Parâmetros	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
pH	7,22	7,41	7,47	7,57	7,68
Condutividade (uS/cm)	4870	9370	10810	13550	16380
Alcal. Bicarbonato (mgCaCO ₃ /L)	1890	3082,5	3191,5	3841,5	4657
Alcal. de Ác. Voláteis (mgCaCO ₃ /L)	463	566	711,5	1005,5	1243
Alcalinidade Total (mgCaCO ₃ /L)	2353	3648,5	3903	4847	5900
AAV/AB	0,24	0,18	0,22	0,26	0,27
Acidez Volátil (mgHac/L)	91,2	124,8	172,2	178,32	194,16
DQO filtrada (mg/L)	356	599	711	871	1299
DBO filtrada carbonácea (mg/L)	114,2	197,8	213,4	721,8	478,2
DBO/DQO	0,32	0,33	0,30	0,83	0,37
ST (mg/L)	13590	13850	13600	14740	14920
SV (mg/L)	6760	6640	6030	6250	5550
SF (mg/L)	6830	7210	7570	8490	9370
SV/ST	0,50	0,48	0,44	0,42	0,37
Remoção SV (%)	47%	43%	47%	41%	44%
N-NH ₃ (mg/L)	486,6	679	724,9	842	965,2

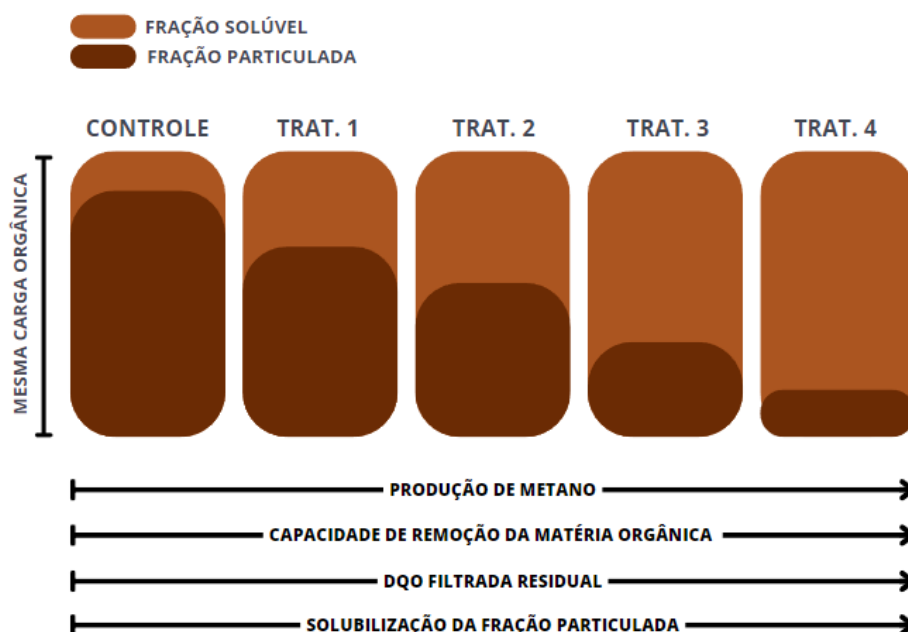
Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Quanto aos parâmetros acidez volátil, alcalinidade total e relação AAV/AB, todos os tratamentos apresentaram resultados finais satisfatórios, isto é, valores de acidez volátil menores que 300 mg/L, valores de alcalinidade total maiores do que 2.000 mg/L, e relação AAV/AB menores do que 0,3. O que contribui para atestar a viabilidade da codigestão do chorume com lodo de processo em termos de equilíbrio da digestão anaeróbia.

O pH do líquido reacional dos tratamentos, do início ao fim do ensaio, com exceção do controle que permaneceu estável, sofreu uma ligeira elevação, o que pode sugerir não ter havido acúmulo de ácidos orgânicos não digeridos no licor reacional.

Calculou-se o percentual de remoção tanto em termos de sólidos voláteis (tabela 31) quanto em DQO (tabela 32). Em termos de SV, a eficiência de remoção alcançou 47% no controle e no tratamento 2; em torno de 43% no tratamento 1 e 4; e o tratamento 3 foi o que apresentou menor valor, 41%. O valor adotado como SV inicial se baseou nas concentrações das amostras originais de lodo de processo, inóculo e lixiviado. O percentual de remoção de SV para digestores convencionais na literatura oscila entre 50% a 60% mas pode variar muito em função das condições operacionais, como temperatura e TDH. O importante a destacar é o resultado obtido nos tratamentos quando comparados com o controle, que é o referencial de desempenho “ótimo” do experimento.

Figura 28 - Representação da distribuição da matéria orgânica residual, nas frações particulada e solúvel, ao fim do ensaio



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Já em termos de DQO, a eficiência de remoção alcançou percentuais maiores, no entanto, menores do que se imaginava obter em uma degradação completa ao longo de 53 dias (tabela 32). O cálculo foi feito com base no volume acumulado de metano gerado e sua correspondência em termos de massa de DQO equivalente. Essa quantidade foi então comparada com aquela ofertada.

O desempenho dos tratamentos com chorume foi melhor do que aquele exibido pelo controle. A razão do baixo desempenho mais pronunciado no controle, pode estar relacionada com uma dificuldade maior em solubilizar e hidrolisar a matéria orgânica. Além disso, um possível excesso de carga orgânica aplicada, poderia perturbar mais o controle do que os tratamentos com chorume, já que estes podem ser mais resilientes às alterações de pH (acidificação do meio), por possuírem maior capacidade de tamponamento.

Tabela 32 – Cálculo do percentual de DQO removida no EXP1

Reator	Volume de metano acumulado na CNTP (ml)	DQO equivalente removida (g)	Relação entre o removido e o ofertado (%)
Controle	618,27	1,77	61%
T1 LAS -V (15%)	724,89	2,07	77%
T2 LAS -V (20%)	794,75	2,27	81%
T3 LAS -V (30%)	726,44	2,08	80%
T4 LAS -V (40%)	830,13	2,37	91%

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

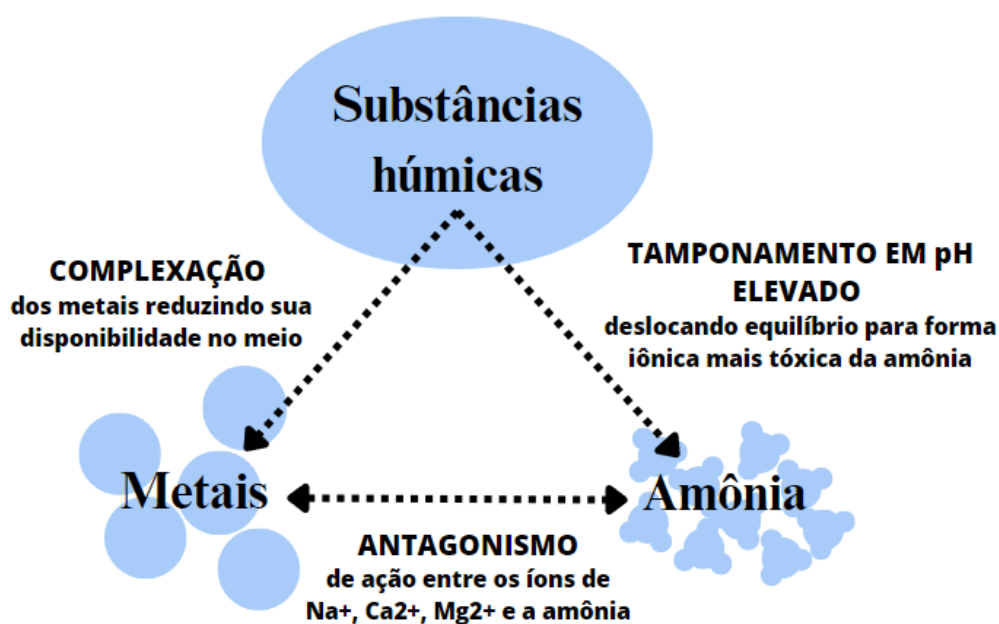
O desempenho do Tratamento 3, ainda que tenha expressado um valor de AME similar ao do tratamento 1 e 2, não acompanhou a graduação encontrada nos demais tratamentos em relação à produção de metano, e principalmente à qualidade da matéria orgânica residual (figura 28). Este tratamento foi o único que apresentou valor elevado e muito divergente, comparativamente aos demais, para a relação DBO/DQO. O valor de 0,83, além de confirmar que a menor geração de metano acumulado é real e não oriunda de uma possível falha na estanqueidade dos reatores, revela que muita matéria orgânica potencialmente degradável deveria ter sido degradada, e não foi.

Os valores de DQO e DBO foram obtidos a partir do sobrenadante e, considera-se que: parte da matéria orgânica ofertada no início da incubação já estava nessa fração, haja vista que a maior parte da carga do lixiviado se apresenta na forma solubilizada; e outra parte pode ser proveniente da conversão da matéria particulada em solúvel. A despeito da solubilização detectada de matéria orgânica, alguma condição ambiental do reator impediu ou inibiu que a digestão anaeróbia prosseguisse de maneira satisfatória neste tratamento.

Sabe-se, pelo revisado em literatura científica, que o lixiviado contém substâncias que se relacionam de maneira muito particular umas com as outras. Os metais, a amônia, sais de metais alcalinos e alcalinos terrosos, e as substâncias húmicas, são compostos de ocorrência frequente

e significativa em lixiviados de aterros sanitário, interagindo entre si de maneira a amenizar a ação negativa que podem manifestar isoladamente sobre o metabolismo anaeróbio (figura 29). No entanto, por serem mecanismos de ação muito complexos, não é possível mensurar a intensidade com que ocorrem em cada concentração utilizada no EXP1. Talvez esses fenômenos tenham agido em menor grau no Tratamento 3 em decorrência de algum equilíbrio particular entre esses compostos.

Figura 29 - Diagrama representativo das relações entre os principais compostos presentes no lixiviado



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Os resultados de metais totais e solúveis obtidos no licor reacional, ao fim do EXP1 para o controle e tratamento 1 (15% em LAS), seguem apresentados na tabela 33. Também foi calculada a concentração de cada espécie metálica com base na diluição do lixiviado original a 15% em água. Sabe-se que o LP e o inóculo utilizados como diluentes na montagem dos reatores possuem eles próprios sua carga em metais, no entanto, as concentrações calculadas com base somente no lixiviado servem como um referencial para a discussão dos valores obtidos na análise laboratorial.

O sódio é o único metal que na condição total aparece com um valor calculado maior do que o obtido analiticamente (real). É esperado que os valores calculados sejam menores do que os analíticos, já que o chorume está a 15% em um diluente que contribui com mais adição de metal, e não isento como a água, de modo que o valor da concentração de qualquer metal na

mistura deve ser maior do que o calculado. Segundo o laudo do laboratório acreditado que foi contratado para realização da análise, a incerteza do método para o sódio é de ± 31 mg/L. Não encontrou-se uma razão lógica para a obtenção desse resultado significativamente diferente já que o sódio não poderia ter escapado na forma gasosa, nem parece ter se cristalizado e aderido à parede do reator. Muito provavelmente esse resultado tem relação com o método de análise executado.

Tabela 33 – Resultados analíticos, e calculado, de metais após finalização do EXP1

Metal	Controle		Tratamento 1 (15% em v/v)			
	Total (mg/L)	Dissolvido (mg/L)	Total (mg/L)	Dissolvido (mg/L)	Total calculado* (mg/L)	Dissolvido calculado* (mg/L)
Na	101,8	62,45	324,5	323	442,5	478,05
K	101,1	60	312,6	293	296,4	338,4
Ca	567,6	74,86	313	88,51	86,94	47,805
Cu	9,579	0,009	4,81	0,011	0,0201	0,0258
Cr	4,181	0,0016	2,141	0,0016	0,03315	0,02655
Fe	487	0,083	227	0,187	7,1625	1,39425
Ni	1,942	0,037	1,019	0,075	0,0489	0,07275
Mn	6,626	0,185	3,895	0,22	0,9	0,11685
Zn	20,97	0,33	10,82	0,35	0,12135	0,0672

Nota: *valores obtidos considerando a diluição do LAS-V a 15% v/v em água

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Outra observação importante é a de que os metais Ca, Cu, Cr, Fe, Mn e Zn parecem estar presentes em maior quantidade no lodo de processo da ETE Barueri do que no chorume, visto que esses metais apresentaram concentrações totais superiores no controle em relação ao obtido para o tratamento 1, sugerindo que este poderia atuar como um diluente para a carga daquele.

No entanto, essa conclusão pode estar enviesada, já que a ETE Barueri recebe constantemente o despejo de chorume parcialmente tratado na sua linha afluyente proveniente da Attend Ambiental (vide seção 3.2) e, não foi possível interromper este lançamento durante o período da realização dos testes desta pesquisa. Os metais do chorume que adentra a Estação, em sua maioria, tendem a permanecer no lodo de processo que é direcionado à fase sólida, logo a carga metálica observada no controle pode ter sido ela mesmo resultante desse processo de acúmulo que ocorre pela entrada recorrente desse despejo.

De todo modo, para esses metais citados, e para as qualidades de lixiviado utilizadas, os valores obtidos ao fim do tratamento 1 não representam um desenquadramento do lodo

desaguado em termos de atendimento legal para o propósito atual da ETE Barueri, qual seja, disposição em aterro. Haja vista que o lodo desaguado desta Estação já não é utilizado como biossólido na agricultura (limites estipulados na figura 30). E, como a concentração de metais em lixiviado de aterro sanitário pode variar muito, não convém estipular esse objetivo para ETEs que se destinem ao recebimento deste tipo de rejeito.

Quanto ao lançamento do filtrado (retorno da fase sólida) em corpo hídrico, juntamente com a vazão típica da Estação, as concentrações obtidas para metais pesados dissolvidos após a adição de chorume a 15% sugerem que não haverá prejuízo ao atendimento legal do efluente da ETE nesses parâmetros.

Figura 30 - Valores máximos permitidos no biossólido destinado para aplicação em solos

Substâncias Químicas	Valor Máximo permitido no biossólido (mg/kg ⁻¹ ST)	
	CLASSE 1	CLASSE 2
Arsênio	41	75
Bário	1300	1300
Cádmio	39	85
Chumbo	300	840
Cobre	1.500	4.300
Cromo	1.000	3.000
Mercúrio	17	57
Molibdênio	50	75
Níquel	420	420
Selênio	36	100
Zinco	2.800	7.500

Fonte: Brasil, 2020.

Já com relação aos metais sódio e potássio, principalmente, não se pode dizer o mesmo já que a carga deles no chorume é muito elevada, tendo o tratamento 1 superado em mais que o dobro o obtido para o controle. E mais, se encontram praticamente dissolvidos em sua totalidade. No controle não, cerca de 40% do sódio e do potássio estão agregados e não disponíveis em solução. Isso significa que a codigestão de chorume em ETEs pode representar um aumento significativo da salinidade no filtrado que retorna à fase líquida. No entanto, esse filtrado representa somente 8% da vazão que aflui ao sistema (retornos + afluente bruto), sendo assim, assumindo uma carga virtualmente ausente de sal no afluente bruto, a diluição da carga de sal promovida por ele significa uma redução de aproximadamente 93% na concentração de sal inicialmente presente no filtrado. Além disso, os metais sódio e potássio, bem como a condutividade, não são monitorados pela legislação pertinente.

Havia a preocupação de que os metais originalmente complexados a outras moléculas, por exemplo substâncias húmicas, pudessem se tornar biodisponíveis durante a digestão anaeróbia (labilidade). Calculou-se a concentração referencial para os metais dissolvidos no tratamento 1 com base na concentração da solução de chorume original e na concentração de metais dissolvidos analisada laboratorialmente no controle. Para tal, utilizou-se a equação 21, assumindo que o tratamento 1 corresponde a 15% da solução original de chorume mais 85% da solução correspondente ao controle. E então, comparou-se os resultados calculados com os resultados obtidos analiticamente para o tratamento 1, apenas com relação aos metais dissolvidos (tabela 34).

$$C_f = \frac{C_1 \times V_1 + C_2 \times V_2}{V_1 + V_2} \quad (\text{equação 21})$$

Tabela 34 – Comparativo entre resultados analíticos e calculados para metais dissolvidos no tratamento 1 do EXP1

Metal dissolvido	Concentração analítica (mg/L)	Concentração calculada* (mg/L)
Na	323	531,13
K	293	389,40
Ca	88,51	111,44
Cu	0,011	0,033
Cr	0,0016	0,0279
Fe	0,187	1,46
Ni	0,075	0,10
Mn	0,22	0,27
Zn	0,35	0,35

Nota: * valores obtidos considerando a mistura de 15% de LAS-V e 85% do licor reacional do controle.

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

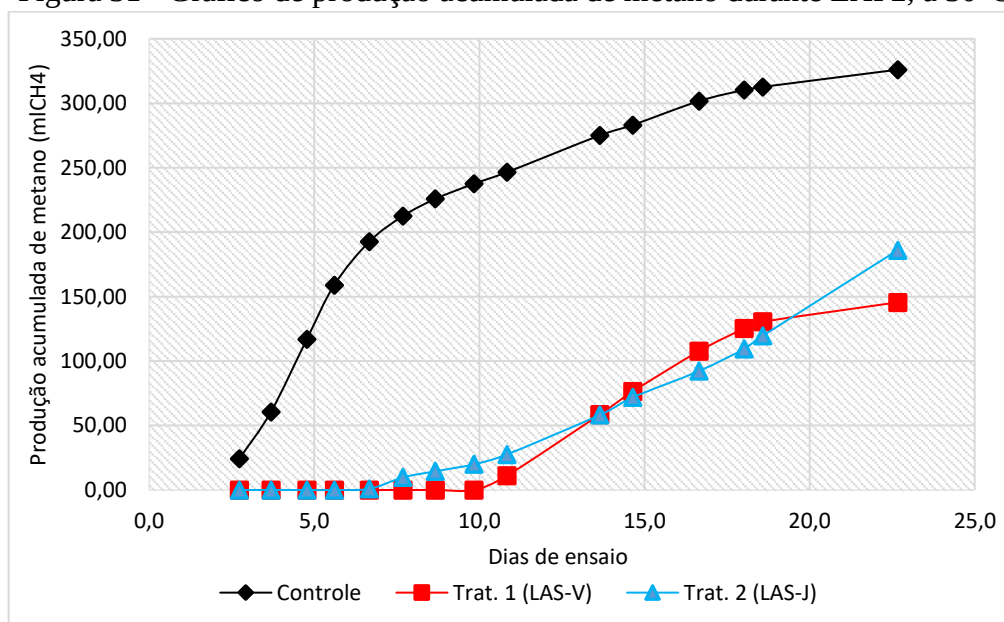
Considerando a incerteza embutida em cada análise, se tivesse ocorrido disponibilização dos metais durante a digestão anaeróbia, a concentração dos metais dissolvidos obtida analiticamente no tratamento 1 deveria ser superior ao calculado. No entanto, como se pode depreender da tabela 34, isto não ocorreu. Ou seja, não parece ter ocorrido a liberação dos metais da forma complexada para a dissolução no meio, pelo contrário, os metais podem ter até complexado mais.

4.4.3 Resultados do Experimento 2

4.4.3.1 Análise da montagem adotada e AME obtida no EXP2

O gráfico da figura 31 apresenta o resultado da curva de metano acumulado (média das triplicatas) ao longo de 18,6 dias de EXP2. Para sua confecção foram removidos valores considerados inconsistentes, por exemplo, em decorrência de eventuais vazamentos de biogás pelo septo de borracha. Os resultados detalhados constam no Anexo I ao fim deste trabalho.

Figura 31 - Gráfico de produção acumulada de metano durante EXP2, a 30°C



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

A montagem adotada no EXP1 e no EXP2 são distintas em relação à proporcionalidade entre substrato e inóculo, enquanto no EXP1 foi adotada uma relação S/I de 1,5, no EXP2 foi adotada uma relação de 3,1, ou seja, o dobro. Em termos de percentual de *headspace* e volume de reação, foram mantidas as mesmas condições nos dois experimentos.

No EXP2, o percentual de lixiviado velho e jovem na carga ofertada em cada um dos tratamentos é de 32,7% e 17,4%, respectivamente. Essa diferença se deve principalmente à concentração em DQO de cada qualidade de lixiviado testado, tendo o lixiviado velho aproximadamente o dobro da carga do jovem em DQO.

As curvas obtidas revelam: um período de latência bem maior do que o observado no EXP1 para os tratamentos com chorume; e uma forte inibição, mesmo adotando-se a mesma aplicação de 15% de chorume em v/v, cuja produção de metano no EXP1 foi considerada

relativamente bem sucedida. A inibição observada está refletida também nos valores de AME obtidos (tabela 35), os quais ficaram significativamente menores do que o controle.

O tratamento 1, com LAS-V, apresentou um período de aclimação ligeiramente mais duradouro do que o tratamento 2 até iniciar a produção de biogás, no entanto, essa aclimação parece não ter sido suficiente para prevalecer sobre a ação das substâncias inibidoras presentes no meio. A maior carga do lixiviado velho, bem como a maior contribuição relativa desta na carga ofertada de maneira global, pode ter consequentemente representado uma exposição maior do inóculo não aclimatado a agentes de toxicidade presentes nesta qualidade de chorume.

Tabela 35 – Obtenção da AME do EXP2, a partir das curvas de produção acumulada de metano

Tratamento	Período	Coefficiente linear	R ²	AME (mlCH ₄ /gSV.d)	Diferença em relação ao controle
Controle	2,7 a 5,6	47,428	0,9956	47,4	não se aplica
Tratamento 1	10,8 a 18,6	15,534	0,9956	15,5	- 67%
Tratamento 2	9,8 a 18,6	11,327	0,9968	12,6	- 73%

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Comparando os controles do EXP1 e EXP2, nota-se que a AME obtida no segundo experimento resultou em um valor significativamente maior do que a AME obtida no primeiro, 47,4 mlCH₄/gSV.d contra 28,4 mlCH₄/gSV.d. Essa diferença pode estar relacionada tanto com a qualidade do lodo de processo e do inóculo, que podem ter variado ao longo do período na Estação, ou relacionada à montagem adotada no EXP2 em que foi ofertada uma quantidade de alimento maior (S/I de 3,1). Este alimento, por sua vez, composto exclusivamente de lodo de processo (LP), contém uma fração particulada e outra solúvel, e a fração solubilizada pode ter representado uma oferta maior de substrato facilmente assimilável pela microbiota, conferindo a ela a verdadeira oferta real de substrato em excesso.

