



CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE MICROBIANA PRESENTE NA BIOMETANIZAÇÃO DA FRAÇÃO ORGÂNICA DOS RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Carolina Ibelli Bianco¹ (carol.biancco@hotmail.com), Fernanda Resende Vilela¹ (fernanda_engenharia.ambiental@hotmail.com), André Luis Gomes Simões¹ (simoesalg@gmail.com), Valdir Schalch¹ (vschalch@sc.usp.br)

¹ ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

RESUMO

A presente pesquisa propôs relacionar a diversidade da comunidade microbiana com parâmetros físico-químicos para analisar o desempenho da biometanização da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (FORSU) em conjunto com serragem e lodo de esgoto. Quatro biometanizadores de 50 L foram operados por 150 dias em regime batelada, fase única, alto teor de sólidos e temperatura ambiente. A comunidade procarionte presente nas amostras de chorume e digestato coletadas dos biometanizadores foi avaliada pela técnica molecular de Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE). As mesmas amostras foram analisadas quanto à alcalinidade, pH, ácidos graxos voláteis e demanda química de oxigênio. A composição do biogás gerado foi analisada por cromatografia gasosa. Pela análise do perfil das bandas de DGGE, verificou-se uma alteração na estrutura da comunidade de bactérias presentes no chorume de todos os biometanizadores entre 60 e 120 dias de operação, período caracterizado pelo acúmulo de ácidos graxos voláteis, consumo crescente de alcalinidade, queda de pH e aumento da demanda química de oxigênio, resultando na ausência de metano no biogás. Os resultados sugeriram que monitorar a comunidade microbiana que se desenvolve e atua no processo de biometanização pode trazer maior sensibilidade e especificidade na detecção e confirmação de instabilidades do sistema, garantindo intervenções somente quando necessário.

Palavras-chave: Micro-organismos; Ácidos graxos voláteis; Digestão anaeróbia.

DIVERSITY MICROBIAL CHARACTERIZATION IN BIOMETHANIZATION OF ORGANIC FRACTION OF MUNICIPAL SOLID WASTE AND ITS RELATIONSHIP WITH PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS

ABSTRACT

This research proposes to relate the diversity of the microbial community with physicochemical parameters to analyze the performance of biomethanization the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) in conjunction with sawdust and sewage sludge. Four reactors of 50L were operated for 150 days in a batch system, single phase, high solids content and environment temperature. The prokaryote community present in the samples of leachate and digestato collected from reactors was evaluated by molecular technique Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). The same samples were analyzed for alkalinity, pH, volatile fatty acids and chemical oxygen demand. The composition of the biogas generated was analyzed by gas chromatography. For the analysis of the profile of DGGE bands, there was a change in the community structure of bacteria in the leachate of all reactors between 60 and 120 days of operation, a period characterized by the accumulation of volatile fatty acids, increasing consumption of alkalinity, fall pH and increased chemical oxygen demand, resulting in the absence of methane in the biogas. The results suggest the monitoring of the microbial community that develops and acts in the biomethanization process can provide higher sensitivity and specificity for the detection and confirmation of instability of the system and ensure interventions only when necessary.



Keywords: Microorganisms; Volatile fatty acids; Anaerobic digestion.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, dentre os resíduos sólidos urbanos (RSU) gerados diariamente, a fração orgânica compreende mais da metade em massa (ABRELPE, 2012), sendo que normalmente é co-disposta com os demais tipos de resíduos em lixões e aterros sanitários. Um dos problemas inerentes a esse tipo de disposição inadequada é a geração de gases de efeito estufa (GEE) a partir da biodegradação da matéria orgânica.

Reduzir a emissão de GEE, além de ser uma diretriz expressa na Política Nacional sobre Mudança do Clima (PNMC) (Lei nº 12.187/2009; Art. 4º, II) (BRASIL, 2009), deve ser priorizada por meio de ações nacionais e de projetos previstos no Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL), já que o Brasil é membro do grupo de países Partes Não-Anexo I¹ do Protocolo de Quioto (MOREIRA; GIOMETTI, 2008). Fortalecendo esse cenário de novas práticas, a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) (Lei nº 12.305/2010) proíbe o aterramento da matéria orgânica, incentivando o reaproveitamento dos resíduos sólidos, inclusive a recuperação e o aproveitamento energético (Art. 7º, XIV) através do desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias limpas, como forma de minimizar impactos ambientais (Art. 7º, IV) (BRASIL, 2010).

Nesse contexto, o processo de biometanização da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (FORSU) apresenta-se como uma alternativa pertinente, pois permite o tratamento da matéria orgânica em instalações adequadas e a recuperação de um dos principais gases de efeito estufa, o metano, que pode ser empregado como fonte energética complementar e renovável (ABDELGADIR et al., 2014).