Foram analisados alguns parâmetros no licor reacional ao fim dos 22,7 dias de EXP2, os quais seguem explicitados na tabela 36. Nota-se que, de modo geral, o pH do meio sofreu uma elevação, considerando que todos os reatores iniciaram com pH em 7,1. Esse fenômeno decorre da geração de gás carbônico em dissolução, e liberação de amônia. Chama atenção o fato de que o tratamento 1, sendo aquele que menos acumulou metano, tenha sido aquele que sofreu maior variação no pH. No entanto, é preciso considerar que a liberação de gás carbônico também ocorre nas etapas que antecedem a metanogênese. Além disso, sabe-se que a dissolução

de gás carbônico em água diminui ao passo que salinidade aumenta. No caso, o tratamento 2 recebeu a qualidade de lixiviado com maior carga de sais.

De qualquer modo, muitos processos químicos que envolvem a geração de ácidos e alcalinidade de ácidos voláteis, bem como hidrólise de compostos nitrogenados, podem ter concorrido durante a fase lag duradoura observada neste tratamento, influenciando no pH obtido. O tratamento 1 finalizou o teste com uma concentração menor de ácidos voláteis em comparação com o tratamento 2.

Tabela 36 - Resultados analíticos após 22,7 dias de ensaio no EXP2

Parâmetro	Controle	Tratamento 1 (15% LAS-V)	Tratamento 2 (15% LAS-J)
pH	7,49	7,78	7,21
Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	4300	9680	14820
ST (mg/L)	11640	12500	15260
SV (mg/L)	6440	5820	5580
SF (mg/L)	5200	6680	9680
SV/ST	0,55	0,47	0,37
N-NH ₃ (mg/L)	485,65	773,07	819,63
Alcalinidade bicarbonato	1600	2863	2430
Alcalinidade de ác. voláteis	390	687	642
Relação AAV/AB	0,24	0,24	0,26
Alcalinidade total	1990	3550	3072
Acidez volátil	84,12	118,32	250,2

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Apesar da concentração de nitrogênio amoniacal na amostra original de lixiviado velho (LAS – V, lote 2) ser ligeiramente maior do que a do lixiviado jovem (LAS – J), ao final do ensaio, obteve-se valor de N-NH₃ superior no tratamento 2 com LAS –J. Uma possível explicação é que neste tratamento tenha ocorrido hidrólise da matéria orgânica de maneira um pouco mais intensa do que no tratamento 1, com conversão de compostos nitrogenados para essa forma mais oxidada.

4.4.4 Efeitos sobre a capacidade de desaguamento do lodo digerido

Como uma complementação importante para compreender os efeitos decorrentes da inclusão de chorume na montante do digestor, avaliou-se também a filtrabilidade da mistura

lodo de processo mais chorume a 15%, em comparação com o controle. A filtrabilidade de um lodo é a capacidade, ou facilidade, que este tem de desaguar, seja qual for o método de desague adotado. Alterações nesta propriedade do lodo digerido, após adição de chorume, podem ter implicações negativas sobre a eficiência do processo de desaguamento na ETE, daí a necessidade de uma análise mais atenta sobre essa questão.

Esta etapa foi realizada ao término do EXP2, quando o lodo parcialmente digerido ao final de 22,7 dias de ensaio foi analisado e qualificado quanto ao tempo de sucção capilar (CST em inglês).

Idealmente, este procedimento deveria ter sido executado com o lodo digerido dos reatores do EXP1, o qual foi conduzido em condições mais equilibradas. De todo modo, ter realizado-o ao fim do EXP2 permitiu enxergar com mais clareza o efeito provocado pela presença do chorume, já que se tratava de uma situação de exposição mais intensa à carga deste rejeito. Na tabela 37 estão apresentados os valores obtidos.

Tabela 37 – Resultados de CST para o lodo parcialmente digerido no EXP2

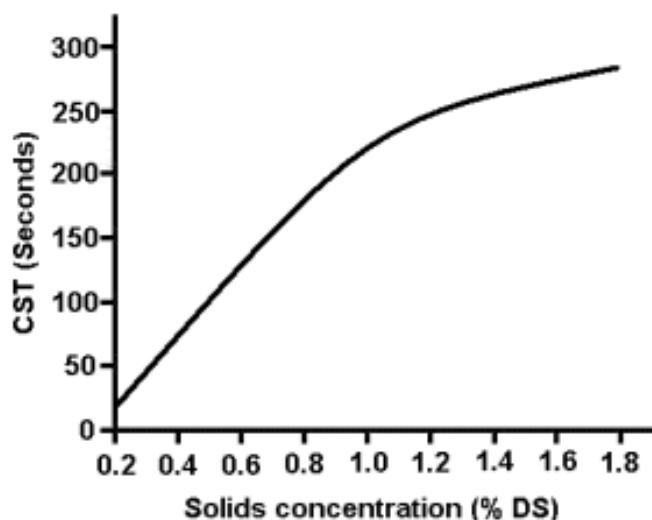
	Controle (seg.)	Tratamento 1 (seg.)	Tratamento 2 (seg.)
medição 1	155,2	170,5	212,3
medição 2	160,1	162,4	216,6
medição 3	163,3	174,3	206,7
desvio padrão	3,5	6,1	5,0
média	159,5	169,1	211,9

Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Braguglia *et al.* (2015) sugerem que seja feita uma normalização dos tempos em função do valor de ST. No entanto, segundo Vesilind (1988, *apud* Gray, 2015, p. 666) a correlação entre essas duas variáveis não é linear após cerca de 0,9% em sólidos totais (figura 32), sendo assim, optou-se por não fazer essa normalização, tendo em vista que o ST do licor nos 3 tratamentos variou de 1,16% a 1,53%.

Analisando os resultados depreende-se que o lodo codigerido proveniente do tratamento 2 tem significativamente menor capacidade de desaguamento, tanto em relação ao controle quanto em relação ao lodo codigerido no tratamento 1. Este, por sua vez, também exibiu um tempo de sucção capilar ligeiramente maior do que o controle.

Figura 32 - Curva da correlação entre o *CST* e a concentração de sólidos do lodo



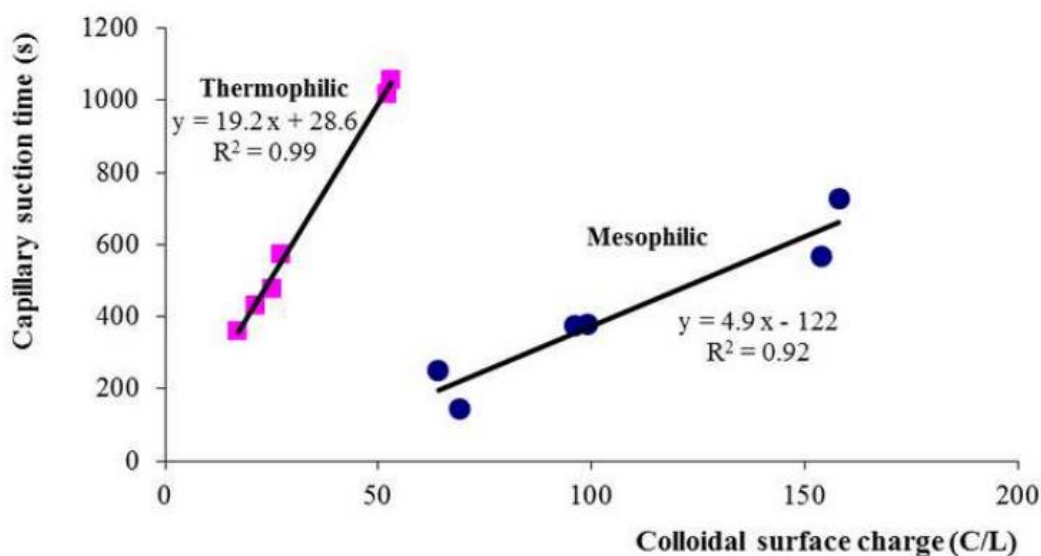
Fonte: Gray, 2105.

Braguglia *et al.* (2015) identificaram que o aumento de carga coloidal provocada pela digestão termofílica aumenta o *CST* do lodo. Essa correlação linear entre carga coloidal e *CST* está ilustrada na figura 33. Ainda que a qualidade do chorume possa variar amplamente, a presença significativa de substâncias húmicas, material de propriedade coloidal, é considerada geral ou universal. Assim, essa condição deve ter contribuído para os tempos maiores encontrados nos tratamentos em relação ao controle.

A matéria coloidal promove um aumento da viscosidade do lodo. A salinidade, da mesma forma, promove esse fenômeno físico. Sendo o tratamento 2 aquele que possui maior concentração ofertada em sal, de maneira proporcional e coerente, foi também o tratamento com maior valor de *CST* médio.

Já os resultados obtidos por meio do método próprio de ensaio de tempo de filtração estão explicitados na tabela 38, e confirmam o que foi obtido por meio do *CST*, isto é, que o lodo codigerido, nas condições testadas, possui menor capacidade de desaguamento em relação ao controle. No entanto, em razão da incerteza elevada embutida no método, que envolve uma certa agilidade entre o despejo da amostra e o acionamento de cronômetro, convém que ele seja repetido cerca de 3 a 5 vezes com a mesma amostra. Porém, o volume limitado de cada tratamento não permitiu que isso fosse feito, de modo que o resultado analítico registrado demanda reprodução para sua confirmação.

Figura 33 - Correlação entre carga coloidal e tempo de sucção capilar



Fonte: Braguglia *et al.*, 2015.

Tabela 38 – Resultados de tempo de filtração para o lodo parcialmente digerido no EXP2

	Tempo de filtração (seg.)
Controle	7,38
Tratamento 1	9,88
Tratamento 2	14,42

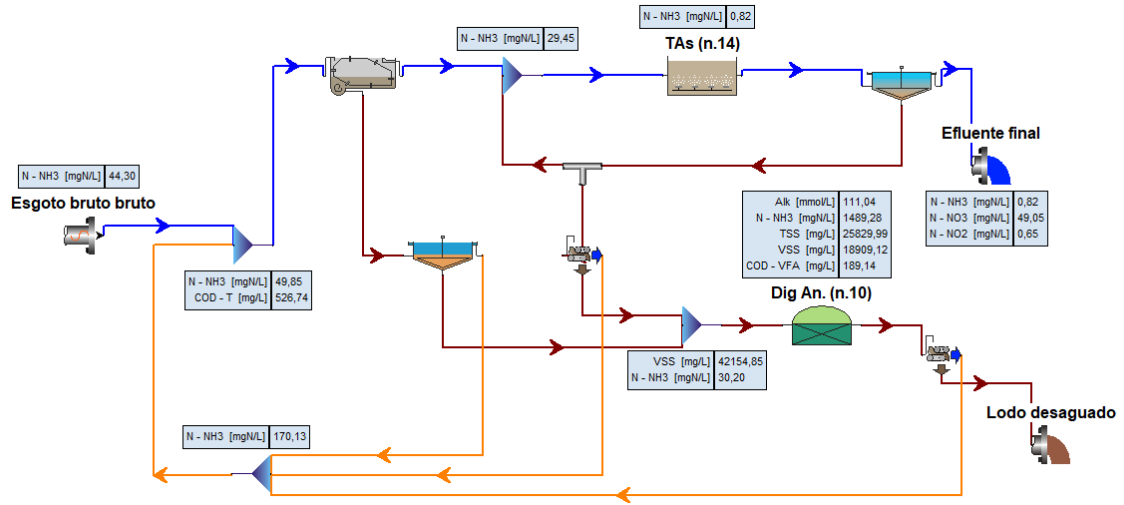
Fonte: elaboração da própria autora (2023).

4.5 SIMULAÇÃO DOS EFEITOS GLOBAIS DA CODIGESTÃO

Nesta seção são apresentados os resultados e análise das simulações realizadas com o software Biowin, já calibrado com parâmetros e relações reais da ETE Barueri. O período modelado abrange seis meses e leva em consideração oscilações diárias na vazão de entrada da estação. Os principais pontos analisados por intermédio do Biowin foram: recirculação da amônia da fase sólida para a líquida; variação no percentual de ST do lodo digerido; variação na vazão de produção de biogás; variação no tempo de detenção hidráulica do digester.

Na figura 34 está representado a configuração operacional da ETE Barueri sem a adição de chorume. Nesse diagrama é possível visualizar as três linhas de retorno, quais sejam: sobrenadante do adensador por gravidade, unidade responsável por adensar o lodo primário; filtrado da centrífuga de adensamento, unidade responsável por adensar o lodo secundário de excesso; e o filtrado proveniente do desaguamento do lodo digerido após digestão anaeróbia.

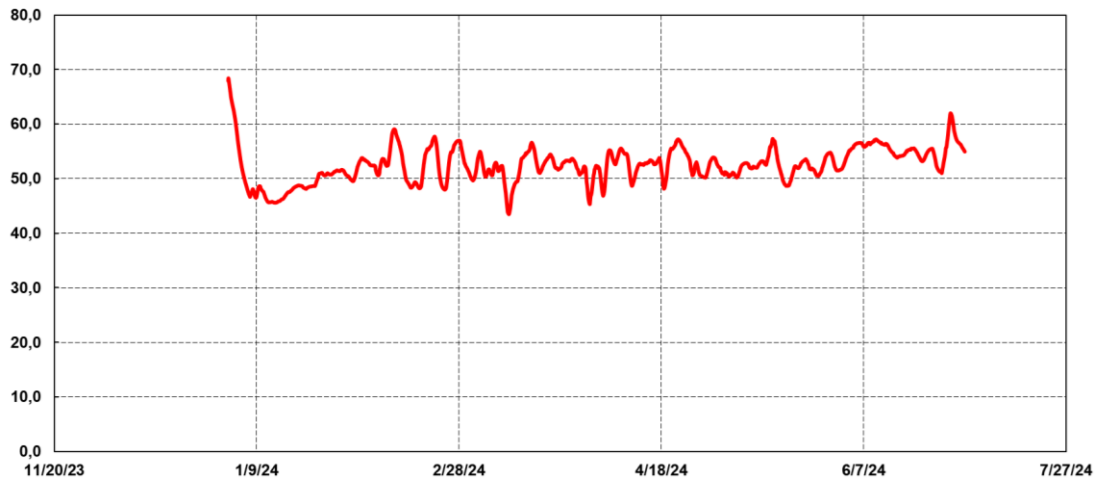
Figura 34 - Diagrama da simulação do Biowin, sem adição de chorume



Fonte: elaboração própria a partir do software Biowin (2023).

Na figura 35 está projetada a variação na destruição de sólidos voláteis pelo digestor, reflexo de oscilações nos dados de entrada da ETE, principalmente vazão e concentração em DQO. Ao longo do período de simulação a destruição de sólidos voláteis oscila entre 50-60%.

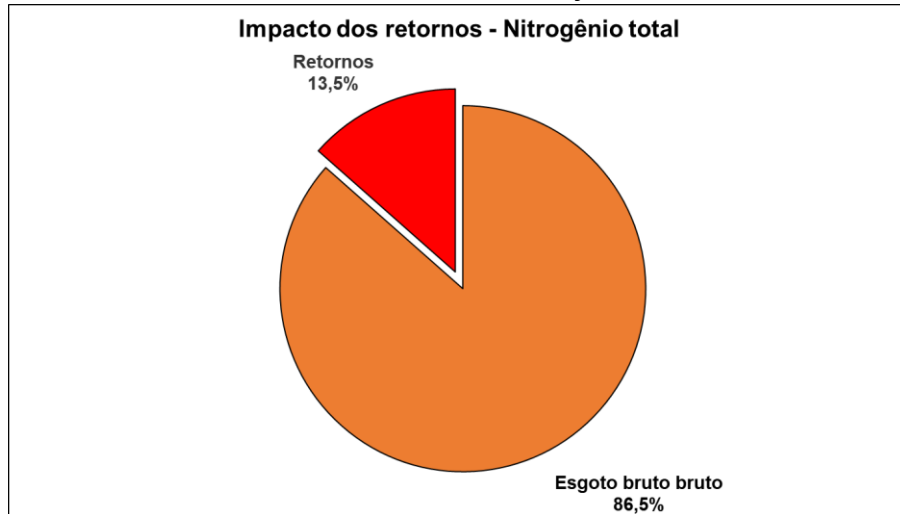
Figura 35 - Gráfico de destruição de sólidos voláteis (%) pelo digestor sem adição de chorume



Fonte: elaboração própria a partir do software Biowin (2023).

Na figura 36 está representada a parcela de nitrogênio total que corresponde aos retornos da fase sólida, em relação à parcela correspondente ao afluente bruto.

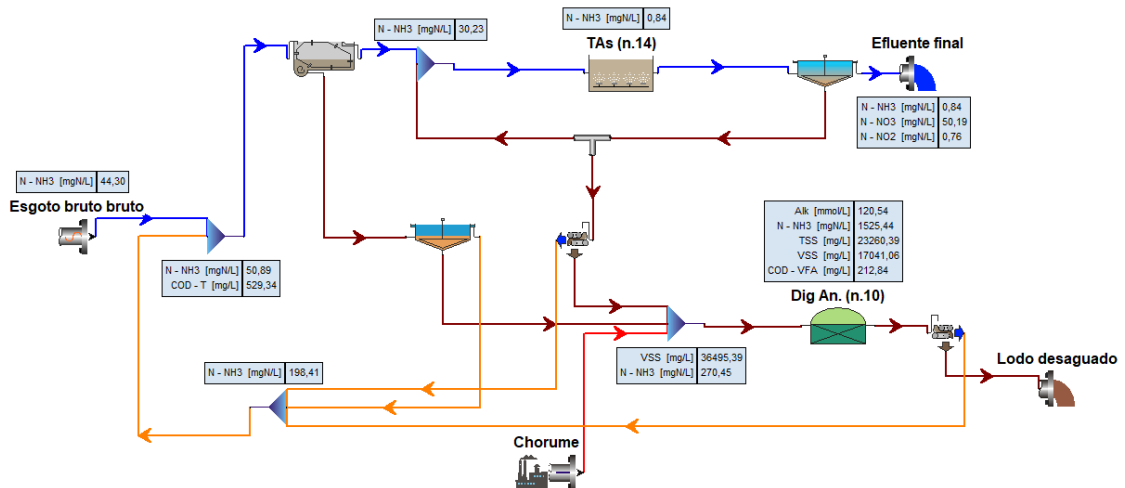
Figura 36 – Gráfico da proporção relativa de nitrogênio proveniente dos retornos em relação à entrada bruta, no cenário sem adição de chorume



Fonte: elaboração própria a partir do software Biowin (2023).

Na figura 37 está representado a configuração operacional da ETE Barueri com a adição de chorume na montante do digestor a 15% em v/v. Nesse diagrama é possível visualizar as três linhas afluentes ao digestor, quais sejam: aquela proveniente do lodo de excesso adensado nas centrífugas; outra proveniente do lodo primário adensado nos adensadores por gravidade; e por fim, aquela referente ao acréscimo do lixiviado.

Figura 37 – Diagrama da simulação do Biowin, com adição de chorume

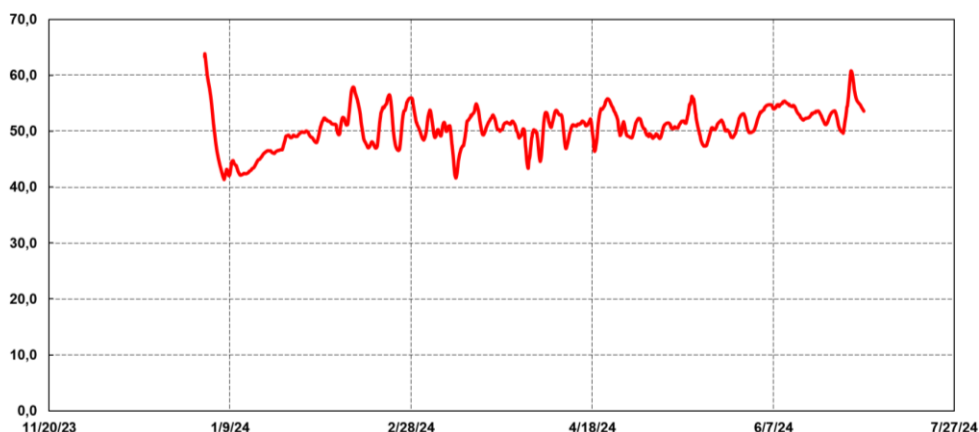


Fonte: elaboração própria a partir do software Biowin (2023).

Na figura 38 está projetada a variação na destruição de sólidos voláteis pelo digestor alimentado com lodo de processo mais lixiviado, refletindo as oscilações nos dados de entrada

da ETE, principalmente vazão e concentração em DQO. Ao longo do período de simulação a destruição de sólidos voláteis oscila entre 45 e 55%.

Figura 38 – Gráfico de destruição de sólidos voláteis (%) pelo digestor com adição de chorume



Fonte: elaboração própria a partir do software Biowin (2023).

Comparando a figura 36 com a 38 considera-se que a modelagem rodada não resulta em impacto relevante sobre a destruição de sólidos voláteis após a adição de lixiviado. Visto que a faixa de destruição de sólidos voláteis por digestores convencionais se situa em uma faixa ampla, podendo variar de 35% a 60% (Tsutiya *et al.*, 2001).

Figura 39 – Gráfico da proporção relativa de nitrogênio proveniente dos retornos em relação à entrada bruta, no cenário com adição de chorume



Fonte: elaboração própria a partir do software Biowin (2023).

Na figura 39 está representada a parcela de nitrogênio total que corresponde aos retornos da fase sólida, em relação à parcela correspondente ao afluente bruto, no cenário com adição de chorume.

Os valores de nitrogênio amoniacal em pontos-chave do processo, bem como sólidos totais, alcalinidade no digestor, dentre outros parâmetros, foram comparados entre si nos dois cenários simulados em condição estática (tabela 39).