Entretanto, apesar da biometanização já ser aplicada em alguns países, principalmente da Europa, o tratamento de resíduos sólidos por esse processo ainda não é difundido por ser considerado uma “caixa preta” (*black box*): ainda falta conhecimento que conecte a composição, a dinâmica e a atividade dos micro-organismos com o desempenho do biometanizador, o que impede a otimização do processo para o tratamento de resíduos sólidos orgânicos (SUPAPHOL et al., 2011; FRANKE-WHITTLE et al, 2014).

2. OBJETIVO

O presente trabalho propôs caracterizar a diversidade microbiana desenvolvida durante a digestão anaeróbia da FORSU em conjunto com serragem e lodo de esgoto, a fim de demonstrar que os dados de parâmetros físico-químicos normalmente analisados podem ser melhor compreendidos se conjugados com dados microbiológicos.

3. METODOLOGIA

Foram analisadas amostras de chorume e digestato coletadas de quatro biometanizadores de 50 L, preenchidos com FORSU separada na fonte, serragem e lodo de esgoto da Estação de Tratamento de Esgoto Monjolinho – São Carlos/SP. No Quadro 1 são apresentadas as composições do material afluente de cada biometanizador.

A análise da diversidade microbiana foi realizada a partir de dados obtidos com a técnica molecular de reação em cadeia da polimerase seguida de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (PCR/DGGE). Na Figura 1 é apresentado um resumo das condições operacionais e das coletas microbiológicas realizadas.

Os parâmetros físico-químicos alcalinidade, pH e demanda química de oxigênio foram analisados quinzenalmente para as amostras de chorume, segundo metodologia proposta pela APHA (2012),

¹ **Partes Não-Anexo I:** agrega os países em desenvolvimento que não possuem compromissos de redução de gases de efeito estufa (dever restrito aos países Partes Anexo I), mas ficam obrigados a elaborarem inventários nacionais de emissões de carbono.

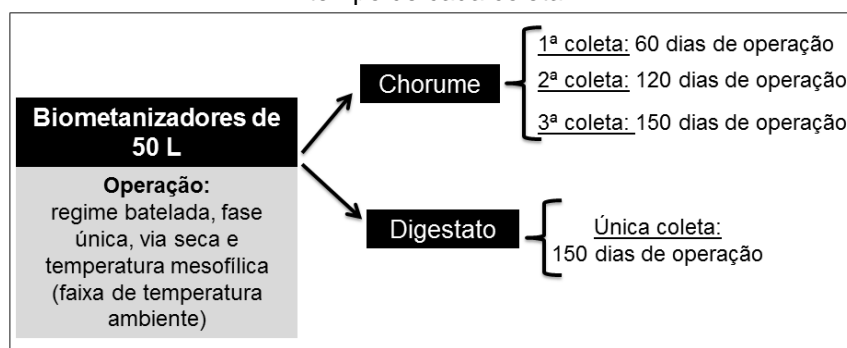


assim como o parâmetro ácidos graxos voláteis, realizado em cromatógrafo GC 2010. A composição dos gases presentes no biogás foi analisada quinzenalmente em cromatógrafo GC-2010 (gás de arraste: argônio) e em cromatógrafo GC-2014 (gás de arraste: hidrogênio).

Quadro 1. Biometanizadores de 50 L com as respectivas quantidades em massa dos componentes das misturas afluentes

Biometanizadores de 50 L (operados por 150 dias)	Componentes da mistura afluente		
	FORSU triturada (kg)	Serragem (kg)	Lodo ETE (kg)
1	24	-	-
2	12	1,76	1,34
3	11	1,76	2,69
4	13	1,76	-

Figura 1. Resumo das condições operacionais dos biometanizadores de 50 L, das amostras coletadas e o tempo de cada coleta



3.1 Preparo e armazenamento das amostras

Para as amostras líquidas (chorume e lodo de esgoto), aproximadamente 80 mL foram centrifugados nas seguintes condições: 7000 rpm, à 10°C, por 5 minutos (centrífuga 5804 R – Eppendorf). O sobrenadante resultante da centrifugação foi descartado e o *pellet* armazenado à – 20°C até o momento da extração do DNA.

Quanto às amostras sólidas (digestatos), pesou-se 70 g de cada amostra e adicionou-se 50 mL de água destilada, misturando-se delicadamente. O objetivo deste procedimento foi obter uma solução contendo os micro-organismos que estavam aderidos ao digestato. A mistura foi coada com o auxílio de uma peneira, visando-se separar a fração sólida da líquida. Para a obtenção do *pellet*, centrifugou-se 13 mL da fração líquida à 7000 rpm, 10°C, por 5 minutos (centrífuga 5804 R – Eppendorf), descartando-se o sobrenadante e armazenando o *pellet* à – 20°C até o momento da extração do DNA.

3.2 Extração de DNA

A extração de DNA das amostras foi realizada com o *Kit Power Soil DNA Isolation* (MOBIO Laboratories, Inc.), apropriado para remover interferentes da PCR, como ácidos húmicos. A metodologia aplicada foi a proposta no próprio kit, apenas com algumas adaptações, conforme descrito por Bianco (2015). A quantificação do DNA total extraído foi realizada em espectrofotômetro (Nanodrop 2000), obtendo-se a concentração de DNA em ng.µL⁻¹ e os valores das relações $A_{260/280}$ e $A_{260/230}$. A quantificação visual e verificação da integridade do DNA extraído foram realizadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% em TAE 1X. Utilizou-se 5 µL de *ladder* (KAPA Universal Ladder Kit) e 5 µL de DNA total extraído de cada amostra, corados com 0,7 µL de corante para DNA (Blue Green Loading Dye I – LGC Biotecnologia). A imagem do gel foi capturada e visualizada sob luz UV pelo equipamento Eagle Eye II (Stratagene, La Jolla, CA, USA).



3.3 PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

A partir do DNA extraído das amostras dos biometanizadores e dos inóculos, foram obtidos fragmentos do gene rRNA 16S para o domínio *Bacteria* e *Archaea*, utilizando-se a técnica de PCR com *primers* homólogos às regiões conservadas deste gene. A PCR foi realizada com a enzima Taq DNA polimerase presente na solução *GoTaq® Green Master Mix* (Promega), que também contém dNTPs (bases nitrogenadas), $MgCl_2$ e tampão. A reação foi padronizada para um volume final de 50 μL , composto por: 25 μL de *GoTaq® Green Master Mix*; 1 μL de cada *primer* (senso e anti-senso); 4 μL de DNA molde e 19 μL de água nuclease-free.

Para o domínio *Bacteria* foi utilizado o *set primer* 968FGC – 1401R (NÜBEL et al., 1996), sendo as reações de amplificação (produção de múltiplas cópias) realizadas em termociclador Mastercycler EP Gradient (Eppendorf). Para o domínio *Archaea*, utilizou-se o *set primer* 1100FGC – 1400R (KUDO et al., 1997) com amplificação realizada no termociclador GeneAmp PCR System 2400 (Perkin Elmer). As condições de tempo e temperatura das amplificações estão descritas em Bianco (2015).

A confirmação da dimensão e integridade dos produtos da PCR foi feita através da separação dos fragmentos por eletroforese em gel de agarose 1,2% em TAE 1X. Utilizou-se 5 μL de *ladder* (Universal DNA Ladder Kit - KAPA) e 5 μL de cada amostra amplificada, corados com 0,7 μL de corante para DNA (Blue Green Loading Dye I – LGC Biotecnologia). A imagem do gel foi capturada e visualizada sob luz UV pelo equipamento Eagle Eye II (Stratagene, La Jolla, CA, USA).

3.4 DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*)

O preparo da eletroforese em gel de gradiente desnaturante seguiu a metodologia utilizada por Sakamoto (2001). Os perfis de DGGE foram analisados e comparados quanto à diversidade microbiana, utilizando-se o *software* Bionumerics 3.5 e os índices de diversidade de Shannon-Wiener (H') e de similaridade de Jaccard (S_j).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi dado prosseguimento à análise molecular do domínio *Archaea* para as amostras de chorume e digestato dos biometanizadores 1 e 4, assim como de chorume da primeira e segunda coletas dos biometanizadores 2 e 3, pois não foram detectadas bandas referentes ao domínio *Archaea* quando realizado um pré-teste de PCR. As condições desfavoráveis do meio, principalmente nos biometanizadores 1 e 4 que não foram inoculados, justificam a ausência de arqueas em tais amostras.

Pelo fato dos amplificadores para o domínio *Archaea* das amostras de chorume da terceira coleta dos biometanizadores 2 e 3 não apresentarem bandas bem definidas (mas sim um rastro no gel e bandas fracas que não corresponderam à posição das bandas das demais amostras), decidiu-se excluí-las da etapa de DGGE, mantendo somente as amostras de digestato desses biometanizadores.