Tabela 39 – Comparação entre parâmetros diversos obtidos nas duas simulações

Pontos de destaque	Cenário sem chorume	Cenário com chorume a 15% v/v
Amônia na entrada do tanque de aeração	28,98 mg/L	30,23 mg/L
Amônia no efluente final	0,83 mg/L	0,84 mg/L
DQO afluente ao decantador primário	525,77 mg/L	529,34 mg/L
Tempo de detenção hidráulica no digestor	13 d	11,2 d
Vazão de gás gerado	6.662,37 m ³ /h	7.261,39 m ³ /h
Alcalinidade total no digestor	111,04 mmol/L	120,54 mmol/L
Sólidos suspensos voláteis afluente ao digestor	4,03%	3,65%
Sólidos suspensos voláteis efluente ao digestor	1,88%	1,7%
Sólidos suspensos totais efluente ao digestor	2,58%	2,33%
Relação SSV/SST	0,73	0,73
Amônia no efluente digerido	1.502,47 mg/L	1.525,44 mg/L
Nitratos no efluente	49,05 mg/L	50,19 mg/L

Fonte: elaboração própria, 2023.

A presença do lixiviado na entrada do digestor fez com que a concentração de amônia no efluente digerido, e conseqüentemente no retorno da fase sólida, aumentasse. Também houve aumento de aproximadamente 1mg/L na concentração de amônia na entrada do tanque de aeração. O lixiviado também aumentou ligeiramente (~2,3mg/L) a concentração de DQO na entrada do tratamento primário.

O tempo de detenção hidráulica no digestor, os sólidos totais no lodo digerido, bem como a alcalinidade dele, se alteraram de maneira mais relevante. Houve perda de 2 dias de digestão, aumento de ~9 mmol/L de alcalinidade, e redução de cerca de 2.900 mg/L em sólidos totais no lodo digerido. Por outro lado, o modelo projeta um aumento na produção de biogás de cerca de 166,9 m³/h.

A diminuição no teor de sólidos totais no lodo digerido pode representar uma demanda maior por polímero na etapa de desaguamento de lodo, ao passo que o aumento da produção de

biogás representa um ganho na produção energética da Estação, caso esse aproveitamento esteja projetado para ela.

No entanto, a diminuição no teor de sólidos do efluente digerido, como efeito da adição de chorume, não foi verificada no teste de bancada (EXP1). Além das propriedades singulares do chorume não poderem ser inseridas como dados de entrada no modelo, é preciso considerar que a principal diferença entre a simulação modelada por um software e o teste em bancada é a qualidade real do inóculo e lodo de processo utilizados, em relação à qualidade adotada para esses efluentes no modelo. A própria carga orgânica volumétrica máxima obtida a partir da AME no EXP1 revela esse baixo desempenho apresentado pelo inóculo real, também em função de um lodo de processo majoritariamente biológico (secundário de excesso) praticado no período.

A carga orgânica volumétrica afluyente ao digestor, nas simulações do Biowin, foi calculada pela equação 15, sendo de 4,9 kgDQO/m³.d sem adição de chorume, e de 5,2 kgDQO/m³.d após adição do chorume em 15% v/v. Metcalf e Eddy (1991 *apud* Chernicharo, 2019, p.133) definem como critério típico de projeto para digestores de alta carga e mesofílicos, uma carga orgânica volumétrica na faixa de 1,6 a 3,2 kgSSV/m³.d. Apesar de a conversão de DQO em SSV resultar em valores um pouco menores, nos dois cenários modelados pode-se considerar que as taxas de aplicação obtidas são elevadas.

A simulação foi rodada considerando 10 unidades de digestão anaeróbia, duas a mais do que o cenário atual (no momento as duas unidades adicionais estão em fase de construção). E, mesmo assim, o Biowin revela uma fase sólida subdimensionada, isso sem levarmos em consideração a codigestão com lixiviado, que dirá incorporando-o.

A fim de ajustá-la seria necessário: i) reduzir a vazão afluyente ou vazão de lodo destinado à fase sólida, o que só seria possível se a bacia de esgotamento da ETE Barueri fosse compartilhada com outra Estação; ii) ampliar o volume útil dos digestores construindo novas unidades; iii) ou aumentando a eficiência desta etapa por meio da adoção de temperaturas mais elevadas de trabalho ou pré-tratamentos para o lodo adensado.

A concentração de amônia modelada pelo software na saída do digestor não se aproxima do obtido ao fim do ensaio de bancada. Enquanto o Biowin calculou 1.501,63 mg/L no cenário com adição de chorume, o tratamento 1 do EXP1 finalizou com 679 mg/L. Tal discrepância deve estar relacionada com a carga orgânica aplicada, que varia entre modelo e EXP1, ainda que a aplicação em volume obedeça 15% nos dois casos. Além disso, processos sinérgicos que podem atuar na dinâmica de liberação e conversão entre espécies de amônia se manifestam somente na experiência real de bancada.

O acréscimo de amônia do início ao fim da digestão anaeróbia também variou bastante. Cerca de 98% de aumento na simulação sem chorume, e 82% de aumento na com chorume; já em bancada, assumindo que o inóculo da ETE Barueri possui em média 248,5 mg/L em nitrogênio amoniacal (comunicação pessoal), o resultado foi 154,6% de aumento no controle, e 48,2% de aumento no tratamento 1.

Como o tratamento com chorume possui elevada presença de substâncias húmicas, e seu pH tende a se equilibrar em valores mais altos, é possível que este pH em elevação tenha deslocado o equilíbrio da amônia no sentido da sua forma gasosa, a qual tende a escapar para o espaço aéreo do reator. Talvez este fenômeno de volatilização tenha contribuído para uma menor variação na concentração de nitrogênio amoniacal, do início ao fim do ensaio, obtido analiticamente no licor reacional do tratamento 1.

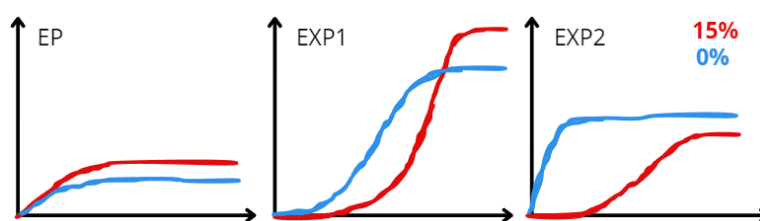
No entanto, é possível que outros fenômenos concorram nesse processo, e não somente a potencial perda da amônia como gás. Por exemplo, compostos complexos e recalcitrantes com grupos aminas podem não ter sido hidrolisados pelas bactérias fermentadoras ainda mal adaptadas, o que não ocorre com proteínas e uréia, que são os principais compostos fonte de nitrogênio no lodo de processo normal da Estação.

4.6 VIABILIDADE DA CODIGESTÃO DE LIXIVIADO EM ETE

Os testes realizados no âmbito desta pesquisa não resultaram em uma definição clara e direta dos parâmetros ou limites de trabalho para viabilizar a codigestão de lixiviado com lodo doméstico em ETEs, porém trouxeram algumas sinalizações.

Com o intuito de retomar o quê se observou de uma maneira concisa, elaborou-se um quadro comparativo entre os parâmetros de interesse e os resultados provenientes dos três experimentos executados no escopo deste trabalho, quais sejam: Ensaio Preliminar, Experimento 1 e Experimento 2. Na figura 40 foram consideradas somente as informações relativas aos controles (0% em v/v) e tratamentos com lixiviado velho (lote 1 e lote 2) a 15% em v/v. O esboço das curvas, por sua vez, tem o propósito de facilitar a comparação visual.

Figura 40 – Quadro comparativo e esboço visual das curvas obtidos em cada teste



	Ensaio Preliminar	Experimento 1	Experimento 2
BMP _{0%} (mlCH ₄ /gDQO _{add})	Cálculo inviabilizado pela duração	215,9	Cálculo inviabilizado pela duração
BMP _{15%} (mlCH ₄ /gDQO _{add})	Cálculo inviabilizado pela duração	269,6	Cálculo inviabilizado pela duração
AME _{0%} (mlCH ₄ /gSV.d)	Cálculo inconsistente em razão da montagem	28,4	47,4
Expressão de fase lag	Não	Sim	Sim, somente no tratamento com LAS
Correção de pH	Não	Não	Sim
Relação S/I	0,5	1,5	3,1
Concent. Substrato (gDQO/L)	4,2	9	10
Concent. do LAS (gDQO/L)	2,9	2,9	3,4
LAS em carga (%)	71,6	33,3	32,7

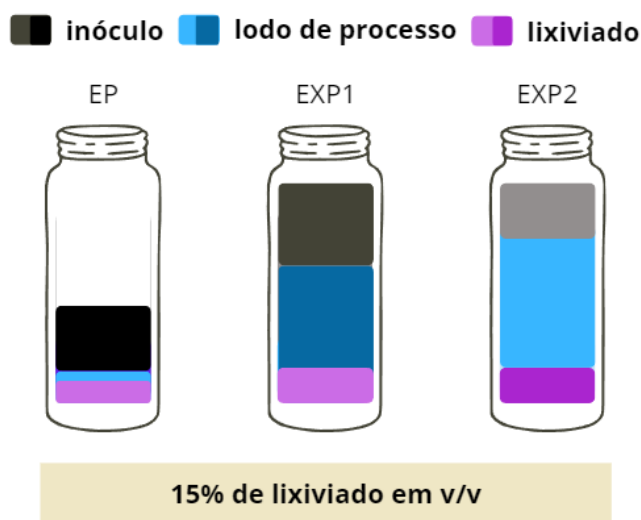
Fonte: elaboração da própria autora (2023).

As três baterias de teste foram executadas obedecendo a mesma aplicação de lixiviado em v/v, qual seja, 15%. Os resultados experimentais demonstraram que a montagem do ensaio de bancada, principalmente no que se refere à carga orgânica aplicada de LAS, dada pela relação S/I e pela concentração deste rejeito dentro do reator, foi fundamental para a obtenção de um desempenho bom ou ruim. Os testes nos quais a concentração de LAS, bem como a proporção de substrato (lodo de processo + lixiviado) em relação à carga de inóculo (relação S/I), se mantiveram dentro de uma margem segura, houve nítida geração maior de metano acumulado, independentemente dos valores oscilantes e mais nebulosos obtidos para a AME.

Já o experimento 2, no qual foi adotada intencionalmente uma exposição maior, ainda que obedecendo os 15% de LAS em v/v, sugere que a maior carga orgânica aplicada sobre os microrganismos, bem como a maior concentração de agentes potencialmente tóxicos (amônia, substâncias húmicas, sais, etc...), provoca a inibição da digestão anaeróbia, com consequente queda na produção de metano. O volume de LAS no EXP1 e no EXP2 é o mesmo, e a carga, difere muito sutilmente, por se tratarem de lotes diferentes de um mesmo aterro, no entanto, no EXP2 o volume e a concentração de sólidos no inóculo são comparativamente menores.

A fim de esclarecer o comportamento observado no EXP2, em comparação com os demais ensaios, elaborou-se a figura 41 na qual é possível visualizar esquematicamente as diferentes montagens adotadas. Nota-se que no EXP1 e no EXP2 o volume de inóculo é inferior ao volume somado de lodo de processo mais lixiviado, sendo que no último, essa inferioridade volumétrica do inóculo se agrava.

Figura 41 – Elaboração visual das montagens adotadas em cada teste



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

A figura mostra que, no EXP2, o principal elemento que tem sua dosagem aumentada em contraposição à diminuição no volume de inóculo, é o lodo de processo, e não o lixiviado. Sendo assim, os agentes de inibição que se manifestaram no EXP2 nos tratamentos com lixiviado, deveriam ser uma consequência, principalmente, do aumento de lodo de processo, e não de lixiviado. No entanto, não se pode descartar uma diferença qualitativa relevante entre os dois lotes de LAS-V utilizados (lote 1 no EXP1, e lote 2 no EXP2), a despeito da variação pouco significativa em DQO, tendo em vista que, por exemplo, a caracterização mais detalhada de compostos emergentes nos lotes de lixiviado utilizados não foi executada.

O trabalho realizado por Ellouze, Aloui, Sayadi (2008), que consistiu em avaliar a tratabilidade de chorume mais efluente doméstico via Lodos Ativados, mostrou: (i) que o pré-tratamento adotado por eles foi eficiente na promoção de desintoxicação do chorume, com boa adaptabilidade do consórcio biológico, apesar da presença de compostos problemáticos; (ii) e que o aumento da carga aplicada, acima de 6g/L.d foi responsável pela perturbação do sistema e pelo acúmulo de DQO residual e toxicidade.

Este trabalho, de maneira correlata, finalizou com resultados similares ao de Ellouze, Aloui e Sayadi (2008), porém no âmbito do tratamento anaeróbio. A aclimação da microbiota manifestou-se pelo formato da curva obtida no EXP1, conforme análise da seção 4.4.2.2. A fase lag observada tende a desaparecer ao passo que uma adaptação biológica é atingida, caso o lixiviado seja incorporado em vazão constante e baixa.

A aplicação do lixiviado em pulsos pode desestabilizar a digestão anaeróbia, já que a microbiota sofre um processo de seleção e reorganização quando exposta ou não exposta a ele. Dessa forma, considera-se que para viabilizar a codigestão proposta, é fundamental a adoção de um tanque de equalização para a vazão de lixiviado que geralmente é transportado por caminhões dos aterros aos pontos de descarga.

Este trabalho também identificou que a carga orgânica volumétrica afluyente ao digestor é um parâmetro limitante para a codigestão do chorume mais lodo de processo. A vazão e a qualidade de lodo adensado afluyente ao digestor não sofrem grandes alterações no processo normal de operação da Estação, porém a carga do chorume sim. Um tanque de equalização, além de regularizar a vazão de entrada do chorume, também poderia contribuir homogeneizando um pouco essa qualidade do chorume que varia substancialmente a cada caminhão despejado.

A equalização da vazão de entrada do despejo também visa atender uma exigência legal definida no Decreto Estadual nº 8468/76, em seu Art. 19-A, inciso IX, que estabelece que o lançamento de efluentes de qualquer fonte poluidora, em sistema de esgotos, deve adotar “regime de lançamento contínuo de 24 (vinte e quatro) horas por dia, com vazão máxima de até 1,5 (uma vez e meia) a vazão diária”.

Além disso, é preciso que o dimensionamento da ETE seja adequado à manutenção de uma carga orgânica volumétrica em torno de 1,2 kgDQO/m³.d mesmo após a adição de lixiviado.

Sugere-se também monitorar a qualidade do lixiviado que aflui do tanque de equalização por meio de sonda de DQO, de modo a regular a vazão de entrada deste, de maneira mais assertiva, dentro de um limite máximo de incorporação em carga orgânica volumétrica. Em função da concentração obtida por meio da sonda, é possível instalar um controlador que ajuste a vazão de incorporação desse rejeito em v/v, já que a concentração multiplicada pela vazão, resulta na vazão mássica. A sonda de DQO, e o controlador mencionado, são considerados investimentos baixos.

O tanque de equalização também permitiria ajustar o pH do chorume a partir da definição de uma faixa de aceitação. Mas, como o lixiviado é bastante tamponado, seria necessário

estimar com mais detalhamento o custo e a viabilidade econômica deste procedimento, levando em consideração os produtos químicos acidificantes comumente disponíveis no mercado.

As cargas máximas de aplicação obtidas no EXP1 são a melhor referência sugerida por esta pesquisa como limite operacional para a vazão de aplicação do chorume em codigestão com o lodo de processo em ETE. E, mesmo sem adição de lixiviado, a taxa de aplicação de carga orgânica atual na ETE Barueri, calculada com base em SV (seção 3.1), já supera significativamente este limite (1,39 kgSV/m³.d). De modo que, para viabilizar a codigestão de chorume nessa Estação, seria necessário aumentar a capacidade volumétrica de digestão por meio da construção de mais unidades anaeróbias e assim reduzir essa carga orgânica volumétrica mencionada.

A construção da ETE, considerando de antemão a codigestão de chorume e lodo de esgoto, permitiria dimensionar corretamente as unidades de digestão anaeróbia, prevendo uma folga que viabilize essa inclusão sem incrementar demasiadamente a carga de aplicação nessa unidade. Conforme relatado acima, esse foi um ponto crítico identificado, podendo ser o grande diferencial entre uma codigestão bem sucedida ou a inativação da microbiota por choque de carga tóxica.

Wang *et al.* (2018) relatam que mesmo na ausência de toxicidade, sistemas biológicos não conseguem atingir uma biodegradação efetiva em razão das moléculas de elevado peso molecular e elevada estabilidade química. Porém, a maior parte dos sólidos voláteis não digeridos na fase sólida, representados em sua maioria pela fração solúvel recalcitrante do chorume, ao invés de se manterem no lodo desaguado, retornariam para a fase líquida, que naturalmente possui maior capacidade oxidativa.

Conforme resultado do EXP1, a codigestão de chorume a 15% v/v mais lodo de processo, provoca elevação na carga do reciclo que retorna da fase sólida para a líquida, sendo essa caracterizada pela presença majoritária de compostos persistentes (por exemplo, ftalatos, fenóis, substâncias húmicas, dentre outros), conforme explicitado pela baixa relação DBO/DQO do sobrenadante (tabela 31). Esta carga recalcitrante terá sua concentração reduzida pela diluição provocada pela vazão afluente à Estação. Ademais, é possível que parte das substâncias complexas sofram uma degradação parcial pela via aeróbia, o quê não foi objeto de análise no escopo desta pesquisa.

A simulação realizada com o software Biowin, sugere que a codigestão avaliada, se aplicada em uma Estação com projeto hidráulico similar ao da ETE Barueri, implicará em um aumento pouco significativo de amônia na entrada do tratamento aeróbio secundário. Esse acréscimo pode ser pouco impactante caso a nitrificação não seja um processo considerado

fundamental para o alcance do atendimento legal do efluente da Estação, visto que as bactérias nitrificantes são as principais afetadas pelo excesso de amônia no meio.

É importante considerar, em projetos futuros de codigestão de lixo, a locação da ETE, em razão do enquadramento do rio no qual é feito o lançamento do efluente tratado. Estações que lançam em rios de classe 2 e 3, a depender da vazão de referência destes corpos hídricos, podem demandar tratamento terciário para diminuição mais pronunciada da carga de nutrientes nitrogenados e amônia.

De todo modo, a amônia é um recurso valioso como insumo para diversos tipos de processos industriais, além de ser um nutriente necessário na agricultura, podendo ser aplicada sem grandes beneficiamentos diretamente no solo. O metano presente no biogás também pode passar por um processo de reforma e então utilizado como matéria prima para geração de hidrogênio. Este, por sua vez, juntamente com o nitrogênio da atmosfera ambiente possibilita a geração de mais amônia (síntese de Haber-Bosch), sendo este um dos processos largamente utilizados hoje na geração deste produto.

Ou seja, a codigestão do chorume mais lodo de esgoto em ETEs pode representar não só um sumidouro eficiente para um dos principais rejeitos-problema gerado hoje nos centros urbanos do Brasil, como também promover a geração de subprodutos importantes do tratamento: o biogás e a amônia. O calor proveniente da queima do metano em motores de cogeração pode ser utilizado inclusive para favorecer processos de destilação ou evaporação da amônia, que possui um ponto de ebulição relativamente baixo.

Por outro lado, é preciso considerar que a entrada adicional de amônia em uma ETE pode representar também um aumento na geração de óxido nitroso (N_2O), tanto na fase sólida quanto na líquida. O N_2O é um gás de elevado impacto ambiental por contribuir sobremaneira com o efeito estufa, de modo que seria conveniente complementar a avaliação feita nesta pesquisa incorporando essa questão.

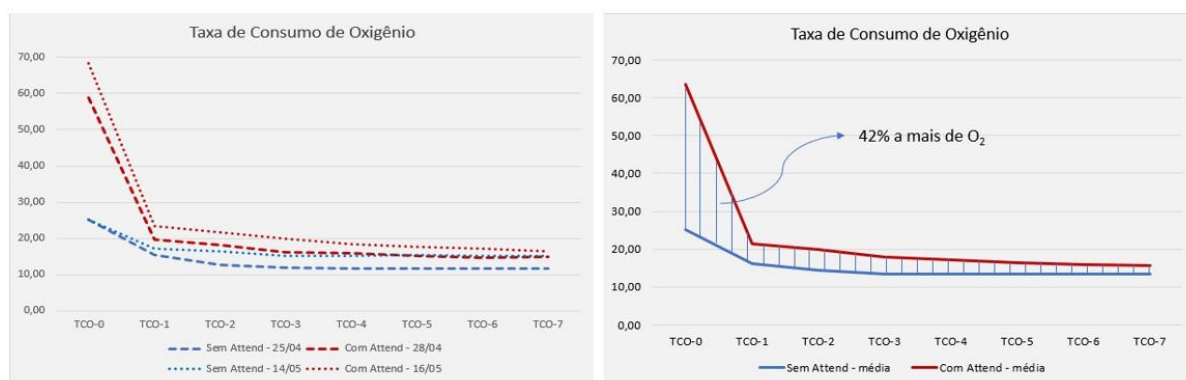
Atualmente, o recebimento médio de chorume na ETE Barueri é de 140.000 m³/mês ou 4.666,7 m³/d (comunicação pessoal), sendo que este passa por um pré-tratamento na Attend Ambiental e é lançado diretamente no interceptor afluente à Estação. Este pré-tratamento consiste em um gradeamento mecanizado seguido de um sistema de separação de óleos e graxas por gravidade e *oil skimmer*. O custo do pré-tratamento da Attend Ambiental é hoje de 60 reais/m³, o que rende a eles R\$ 8.400.000 por mês.

Existem fortes evidências de que o efluente industrial pré-tratado da Attend contribua com uma carga solúvel considerável na ETE Barueri, a qual demandaria um consumo cerca de 40% maior em oxigênio dissolvido em seus tanques de aeração, representando um custo

bastante significativo. Essa avaliação foi feita em ao menos dois dias de parada operacional da Attend quando pôde se verificar, por meio de ensaio de respirometria de bancada, a diferença entre a taxa de consumo de oxigênio com e sem o seu despejo (figura 42).

Apesar de não ter sido possível separar o chorume dos demais despejos industriais pré-tratados nessa empresa e destinados à ETE Barueri, a observação relatada sugere que a codigestão do chorume mais lodo de processo, pode ser bem mais vantajosa para a concessionária que a opera do que o recebimento deste rejeito primariamente tratado em sua fase líquida sem qualquer tipo de retorno monetário.