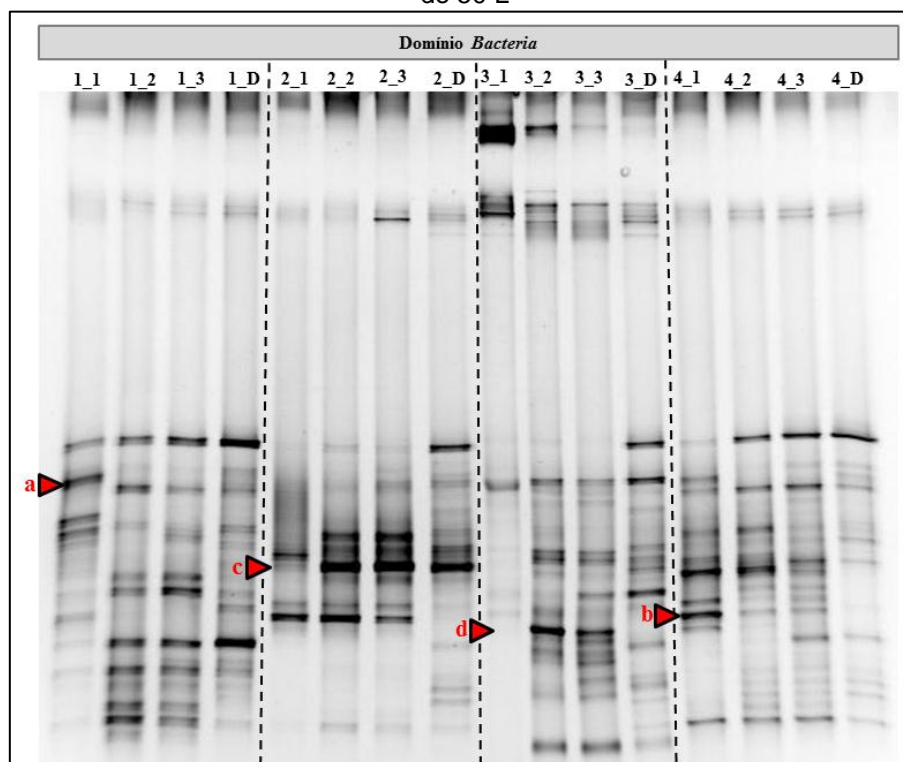
O biometanizador 3, que recebeu a maior proporção de inóculo dentre os biometanizadores de 50 L, apresentou um índice de diversidade H' para arqueas (2,27) maior do que para o biometanizador 2 (2,21) e, apesar de não ter produzido metano, foi o que apresentou a maior capacidade tampão do sistema quando comparado aos demais de 50 L, provavelmente devido a uma melhor eficiência nas taxas de produção e consumo de ácidos orgânicos.

Quando comparados os perfis de DGGE das amostras de chorume da 1ª coleta (à 60 dias de operação) com as amostras de chorume da 2ª coleta (à 120 dias de operação) de um mesmo biometanizador de 50 L, verificou-se que a estrutura da comunidade de bactérias foi alterada em todos os tratamentos: bandas presentes nas amostras da 1ª coleta tornaram-se ausentes (ex.: Figura 2 – a), menos intensas (ex.: Figura 2 – b) ou mais intensas (ex.: Figura 2 – c); novas bandas surgiram (ex.: Figura 2 – d); e, ainda, os perfis do gel referentes à segunda coleta



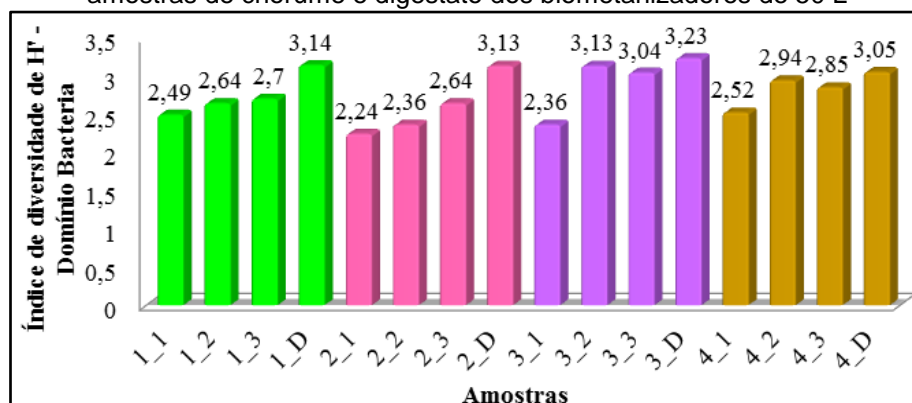
apresentaram maior variedade de bandas que os perfis da primeira coleta, o que é confirmado pelo aumento do índice de diversidade H' (Figura 3). A similaridade entre o chorume da 1ª e 2ª coletas quanto à diversidade de bactérias foi em torno de 50% em todos os biometanizadores, ou seja, a outra metade da comunidade foi alterada nesse intervalo de operação.

Figura 2. Perfil de bandas da DGGE de fragmentos amplificados por PCR do gene RNAr 16S do domínio *Bacteria*. As amostras são chorume de três tempos de operação e digestato dos biometanizadores de 50 L



Observação: na referência de cada perfil, o primeiro número refere-se ao biometanizador – 1, 2, 3 ou 4 e o segundo número à coleta – 1ª (1), 2ª (2) ou 3ª (3), sendo que a letra “D” representa “digestato”.

Figura 3. Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') da comunidade de bactérias presente nas amostras de chorume e digestato dos biometanizadores de 50 L



Observação: na referência de cada perfil, o primeiro número refere-se ao biometanizador – 1, 2, 3 ou 4 e o segundo número à coleta – 1ª (1), 2ª (2) ou 3ª (3), sendo que a letra “D” representa “digestato”.

A visível mudança na estrutura da comunidade de bactérias quando comparadas as amostras de chorume da 1ª e 2ª coletas dos biometanizadores de 50 L, bem como a não detecção de arqueas



no chorume nem no digestato dos biometanizadores 1 e 4, podem ser considerados reflexo de um processo anaeróbio desequilibrado.