Figura 42 – Avaliação respirométrica da taxa de consumo de oxigênio pelo lodo ativado da ETE Barueri, em condições de presença e ausência de contribuição de END



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

No entanto, é certo que a ETE Barueri sozinha não conseguiria receber toda essa vazão diária mencionada (4.666,7 m³/d), haja vista que a adição conservadora de até 15% de chorume em v/v representa uma vazão de cerca de 572,6 m³/d, isto é, uma capacidade 88% menor. Para suprir a demanda de toda essa região metropolitana abarcada hoje pela Attend Ambiental, seria necessário, além de adotar a codigestão deste rejeito também nas outras ETEs aptas por operarem digestores, adotar outras formas de soluções alternativas para o chorume, por exemplo, a incineração.

O trabalho de Pagliuso e Regattieri (2008), por exemplo, desenvolvido com o lixiviado proveniente do aterro sanitário de São Carlos, indica que há mais energia presente no gás gerado do que a energia requerida para incinerar o chorume, além disso, o balanço químico realizado por eles mostrou que o potencial poluidor das emissões se situa abaixo dos limites estabelecidos pela legislação.

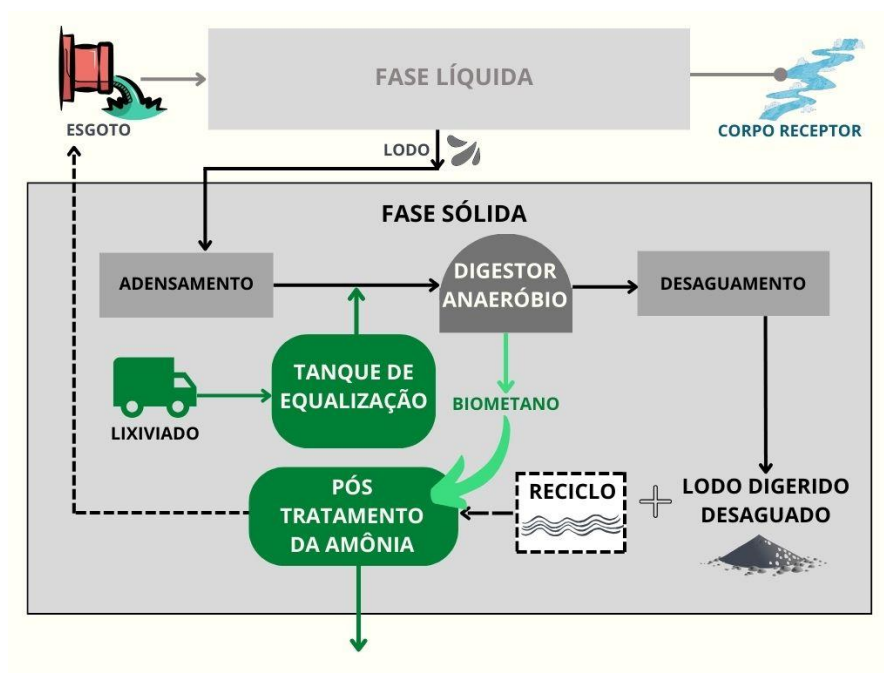
Dentre as estratégias para reduzir a geração de chorume, não podemos esquecer, que convém ao município, enquanto titular dos serviços de saneamento básico, adotar programas de educação cidadã direcionados para a redução na geração de resíduos sólidos urbanos e consequentemente de chorume.

4.6.1 Sugestões para o planejamento de futuras ETEs

A recuperação de recursos materiais e energia em ETEs é uma demanda que tende a aumentar, em contraposição aos processos industriais convencionais, que não atendem mais aos anseios de uma sociedade que pretende ser sustentável e comprometida com o meio ambiente futuro. Nesse sentido, convém adequar as plantas de tratamento já em operação, bem como projetar as novas instalações, considerando esse objetivo adicional.

No entanto, as possibilidades que se abrem no momento, decorrentes do trabalho de pesquisa de uma série de cientistas que se dedicam a essa área, envolvem uma série de modificações e/ou opções de projeto que nem sempre se concatenam. Por exemplo, projetos de plantas dedicadas à recuperação energética por meio de processos térmicos como a pirólise ou a gaseificação, podem apresentar maior rendimento quando se trabalha com lodo não estabilizado, de maior poder calorífico, o que eventualmente dispensaria a digestão anaeróbia na fase sólida.

Figura 43 - Diagrama aperfeiçoado da inclusão do chorume no processo de tratamento de uma ETE



Fonte: elaboração da própria autora (2023).

Sendo assim, convém atribuir a cada planta uma vocação, tendo em vista sua localização geográfica, necessidades mais emergentes da região, dimensão em escala, planos locais de gerenciamento dos recursos hídricos e demais normativas, logística de condução de resíduos e subprodutos, viabilidade econômica, dentre outros aspectos.

No caso das plantas que venham a ser projetadas para a codigestão de lixiviado de aterro sanitário, com o intuito de tratar e destinar de maneira mais inteligente este rejeito, parece ser interessante associar esta demanda com a recuperação de amônia, antes do retorno do filtrado à fase líquida. A vocação “sumidouro de chorume + recuperação de amônia” pode ser favorecida pelo uso interno do adicional de biogás gerado a partir da carga orgânica complementar advinda do chorume (figura 43).

5 CONCLUSÃO

Este trabalho não propôs sugerir ou avaliar tecnologias específicas, que demandem uma reorganização significativa do parque operacional da ETE em estudo, a fim de viabilizar a codigestão proposta. Buscou-se somente avaliar efeitos imediatos da inclusão de lixiviado, sem a investigação de estratégias de pré-tratamento para ele, ou pós tratamento para o filtrado da fase sólida. Os principais parâmetros considerados nesta avaliação foram: a produção de metano, pois esta revela indiretamente o desenvolvimento e equilíbrio da microbiota; a biodegradabilidade do substrato misto; e de maneira menos detalhada a dinâmica de circulação de amônia na planta.

É importante reforçar que o escopo do trabalho se limitou a uma avaliação de curto período, de até 1 (um) TDH, utilizando-se reatores em batelada. Desse modo, não se avaliou mudanças de longo prazo, e o rendimento da digestão em situação de fluxo contínuo.

Havia a premissa de que o lançamento do chorume na fase sólida, em detrimento do lançamento diretamente na fase líquida, por conta da resiliência maior da microbiota anaeróbia à amônia, poderia ser mais vantajoso por representar um gasto energético menor com oxigenação, além de potencialmente resultar em maior geração de metano. Em linhas gerais, verificou-se que a adição de lixiviado como substrato tem sim potencial para ampliar a geração de metano, no entanto, a capacidade de recebimento é limitada em função da carga orgânica volumétrica máxima que pode ser aplicada, e do dimensionamento do digestor que precisa ser projetado com folga para essa codigestão.

Quanto às propriedades físico-químicas do lodo codigerido, os ensaios realizados no âmbito desta pesquisa sugerem que pode haver uma diminuição na capacidade de desaguamento, provavelmente em razão de um aumento na fração coloidal. Em razão de um reduzido número amostral, não foi possível chegar a uma conclusão com relação ao aumento ou diminuição no teor de sólidos totais do lodo codigerido.

O ensaio de AME é uma ferramenta confiável para a realização de estudos de bancada visando a avaliação de projetos de codigestão, porém, este trabalho identificou que a execução de uma boa montagem é fundamental para obtenção de um resultado satisfatório. E, a depender da constituição dos co-substratos, definir uma mesma relação S/I para controle e tratamentos pode gerar resultados enviesados.

Isto porque a relação S/I ideal pode variar entre controle e tratamentos, já que depende da qualidade do substrato ofertado em termos de acessibilidade ou solubilidade deste. Quanto menor sua capacidade de solubilização e hidrólise, menor a disponibilidade aparente de

alimento para a microbiota, acarretando em uma velocidade de geração de metano limitada pelo substrato, e não somente pela capacidade de degradação da microbiota.

Verificou-se que uma alta carga orgânica volumétrica, ainda que mantida a proporção de 15% de chorume em v/v, pode provocar inibição aguda. De modo que o procedimento de inclusão de lixiviado regulado somente pelo percentual em vazão, não é suficiente como critério de controle, sendo sugerida a adoção de instrumentação analítica de campo para melhor ajuste dessa dosagem.

Quanto aos parâmetros acidez volátil, alcalinidade total e relação AAV/AB, todos os tratamentos apresentaram resultados finais satisfatórios, o que contribui para sugerir que a codigestão do chorume com lodo de processo, é viável em termos de equilíbrio da digestão anaeróbia.

O resultado do EXP1 é aderente à ideia de que o chorume, em razão da presença de substâncias húmicas, melhora a conversão da DQO ofertada na forma particulada em matéria orgânica solúvel, conforme amplamente reportado na literatura.

Apesar da co-digestão dos substratos estudados ser considerada, pela literatura científica, vantajosa em razão de possibilitar uma complementariedade na oferta de nutrientes a fim de atingir uma proporção DQO: N: P ideal, na prática, revelou-se que isso pode ser difícil de se ajustar. O EXP1, por exemplo, considerado bem sucedido, não obedeceu a proporção considerada ótima.

Com relação ao efeito das correntes de retorno à fase líquida, a simulação utilizando o software Biowin, mostrou que o impacto da adição de chorume a 15% v/v é baixo em termos de incremento de amônia. Já com relação aos metais, a avaliação analítica feita ao fim do EXP1 sugere não haver aumento na labilidade dos metais após a digestão anaeróbia, a ponto de incrementar a carga de metais dissolvidos que retornam à fase líquida.

Além disso, o estudo de respirometria mencionado na seção 4.6, sugere que a demanda por oxigênio na fase líquida pode vir a reduzir após o redirecionamento do rejeito à fase sólida, no entanto, há que se considerar a capacidade menor de vazão de recebimento da fase sólida em relação ao hoje praticado na ETE Barueri, qual seja, o lançamento massivo, e em pulsos, de toda a demanda da Attend Ambiental na entrada da Estação.

5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Considerando que o índice pluviométrico interfere na concentração dos metais no chorume, devido às suas diferenças de mobilidade e disponibilidade no material aterrado,

recomenda-se realizar a caracterização do lixiviado em duas campanhas, de acordo com a sazonalidade. Assim obtém-se uma faixa de variação mais confiável para as concentrações de metais.

A realização de análises intermediárias, obtidas a partir do sacrifício de algumas réplicas, seria muito útil no esclarecimento dos mecanismos envolvidos durante as etapas de aclimação (lag), clímax e decaimento, dos processos de codigestão avaliados neste trabalho. Principalmente no que se refere à caracterização da dinâmica de geração de ácidos orgânicos (acidogênese), o que teria contribuído substancialmente com a discussão dos resultados.

O desenho experimental executado precisaria ser refeito com um lodo de processo mais típico, isto é, composto por uma mistura de 60% de lodo primário e 40% de lodo de excesso em volume, como é convencional ao processo da ETE Barueri, mas que não ocorreu durante a realização deste trabalho em função de problemas operacionais ocorridos no período.

Recomenda-se executar ensaios complementares com montagens que adotem 1,5 como relação fixa de S/I, porém com variações mais distintas na concentração de lixiviado, já que a expressão de toxicidade ou inibição tem relação direta com a concentração de exposição. Esta execução poderia enriquecer o entendimento acerca da viabilidade da codigestão proposta neste trabalho.

Uma montagem experimental com a oferta de glicose como substrato, ao invés de lodo de processo, permitiria avaliar o impacto do lixiviado de uma maneira mais clara, isto é, com menos interferências. O uso de lodo de processo como co-substrato permite que interações entre ele e o lixiviado ocorram, o que é uma característica importante de ser avaliada, no entanto, as dificuldades relacionadas com a solubilização desse lodo de processo, que também pode variar muito em qualidade, dificultam a obtenção de um referencial comparativo estável.

É interessante complementar o estudo com uma avaliação mais detalhada do biogás gerado, verificando as modificações no percentual de todos os gases que o compõem, e não somente do metano, bem como a possível liberação de novos compostos gasosos de alto peso molecular, em decorrência das características particulares do substrato misto. O hidrogênio em particular, sabidamente um dos gases liberados, precisa ser incluído no padrão de calibração do equipamento de cromatografia gasosa utilizado.

Convém enriquecer a avaliação com a execução de ensaios de bancada em reatores de fluxo contínuo, já que essa simples mudança na dinâmica operacional pode refletir na velocidade de aclimação dos microrganismos, na eficiência de degradação da matéria orgânica mais complexa, e na suscetibilidade à carga de exposição.

A execução de uma metodologia que permita identificar qual o agente de inibição mais relevante, por exemplo se é a amônia livre ou os sais, bem como qual o principal grupo de microrganismos afetado por ele, poderia auxiliar grandemente na definição de estratégias de pré-tratamento para o lixiviado.

A adoção de técnicas de sequenciamento genético, e/ou aplicação de testes Live/Dead nas situações de maior exposição de carga, permitiriam uma avaliação mais detalhada das alterações na comunidade microbiana provocadas pela inclusão do chorume.

E, a fim de contribuir com informações mais palpáveis para o planejamento urbano do manejo dos resíduos gerados na cidade, seria interessante estimar temporalmente a produção média de chorume por número de habitantes, e avaliar a capacidade de recebê-lo nas ETEs que atendem de maneira correspondente a mesma população.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. A.; JINGSONG, G.; PING, L. Z.; YA, P. Y.; AL- REKABI, W. S. Review on landfill leachate treatments. **Am. J. Appl. Sci.**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 672–684, 2009.
- ABREU, E. F.; ARAUJO, J. C. Procedimento operacional padrão para realização do ensaio de atividade metanogênica específica (AME) de lodos anaeróbios. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/ UFMG, 2010. 23 p. Procedimento Operacional Padrão (POP) da Rede PROSAB Microbiologia para o Saneamento Básico. Área: Bacteriologia. Disponível em: <http://www.prosabmicrobiologia.org.br/rede/manuais>. Acesso em: 23 ago. 2010.
- AMARAL, A. C.; STEINMETZ, R. L. R.; KUNZ, A. O Processo de Biodigestão. In.: KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. 1. ed. Sbera: Embrapa Suíno e Aves, 2019a. cap. 1. p. 13-26.
- AMARAL, A. C.; STEINMETZ, R. L. R.; KUNZ, A. Parâmetros de Importância ao Processo de Digestão Anaeróbia. In.: KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; AMARAL, A. C. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. 1. ed. Sbera: Embrapa Suíno e Aves, 2019b. cap. 2. p. 27-40.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 22th ed., Washington: American Public Health Association, 2022.
- AMODEO, C.; HAFNER, S. D.; TEIXEIRA FRANCO, R.; BENBELKACEM, H.; MORETTI, P.; BAYARD, R.; BUFFIÈRE, P. How Different Are Manometric, Gravimetric, and Automated Volumetric BMP Results? **Water**, [S.l.], v. 12, n. 1839, 2020.
- ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assessment of the Anaerobic Biodegradability of Macropollutants. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol**, [S.l.], v. 3, p.117–129, 2004.
- ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J. B. Defining the Biomethane Potential (BMP) of Solid Organic Wastes and Energy Crops: A Proposed Protocol for Batch Assays. **Water Sci Technol**, [S.l.], v. 59, n. 5, p. 27-34, 2009.
- AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L. O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 192-201, jun. 2007.
- ASTALS, S.; KOCH, K.; WEINRICH, S.; HAFNER, S. D.; TAIT, S.; PECES, M. Impact of Storage Conditions on the Methanogenic Activity of Anaerobic Digestion Inocula. **Water**, [S.l.], v. 12, n. 5, p. 1321, 2020.
- AZARMANESH, R.; QARETAPEH, M. Z.; ZONOOZI, M. H.; GHIASINEJAD, H.; ZHANG, Y. Anaerobic co-digestion of sewage sludge with other organic wastes: a

comprehensive review focusing on selection criteria, operational conditions, and microbiology. **Chemical Engineering Journal Advances**, [S.l.], p. 100453, 2023.

AZMAN, S.; KHADEM, A.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J.; PLUGGE, C. Mitigation of Humic Acid Inhibition in Anaerobic Digestion of Cellulose by Addition of Various Salts. **Bioengineering**, [S.l.], v. 2, n. 2, p. 54–65, 2015.

BARBA, L. E.; TORRES, P.; RODRÍGUEZ VICTORIA, J. A.; MARMOLEJ, L. F.; PIZARRO, C. A. Influencia de la incorporación de lixiviados sobre la biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales domésticas. **Ingeniería e Investigación**, Bogotá, v. 30, n. 1, p. 75-79, 2010.

BAUN, D. L.; CHRISTENSEN, T. H. Speciation of Heavy Metals in Landfill Leachate: A Review. **Waste Management & Research**, [S.l.], v. 22, n. 1, p. 3–23, 2004.

BERENJKAR, P.; ISLAM, M.; YUAN, Q. Co-treatment of sewage sludge and mature landfill leachate by anaerobic digestion. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [S.l.], v. 16, p. 2465-2474, 2019.

BOCCHIGLIERI, Miriam Moreira. **O lixiviado dos aterros sanitários em estações de tratamento dos sistemas públicos de esgotos**. 2010. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

BOE, K.; BATSTONE, D. J.; STEYER, J. P.; ANGELIDAKI, I. State indicators for monitoring the anaerobic digestion process. **Water Research**, [S.l.], v. 44, n. 20, p. 5973–5980, 2010.

BORJA, R.; RINCÓN, B. Biogas Production. In: **Reference Module in Life Sciences**. [S. l.: s. n.], 2017.

BRASIL, **Resolução CONAMA nº 498, de 19 de agosto de 2020**. Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos, e dá outras providências. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, [2020]. Disponível em: https://conama.mma.gov.br/index.php?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=797. Acesso em: 02 nov. 2023.

BRAGUGLIA, C. M.; GIANICO, A.; GALLIPOLI, A.; MININNI, G. The impact of sludge pre-treatments on mesophilic and thermophilic anaerobic digestion efficiency: Role of the organic load. **Chemical Engineering Journal**, [S.l.], v. 270, p. 362–371, 2015.

CAVALCANTE, Sulamita de Souza Silva. **Geração de lixiviados de aterros sanitários na Região Metropolitana de São Paulo: histórico e perspectivas**. 2014. Dissertação (Mestrado em Saúde Ambiental) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

CARRILLO-REYES, J.; BUITRÓN, G.; MORENO-ANDRADE, I.; TAPIA-RODRÍGUEZ, A. C.; PALOMO-BRIONES, R.; RAZO-FLORES, E., ... ZAIAT, M. Standardized protocol for determination of biohydrogen potential, **MethodsX**, [S.l.], v. 7, p. 100754, 2020.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016. 379 p.

CHEN, Q.; LUO, Z.; HILLS, C.; XUE, G.; TYRER, M. Precipitation of heavy metals from wastewater using simulated flue gas: Sequent additions of fly ash, lime and carbon dioxide. **Water Research**, [S.l.], v. 43, n. 10, p. 2605–2614, 2009.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 99, n.10, p. 4044–4064, 2008.

DABAGHIAN, Z.; PEYRAVI, M.; JAHANSHAHI, M.; RAD, A. S. Potential of advanced nanostructured membranes for landfill leachate treatment: a review. **Chembioeng Rev.**, [S.l.], v. 5, p. 119–138, 2018.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources: an introduction**. [S.l.]: John Wiley & Son, 2011. 578 p.

DOLFING, J.; BLOEMEN, G. B. M. Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. **J. Microbiological Methods**, [S.l.], v. 4, p. 1-12, 1985.

ELLOUZE, M.; ALOUI, F.; SAYADI, S. Performance of Biological Treatment of High-Level Ammonia Landfill Leachate. **Environmental Technology**, [S.l.], v. 29, n. 11, p. 1169–1178, 2008.

ESPINOSA-LORÉNS, M. D. C.; FERNÁNDEZ, A.; LÓPEZ, M.; RAMOS, Y.; CORREA, O.; ÁLVAREZ, C. Determinación de sustancias húmicas en lixiviados de vertederos de residuos sólidos urbanos. **Revista Cubana de Química**, [S.l.], v. 24, n. 2, p. 175-180, 2012.

EVANS, W. C.; FUCHS, G. Anaerobic Degradation of Aromatic Compounds. **Annual Review of Microbiology**, [S.l.], v. 42, n. 1, p. 289–317, 1988.

FILER, J.; DING, H. H.; CHANG, S. Biochemical Methane Potential (BMP) Assay Method for Anaerobic Digestion Research. **Water**, [S.l.], v. 11, n. 5, p. 921, 1 maio 2019.

FOGHT, J. Anaerobic Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons: Pathways and Prospects. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 15, n. 2-3, p. 93–120, 2008.

FORESTI, E. Fundamentos do processo de digestão anaeróbia. In: **Anais III Taller y Seminario Latinoamericano: tratamiento anaeróbio de aguas residuales**. Montevideo, Uruguay, 1994, p. 97-110.

FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; VAN HAANDEL, A.; ZAIAT, M.; CAVALCANTI, P. F. F. Fundamentos do Tratamento Anaeróbio. In: CAMPOS, J.R. (coord.). **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**. Rio de Janeiro: PROSAB, 1999. cap 2, 436 p.

FUCHS, G. Anaerobic Metabolism of Aromatic Compounds. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [S.l.], v. 1125, n. 1, p. 82–99, 2008.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. **Journal of Environmental Management**, [S.l.], v. 92, n. 3, p. 407–418, 2011.

GAO, M.; LI, S.; ZOU, H.; WEN, F.; CAI, A.; ZHU, R.; ... GU, L. Aged landfill leachate enhances anaerobic digestion of waste activated sludge. **Journal of Environmental Management**, [S.l.], v. 293, p. 112853, 2021.

GHASIMI, D. S. M.; ABOUDI, K.; DE KREUK, M.; ZANDVOORT, M. H.; VAN LIER, J. B. Impact of lignocellulosic-waste intermediates on hydrolysis and methanogenesis under thermophilic and mesophilic conditions. **Chem. Eng. J.**, [S.l.], v. 295, p. 181–191, 2016.

GOMES, Luciano de Andrade. **Desempenho de um reator anaeróbico em bateladas sequenciais no tratamento de lixiviado proveniente da degradação de resíduos sólidos urbanos**. 2008. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

GRAY, N. F. Capillary Suction Time (CST). **Progress in Filtration and Separation**, [S.l.], p. 659–670, 2015.

GUVEN, H.; AKCA, M. S.; IREN, E.; KELES, F.; OZTURK, I.; ALTINBAS, M. Co-digestion performance of organic fraction of municipal solid waste with leachate: Preliminary studies. **Waste Management**, [S.l.], v. 71, p. 775–784, 2018.

HAFNER, S. D.; ASTALS, S. Systematic error in manometric measurement of biochemical methane potential: Sources and solutions. **Waste Management**, [S.l.], v. 91, p. 147–155, 2019.

HARPER, S. R.; POHLAND, F. G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnol. Bioeng**, [S.l.], v. 28, n. 4, p. 585–602, 1986.

HEIDER, J.; FUCHS, G. Anaerobic Metabolism of Aromatic Compounds. **European Journal of Biochemistry**, [S.l.], v. 243, n. 3, p. 577–596, 1997.

HE, Z. W.; WANG, F.; ZOU, Z. S.; TANG, C. C.; ZHOU, A. J.; LIU, W.; REN, Y. X.; LI, Z.; WANG, A. Recent advances and perspectives in roles of humic acid in anaerobic digestion of waste activated sludge. **Chemical Engineering Journal**, [S.l.], v. 466, 2023.

HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; WIERINCK, I. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, [S.l.], v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.

HOLLIGER, C.; FRUTEAU-DE-LACLOS, H.; HACK, G. Methane Production of Full-Scale Anaerobic Digestion Plants Calculated from Substrate's Biomethane Potentials Compares Well with the One Measured On-Site. **Front. Energy Res.** [S.l.], v. 5, p. 1–9, 2017.

HOMBACH, S. T.; OLESZKIEWWICZ, J. A.; LAGASSE, P. Impact of landfill leachate on anaerobic digestion of sewage sludge. **Environ Technol**, [S.l.], v. 24, p. 553–560, 2003.

HUSSAIN, A.; DUBEY, S. K. Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. **Applied Water Science**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 535–542, 2015.

JACKSON-MOSS, C. A.; DUNCAN, J. R. The effect of iron on anaerobic digestion. **Biotechnology Letters**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 149–154, 1990.

JORDENING, H. J.; WINTER, J. **Environmental Biotechnology**: concepts and applications. Weinheim: Wiley-Vch, 2005. 463 p.

KHADEM, A. F.; AZMAN, S.; PLUGGE, C. M.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; STAMS, A. J. M. Effect of humic acids on the activity of pure and mixed methanogenic cultures. **Biomass Bioenergy**, [S.l.], v. 99, p. 21–30, 2017.

KLAPPER, L.; MCKNIGHT, D. M.; FULTON, J. R.; BLUNT-HARRIS, E. L.; NEVIN, K. P.; LOVLEY, D. R.; HATCHER, P. G. Fulvic Acid Oxidation State Detection Using Fluorescence Spectroscopy. **Environmental Science & Technology**, [S.l.], v. 36, n. 14, p. 3170–3175, 2002.

KURADE, M. B.; SAHA, S.; KIM, J. R.; ROH, H. S.; JEON, B. H. Microbial community acclimatization for enhancement in the methane productivity of anaerobic co-digestion of fats, oil, and grease. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 296, p. 122294, 2019.

LIU, Z.; WU, W.; SHI, P.; GUO, J.; CHENG, J. Characterization of dissolved organic matter in landfill leachate during the combined treatment process of air stripping, Fenton, SBR and coagulation. **Waste Manage**, [S.l.], v. 41, p. 111–118, 2015.

LONG, J. L.; STENSEL, H. D.; FERGUSON, J. F.; STRAND, S. E.; ONGERTH, J. E. Anaerobic and Aerobic Treatment of Chlorinated Aliphatic Compounds. **Journal of Environmental Engineering**, [S.l.], v. 119, n. 2, p. 300–320, 1993.

MECKENSTOCK, R. U.; SAFINOWSKI, M.; GRIEBLER, C. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **FEMS Microbiology Ecology**, Cambridge, v. 1, n. 49, p. 29-36, 2004.

MONTEGGIA, L. O. Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro “Atividade Metanogênica Específica”. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**, 19., Foz do Iguaçu, 1997. **Anais [...]**. Foz do Iguaçu: ABES, 1997.

MONTUSIEWICZ, A.; LEBIOCKA, M. Co-digestion of intermediate landfill leachate and sewage sludge as a method of leachate utilization. **Bioresour Technol**, [S.l.], v. 102, p. 2563–2571, 2011.

MONTUSIEWICZ, A. Co-digestion of sewage sludge and mature landfill leachate in pre-bioaugmented system. **Journal of Ecological Engineering**, [S.l.], v. 15, n. 4, 2014.

MUDHOO, A.; KUMAR, S. Effects of heavy metals as stress factors on anaerobic digestion processes and biogas production from biomass. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [S.l.], v. 10, n. 6, p. 1383–1398, 2013.

NÁTHIA-NEVES, G.; BERNI, M.; DRAGONE, G.; MUSSATTO, S. I.; FORSTER-CARNEIRO, T. Anaerobic digestion process: technological aspects and recent developments. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [S.l.], 2018.

OLESZKIEWICZ, J. A.; SHARMA, V. K. Stimulation and inhibition of anaerobic process by heavy metals – a review. **Biol. Wastes**, [S.l.], n. 31, p. 45– 67, 1990.

PAGLIUSO, J.; REGATTIERI, C. R. Estudo do aproveitamento da energia do biogás proveniente da incineração do chorume para a geração de eletricidade. **Brazilian Journal of Environmental Sciences (RBCIAMB)**, [S.l.], n. 10, p. 32-38, 2008.

PARKIN, G. F.; LYNCH, N. A.; KUO, W.; VAN KEUREN, E. L.; BHATTACHARYA, S. K. Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate. **Res. J. Water Pollut. Control Fed**, [S.l.], v. 62, p. 780– 788, 1990.

PARRA, A. P. O.; TORRES, P. L.; MARMOLEJO, L. F. R.; CÁRDENAS, M. C. L.; VÁSQUEZ, C. F.; TORRES, W. A. L.; ORDOÑEZ, J. A. A. Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. **Ingeniería, Investigación y Tecnología**, [S.l.], v. 16, n. 4, p. 515-526, 2015.

PENNA, Jorge Adílio. **Estudo da metodologia do teste de atividade metanogênica específica**. 1994. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1994.

PHAM, C. H.; TRIOLO, J. M.; CU, T. T. T.; PEDERSEN, L.; SOMMER, S. G. Validation and Recommendation of Methods to Measure Biogas Production Potential of Animal Manure. **Asian-Australas. J. Anim. Sci.** [S.l.], v. 26, p. 864–873, 2013.

PIRES, Mariana Pinheiro. **Análise da eficiência do processo de digestão anaeróbia de lamas da ETAR municipal do Choupal**. 2015. Tese (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade de Coimbra, Coimbra, 2015.

PUIG-CASTELLVÍ, F.; CARDONA, L.; BUREAU, C.; BOUVERESSE, D. J. R.; CORDELLA, C. B. Y.; MAZÉAS, L.; ... CHAPLEUR, O. Effect of ammonia exposure and acclimation on the performance and the microbiome of anaerobic digestion. **Bioresource Technology Reports**, [S.l.], v. 11, p. 100488, 2020.

RAPOSO, F.; DE LA RUBIA, M. A.; FERNÁNDEZ-CEGRÍ, V.; BORJA, R. Anaerobic Digestion of Solid Organic Substrates in Batch Mode: An Overview Relating to Methane Yields and Experimental Procedures. **Renew. Sustain. Energy Rev.** [S.l.], v. 16, p. 861–877, 2012.

RABUS, R.; WIDDEL, F. Anaerobic degradation of ethylbenzene and other aromatic hydrocarbons by new denitrifying bacteria. **Archives of microbiology**, [S.l.], v. 163, n. 2, p. 96-103, 1995.

RICHARDS, B. K.; CUMMINGS, R. J.; WHITE, T. E.; JEWELL, W. J. Methods for kinetic analysis of methane fermentation in high solids biomass digesters. **Biomass and Bioenergy**, [S.l.], v. 1, n. 2, p. 65–73, 1991.

RITA, Fábio. **Desempenho de reator UASB em escala piloto para o tratamento anaeróbio de líquidos percolados de resíduos sólidos urbanos**. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

ROCKNE, K. J.; STRAND, S. E. Biodegradation of bicyclic and polycyclic aromatic hydrocarbons in anaerobic enrichments. **Environ. Sci. Technol**, [S.l.], v. 32, p. 3962–3967, 1998.

SANTOS, André Felipe de Melo Sales. **Tratamento anaeróbio de chorume em conjunto com esgoto sanitário**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

SHOFIE, M.; QIAO, W.; LI, Q.; TAKAYANAGI, K.; LI, Y. Y. Comprehensive monitoring and management of a long-term thermophilic CSTR treating coffee grounds, coffee liquid, milk waste, and municipal sludge. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 192, p. 202–211, 2015.

SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Water Research**, [S.l.], v. 27, n. 8, p. 1361–1376, 1993.

STEIL, Lara. **Avaliação do uso de inóculos em biodigestores operados com resíduos de aves de postura, frangos de corte e suíno**. 2001. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2001.

SUSCHKA, J.; GRUBEL, K. Low intensity surplus activated sludge pretreatment before anaerobic digestion. **Archives of Environmental Protection**, [S.l.], v. 43, n. 4, p. 50–57, 2017.

TENG, C.; ZHOU, K.; PENG, C.; CHEN, W. Characterization and treatment of landfill leachate: A review. **Water Research**, [S.l.], v. 203, p. 117525, 2021.

TIEDT, O.; FUCHS, J.; EISENREICH, W.; BOLL, M. A catalytically versatile benzoyl-CoA reductase, key enzyme in the degradation of methyl- and halobenzoates in denitrifying bacteria, **Journal of Biological Chemistry**, Volume, [S.l.], v. 293, n. 26, p. 10264-10274, 2018.

TORRES-LOZADA, P.; BARBA-HO, L. E.; OJEDA, C.; MARTÍNEZ, J.; CASTAÑO, J. Influencia de la edad de lixiviados sobre su composición físico-química y su potencial de toxicidad. **Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 245-255, 2014.

TSUTIYA, M. T.; COMPARINI, J. B.; ALÉM SOBRINHO, P.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, P. T.; MELFI, A. J.; ... MARQUES, M. O. **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2001. 468p. ISBN 8590082350.

VEREIN DEUTCHER INGENIEURE. 4630: Fermentation of organic materials- Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. In.: VEREIN DEUTCHER INGENIEURE. **VDI Handbuch Energietechnik**. Berlin: Beuth Verlag GmbH, 2006, p. 44-59.

VON SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: lodos ativados**. 4. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016. 461 p.

WANG, B.; STROMBERG, S.; LI, C.; NGES, I. A.; NISTOR, M.; DENG, L.; LIU, J. Effects of Substrate Concentration on Methane Potential and Degradation Kinetics in Batch Anaerobic Digestion. **Bioresour. Technol.**, [S.l.], v. 194, p. 240–246, 2015.

WANG, B.; BJORN, A.; STROMBERG, S.; NGES, I. A.; NISTOR, M.; LIU, J. Evaluating the Influences of Mixing Strategies on the Biochemical Methane Potential Test. **Journal of Environmental Management**, [S.l.], v. 185, p. 54–59, 2016.

WANG, K.; LI, L.; TAN, F.; WU, D. Treatment of Landfill Leachate Using Activated Sludge Technology: A Review. **Archaea**, [S.l.], v. 2018, p. 1–10, 2018.

WEELINK, S. A. B.; VAN EEKERT, M. H. A.; STAMS, A. J. M. Degradation of BTEX by anaerobic bacteria: physiology and application. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, [S.l.], v. 9, n. 4, p. 359–385, 2010.

XING, B.S.; HAN, Y.; CAO, S.; WANG, X. C. Effects of long-term acclimatization on the optimum substrate mixture ratio and substrate to inoculum ratio in anaerobic codigestion of food waste and cow manure. **Bioresource Technology**, [S.l.], n. 123994, 2020a.

XING, B.S.; HAN, Y.; WANG, X. C.; CAO, S.; WEN, J.; ZHANG, K. Acclimatization of anaerobic sludge with cow manure and realization of high-rate food waste digestion for biogas production. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 315, n. 123830, 2020b.

XU, Y.; LU, Y.; DAI, X.; LIU, M.; DAI, L.; DONG, B. Spatial Configuration of Extracellular Organic Substances Responsible for the Biogas Conversion of Sewage Sludge. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, [S.l.], v. 6, n. 7, p. 8308–8316, 2018a.

XU, Y.; LU, Y.; DAI, X.; DAI, L. Enhancing Anaerobic Digestion of Waste Activated Sludge by Solid–Liquid Separation via Isoelectric Point Pretreatment. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, [S.l.], v. 6, n. 11, p. 14774–14784, 2018b.

YANG, X.; MENG, L.; MENG, F. Combination of self-organizing map and parallel factor analysis to characterize the evolution of fluorescent dissolved organic matter in a full-scale landfill leachate treatment plant. **Sci. Total Environ.**, [S.l.], v. 654, p. 1187–1195, 2019.

YAN, M.; FOTIDIS, I. A.; TIAN, H.; KHOSHNEVISAN, B.; TREU, L.; TSAPEKOS, P.; ANGELIDAKI, I. Acclimatization contributes to stable anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste under extreme ammonia levels: Focusing on microbial community dynamics. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 286, p. 121376, 2019.

YAP, S. D.; ASTALS, S.; LU, Y.; PECES, M.; JENSEN, P. D.; BATSTONE, D. J.; TAIT, S. Humic acid inhibition of hydrolysis and methanogenesis with different anaerobic inocula. **Waste Management**, [S.l.], v. 80, p. 130–136, 2018.

YOON, Y.; LEE, S.; KIM, K.; JEON, T.; SHIN, S. Study of anaerobic co-digestion on wastewater treatment sludge and food waste leachate using BMP test. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, [S.l.], v. 20, n. 1, p. 283–292, 2017.

ZIYANG, L.; YOUCAI, Z.; TAO, Y.; YU, S.; HUILI, C.; NANWEN, Z. Natural attenuation and characterization of contaminants composition in landfill leachate under different disposing ages. **Sci. Total Environ**, [S.l.], v. 407, p. 3385-3391, 2009.

APÊNDICE A - Ensaio de Atividade Metanogênica Específica — Método de medição volumétrica com análise da composição por cromatografia gasosa

Princípio do Método

O desempenho de reatores anaeróbios é influenciado: i) pela qualidade da carga orgânica ofertada, ii) pelo tempo de detenção hidráulica, iii) pelas condições de operação, tais como temperatura e homogeneização, iv) e principalmente pela capacidade biológica da microbiota. O ensaio de atividade metanogênica específica (AME) demonstra a capacidade da microbiota presente em um reator real, em ambiente controlado de laboratório, a partir da incubação de uma amostra de inóculo com uma fonte de alimento em frascos de vidro sob condição anaeróbia. A quantificação do volume de metano gerado se baseia em amostragens periódicas com seringas esmerilhadas, seguidas da análise da composição do biogás por cromatografia gasosa. A maior taxa de produção de metano acumulado é normalizada pela massa de inóculo exposta, podendo ser expressa em $\text{Nml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{SV} \cdot \text{dia}^{-1}$.

Campo de Aplicação

As utilidades do ensaio de AME são variadas: i) avaliar o efeito de compostos potencialmente tóxicos ou inibidores; ii) avaliar o grau de degradabilidade de substratos específicos; iii) monitorar mudanças na condição da microbiota; iv) identificar a capacidade máxima de remoção de DQO de um substrato, e assim estimar o limite de carga orgânica aplicada; v) e avaliar parâmetros cinéticos. Este procedimento pode ser utilizado tanto para substratos conhecidos, quanto para substratos mistos; bem como, inóculo proveniente de digestor, ou proveniente de reator anaeróbio de fluxo ascendente.

Referência normativa

Ainda não existe referência normativa brasileira para este ensaio. As referências bibliográficas utilizadas estão citadas ao final deste documento.

Termos e definições

carta-controle: representação gráfica dos resultados da avaliação periódica do ensaio com um determinado substrato de referência.

diauxia: degradação de substrato misto em duas fases distintas.

endogenia: condição em que a microbiota demanda energia mínima, necessária somente para manter as funções basais das células; ocorre na ausência de fonte alimentar disponível no meio reacional.

ensaio preliminar: ensaio que tem por objetivo ajustar a montagem experimental a fim de obter resultados confiáveis no ensaio definitivo.

espaço aéreo (*headspace*): espaço interno do frasco reacional ocupado por gás.

grupo controle: réplicas que reproduzem as condições do ensaio sem a presença de substância teste.

hidrólise: quebra enzimática de moléculas de cadeias longas em monômeros; etapa inicial da degradação anaeróbia de substratos complexos.

inóculo: amostra da microbiota a qual pretende-se expor a determinado substrato.

inibição aguda: efeito imediato de redução na produção de metano em comparação com o grupo controle.

metanogênese: última etapa da degradação anaeróbia em que compostos como acetato, gás hidrogênio e gás carbônico são convertidos em metano pelas arqueias.

relação alimento/microrganismo: relação de proporcionalidade entre a carga de alimento ofertada e a carga de microrganismos expostos.

seringa esmerilhada: seringa de vidro que não oferece resistência à movimentação de seu êmbolo.

solução nutritiva: solução composta por macro e micronutrientes necessários ao crescimento celular e à manutenção das condições ambientais ótimas.

substrato de referência: substrato utilizado para acompanhamento periódico da capacidade bioquímica da microbiota.

substrato: composto(s) orgânico (s) utilizado como fonte de alimento.

tempo de incubação: período de duração do ensaio.

pré-digestão: preparação anterior à realização do ensaio, que se baseia na incubação prévia do inóculo em meio sem oferta de alimento, com a finalidade de oxidar toda a matéria orgânica residual.

troca de atmosfera: lavagem do meio líquido e aéreo do frasco de reação com gás não reativo livre de oxigênio, antes de seu fechamento.

1. Requisitos

1.1 Configuração do cromatógrafo

1.1.1 O método cromatográfico deve ser construído a partir da calibração e integração realizadas com mistura padrão certificada, que contenha em sua composição: metano, gás carbônico, oxigênio, gás sulfídrico, em proporção similar àquelas tipicamente resultantes da digestão anaeróbia; bem como o gás utilizado na troca de atmosfera, por exemplo, o nitrogênio.

1.1.2 Recomenda-se que a calibração do método seja feita utilizando-se as mesmas condições paramétricas que serão utilizadas durante as medições do ensaio de AME.

1.2 Qualidade das amostras

1.2.1 Idealmente, as amostras de inóculo retiradas de reator anaeróbio real, bem como de

substrato misto de processo de ETE, devem obedecer aos requisitos da Tabela 1.

Tabela 1 – Requisitos qualitativos das amostras

Característica	Inóculo	Substrato
Alcalinidade total	$> 1,5 \text{ g CaCO}_3/\text{L}^1$	não se aplica
Acidez volátil	$< 1 \text{ g CH}_3\text{COOH}/\text{L}^1$	não se aplica
pH	$7 < x < 8,5^1$	não se aplica
NH ₄	$< 2,5 \text{ g/L}^1$	$< 2,5 \text{ g/L}$
Relação SV/ST	$> 0,5^2$	$> 0,8^2$
Concentração no reator fonte	$15 \text{ a } 20 \text{ g SV/L}^1$	$> 20 \text{ g SV/L}$

NOTA: O critério de aceitação para amostras com características distintas das referidas na tabela acima depende do objetivo do ensaio de AME que será conduzido.

1.3 Ensaio com substrato de referência

1.3.1 Trata-se de um teste controle que permite identificar mudanças na condição do inóculo a partir do acompanhamento em carta controle.

1.3.2 O ensaio com substrato de referência deve ser executado conforme o ensaio definitivo apresentado na seção 5.

1.3.3 A AME de um inóculo rotineiramente monitorado deve se manter dentro dos limites da carta controle, a menos que estejam ocorrendo alterações operacionais que possam desequilibrar o andamento de seu metabolismo anaeróbio.

1.3.4 O ensaio com substrato de referência permite identificar com maior facilidade as oscilações na qualidade de um inóculo, por isolar apenas essa variável.

1.3.5 Sugere-se como substrato de referência a utilização de acetato de sódio, caso se pretenda avaliar apenas a metanogênese; ou a glicose, caso se pretenda avaliar o metabolismo anaeróbio como um todo.

1.3.6 Durante a montagem do ensaio com substrato de referência, convém considerar a DQO da substância adotada, e não os sólidos voláteis. Essa prática permite comparar a produção total de metano, com a produção teórica (calculada) de metano, caso o ensaio seja executado até a degradação completa.

NOTA: Considera-se a degradação completa do substrato quando a produção de metano medida incrementar a produção acumulada em menos de 1%³.

2 Método de ensaio

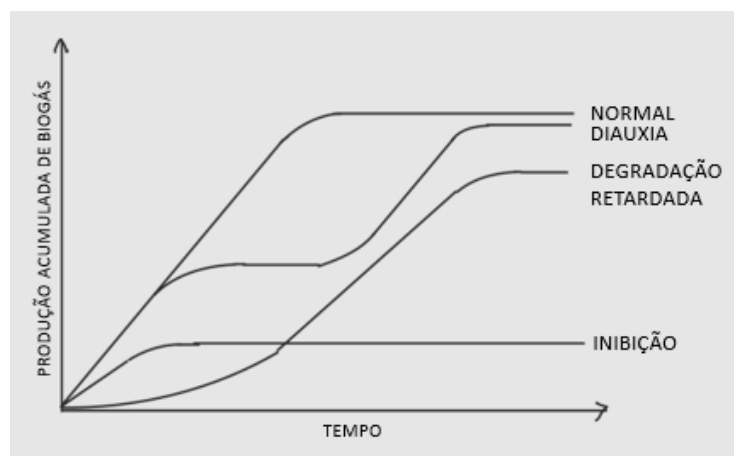
2.1 Generalidades

2.1.1 A produção de metano é registrada em um gráfico de produção acumulada versus tempo de ensaio, e o resultado da AME é obtido dividindo-se a derivada correspondente ao trecho linear de maior inclinação desta curva, pela carga de sólidos voláteis presente no inóculo contido no reator.