Uma forma de confirmar o desajuste microbiológico ocorrido entre acidogênicas, acetogênicas e metanogênicas é por meio da concentração de ácidos graxos voláteis (AGV), os quais apresentam taxas de produção e consumo equalizadas quando o sistema encontra-se equilibrado (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

Na Figura 4, verifica-se um acúmulo de AGV (ácidos acético, propiônico e butírico) e de etanol, não só no intervalo compreendido entre a 1ª e 2ª coletas, mas durante todo o período de operação dos biometanizadores de 50 L.

Wang et al. (2009), relataram que concentrações elevadas dos ácidos acético e butírico e de etanol nas faixas de 2.400, 1.800 e 2.400 mg.L⁻¹, respectivamente, não acarretaram inibição significativa da atividade metanogênica em digestores anaeróbios. Entretanto, quando a concentração de ácido propiônico atingiu 900 mg.L⁻¹, houve um decréscimo significativo na concentração de metanogênicas, as quais não foram capazes de recuperar sua atividade posteriormente. Os autores obtiveram rendimento de metano e concentração de metanogênicas máximos quando as concentrações de ácidos acético, butírico e propiônico e de etanol foram 1.600, 1.800, 300 e 1.600 mg.L⁻¹, respectivamente.

Utilizando-se como referências os valores encontrados por Wang et al. (2009), a análise da Figura 4 permite dizer que todos os biometanizadores operaram a maior parte dos 150 dias sob condições inapropriadas para a produção de metano (e conseqüentemente, para o tratamento do resíduo sólido orgânico). Mesmo com alguns pontos de exceção, o acúmulo de ácido propiônico superou a concentração limite de 900 mg.L⁻¹ e as concentrações de ácidos acético, butírico e de etanol foram maiores em até 19, 11 e 18 vezes, respectivamente, dos valores mencionados pelos autores.

Esses produtos intermediários se acumularam no sistema pelo fato de terem sido produzidos pelas acidogênicas em uma taxa maior do que eram consumidos pelas acetogênicas e metanogênicas, as quais provavelmente não estavam presentes em quantidade suficiente e, se presentes, foram inibidas pelas condições desfavoráveis do ambiente. O efeito dessa situação foi o rápido consumo da alcalinidade do meio, sendo que os ácidos livres não neutralizados provocaram a queda do pH (Figura 5), resultando na acidificação do sistema (CHERNICHARO, 2007).

O efeito cascata dos fatores físico-químicos que envolvem a acidificação do biometanizador (acúmulo de AGV, consumo de alcalinidade e queda de pH) abalam a estrutura do consórcio microbiano atuante: a queda do pH a valores inferiores a 6,8 favorece ainda mais as acidogênicas (cujo pH ótimo está entre 5,5 e 6,0) e prejudica o crescimento e a atividade das metanogênicas (cujo pH ótimo situa-se entre 6,8 e 7,2) (SOUZA, 1984).

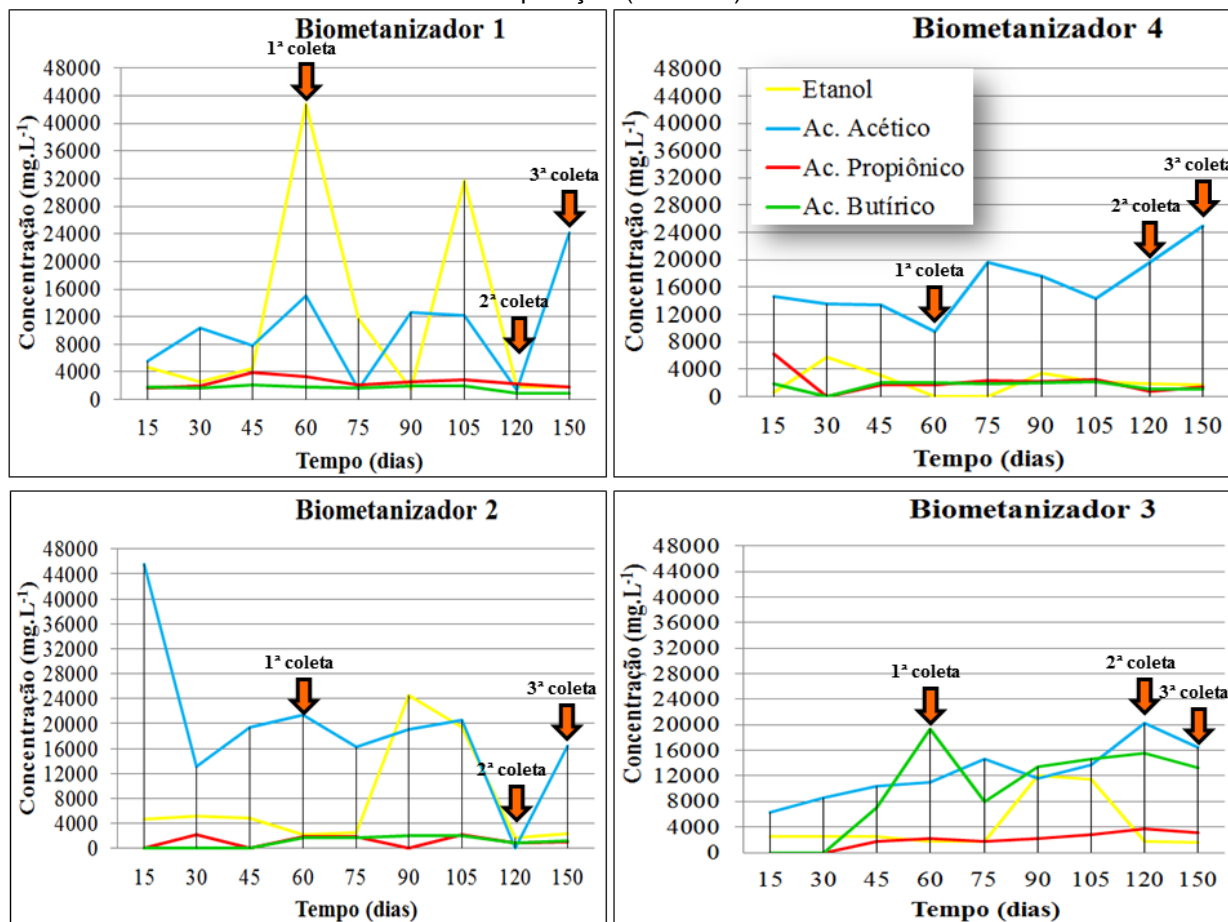
Todos os biometanizadores, exceto o 3, já apresentavam à 60 dias de operação valores de pH abaixo da faixa considerada ideal para a ocorrência da biometanização, que situa-se entre 6,8 e 7,4, conforme Mao et al. (2015) (Figura 5). Por mais 60 dias, até o momento da 2ª coleta, não se conseguiu controlar o pH do meio, provocando a queda crescente dessa variável em todos os tratamentos, com valores entre 4,62 (biometanizador 1) e 5,72 (biometanizador 3). A alcalinidade dos sistemas foi consumida de forma progressiva, sendo que os tratamentos que apresentaram a menor e a maior capacidade tampão foram o biometanizador 1 (preenchido somente com FORSU) e o biometanizador 3 (inoculado com a maior proporção de lodo de esgoto da ETE), respectivamente (Figura 5).