2.1.2 Abaixo, na figura 1, têm-se um exemplo das curvas que podem ser obtidas e seus respectivos significados. A curva dita “normal” prevê a utilização de um substrato orgânico de fácil assimilação (por exemplo acetato de sódio), de modo que a etapa de hidrólise não limita a velocidade de reação.

2.1.3 Ensaios que utilizam como substrato orgânico, o lodo misto de ETE, podem exibir uma curva de degradação retardada, a menos que o lodo concentre muita matéria orgânica solubilizada.

Figura 1 – Síndromes típicas de curvas de produção acumulada de biogás



NOTA: O ensaio de AME também pode ser executado por meio de outros métodos, os quais não fazem parte do escopo desse procedimento, a saber: i) método volumétrico direto, com lavagem em hidróxido de sódio; ii) método volumétrico indireto, com quantificação relativa em volume fixo; e iii) método manométrico.

NOTA: O ensaio de Potencial de Geração de Metano, BMP em inglês, é conduzido da mesma maneira que o AME (SMA em inglês), porém o ensaio é acompanhado até a degradação completa, e o volume total de metano produzido é dividido pela massa de substrato ofertado. Ou seja, o foco do BMP é verificar o potencial de um substrato em gerar metano, e não a capacidade metabólica da microbiota.

2.2 Reagentes

2.2.1 Todos os reagentes utilizados na realização do ensaio devem ser de grau analítico P.A, e gases com grau de pureza acima de 99,99%.

2.2.2 A solução nutritiva não demanda esterilização, no entanto, recomenda-se o armazenamento da solução 1 por até 3 meses à 4°C, e até 4 meses para solução 2⁴.

Quadro 1 – Composição da solução nutritiva ⁵

Solução	Nutriente	Concentração (mg/L)	Finalidade
1	NaHCO ₃	1.000	Fonte de alcalinidade
	KH ₂ PO ₄	650	Macronutriente e fonte de alcalinidade
	K ₂ HPO ₄	150	Macronutriente e fonte de alcalinidade
	NH ₄ Cl	500	Macronutriente
	MgCl ₂	100	Macronutriente
	CaCl ₂ .2H ₂ O	100	Macronutriente
	Na ₂ S.7H ₂ O	50	Agente redutor
	Extrato levedura	50	Fonte de vitaminas
2	FeCl ₃ .6H ₂ O	2,0	Micronutrientes
	ZnCl ₂	0,05	
	CuCl ₂ .2H ₂ O	0,03	
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,5	
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,05	
	AlCl ₃ .6H ₂ O	0,05	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	2,0	
	NiCl ₂ .6H ₂ O	0,05	
	H ₃ BO ₃	0,01	

2.2.3 Em capela de exaustão, pesar e adicionar separadamente o sulfeto de sódio, previamente seco, na solução 2.

2.2.4 Verifique o potencial redox da solução 1 por meio de uma sonda de ORP.

2.2.5 À solução 2 deve-se adicionar 1 ml/L de HCL concentrado a fim de evitar a formação de precipitados.

2.2.6 A solução nutritiva final é a mistura de 1 ml da solução de macronutrientes (2) para 1L da solução de micronutrientes (1).

2.3 Equipamentos e materiais

Para execução deste protocolo é necessário:

- i) Cromatógrafo gasoso com detecção por condutividade térmica, e fase sólida adequada aos gases da mistura que se pretende identificar (de preferência sem *loop* de injeção);

- ii) Provetas e balões volumétricos;
- iii) Incubadora com controlador de temperatura;
- iv) Seringa esmerilhada de vidro, de capacidade volumétrica compatível com o tamanho do frasco-reator;
- v) Frascos de borossilicato equipados com rosca vazada e septo de borracha butílica;
- vi) Agulhas cirúrgicas de 20 x 5,5 mm;
- vii) Seringa descartável de volume compatível com sistema de injeção do cromatógrafo;
- viii) Sistema de troca de atmosfera adaptado com finalização da linha em pipetas de vidro, e alimentado com gás nitrogênio de alta pureza;
- ix) Balança semianalítica;
- x) Sonda de ORP.

NOTA: *Deve-se trocar os septos de borracha de butila quando estiverem ressecados e com excesso de uso (perfurações).*

2.4 Coleta e armazenamento

2.4.1 A coleta do inóculo a ser avaliado no ensaio de AME deve ser proveniente de um reator de escala real, seja UASB ou Digestor Anaeróbio, o qual deve obedecer aos requisitos da Tabela 1.

2.4.2 O inóculo a ser utilizado deve ser o mais fresco possível, se necessário armazenagem sob refrigeração, esta não deve exceder 30 dias à 4°C ⁶.

2.4.3 O substrato por sua vez, caso se trate de lodo misto, não deve ser armazenado por mais de 5 dias à 4°C; se necessário prolongamento, congelar sob -20°C ⁷.

2.5 Pré digestão

2.5.1 A pré digestão do inóculo consiste em incubá-lo nas mesmas condições ambientais do ensaio definitivo por cerca de 7 dias, sem oferta de alimento adicional. Tal prática garante a degradação completa de qualquer resíduo alimentar que possa não ter sido degradado por completo no reator fonte do inóculo. Desse modo, o inóculo se mantém em condição de endogenia.

2.5.2 Antes da incubação, por meio do auxílio de uma pipeta de vidro, os frascos de reação devem ser insuflados com gás nitrogênio em sua fase líquida e aérea por cerca de 2 minutos, seguido de rápido fechamento do tampão de borracha.

2.5.3 O biogás gerado deve ser esgotado diariamente por meio da inserção de agulhas no septo de borracha, não sendo necessário habilitar selo hídrico, nem efetuar nenhum tipo de medição.

2.5.4 A pré digestão é fundamental para uma correta expressão dos resultados da AME, já que a quantidade de SV no inóculo deve refletir apenas a microbiota, e não possível alimento residual não contabilizado.

2.6 Interferentes

Alguns fatores podem afetar o bom desempenho do ensaio, à despeito de possíveis erros de montagem experimental, são eles:

- i) Flutuações de temperatura dentro do reator, as quais podem decorrer de problemas operacionais da estufa incubadora, ou de tempo excessivo fora da incubadora no momento das medições de volume.
- ii) Presença de oxigênio dentro do reator, em decorrência de falhas na troca de atmosfera e/ou quantidade insuficiente de agente redutor (sulfeto de sódio) na solução nutritiva.
- iii) Ausência ou baixa frequência de mistura, principalmente antes das medições, o que aprisiona parte do gás na fração líquida do reator.
- iv) Produção de gás maior do que a capacidade volumétrica da seringa, demandando uma segunda medição até a equalização com a temperatura ambiente. Esta prática distorce o volume produzido, pois a primeira medição é feita com o gás em uma pressão interna maior do que a externa, isto é, o volume é subestimado.
- v) Possíveis vazamentos pelo septo de borracha.
- vi) Obstrução parcial da agulha, o que dificulta a passagem de gás e distorce as medições.

3 Procedimentos

3.1 Ensaio preliminar

3.1.1 Um ensaio preliminar pode ser realizado para estabelecer a montagem ideal (volume de reação, carga e concentração de substrato, carga e concentração de inóculo) a ser utilizada no ensaio definitivo.

3.1.2 O ensaio preliminar, após a pré-digestão do inóculo, inicia com a experimentação de mais de uma montagem, as quais visam a obtenção de um gráfico de produção acumulada de metano que contenha um trecho linear nítido, isto é, período no qual o substrato encontra-se em excesso e a velocidade de reação é dada somente pela capacidade do inóculo.

3.1.3 Além disso, é necessário que a montagem proposta resulte em uma boa produção de metano, suficiente para gerar pressão positiva de modo a propiciar as medições de volume.

3.1.4 O ensaio preliminar é conduzido nas mesmas condições do ensaio definitivo. Para tal, planeje as montagens preliminares com auxílio do Quadro 2.

3.1.5 Com a manipulação frequente do mesmo inóculo e substrato orgânico, a execução do ensaio preliminar se torna menos relevante.

3.2 Ensaio definitivo

3.2.1 O ensaio definitivo, bem como o ensaio preliminar, deve ser planejado com auxílio do Quadro 2.

3.2.2 As concentrações originais de matéria orgânica no substrato e no inóculo devem

ser obtidas a partir de ensaios de sólidos voláteis e/ou demanda química de oxigênio, antes da montagem do ensaio, e no caso do inóculo, após a pré digestão.

Quadro 2 – Planilha de montagem dos reatores

Amostras originais	
Concentração substrato (g SV ou DQO/L)	Cs
Concentração inóculo (g SV/L)	Ci
Parâmetros do teste	
Carga substrato (g SV ou DQO)	Ms
Concentração substrato (g SV ou DQO/L)	$(Ms*1000)/V_r$
Carga inóculo (g SV)	Mi
Concentração inóculo (g SV/L)	$(Mi*1000)/V_r$
Relação S/I (SV ou DQO/SV)	Ms/Mi
Volume de reação (ml)	V_r
Montagem do reator	
Volume de substrato (ml)	$(Ms*1000)/Cs$
Volume de inóculo (ml)	$(Mi*1000)/Ci$
Solução nutritiva (ml)	$V_r - \{[(Ms*1000)/Cs] + [(Mi*1000)/Ci]\}$

3.2.3 Utilize a planilha acima variando as cargas de substrato e inóculo, e o volume de reação, a fim de obter boas condições de trabalho. O volume de reação não deve superar 75% da capacidade do frasco reator ⁸. E, a relação alimento/microrganismo deve se manter preferencialmente entre 0,4 e 0,6. Convém optar por montagens que exijam um menor volume de solução nutritiva, pois isso evita diluições excessivas com consequente interferência no desempenho do ensaio.

3.2.4 A concentração de SV no inóculo original (Ci) é limitante no momento de definição da montagem, isto é, quanto mais denso o inóculo, maior a margem de trabalho.

3.2.5 Proceda com o ensaio seguindo as etapas abaixo:

- Prepare as soluções-teste no momento da realização do ensaio utilizando provetas e/ou pipetas, obedecendo os volumes de amostra e água de diluição.
- Troque a atmosfera dos frascos de reação antes de fechá-los, fluxionando gás nitrogênio na fase líquida e aérea com auxílio de uma pipeta de vidro por cerca de 2 minutos. Feche rapidamente o tampão de borracha e rosqueie a tampa com firmeza.
- Execute o ensaio de AME em triplicata, tanto controle quanto tratamentos (se houver), pois isto diminui sua incerteza.
- Mantenha os reatores na incubadora à 30°C e aguarde alguns minutos até se aclimatarem. Na sequência retire-os individualmente e rapidamente registre seu peso

inicial em balança semianalítica.

- v. Nos quatro primeiros dias de ensaio a velocidade de reação é mais acelerada, de modo que pode ser necessário realizar ao menos duas medições diárias, haja vista que não se deve deixar a produção de biogás exceder o volume máximo da seringa esmerilhada utilizada.
- vi. Antes de iniciar a medição, agite algumas vezes o reator de maneira cíclica e anti-cíclica, porém com cuidado para evitar que o líquido alcance o septo de borracha.
- vii. Insira a seringa com a agulha em posição diagonal em relação ao plano do tampão de borracha e orifício virado para cima. Permita que o gás adentre a seringa até equalização com a pressão atmosférica ambiente. Registre o valor medido.
- viii. Se o seu dispositivo de injeção no cromatógrafo for compatível com o diâmetro de abertura da seringa esmerilhada, retire-a rapidamente e volte com o reator para dentro da incubadora. Na sequência faça a primeira injeção no cromatógrafo. Do contrário, reinjete o gás no reator e amostre-o novamente com seringa descartável, dando sequência aos demais passos.
- ix. Se houver gás suficiente, convém realizar pelo menos 3 injeções por reator. Caso não haja gás suficiente para injeção, aguarde mais tempo até a produção de gás aumentar.
- x. Após as injeções e registro, esgote todo o excesso de gás do reator (purgue) e proceda com nova pesagem do(s) reator(es) em balança semianalítica.

3.2.6 Inicie a construção do gráfico de produção de metano versus tempo a fim de visualizar facilmente a evolução do ensaio. Para tal, utilize a equação ² abaixo para descontar a contribuição do volume de vapor de água e converter o volume produzido de biogás para a CNTP:

$$V_0^{\text{tr}} = V \cdot \frac{(p - p_w) \cdot T_0}{p_0 \cdot T} \quad (\text{equação 1})$$

Onde:

V_0^{tr} = volume de biogás produzido

V = volume medido na seringa

p = pressão atmosférica do ambiente (idêntica à pressão da fase gasosa)

p_w = pressão de vapor d'água na temperatura de trabalho do teste

p_0 = pressão atmosférica na CNTP

T_0 = temperatura na CNTP

T = temperatura de trabalho do teste

Considerando 30°C como a temperatura de trabalho do teste, e assumindo a máxima pressão de vapor da água, obtém-se:

$$V_0^{\text{tr}} = V \cdot [(101,3 + 0,01055 \cdot A) - 4,24] \cdot 0,0089 \quad (\text{equação 2})$$

Onde:

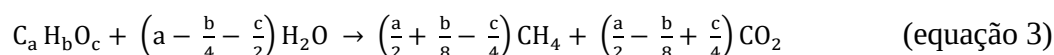
A = cota altimétrica da localidade onde o teste é conduzido (m)

3.2.7 Multiplique os volumes obtidos de biogás seco na CNTP, pela concentração de metano obtida por meio da cromatografia gasosa.

3.2.8 O ensaio pode ser encerrado quando a curva de metano acumulado começar a alcançar seu patamar máximo. Caso se pretenda obter o valor de BMP, deve-se prosseguir até o consumo total do substrato.

3.2.9 Antes de encerrar o ensaio, verifique se ao menos 50% da produção de metano teórica foi alcançada⁹. Se esse critério não for atendido, o ensaio deverá ser prolongado.

Se estiver usando substrato de fórmula química conhecida, utilize a equação 3²:



Se estiver usando substrato misto de fórmula química desconhecida, utilize as equações 4 e 5⁵:

$$Q_{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}}{f(T)} \quad (\text{equação 4})$$

$$f(T) = \frac{P \times K_{DQO}}{R \times (273 + T)} \quad (\text{equação 5})$$

Onde:

Q_{CH_4} : produção volumétrica de metano (m³/dia);

DQO_{CH_4} : carga de DQO removida no reator e convertida em metano (gDQO);

$f(T)$: fator de correção para a temperatura operacional do reator (kgDQO/m³);

P : pressão atmosférica (1 atm);

K_{DQO} : DQO correspondente a 1 mol de CH₄ (64 gDQO/mol);

R : constante dos gases (0,08206 atm.L/mol.K);

T : temperatura operacional do reator (°C).

3.2.10 Selecione períodos, com no mínimo 4 pontos, que estejam incluídos no trecho de inclinação linear da curva de produção acumulada obtida. Encontre a reta linear correspondente a cada um desses períodos, bem como seus valores de R². Para obtenção do valor de AME, divida os valores de coeficiente angular encontrados pela carga de inóculo exposta no reator.

3.2.11 O valor de AME mais consistente é aquele que corresponda ao maior período selecionado, com melhor valor de R². No entanto, é preciso considerar que o R² de períodos menores tende a ser maior, o que pode superestimar o resultado do ensaio. Sendo assim, recomenda-se adotar o valor de AME do maior período, cujo R² seja maior do que aquele do período imediatamente anterior (ver exemplo em anexo).

3.3 Validação dos resultados

3.3.1 Os resultados são considerados válidos se: i) a curva do gráfico de produção de metano apresentar uma forma dita ‘normal’ ou típica de ‘degradação retardada’, a depender do substrato orgânico utilizado ¹⁰; ii) forem utilizados pelo menos 4 pontos para definição da função de reta correspondente ao trecho linear, com valor de $R^2 > 0,99$.

4 Expressão do Resultado

4.1.1 O resultado da AME pode ser expresso em diferentes unidades, por exemplo: $\text{mlCH}_4.\text{gSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$; $\text{gDQO-CH}_4.\text{gSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$; $\text{gDQO-CH}_4.\text{gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$; $\text{molCH}_4.\text{gSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$. A partir do resultado corrigido, isto é, em gás seco e na CNTP, basta fazer as conversões de interesse considerando o coeficiente estequiométrico de oxidação do metano, qual seja: 1 ml de CH_4 na CNTP equivale a 0,0028g de DQO.

5 Validação do método de ensaio

5.1.1 O coeficiente de variação obtido para este método foi de 9,44%, utilizando acetato como substrato e incubação a 30°C.

Bibliografia

¹ FILER, J.; DING, H. H.; CHANG, S. Biochemical Methane Potential (BMP) Assay Method for Anaerobic Digestion Research. **Water**, [S.l.], v. 11, n. 5, p. 921, 1 maio 2019.

² VEREIN DEUTCHER INGENIEURE. 4630: Fermentation of organic materials-Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. In.: _____ **VDI Handbuch Energietechnik**. Berlin: Beuth Verlag GmbH, 2006, p. 44-59.

³ HOLLIGER, C.; FRUTEAU-DE-LACLOS, H.; HACK, G. Methane Production of Full-Scale Anaerobic Digestion Plants Calculated from Substrate's Biomethane Potentials Compares Well with the One Measured On-Site. **Front. Energy Res.** [S.l.], v. 5, p. 1–9, 2017.

⁴ ABREU, E. F.; ARAUJO, J. C. Procedimento operacional padrão para realização do ensaio de atividade metanogênica específica (AME) de lodos anaeróbios. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/ UFMG, 2010. 23 p. Procedimento Operacional Padrão (POP) da Rede PROSAB Microbiologia para o Saneamento Básico. Área: Bacteriologia. Disponível em: <<http://www.prosabmicrobiologia.org.br/rede/manuais>>. Acesso em: 23 ago. 2010.

⁵ CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**: reatores anaeróbios. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016. 379 p.

⁶ ASTALS, S.; KOCH, K.; WEINRICH, S.; HAFNER, S. D.; TAIT, S.; PECES, M. Impact of Storage Conditions on the Methanogenic Activity of Anaerobic Digestion Inocula. **Water**, [S.l.], v. 12, n. 5, p. 1321, 2020.

⁷ HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; WIERINCK, I. Towards a standardization of biomethane potential tests. **Water Science and Technology**, [S.l.], v. 74, n. 11, p. 2515–2522, 2016.

⁸ HAFNER, S. D.; ASTALS, S. Systematic error in manometric measurement of biochemical methane potential: Sources and solutions. **Waste Management**, [S.l.], v. 91, p. 147–155, 2019.

⁹ AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L. O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 192-201, jun. 2007.

¹⁰ HAFNER, S. D.; WEINRICH, S.; ASTALS, S. Identification of Critical Problems in Biochemical Methane Potential (BMP) Tests From Methane Production Curves. **Frontiers in Environmental Science**, [S.l.], v. 7, 2019.

Anexo Exemplificativo

Executando o ensaio de AME

A seguir, apresenta-se um resultado real proveniente do ensaio de AME realizado utilizando-se a glicose como substrato, e inóculo de digestor anaeróbio sem aquecimento.

Partindo-se das amostras originais descritas na Tabela 1, executou-se a montagem detalhada na Tabela 2.

Tabela 1. Qualidade das amostras originais utilizadas.

Amostras originais	
Concentração do inóculo (g SV/L)	10,9
Concentração da solução de glicose (g DQO/L)	15

Tabela 2. Detalhamento da montagem experimental.

(continua)

Parâmetro	Tratamento n
Carga de substrato (g DQO)	2
Concentração de substrato (g DQO/L)	3,6
Carga de inóculo (g SV)	4

Concentração de inóculo (g SV/L)	7,3
Relação S/I (DQO/SV)	0,5
Montagem do reator	
Volume de reação (ml)	550

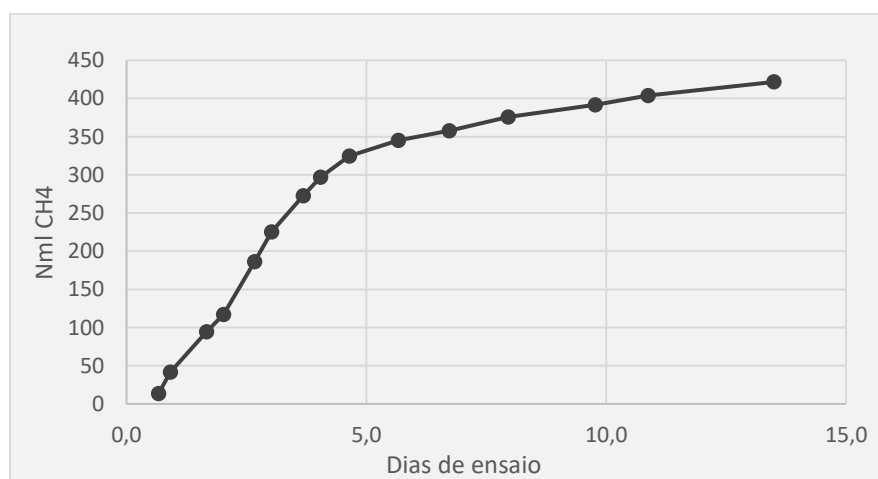
Tabela 2. Detalhamento da montagem experimental.

(conclusão)

Montagem do reator	
Volume de substrato (ml)	133,3
Volume de inóculo (ml)	367,0
Solução nutritiva (ml)	49,7

A curva obtida apresentou redução na velocidade de produção de metano a partir do quarto dia de ensaio, conforme Gráfico 1 abaixo.

Gráfico 1. Produção acumulada de metano durante ensaio de AME.



As tentativas de obter o trecho de melhor linearidade ($> R^2$) e maior declividade ($>$ coeficiente angular) estão apresentadas no quadro a seguir.

Cálculo AME				
Período	Nº de Pontos	Coeficiente linear	R^2	AME (Nml CH4/g SV.dia)
0,7 a 2,0	4	74,728	0,9923	18,6820
0,7 a 2,7	5	82,435	0,99	20,6088
0,7 a 3,0	6	86,968	0,9904	21,7420
0,7 a 3,7	7	86,53	0,9942	21,6325
0,9 a 4,0	7	85,31	0,9935	21,3275
0,7 a 4	8	85,33	0,9954	21,3325

O período entre 0,7 a 4 dias foi selecionado como a melhor opção para representar o trecho linear de máxima degradação, segundo o critério de R^2 maior ou igual a 0,99 e

maior nº de pontos possível. Sendo assim, o resultado do AME obtido neste ensaio é 21,3 mlCH₄/gSV.dia.

APÊNDICE B - Dados brutos do ensaio de repetibilidade

Tabela B-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no ensaio de repetibilidade.

(continua)

	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Rep 6
30/mai	Hora acumulada: 15,5					
Volume med (ml)	52	49	49	57	45	51
% CH4 (média)	3,808	4,1205	5,0248	5,0137	4,2219	3,4026
30/mai	Hora acumulada: 23,5					
Volume med (ml)	24	26	26	26	26	26
% CH4 (média)	8,59145	8,6816	9,6499	9,8866	8,5618	8,335
31/mai	Hora acumulada: 40					
Volume med (ml)	71	69	72	70	72	72
% CH4 (média)	13,3749	13,2426	14,275	14,7594	12,9017	13,2675
31/mai	Hora acumulada: 48					
Volume med (ml)	24	18	26	24	18	18
% CH4 (média)	17,5206	16,9824	18,5252	18,5758	16,966	17,142
01/jun	Hora acumulada: 64					
Volume med (ml)	54	62	66	62	62	59
% CH4 (média)	21,6664	20,7222	22,7755	22,3923	21,0303	21,0165
01/jun	Hora acumulada: 72					
Volume med (ml)	25	26	28	19	18	15
% CH4 (média)	24,9272	24,2596	26,3727	26,1044	24,4368	24,2383
02/jun	Hora acumulada: 86,5					
Volume med (ml)	48	51	40	56	68	55
% CH4 (média)	28,1879	27,7969	29,9699	29,8164	27,8432	27,4601
02/jun	Hora acumulada: 96					
Volume med (ml)	28	27	24	23	22	22
% CH4 (média)	31,2837	30,8497	33,2614	33,09103	30,9011	30,4795
03/jun	Hora acumulada: 120,5					
Volume med (ml)	95	120	88	90	91	94
% CH4 (média)	35,6453	36,8724	39,5444	38,7001	36,2871	36,6638
05/jun	Hora acumulada: 159,5					
Volume med (ml)	130	116	140	110	88	100
% CH4 (média)	45,3289	44,4245	47,5432	47,9316	45,6336	45,5924
06/jun	Hora acumulada: 187					
Volume med (ml)	86	74	88	28	80	77
% CH4 (média)	49,6356	51,4022	53,0428	47,716	50,4454	50,4848
07/jun	Hora acumulada: 208,5					
Volume med (ml)	66	68	68	42	62	64
% CH4 (média)	52,8269	54,009	54,2838	56,064	53,1126	52,636
08/jun	Hora acumulada: 235					
Volume med (ml)	76	70	65	48	67	65
% CH4 (média)	54,9624	56,4978	57,1802	58,7805	55,6321	55,8473

09/jun

Hora acumulada: 255,5

Tabela B-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no ensaio de repetibilidade.

(conclusão)

	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Rep 6
09/jun	Hora acumulada: 255,5					
Volume med (ml)	65	62	60	33	70	64
% CH ₄ (média)	57,0978	58,9866	60,0767	61,497	58,1516	59,0586

Tabela B-2 – Cálculo para obtenção do metano acumulado na réplica 1 do ensaio de repetibilidade.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH ₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
15,5	0,6	52	48,46	1,85	1,85
23,5	1,0	24	22,37	1,92	3,77
40	1,7	71	66,17	8,85	12,62
48	2,0	24	22,37	3,92	16,54
64	2,7	54	50,33	10,90	27,44
72	3,0	25	23,30	5,81	33,25
86,5	3,6	48	44,74	12,61	45,86
96	4,0	28	26,10	8,16	54,02
120,5	5,0	95	88,54	31,56	85,58
159,5	6,6	130	121,16	54,92	140,50
187	7,8	86	80,15	39,78	180,29
208,5	8,7	66	61,51	32,49	212,78
235	9,8	76	70,83	38,93	251,71
255,5	10,6	65	60,58	34,59	286,30

Tabela B-2 – Cálculo para obtenção do metano acumulado na réplica 2 do ensaio de repetibilidade.

(continua)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH ₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
15,5	0,6	49	45,67	1,88	1,88
23,5	1,0	26	24,23	2,10	3,99
40	1,7	69	64,31	8,52	12,50
48	2,0	18	16,78	2,85	15,35
64	2,7	62	57,78	11,97	27,32

Tabela B-2 – Cálculo para obtenção do metano acumulado na réplica 2 do ensaio de repetibilidade.

(conclusão)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
72	3,0	26	24,23	5,88	33,20
86,5	3,6	51	47,53	13,21	46,42
96	4,0	27	25,16	7,76	54,18
120,5	5,0	120	111,84	41,24	95,42
159,5	6,6	116	108,11	48,03	143,44
187	7,8	74	68,97	35,45	178,90
208,5	8,7	68	63,38	34,23	213,12
235	9,8	70	65,24	36,86	249,98
255,5	10,6	62	57,78	34,08	284,07

Tabela B-3 – Cálculo para obtenção do metano acumulado na réplica 3 do ensaio de repetibilidade.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
15,5	0,6	49	45,67	2,29	2,29
23,5	1,0	26	24,23	2,34	4,63
40	1,7	72	67,10	9,58	14,21
48	2,0	26	24,23	4,49	18,70
64	2,7	66	61,51	14,01	32,71
72	3,0	28	26,10	6,88	39,59
86,5	3,6	40	37,28	11,17	50,77
96	4,0	24	22,37	7,44	58,21
120,5	5,0	88	82,02	32,43	90,64
159,5	6,6	140	130,48	62,03	152,67
187	7,8	88	82,02	43,50	196,18
208,5	8,7	68	63,38	34,40	230,58
235	9,8	65	60,58	34,64	265,22
255,5	10,6	60	55,92	33,59	298,81

Tabela B-4 – Cálculo para obtenção do metano acumulado na réplica 4 do ensaio de repetibilidade.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
15,5	0,6	57	53,12	2,66	2,66
23,5	1,0	26	24,23	2,40	5,06
40	1,7	70	65,24	9,63	14,69
48	2,0	24	22,37	4,16	18,84
64	2,7	62	57,78	12,94	31,78
72	3,0	19	17,71	4,62	36,41
86,5	3,6	56	52,19	15,56	51,97
96	4,0	23	21,44	7,09	59,06
120,5	5,0	90	83,88	32,46	91,52
159,5	6,6	110	102,52	49,14	140,66

Tabela B-5 – Cálculo para obtenção do metano acumulado na réplica 5 do ensaio de repetibilidade.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
15,5	0,6	45	41,94	1,77	1,77
23,5	1,0	26	24,23	2,07	3,85
40	1,7	72	67,10	8,66	12,50
48	2,0	18	16,78	2,85	15,35
64	2,7	62	57,78	12,15	27,50
72	3,0	18	16,78	4,10	31,60
86,5	3,6	68	63,38	17,65	49,25
96	4,0	23	21,44	6,62	55,87
120,5	5,0	91	84,81	30,78	86,65
159,5	6,6	88	82,02	37,43	124,07
187	7,8	80	74,56	37,61	161,69
208,5	8,7	62	57,78	30,69	192,38
235	9,8	67	62,44	34,74	227,11
255,5	10,6	70	65,24	37,94	265,05

APÊNDICE C - Dados brutos do ensaio de linearidade

Tabela C-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no ensaio de linearidade.

	T1 - Rp 1	T1 - Rp 2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2
14/jun	Hora acumulada: 17							
Volume (ml)	240	240	240	240	120	120	120	120
CH4 (%)	14,365	14,0049	14,7671	14,3790	13,3515	13,2584	13,0757	13,2285
14/jun	Hora acumulada: 26							
Volume (ml)	189	172	118	180,5	81	57	79	80
CH4 (%)				22,7514				21,576
15/jun	Hora acumulada: 41							
Volume (ml)	190	210	102	200	98	16	94	96
CH4 (%)	29,828	31,2667	32,2767	31,1238	29,816	30,6548	29,2994	29,9234
15/jun	Hora acumulada: 50							
Volume (ml)	129	122	104	125,5	92	28	57	74,5
CH4 (%)				37,2962				35,957
16/jun	Hora acumulada: 64,5							
Volume (ml)	104	108	82	106	56	16	56	56
CH4 (%)	43,0633	43,1378	44,2048	43,4686	40,9163	42,4188	42,6368	41,9906
16/jun	Hora acumulada: 74,5							
Volume (ml)	58	56	59	57,7	30	17	30	30
CH4 (%)				46,1214				45,1694
17/jun	Hora acumulada: 89							
Volume (ml)	90	104	76	97	56	14	48	52
CH4 (%)	46,4687	50,251	49,6029	48,7742	48,7055		47,9911	48,3483
17/jun	Hora acumulada: 100							
Volume (ml)	50	52	37	51	17	10	18	17,5
CH4 (%)				50,3023				49,5285
18/jun	Hora acumulada: 124							
Volume (ml)	60	68	38	64	27	10	26	26,5
CH4 (%)				51,8304				50,7088
19/jun	Hora acumulada: 137,5							
Volume (ml)	30	30	24	30	16	8	15	15,5
CH4 (%)	51,8934	53,4016	54,7809	53,3586	52,2473		51,5306	51,889
21/jun	Hora acumulada: 185,5							
Volume (ml)	65	78	46	71,5	43	16	44	43,5
CH4 (%)	55,4996	55,472	51,6893	54,2203	53,5077	52,3362	52,5214	52,7884
23/jun	Hora acumulada: 237							
Volume (ml)	64	68	26	66	40	32	32	36
CH4 (%)	55,4996	55,472	51,6893	54,2203	53,5077	52,3362	52,5214	52,7884

Tabela C-2 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T1 do ensaio de linearidade.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
17	0,7	240	223,68	32,16	32,16
26	1,1	181	168,23	38,27	70,44
41	1,7	200	186,40	58,01	128,45
50	2,1	125,5	116,97	43,62	172,08
64,5	2,7	106	98,79	42,94	215,02
74,5	3,1	57,7	53,78	24,80	239,82
89	3,7	97	90,40	44,09	283,92
100	4,2	51	47,53	23,91	307,82
124	5,2	64	59,65	30,92	338,74
137,5	5,7	30	27,96	14,92	353,66
185,5	7,7	71,5	66,64	36,13	389,79
237	9,9	66	61,51	33,35	423,14

Tabela C-3 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T2 do ensaio de linearidade.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
17	0,7	120	111,84	14,79	14,79
26	1,1	80	74,56	16,09	30,88
41	1,7	96	89,47	26,77	57,65
50	2,1	74,5	69,43	24,97	82,62
64,5	2,7	56	52,19	21,92	104,54
74,5	3,1	30	27,96	12,63	117,17
89	3,7	52	48,46	23,43	140,60
100	4,2	17,5	16,31	8,08	148,68
124	5,2	26,5	24,70	12,52	161,20
137,5	5,7	15,5	14,45	7,50	168,70
185,5	7,7	43,5	40,54	21,40	190,10
237	9,9	36	33,55	17,71	207,81

APÊNDICE D - Dados brutos do Ensaio Preliminar

Tabela D-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no grupo controle do Ensaio Preliminar.

	Ctrl - Rp 1	Ctrl - Rp 2	Ctrl - Rp 3	Média Ctrl
30/jun	Hora acumulada: 16,5			
Volume (ml)	22	20	24	22
CH4 (%)		6,2195	6,4754	6,3474
01/jul	Hora acumulada: 45			
Volume (ml)	55	50	46	52,5
CH4 (%)	13,3697	12,7911		13,0804
02/jul	Hora acumulada: 66			
Volume (ml)	20	15	16,5	17,2
CH4 (%)	15,8337			15,8337
03/jul	Hora acumulada: 88,5			
Volume (ml)	0	19	13	16,0
CH4 (%)		17,4415	19,7704	18,606
05/jul	Hora acumulada: 137			
Volume (ml)		32	22,5	32,0
CH4 (%)		23,2817	23,4502	23,366
07/jul	Hora acumulada: 185,5			
Volume (ml)		20	22	21,0
CH4 (%)		24,9383	25,3904	25,1644
10/jul	Hora acumulada: 256,5			
Volume (ml)		23	23,5	23,25
CH4 (%)		27,3348	27,2704	27,3026
12/jul	Hora acumulada: 306			
Volume (ml)		12	12,5	12,3
CH4 (%)				28

Tabela D-2 – Registros das medições de volume e cromatografia com LAS-J, no Ensaio Preliminar.

	T1 - Rp 1	T1 - Rp 2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2	T3 - Rp1	T3 - Rp2	T3 - Rp3	Média T2
30/jun	Hora acumulada: 16,5											
Volume (ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH4 (%)				0				0				0
01/jul	Hora acumulada: 45											
Volume (ml)	54	60	62	58,7	0	0	0	0	0	0	0	0
CH4 (%)	11,9	11,3		11,602				0				0
02/jul	Hora acumulada: 66											
Volume (ml)	38	40	30	39	13	11	7,5	12	0	0	0	0
CH4 (%)	16,5	18,1		17,302	3,88	4,04		3,9578				0
03/jul	Hora acumulada: 88,5											
Volume (ml)	19	17	16,5	17,5	0	15	0	15	0	0	0	0
CH4 (%)	18,9	20,7		19,807				6,4034				0
05/jul	Hora acumulada: 137											
Volume (ml)	26	27	21	26,5	10	15		15	4	7	7,5	6,2
CH4 (%)	22,3	22,2	24	22,833	8,85			8,8491	3,31			3,3055
07/jul	Hora acumulada: 185,5											
Volume (ml)	18	16	17	17	25	29		27				8,4
CH4 (%)	24	25,8		24,879	12,6	12		12,29				4,4716
10/jul	Hora acumulada: 256,5											
Volume (ml)	19	21	15	20	34	45		45	24	24	27,5	16,8
CH4 (%)	25,9	26,2	27,8	26,603	19,4	18,4		18,892	6,67	6,65	7,09	6,8039
12/jul	Hora acumulada: 306											
Volume (ml)	14	15	14	14,3	30	40		40	22	29	25	25,3
CH4 (%)				28				24				8

Tabela D-3 – Registros das medições de volume e cromatografia com LAS-V, no Ensaio Preliminar.

	(continua)											
	T1 - Rp 1	T1 - Rp 2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2	T3 - Rp1	T3 - Rp2	T3 - Rp3	Média T3
30/jun	Hora acumulada: 16,5											
Volume (ml)	24	46	25	24,5	24	40	45	24	44	40	21	21
CH4 (%)	6,42			6,4178	5,96			5,9627	5,13	5,3		5,2162
01/jul	Hora acumulada: 45											
Volume (ml)	63	70	42	66,5	74	46		74	72	54		72
CH4 (%)	14,7	13,4		14,057	13,9	9,18	9,39	10,813	12,2			12,162

Tabela D-3 – Registros das medições de volume e cromatografia com LAS-V, no Ensaio Preliminar.

(conclusão)

	T1 - Rp1	T1 - Rp2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2	T3 - Rp1	T3 - Rp2	T3 - Rp3	Média T3
02/jul	Hora acumulada: 66											
Volume (ml)	33	27	23	30	37	35	42	39,5	44	48		46
CH4 (%)	18,9	18,6		18,709	21,5	21,1		21,338	18,5	22,2	22,4	21,03
03/jul	Hora acumulada: 88,5											
Volume (ml)	14	16	13	14,3	20	45,5	23	21,5	37	41	30	39
CH4 (%)	19,7	22,8		21,239	23,8	24,9		24,363	23,7	24,2	27,2	25,026
05/jul	Hora acumulada: 137											
Volume (ml)	47	24	42,5	24	23	48	24	23,5	47	31	29,5	47
CH4 (%)	23,3	22,4	25,5	23,747	26,3	27,8		27,052	28,2	28,1	30,4	28,935
07/jul	Hora acumulada: 185,5											
Volume (ml)	15	17	45	16	19	45	17	18	19	17	16	17,3
CH4 (%)	24,4	24,2		24,291	27,7	28,9		28,282	29,6	31,5		30,528
10/jul	Hora acumulada: 256,5											
Volume (ml)	42	16		16	19	43	15	17	17	40	44,5	17
CH4 (%)	25	25,4		25,199	29,1	30,6		29,844	29,7	32,3		30,975
12/jul	Hora acumulada: 306											
Volume (ml)	8	10		9	15	6	9	15	11	7	9	10
CH4 (%)				26				30				31

Tabela D-4 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no grupo controle do Ensaio Preliminar.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
16,5	0,7	22,0	20,50	1,30	1,30
45	1,9	52,5	48,93	6,40	7,70
66	2,8	17,2	16,03	2,54	10,24
88,5	3,7	16	14,91	2,77	13,01
137	5,7	32	29,82	6,97	19,98
185,5	7,7	21	19,57	4,93	24,91
256,5	10,7	23,25	21,67	5,92	30,82
306	12,8	12,3	11,46	3,21	34,03

Tabela D-5 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T1 com LAS-J, no Ensaio Preliminar.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
16,5	0,7	0,0	0,00	0,00	0,00
45	1,9	58,7	54,71	6,35	6,35
66	2,8	39,0	36,35	6,29	12,64
88,5	3,7	17,5	16,31	3,23	15,87
137	5,7	26,5	24,70	5,64	21,51
185,5	7,7	17	15,84	3,94	25,45
256,5	10,7	20	18,64	4,96	30,41
306	12,8	14,3	13,33	3,73	34,14

Tabela D-6 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T2 com LAS-J, no Ensaio Preliminar.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
16,5	0,7	0	0,00	0,00	0,00
45	1,9	0	0,00	0,00	0,00
66	2,8	12	11,18	0,44	0,44
88,5	3,7	15	13,98	0,90	1,34
137	5,7	15	13,98	1,24	2,57
185,5	7,7	27	25,16	3,09	5,67
256,5	10,7	45	41,94	7,92	13,59
306	12,8	40	37,28	8,95	22,54

Tabela D-7 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T3 com LAS-J, no Ensaio Preliminar.

(continua)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
16,5	0,7	0	0,00	0,00	0,00
45	1,9	0	0,00	0,00	0,00
66	2,8	0	0,00	0,00	0,00
88,5	3,7	0	0,00	0,00	0,00

Tabela D-7 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T3 com LAS-J, no Ensaio Preliminar.

(conclusão)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
137	5,7	6,2	5,78	0,19	0,19
185,5	7,7	8,4	7,83	0,35	0,54
256,5	10,7	16,8	15,66	1,07	1,61
306	12,8	25,3	23,58	1,89	3,49

Tabela D-8 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T1 com LAS-V, no Ensaio Preliminar.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
16,5	0,7	24,5	22,83	1,47	1,47
45	1,9	66,5	61,98	8,71	10,18
66	2,8	30	27,96	5,23	15,41
88,5	3,7	14,3	13,33	2,83	18,24
137	5,7	24	22,37	5,31	23,55
185,5	7,7	16	14,91	3,62	27,17
256,5	10,7	16	14,91	3,76	30,93
306	12,8	9	8,39	2,18	33,11

Tabela D-9 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T2 com LAS-V, no Ensaio Preliminar.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
16,5	0,7	24,0	22,37	1,33	1,33
45	1,9	74,0	68,97	7,46	8,79
66	2,8	39,5	36,81	7,86	16,65
88,5	3,7	21,5	20,04	4,88	21,53
137	5,7	23,5	21,90	5,92	27,45
185,5	7,7	18	16,78	4,74	32,20
256,5	10,7	17	15,84	4,73	36,93
306	12,8	15	13,98	4,19	41,12

Tabela D-10 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no T3 com LAS-V, no Ensaio Preliminar.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
16,5	0,7	21,0	19,57	1,02	1,02
45	1,9	72,0	67,10	8,16	9,18
66	2,8	46,0	42,87	9,02	18,20
88,5	3,7	39	36,35	9,10	27,29
137	5,7	47	43,80	12,67	39,97
185,5	7,7	17,3	16,12	4,92	44,89
256,5	10,7	17	15,84	4,91	49,80
306	12,8	10	9,32	2,89	52,69

APÊNDICE E - Dados brutos do Experimento 1

Tabela E-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no Ensaio

Experimento 1.