Quando o processo de biometanização possui como substrato unicamente resíduos sólidos orgânicos de origem alimentar (como no caso do biometanizador 1), há uma tendência maior para o acúmulo de AGV, principalmente se o sistema operar com alta carga orgânica (GOU et al., 2014). Tal fato deve-se a esse tipo de resíduo apresentar fácil biodegradabilidade, que pode ser verificada pela proporção de sólidos totais voláteis (STV) presente no substrato: quanto maior a massa de STV, mais biodegradável é o resíduo (na presente pesquisa, os STV representavam



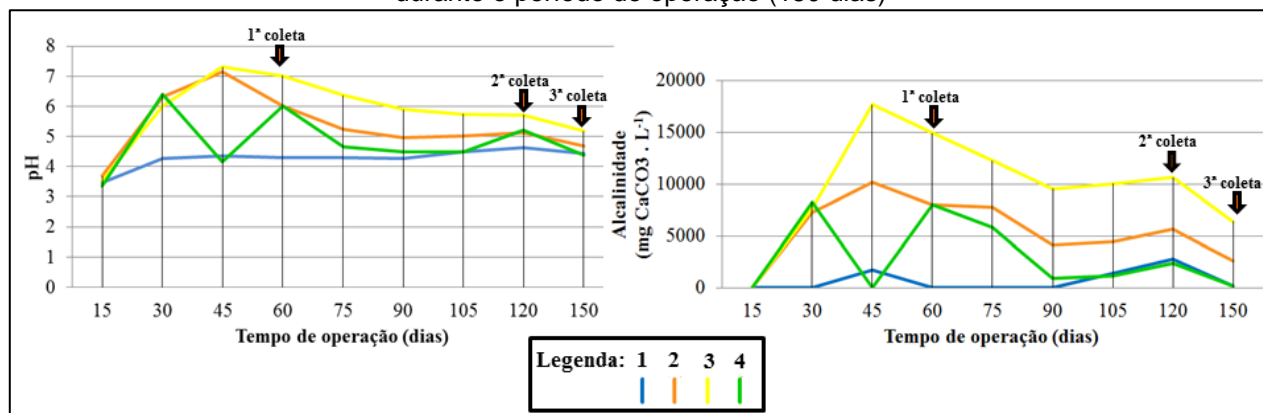
aproximadamente 95% dos sólidos totais da FORSU).

Figura 4. Concentração ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) dos principais produtos intermediários (ácidos graxos voláteis - acético, propiônico e butírico; e álcool - etanol) gerados nos biometanizadores de 50 L durante o período de operação (150 dias)



Observação: as setas em vermelho indicam as coletas de chorume para análise microbiológica

Figura 5. Gráficos dos parâmetros pH e alcalinidade referentes ao chorume dos biometanizadores de 50 L durante o período de operação (150 dias)



Observação: as setas em vermelho indicam as coletas de chorume para análise microbiológica



O acúmulo de produtos intermediários mais reduzidos que o ácido acético (como etanol e ácidos butírico e propiônico) contribui diretamente para a demanda química de oxigênio (DQO), além de tais produtos não serem substratos diretos da metanogênese (MESQUITA et al., 2013).

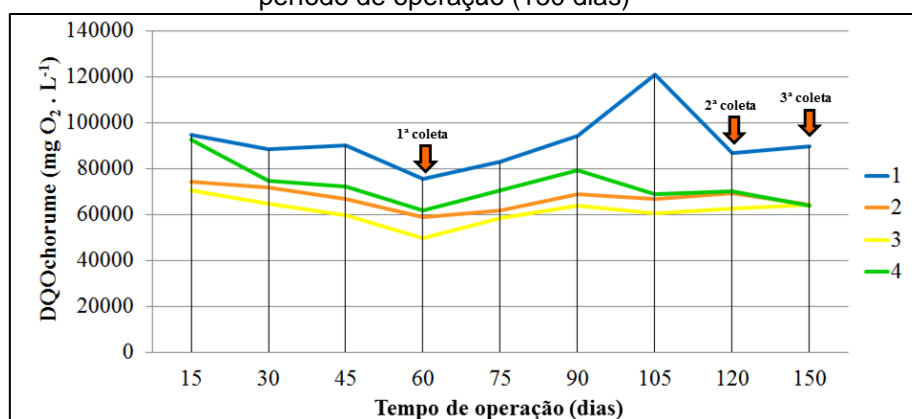
Na Figura 6, verifica-se um aumento na concentração da DQO do chorume de todos os biometanizadores de 50 L a partir do dia em que foi realizada a 1ª coleta para análises microbiológicas, o que também deve ter sido um fator de influência para a alteração da estrutura da comunidade de bactérias da 1ª para a 2ª coleta. Como os sistemas operaram em batelada, sem a entrada periódica de substrato, esse incremento na DQO residual provavelmente foi resultado do acúmulo de produtos intermediários.

Nesse contexto, vale ressaltar uma observação importante feita por Chernicharo (2007): o acúmulo de AGV em um biometanizador não deve ser encarado como inevitável ou como uma condição inerente do processo; na realidade, representa o sintoma de que um ou mais grupos do consórcio anaeróbio estão sendo prejudicados, seja pelo não fornecimento das condições ideais de crescimento microbiano, seja pela não observância das limitações cinéticas e termodinâmicas.

De acordo com Bolzonella et al. (2003), a concentração de ácidos graxos voláteis é o melhor parâmetro indicativo de desequilíbrio no meio anaeróbio, pois sua variância é nítida e pode ser percebida logo após a perturbação. Segundo esses autores, a instabilidade da biometanização pode ser verificada por meio dos seguintes parâmetros, ordenados quanto à sensibilidade às alterações: concentração de AGV > alcalinidade (à pH 4) > produção de biogás > concentração de metano no biogás > alcalinidade (à pH 6) > pH.

Entretanto, é questionável utilizar apenas a concentração de AGV para afirmar que o processo anaeróbio encontra-se em desequilíbrio. Franke-Whittle et al. (2014), analisando amostras de biometanizadores de grande escala, verificaram elevadas concentrações de AGV: 2.281,9 mg.L⁻¹ de ácido acético e 8.741,3 mg.L⁻¹ de ácido propiônico. Baseando-se somente nesses dados, poderia-se julgar que o processo encontrava-se instável e, pela concentração de ácido propiônico, o colapso do biometanizador seria iminente. Contudo, os valores de pH não apresentaram mudanças significativas e a produção de metano permaneceu estável. A neutralização do estresse causado pelo acúmulo de AGV, impedindo que o processo fosse afetado, está conectada, dentre outros fatores, à grande escala dos biometanizadores de onde as amostras foram provenientes (volume dos biometanizadores: 110 e 173 m³) e à ótima capacidade tampão do sistema (FRANKE-WHITTLE et al., 2014).

Figura 6. Representação gráfica da DQO presente no chorume dos biometanizadores de 50 L ao longo do período de operação (150 dias)



Observação: as setas em vermelho indicam as coletas de chorume para análise microbiológica

Assim, cada biometanizador suporta um determinado acúmulo de AGV, sendo que o limite é determinado principalmente pelo tipo de material de entrada (ANGELIDAKI; ELLEGAARD; AHRING, 1993). Além disso, não é possível definir níveis específicos de AGV que indiquem falha



no processo de biometanização, pois a comunidade microbiana pode estar adaptada a um ambiente com elevadas concentrações de AGV e não ser afetada (FRANKE-WHITTLE et al., 2014).