(continua)

	CR1	CR2	CR3	Média Ctrl	T1 - Rp1	T1 - Rp2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2	T3 - Rp1	T3 - Rp2	T3 - Rp3	Média T3	T4 - Rp1	T4 - Rp2	T4 - Rp3	Média T4
19/jul	Hora acumulada: 26,5																			
Volume (ml)	8	15	x	11,5	13	17	x	15	7	6	9	7,3	6	x	x	6	0	0	0	0
CH4 (%)	10,6	11,4	11,6	11,2	7,03	8,36	8,27	7,89	5,67	5,14	4,52	5,11	2,28			2,28				
21/jul	Hora acumulada: 74																			
Volume (ml)	33	26	8	29,5	39	33	x	36	42	17	20	18,5	10	10	11	10,3	7	x	6	6,5
CH4 (%)	10,6	11,4	11,6	11,2	7,03	8,36	8,27	7,89	5,67	5,14	4,52	5,11	2,28			2,28				4,48
22/jul	Hora acumulada: 100																			
Volume (ml)	27	30	43	28,5	21	22	x	21,5	16	14	13	14,3	8	7	7	7,3	2	x	3	2,5
CH4 (%)	16,1	15,9	17,2	16,4	10,8	12,1		11,4	15,3	15,2	12,4	14,3	6,56	7,4		6,98				4,48
24/jul	Hora acumulada: 150																			
Volume (ml)	42	52	50	51,0	38	41	x	39,5	30	26	20	28	11	12	12	11,7	3	3	5	4
CH4 (%)	27,1	26,5	25,3	26,3	18,2	20,7	20,2	19,7	15,3	15,2	12,4	14,3	6,56	7,4		6,98				4,48
26/jul	Hora acumulada: 199																			
Volume (ml)	58	82	82	82,0	66	76	40	71	54	44	39	49	20	19	18	19	8	8	8	8
CH4 (%)	37,2	38,4	35,9	37,2	29,2	32,6	32,6	31,5	24,6	24,6	20,5	23,2	10,7	10,5	12,2	11,1	4,45	3,8	5,2	4,48
28/jul	Hora acumulada: 253																			
Volume (ml)	90	130	110	120	104	120	40	120	88	70	56	79	29	34	43	31,5	10	9	10	9,7
CH4 (%)	49,6	49,6	51,3	50,2	42,7	46,3	45,7	44,9	36,6	31,8	29,8	32,7	17	19,9		18,5				9,73
30/jul	Hora acumulada: 296																			
Volume (ml)	104	140	130	135	105	110	50	108	85	78	72	81,5	34	41	5	41	11	8	8	9
CH4 (%)	59,4	60,2		59,8	53,3	56,5		54,9	47,6	42,4		45	23,6	28,1		25,9	9,65	9,81		9,73
31/jul	Hora acumulada: 315																			
Volume (ml)	60	72	67	69,5	52	57	47	54,5	52	45	42	48,5								
CH4 (%)	61,9	62,2	61	61,7	57,1	60,3		58,7	52	46,8		49,4								
01/ago	Hora acumulada: 346																			
Volume (ml)	104	130	125	128	86	82	50	84	86	83	78	84,5	69	72	42	70,5	28	20	20	22,7
CH4 (%)	66,3	66,3	67	66,6	63,3	61,8		62,6	58,4	54,9		56,6	35,1	39,4		37,3	16,4	12,5		14,4
02/ago	Hora acumulada: 364																			
Volume (ml)	72	86	78	82	58	54	56	56	58	63	46	60,5	34	38	44	36	15	10	8	12,5
CH4 (%)	66,3	67,7	68,4	67,5	64,8	65,1	66,6	65,5	60,3	58,5	57,4	58,7	39,4	44,3	44,2	42,6				21,6
03/ago	Hora acumulada: 387,5																			
Volume (ml)	74	86	84	85	72	74	54	73	72	76	72	73,3	57	58	53	57,5	27	24	48	25,5
CH4 (%)	67,8	70	69,7	69,1	67,4	68,4	68,5	68,1	65,6	63,3	62,3	63,7	47,1	51,1	46,5	48,2	25,6	19,3	20	21,6
04/ago	Hora acumulada: 413																			
Volume (ml)	48	58	58	58	87	86	52	86,5	86	91	88	88,3	78	75	70	76,5	44	35	22	39,5
CH4 (%)	69,2	69,5	69,8	68,5	69,5	69,6	69,2	69,4	68,8	67,7	66,6	67,7	55	57,7	54	55,5	33,4	26,6	32,2	30,8
05/ago	Hora acumulada: 438																			
Volume (ml)	31	33	32	32	80	76	58	78	88	90	86	88	84	82	70	83	63	52	34	57,5
CH4 (%)	69,1	70,3		69,7	70,3			70,3	70,5	70,8		70,6	62,4	64,6		63,5	42,9	34,8		38,8

Tabela E-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no Ensaio Experimento 1.

	(continuação)																			
	CR1	CR2	CR3	Média Ctrl	T1 - Rp1	T1 - Rp2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2	T3 - Rp1	T3 - Rp2	T3 - Rp3	Média T3	T4 - Rp1	T4 - Rp2	T4 - Rp3	Média T4
06/ago	Hora acumulada: 464,5																			
Volume (ml)	20	26	24	25	70	68	55	69	84	90	90	88	80	87	52	83,5	100	76	46	100
CH4 (%)				68				70	69,9	71		70,5	67,2	68,8		68	53,3	52,2		52,8
07/ago	Hora acumulada: 483																			
Volume (ml)	13	16	14	15	46	40	46	44	52	60	58	56,7	64	68	50	66	86	80		83
CH4 (%)				68	70	70,6		70,3	71,6	72,4		72	70,7	71,4	69,3	70,5	59,5	59,5		59,5
08/ago	Hora acumulada: 508																			
Volume (ml)	9	14	12	13	44	34	42	43	49	62	60	61	70	76	42	73	120	120	x	120
CH4 (%)	68,4	69,7	68,7	68,9	71,5	71,2	71,8	71,5	70,9	72,8	72,4	72	72,1	73,3	73,8	73,1	67,4	67,1	63,8	66,1
09/ago	Hora acumulada: 531,5																			
Volume (ml)	13	15	14	14	33	29	31	31	31	38	41	39,5	58	58	30	58	84	100	x	92
CH4 (%)				69	69,4	71		70,2	71,8	72		71,9	74,1	74,7		74,4	71,4	69,3		70,4
10/ago	Hora acumulada: 556,5																			
Volume (ml)	3	11	8	9,5	38	38	32	36	33	26	27	28,7	58	56	39	57	78	95	x	86,5
CH4 (%)				69				69				71				73				70
11/ago	Hora acumulada: 580																			
Volume (ml)	8	12	11	10,3	44	41	34	42,5	34	27	25	28,7	50	44	44	50	64	80	x	80
CH4 (%)				69				69				71				73				70
12/ago	Hora acumulada: 607,5																			
Volume (ml)	10	14	13	12,3	46	38	46	43,3	33	35	33	33,7	40	35	43	41,5	58	70	x	70
CH4 (%)				69				69				71				73				70
14/ago	Hora acumulada: 651																			
Volume (ml)	14	18	15	15,7	42	33	52	47	49	49	46	48	38	33	39	36,7	71	86	x	78,5
CH4 (%)				69				69	73,5			73,5	74	75,2		74,6	74,8	76	76,5	75,8
16/ago	Hora acumulada: 699,5																			
Volume (ml)	12	20	14	15,3	22	44	34	28	70	58	50	70	26	26	49	26	58	73	x	73
CH4 (%)				69				69				73,5				74,6				75,8
18/ago	Hora acumulada: 756																			
Volume (ml)	15	27	20	20,7	20	16	24	20	68	78	75	73,7	45	50	44	47,5	38	47	x	47
CH4 (%)				69				69				73				74				75
21/ago	Hora acumulada: 819																			
Volume (ml)	9	20	14	17	14	11	14	13	30	50	54	52	57	62	4	59,5	38	38	x	38
CH4 (%)				69				69				73				74				75
24/ago	Hora acumulada: 892																			
Volume (ml)	8	22	14	18	18	16	16	16,7	30	28	24	27,3	75	86	40	86	72	74	6	73
CH4 (%)				70				70				73				74				75
27/ago	Hora acumulada: 965																			
Volume (ml)	4	14	9	11,5	14	10	15	13	16	21	16	17,7	58	46	42	58	86	86	4	86
CH4 (%)				70				70				73				74				75

30/ago	Hora acumulada: 1037																			
Volume (ml)	6	15	10	12,5	12	10	14	12	18	23	20	20,3	24	44	9	24	77	94	40	94
CH4 (%)				70				70				73				74				75

Tabela E-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no Ensaio Experimento 1.

(conclusão)

	CR1	CR2	CR3	Média Ctrl	T1 - Rp1	T1 - Rp2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2	T3 - Rp1	T3 - Rp2	T3 - Rp3	Média T3	T4 - Rp1	T4 - Rp2	T4 - Rp3	Média T4
02/set	Hora acumulada: 1111																			
Volume (ml)	5	14	8	11	12	10	13	11,7	14	15	14	14,3	14	11	4	12,5	35	46	9	46
CH4 (%)				70				70				73				74				75
05/set	Hora acumulada: 1181,5																			
Volume (ml)	2	10	6	8	12	8	11	10,3	11	10	10	10,3	19	16	*	17,5	46	24	2	24
CH4 (%)				70				70				73				74				75
09/set	Hora acumulada: 1278,5																			
Volume (ml)	3	13	8	10,5	18	14	16	16	16	16	15	15,7	22	44	16	19	11	14	*	12,5
CH4 (%)				70				70				73				74				75

Tabela E-2 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no controle do Experimento 1.

(continua)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH ₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
26,5	1,1	11,5	10,72	1,20	1,20
74	3,1	29,5	27,49	3,08	4,28
100	4,2	28,5	26,56	4,36	8,63
150	6,3	51	47,53	12,51	21,15
199	8,3	82	76,42	28,39	49,54
253	10,5	120	111,84	56,12	105,66
296	12,3	135	125,82	75,26	180,92
315	13,1	69,5	64,77	39,96	220,89
346	14,4	127,5	118,83	79,08	299,97
364	15,2	82	76,42	51,55	351,52
387,5	16,1	85	79,22	54,77	406,30
413	17,2	58	54,06	37,02	443,32
438	18,3	32	29,82	20,78	464,10
464,5	19,4	25	23,30	15,84	479,94
483	20,1	15	13,98	9,51	489,45
508	21,2	13	12,12	8,35	497,80
531,5	22,1	14	13,05	9,00	506,80
556,5	23,2	9,5	8,85	6,11	512,91

580	24,2	10,3	9,60	6,62	519,53
607,5	25,3	12,3	11,46	7,91	527,44
651	27,1	15,7	14,63	10,10	537,54
699,5	29,1	15,3	14,26	9,84	547,38
756	31,5	20,7	19,29	13,31	560,69
819	34,1	17	15,84	10,93	571,62

Tabela E-2 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no controle do Experimento 1.

(conclusão)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
892	37,2	18	16,78	11,74	583,37
965	40,2	11,5	10,72	7,50	590,87
1037	43,2	12,5	11,65	8,16	599,02
1111	46,3	11	10,25	7,18	606,20
1181,5	49,2	8	7,46	5,22	611,42
1278,5	53,3	10,5	9,79	6,85	618,27

Tabela E-3 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 1 do Experimento 1.

(continua)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
26,5	1,1	15,0	13,98	1,10	1,10
74	3,1	36,0	33,55	2,65	3,75
100	4,2	21,5	20,04	2,29	6,04
150	6,3	39,5	36,81	7,25	13,29
199	8,3	71	66,17	20,83	34,12
253	10,5	112	104,38	46,87	80,99
296	12,3	107,5	100,19	55,00	136,00
315	13,1	54,5	50,79	29,82	165,81
346	14,4	84	78,29	48,97	214,79
364	15,2	56	52,19	34,20	248,98
387,5	16,1	73	68,04	46,32	295,30
413	17,2	86,5	80,62	55,95	351,25
438	18,3	78	72,70	51,08	402,33
464,5	19,4	69,0	64,31	45,02	447,35
483	20,1	44,0	41,01	28,83	476,18

508	21,2	43,0	40,08	28,65	504,83
531,5	22,1	31,0	28,89	20,28	525,11
556,5	23,2	36	33,55	23,15	548,26
580	24,2	42,5	39,61	27,33	575,59
607,5	25,3	43,3	40,36	27,85	603,44
651	27,1	47	43,80	30,22	633,66
699,5	29,1	28	26,10	18,01	651,67
756	31,5	20	18,64	12,86	664,53
819	34,1	13	12,12	8,36	672,89
892	37,2	16,7	15,56	10,90	683,79
965	40,2	13	12,12	8,48	692,27
1037	43,2	12	11,18	7,83	700,10

Tabela E-3 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 1 do Experimento 1.

(conclusão)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
1111	46,3	11,7	10,90	7,63	707,73
1181,5	49,2	10,3	9,60	6,72	714,45
1278,5	53,3	16	14,91	10,44	724,89

Tabela E-4 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 2 do Experimento 1.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
26,5	1,1	7,3	6,80	0,35	0,35
74	3,1	18,5	17,24	0,88	1,23
100	4,2	14,3	13,33	1,90	3,13
150	6,3	28	26,10	3,73	6,86
199	8,3	49	45,67	10,61	17,48
253	10,5	79	73,63	24,10	41,58
296	12,3	81,5	75,96	34,20	75,77
315	13,1	48,5	45,20	22,32	98,10
346	14,4	84,5	78,75	44,59	142,68
364	15,2	60,5	56,39	33,11	175,79
387,5	16,1	73,3	68,32	43,53	219,32
413	17,2	88,3	82,30	55,73	275,05
438	18,3	88	82,02	57,92	332,96
464,5	19,4	88	82,02	57,79	390,76
483	20,1	57	52,84	38,07	428,82
508	21,2	61	56,85	40,96	469,78
531,5	22,1	39,5	36,81	26,47	496,24
556,5	23,2	28,7	26,75	18,99	515,24
580	24,2	28,7	26,75	18,99	534,23
607,5	25,3	33,7	31,41	22,30	556,53
651	27,1	48	44,74	32,89	589,42
699,5	29,1	70	65,24	47,97	637,38
756	31,5	73,7	68,69	50,14	687,53
819	34,1	52	48,46	35,38	722,90
892	37,2	27,3	25,44	18,57	741,48
965	40,2	17,7	16,50	12,04	753,52
1037	43,2	20,3	18,92	13,81	767,33
1111	46,3	14,3	13,33	9,73	777,06
1181,5	49,2	10,3	9,60	7,01	784,07
1278,5	53,3	15,7	14,63	10,68	794,75

Tabela E-5 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 3 do Experimento 1.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
26,5	1,1	6,0	5,59	0,13	0,13
74	3,1	10,3	9,60	0,22	0,35
100	4,2	7,3	6,80	0,47	0,82
150	6,3	11,7	10,90	0,76	1,58
199	8,3	19	17,71	1,97	3,56
253	10,5	31,5	29,36	5,42	8,98
296	12,3	41	38,21	9,89	18,87
315	13,1		0,00	0,00	24,00
346	14,4	70,5	65,71	24,50	43,37
364	15,2	36	33,55	14,30	57,66
387,5	16,1	57,5	53,59	25,85	83,52
413	17,2	76,5	71,30	39,59	123,11
438	18,3	83	77,36	49,12	172,22
464,5	19,4	83,5	77,82	52,91	225,13
483	20,1	66	61,51	43,34	268,47
508	21,2	73	68,04	49,71	318,18
531,5	22,1	58	54,06	40,20	358,38
556,5	23,2	57	53,12	38,78	397,16
580	24,2	50	46,60	34,02	431,18
607,5	25,3	41,5	38,68	28,23	459,41
651	27,1	36,7	34,20	25,51	484,92
699,5	29,1	26	24,23	18,07	502,99
756	31,5	47,5	44,27	32,76	535,75
819	34,1	59,5	55,45	41,04	576,78
892	37,2	86	80,15	59,31	636,10
965	40,2	58	54,06	40,00	676,10
1037	43,2	24	22,37	16,55	692,65
1111	46,3	12,5	11,65	8,62	701,27
1181,5	49,2	17,5	16,31	12,07	713,34
1278,5	53,3	19	17,71	13,10	726,44

Tabela E-6 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 4 do Experimento 1.

(continua)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
26,5	1,1	0,0	0,00	0,00	0,00
74	3,1	6,5	6,06	0,27	0,27
100	4,2	2,5	2,33	0,10	0,38
150	6,3	4	3,73	0,17	0,54

Tabela E-6 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 4 do Experimento 1.

(conclusão)

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
199	8,3	8	7,46	0,33	0,88
253	10,5	9,7	9,04	0,88	1,76
296	12,3	9	8,39	0,82	2,57
315	13,1				3,20
346	14,4	22,7	21,16	3,05	5,62
364	15,2	12,5	11,65	2,52	8,15
387,5	16,1	25,5	23,77	5,14	13,29
413	17,2	39,5	36,81	11,32	24,61
438	18,3	57,5	53,59	20,81	45,42
464,5	19,4	100	93,20	49,18	94,60
483	20,1	83	77,36	46,04	140,64
508	21,2	120	111,84	73,91	214,55
531,5	22,1	92	85,74	60,35	274,90
556,5	23,2	86,5	80,62	56,43	331,33
580	24,2	80	74,56	52,19	383,53
607,5	25,3	70	65,24	45,67	429,19
651	27,1	78,5	73,16	55,45	484,64
699,5	29,1	73,0	68,04	51,56	536,20
756	31,5	47,0	43,80	32,85	569,06
819	34,1	38,0	35,42	26,56	595,62
892	37,2	73,0	68,04	51,03	646,64
965	40,2	86,0	80,15	60,11	706,76
1037	43,2	94,0	87,61	65,71	772,46
1111	46,3	46,0	42,87	32,15	804,62
1181,5	49,2	24,0	22,37	16,78	821,39
1278,5	53,3	12,5	11,65	8,74	830,13

APÊNDICE F - Dados brutos do Experimento 2

Tabela F-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no Ensaio Experimento 2.

(continua)

	CR1	CR2	CR3	Média Ctrl	T1 - Rp1	T1 - Rp2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2
21/set	Hora acumulada: 65,5											
Volume (ml)	78	0	0	78	0	0	0		0	0	15	15
CH4 (%)	33,11	33,39		33,25								7
22/set	Hora acumulada: 88,5											
Volume (ml)	89	0	0	89	0	10	0		0	0	0	
CH4 (%)	43,84	44,04		43,94								
23/set	Hora acumulada: 114,5											
Volume (ml)	115	0	8	115,0	0	3	0		0	0	0	
CH4 (%)	51,76	53,06		52,41								
24/set	Hora acumulada: 134,5											
Volume (ml)	80	0	0	80,0	0	2	0		0	0	4	
CH4 (%)	55,66	57,12	56,92	56,57								
25/set	Hora acumulada: 160											
Volume (ml)	61	0	0	61,0	0	0	0		0	14	6	15
CH4 (%)	59,26	58,86	59,63	59,25						7	6	6,5
26/set	Hora acumulada: 184,5											
Volume (ml)	36	0	0	36,0	0	3	0		0	0	42	42
CH4 (%)	58,11	59,2	60,32	59,21					23,47	22,49	22,32	22,76
27/set	Hora acumulada: 208											
Volume (ml)	24	0	0	24	0	1	0		0	18	20	20
CH4 (%)	57,95	60,7		59,32						25,25	25,3	25,28
28/set	Hora acumulada: 236											
Volume (ml)	21	0	4	21	0	1	3		0	8	20	20
CH4 (%)				60								29
29/set	Hora acumulada: 260											
Volume (ml)	16	0	4	16	0	1	0		0	5	25	25
CH4 (%)				60				34	33,03	32,62	32,79	32,81
02/out	Hora acumulada: 327,5											
Volume (ml)	50	0	21	50	0	73	0	73	0	25	75	75
CH4 (%)	59,97	61,33	62,54	61,28		70,08	69,59	69,83	43,84	43,76		43,8
03/out	Hora acumulada: 351,5											
Volume (ml)	14			14		28		28		22	31	31
CH4 (%)				62		67,77	68,68	68,22		46,97	47,59	47,28
05/out	Hora acumulada: 399,5											
Volume (ml)	32			32		48		48		27	43	43

CH4 (%)	62	69,83	69,83	50,85	50,85
06/out	Hora acumulada: 432,5				

Tabela F-1 – Registros das medições de volume e cromatografia no Ensaio Experimento 2.

(conclusão)

	CR1	CR2	CR3	Média Ctrl	T1 - Rp1	T1 - Rp2	T1 - Rp3	Média T1	T2 - Rp1	T2 - Rp2	T2 - Rp3	Média T2
Volume (ml)	15			15		27		27		31	35	35
CH4 (%)				62				70				53
07/out	Hora acumulada: 446											
Volume (ml)						8		8			19	19
CH4 (%)				64				70				57
11/out	Hora acumulada: 544											
Volume (ml)	26			26		24		24			115	115
CH4 (%)				65				67,47		61,98	61,89	61,93

Tabela F-2 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no controle do Experimento 2.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH ₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
65,5	2,7	78,0	72,70	24,17	24,17
88,5	3,7	89,0	82,95	36,45	60,62
114,5	4,8	115,0	107,18	56,17	116,80
134,5	5,6	80	74,56	42,18	158,97
160	6,7	61	56,85	33,69	192,66
184,5	7,7	36	33,55	19,87	212,52
208	8,7	24	22,37	13,27	225,79
236	9,8	21	19,57	11,74	237,54
260	10,8	16	14,91	8,95	246,48
327,5	13,6	50	46,60	28,56	275,04
351,5	14,6	14	13,05	8,09	283,13
399,5	16,6	32	29,82	18,49	301,62
432,5	18,0	15	13,98	8,67	310,29
446	18,6	4	3,73	2,39	312,67
544	22,7	22	20,50	13,33	326,00

Tabela F-3 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 1, com LAS-V, do Experimento 2.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
65,5	2,7	0,0	0,00	0,00	0,00
88,5	3,7	0,0	0,00	0,00	0,00
114,5	4,8	0,0	0,00	0,00	0,00
134,5	5,6	0	0,00	0,00	0,00
160	6,7	0	0,00	0,00	0,00
184,5	7,7	0	0,00	0,00	0,00
208	8,7	0	0,00	0,00	0,00
236	9,8	0	0,00	0,00	0,00
260	10,8	35	32,62	11,09	11,09
327,5	13,6	73	68,04	47,51	58,60
351,5	14,6	28	26,10	17,80	76,41
399,5	16,6	48	44,74	31,24	107,65
432,5	18,0	27	25,16	17,61	125,26
446	18,6	8,0	7,46	5,22	130,48
544	22,7	24,0	22,37	15,09	145,57

Tabela F-4 – Cálculo para obtenção do metano acumulado no Tratamento 2, com LAS-J, do Experimento 2.

Tempo (h)	Tempo (dias)	Volume medido (ml)	Volume seco e na CNTP (ml)	Volume de CH₄ corrigido (ml)	Metano acumulado
65,5	2,7	0,0	0,00	0,00	0,00
88,5	3,7	0,0	0,00	0,00	0,00
114,5	4,8	0,0	0,00	0,00	0,00
134,5	5,6	0	0,00	0,00	0,00
160	6,7	15	13,98	0,91	0,91
184,5	7,7	42	39,14	8,91	9,82
208	8,7	20	18,64	4,71	14,53
236	9,8	20	18,64	5,41	19,94
260	10,8	25	23,30	7,65	27,58
327,5	13,6	75	69,90	30,62	58,20
351,5	14,6	31	28,89	13,66	71,86
399,5	16,6	43	40,08	20,38	92,24
432,5	18,0	35	32,62	17,29	109,53
446	18,6	19	17,71	10,09	119,62
544	22,7	115	107,18	66,38	186,00