Fundamentando-se em tais observações, monitorar a comunidade microbiana que se desenvolve e atua no processo de biometanização pode trazer maior sensibilidade e especificidade na detecção e confirmação de instabilidades do sistema, garantindo intervenções somente quando necessário. Lin et al. (2012), obtiveram resultados relacionados à biometanização de resíduos sólidos orgânicos (restos de frutas e verduras; restos alimentares) que sugerem que a análise microbiana pode ser uma excelente ferramenta no diagnóstico do processo anaeróbio, pois está intrinsecamente correlacionada às alterações físico-químicas do meio.

5. CONCLUSÃO

A serragem, quando adicionada à FORSU sem nenhuma fonte de inóculo, proporcionou o desenvolvimento de uma comunidade microbiana semelhante àquela estabelecida no biometanizador operado somente com FORSU, apresentado, conseqüentemente, desempenho semelhante.

A inoculação com lodo de esgoto de reator UASB favorece a estabilidade do processo de biometanização de resíduos sólidos orgânicos, por fornecer um consórcio de micro-organismos anaeróbios e por auxiliar na manutenção do efeito tampão do sistema frente aos desequilíbrios.

REFERÊNCIAS

ABDELGADIR, A.; CHEN, X.; LIU, J.; XIE, X.; ZHANG, J.; ZHANG, K.; WANG, H.; LIU, N. Characteristics, process parameters, and inner components of anaerobic bioreactors. *BioMed Research International*, v. 2014, p. 1-10, 2014.

ABRELPE - Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. Panorama dos resíduos sólidos no Brasil. 2012. Disponível em: <<http://www.abrelpe.org.br/Panorama/panorama2012.pdf>>. Acesso em: 21 de setembro de 2013.

ANGELIDAKI, I.; ELLEGAARD, L.; AHRING, B.K. A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates: focusing on ammonia inhibition. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 42, p. 159–166, 1993.

APHA - American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environmental Federation. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 22nd ed. Washington, APHA, 2012.

AQUINO, S. F. de; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 10, n. 2, p. 152-161, 2005.

BIANCO, C. I. Caracterização da comunidade procarionte presente no tratamento anaeróbio da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos em conjunto com serragem e lodo de esgoto. 2015. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos/SP, 2015.

BRASIL. Lei nº 12.187, de 29 de dezembro de 2009. Institui a Política Nacional sobre Mudança do Clima – PNMC e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 30 de dezembro de 2009.



BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 3 de agosto de 2010.

CHERNICHARO, C.A.L. Reatores anaeróbios. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG. Volume 5, 2.ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 2007. 379 p.

FRANKE-WHITTLE, I. H.; WALTER, A.; EBNER, C.; INSAM, H. Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities. Waste Management, v. 34, p. 2080–2089, 2014.

GOU, C.; YANG, Z.; HUANG, J.; WANG, H.; XU, H.; WANG, L. Effects of temperature and organic loading rate on the performance and microbial community of anaerobic co-digestion of waste activated sludge and food waste. Chemosphere, v. 105, p. 146-151, 2014.

KUDO, N.; KHOCHBIN, S.; NISHI, K.; KITANO, K.; YANAGIDA, M.; YOSHIDA, M.; HORINOUCHE, S. Molecular cloning and cell cycle-dependent expression of Mammalian CRM1, a protein involved in nuclear export of proteins. The Journal of Biological Chemistry, v.272, p.29742-29751, 1997.

LIN, J.; ZUO, J.; JI, R.; CHEN, X.; LIU, F.; WANG, K.; YANG, Y. Methanogenic community dynamics in anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste and food waste. Journal of Environmental Sciences, v. 24, n. 7, p. 1288–1294, 2012.

MAO, C.; FENG, Y.; WANG, X.; REN, G. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 45, p. 540–555, 2015.

MESQUITA, P. da L.; AFONSO, R. J. de C. F.; AQUINO, S. F. de.; LEITE, G. de S. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia. Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 18, n. 4, p. 295-302, 2013.

MOREIRA, H. M.; GIOMETTI, A. B. dos R. O Protocolo de Quioto e as possibilidades de inserção do Brasil no mecanismo de desenvolvimento limpo por meio de projetos em energia limpa. Contexto Internacional, Rio de Janeiro, v. 30, n. 1, p. 9-47, 2008.

NÜBEL, U.; ENGELEN, B.; FELSKA, A.; SNAIDR, J.; WIESHUBER, A.; AMANN, R.I.; LUDWIG, W.; BACKHAUS, H. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by Temperature Gradient Gel Electrophoresis. Journal of Bacteriology, v.178, n.19, p.5636-5643, 1996.

SAKAMOTO, I. K. Comparação da estrutura de comunidades microbianas presentes em sistemas de lodos ativados modificados para remoção biológica do fósforo em excesso, utilizando-se a técnica de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). 2001. 162f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, 2001.

SOUZA, M. E. de. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. Revista DAE, v. 44, n. 137, p. 88-94, 1984.

SUPAPHOL, S.; JENKINS, S. N.; INTOMO, P.; WAITE, I. S.; O'DONNELL, A. G. Microbial community dynamics in mesophilic anaerobic co-digestion of mixed waste. Bioresource Technology, v. 102, n. 5, p. 4021–4027, 2011.